Control Biológico de Enfermedades de Plantas en América Latina y el Caribe

Editores

Wagner Bettiol
Marta C. Rivera
Pedro Mondino
Jaime R. Montealegre
Yelitza C. Colmenárez

Control Biológico de Enfermedades de Plantas en América Latina y el Caribe

Editores

Wagner Bettiol, Marta C. Rivera, Pedro Mondino,
Jaime R. Montealegre A., Yelitza C. Colmenárez

2014

Catalogación en Publicación (Ficha catalográfica)

Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe / editores Wagner Bettiol… [et al.], 2014.
404 p.
ISBN: 978-9974-0-1091-8

1. ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS. 2. CONTROL BIOLOGICO. 3. AMERICA LATINA. 4. CARIBE. I. Bettiol, Wagner, ed. II. Rivera, Marta C., ed. III. Mondino, Pedro, ed. IV. Montealegre A., Jaime R., ed. V. Colmenárez, Yelitza C., ed.

CDU 632.937

Los editores no se hacen responsables por las informaciones y opiniones vertidas en los capítulos, las que son de entera responsabilidad de sus autores.

Prefacio

De acuerdo con Market y Markets en Global biopesticide market: trends & forecast (2012), el mercado mundial de bioplaguicidas se estimó en 1.213 millones de dólares en 2010 y se espera que alcance 3.222 millones en el 2017, creciendo a una tasa compuesta anual de 15,8% desde 2012 hasta 2017. Dentro de este mercado, los bioinsecticidas representaban el 46% en 2011. La participación de los biofungicidas fue de 600,5 millones de dólares en el mismo año y se espera que llegue a 1.445 millones en 2017, con una tasa compuesta anual de crecimiento del 16,1% desde 2012 hasta 2017. De este total de biofungicidas, América Latina presentó un mercado de 62,5 millones de dólares en 2011 y se espera un crecimiento hasta 148,8 millones en 2017, representando un aumento de 15,9% desde 2012 hasta 2017.

Estos indicadores prometedores se atribuyen a los bajos costos y reducido tiempo en la investigación y desarrollo de los principios activos en comparación con los agroquímicos y a la creciente demanda de productos orgánicos. Sin embargo, se estima que para el desarrollo de un pesticida químico se necesitan 256 millones de dólares y existen posibilidades de fracaso. Por el contrario, apenas una fracción de este valor es necesaria para el desarrollo de un bioplaguicida. Asociado a esto, existe la presión del mercado de consumo, el cual exige productos libres de residuos de plaguicidas y que los alimentos sean producidos sin la contaminación del medio ambiente. Por lo tanto, las grandes empresas de agroquímicos están entrando en este mercado de bioproductos con fuerza, adquiriendo empresas de biocontrol y/o el desarrollo de nuevos materiales. De esta forma, el mercado de los bioplaguicidas tenía estimado llegar a 6,1 mil millones de dólares en 2022, pero dicho mercado actualmente se está revisando y se estiman unos 25 mil millones para el 2030. Por lo tanto, los editores del libro, se sienten satisfechos de haber persistido en el desarrollo de esta área en sus países. También creemos que los autores de cada uno de los capítulos sienten la misma satisfacción.

Desde el punto de vista agronómico, existen desafíos que aún necesitan ser enfrentados. Un reto importante para los investigadores y la industria en el área de bioproductos es el desarrollo de nuevos agentes de control biológico y productos formulados de calidad que estén disponibles en el mercado. Entre las situaciones a resolver se destacan: el desarrollo de metodologías para la producción a gran escala de agentes de biocontrol y su transferencia al sector privado; el desarrollo de formulaciones que promuevan la facilidad de uso y conservación de los productos biológicos; el desarrollo de metodologías para la evaluación de la calidad de los productos basados en agentes de control biológico; y el desarrollo de métodos para la integración de los agentes de control biológico en los sistemas productivos. Otros retos incluyen: el fomento del uso de las técnicas que conservan o promueven el desarrollo de agentes de control biológico que se producen de forma natural; estimular el desarrollo de bioproductos para el control de problemas fitosanitarios en cultivos considerados como menores, que tienen un alto índice de uso de plaguicidas; fomentar la aplicación del manejo integrado de plagas; estimular el desarrollo de bioproductos para el control de

problemas fitosanitarios de las principales *commodities* dependientes del uso de pesticidas; el desarrollo de agentes de biocontrol que colaboren con el bienestar animal, reduciendo el uso de productos químicos en los animales; el desarrollo de agentes de biocontrol para controlar las plagas que se producen en instalaciones de producción de animales; y el desarrollo de técnicas para el mantenimiento de zonas de refugio de enemigos naturales, entre otros.

Dentro de este contexto, en esta publicación se presentan la historia, situación actual y perspectivas del Control Biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe. Esta información podría servir de base para la implementación de políticas públicas destinadas al fomento de estas tecnologías en la producción vegetal. A su vez, investigadores, académicos, estudiantes, profesionales y técnicos interesados en control biológico de enfermedades de las plantas, encontrarán en este libro información acerca de las experiencias, éxitos y dificultades encontradas en esta parte del mundo por parte de quienes han trabajado en el desarrollo de estas tecnologías en la región.

Para lograr la publicación, se invitaron a diferentes especialistas de los países, quienes escribieron el capítulo correspondiente. La invitación tuvo una respuesta positiva de parte de investigadores de Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, República Dominicana, Uruguay y Venezuela, mientras que para la región del Caribe se escribió un capítulo que incluye información recabada en diversos países de esa zona, que puede usarse como ejemplo y punto de partida.

Este libro es el resultado del esfuerzo conjunto de especialistas de esos países y de los editores de Argentina, Brasil, Chile y Uruguay quienes pensamos que es necesario impulsar, incentivar e incrementar el uso de esta tecnología en nuestra región y aportar un marco histórico para esta área de la fitopatología en el continente.

Agradecemos la colaboración de todos los autores de los capítulos que componen la publicación, quienes aceptaron el reto sin intereses económicos, ya que el libro está disponible gratuitamente vía online.

Wagner Bettiol, Marta C. Rivera, Pedro Mondino,
Jaime R. Montealegre y Yelitza Colmenárez

Sumario

Capítulo 1. Control biológico de enfermedades de plantas en Argentina
Marta C. Rivera, Eduardo R. Wright..... 9

Capítulo 2. Control biológico de enfermedades de plantas en Bolivia
Javier Franco, E. Urquieta, G. Main, O. Diaz, G. Plata, L. Crespo 83

Capítulo 3. Control biológico de enfermedades de plantas en Brasil
Wagner Bettiol, Luiz Antonio Maffia, Maria Luiza Marcico Publio de Castro..... 91

Capítulo 4. Control biológico de enfermedades de plantas en el Caribe
Yelitza Colmenárez, Carlos Vásquez, Michael James 139

Capítulo 5. Control biológico de enfermedades de plantas en Chile
Jaime R. Montealegre A., Luz M. Pérez R. 157

Capítulo 6. Control biológico de enfermedades de plantas en Colombia
Alba Marina Cotes 169

Capítulo 7. Control biológico de enfermedades de plantas en Costa Rica
Xiomara V. Mata G., Miguel A. Obregón G. 181

Capítulo 8. Control biológico de enfermedades de plantas en Cuba
Marusia Stefanova, Maria Elena Díaz de Villegas, Jesús Mena Campos 201

Capítulo 9. Control biológico de enfermedades de plantas en Ecuador
César E. Falconí Saá 219

Capítulo 10. Control biológico de enfermedades de plantas en Honduras
Rogelio Trabanino, Abelino Pitty 249

Capítulo 11. Control biológico de enfermedades de plantas en México
Leticia Bravo-Luna, César Guigón-López 265

Capítulo 12. Control biológico de enfermedades de plantas en Nicaragua
Wilber Salazar-Antón, Erling Tórrez Narváez, Álvaro Caballero Hernández..... 287

Capítulo 13. Control biológico de enfermedades de plantas en Panamá
Rodrigo Morales, Anovel A. Barba 297

Capítulo 14. Control biológico de enfermedades de plantas en Paraguay
Cristhian Grabowski, Aida Orrego, Laura Soilán 309

Capítulo 15. Control biológico de enfermedades de plantas en Perú
Gustavo A. Guerrero Paretto, Diana I. Moreno Baca, Katya I. Barrionuevo Albújar 321

Capítulo 16. Control biológico de enfermedades de plantas en la República Dominicana
Colmar A. Serra 331

Capítulo 17. Control biológico de enfermedades de plantas en Uruguay
Pedro Mondino, Nora Altier, Silvana Vero, Silvia Pereyra, Claudine Folch 339

Capítulo 18. Control biológico de enfermedades de plantas en Venezuela
Carlos Zambrano, Yaritza Goyo, María Auxiliadora Jiménez, Karla Zambrano B. 369

Capítulo 1

Control biológico de enfermedades de plantas en Argentina

Marta C. Rivera[*1,2], Eduardo R. Wright[1]

*[1]Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453 (1417), Ciudad de Buenos Aires, Argentina. [2]Instituto de Floricultura INTA. Dr. Nicolas Repetto y de los Reseros S/Nº (1686), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina *Autor para correspondencia: mrivera@agro.uba.ar*

Introducción

Este capítulo recopila investigaciones con organismos benéficos, enmiendas orgánicas, extractos o preparados de origen natural, solarización, abonos verdes, quitosano, micorrizas, esterilización reductora y biofumigación. Las experiencias se agruparon por producción agrícola, en orden cronológico, por grupo o tema de trabajo. Se agrega información sobre la reglamentación para la inscripción de productos biológicos y los formulados registrados.

Los primeros estudios sobre el tema fueron iniciados a mediados del siglo XX (Irma Martinengo de Mitidieri, comunicación personal) por el Ing. Agr. Juan B. Marchionatto, quien fuera profesor de Fitopatología en las Facultades de Agronomía de la Universidad de La Plata y de Agronomía y Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires.

El primer curso de posgrado "Control Biológico de Enfermedades de las Plantas" fue dictado en Buenos Aires en 1996 por el Dr. John Sutton (University of Guelph, Canada) quien transmitió su entusiasmo a numerosos investigadores. En 1997, a propuesta de los Dres. Eduardo Wright y Laura Gasoni, el Dr. Enrique Monte Vazquez (Universidad de Salamanca, España) dictó en la Escuela para Graduados de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires por primera vez el curso de posgrado denominado "Control Biológico: Principios Generales y Aplicación de Biofungicidas en la Agricultura". El curso se repitió nueve veces, en colaboración con IMYZA-INTA Castelar, últimamente con la participación de la Dra. Rosa Hermosa (Universidad de Salamanca).

En 1998 se realizó en Buenos Aires el 1º Congreso Argentino de

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

Control Biológico de Enfermedades de las Plantas; presidido por la Dra. Laura Gasoni (INTA), con los Dres. John Sutton y Enrique Monte Vázquez como Vicepresidentes y Eduardo Wright como Secretario General. Lamentablemente ese 1º congreso no tuvo continuidad. Posteriormente, en el año 2000, un pequeño comité conformado por los Dres Daniel Cabral, Silvia Lopez, Eduardo Wright y Marta Rivera organizó el 5th International PGPR Workshop, presidido por los Dres. Laura Gasoni (INTA) y Joseph Kloepper (Auburn University, USA), en Villa Carlos Paz, Córdoba. En la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, los Dres. Wright y Rivera dictan anualmente un curso de grado específico desde el año 2004. Hasta el momento, no se han publicado libros sobre esta temática, sólo recopilaciones de trabajos realizados.

La Figura 1 muestra un mapa de la República Argentina (Presidencia de la Nación 2012) que facilita la ubicación de las zonas en las que se desarrolló la investigación.

Control de patologías de suelo y promoción del crecimiento vegetal

Hortalizas

Caire *et al*. (1976) controlaron el mal de los almácigos en mijo con extractos acuosos de la cyanobacteria *Nostoc muscorum* cepa 79a en estudios en Buenos Aires. Se inhibió el crecimiento de *Sclerotinia sclerotiorum* (Caire *et al*. 1987) con productos extracelulares de *Nostoc muscorum* y el de *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum* con productos extracelulares o extractos metanólicos de *Nostoc muscorum* (Caire *et al*. 1990; Mulé *et al*. 1991). Extractos de *Nostoc muscorum* 79a presentaron efecto inhibitorio *de Sclerotinia sclerotiorum* y el extracto etéreo aplicado sobre el tallo de plántulas de lechuga retrasó la expresión de síntomas (Tassara *et al*. 2001). Productos extracelulares de *Nostoc piscinale* 59 y extractos metanólicos de *Nostoc muscorum* promovieron el crecimiento de los antagonistas *Trichoderma koningii* y *Trichoderma viride* y productos extracelulares de *Streptococcus termophyllus* inhibieron fuertemente todas las cepas fúngicas.

Martinengo de Mitidieri (1986, 1988, 1989, 1994) reportó la eficiencia de *Trichoderma* spp. para el control de patógenos de suelo en cultivos hortícolas en San Pedro (Buenos Aires). Martinengo de Mitidieri (1996) detectó antagonismo contra *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor* de las cepas T473, T643 y T668, seleccionadas entre 1.200 aislamientos por su comportamiento en laboratorio, invernáculo y campo sobre tomate, pimiento, lechuga y frutilla. Ninguna de las tres cepas afectó el desarrollo vegetal; en algunos casos indujeron el crecimiento. Su incorporación luego de la solarización fue efectiva y previno infecciones. Las tres cepas fueron formuladas por Lage/Nitrasoil Argentina como polvo mojable (Martinengo de Mitidieri 1998b).

Martinengo de Mitidieri (1993) reportó el efecto de la solarización de

Figura 1. Mapa político de la República Argentina (Presidencia de la Nación 2012)

suelo sobre la pudrición basal de la lechuga causada por *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotina minor*, sobre la presencia de malezas y sobre las características del suelo en San Pedro. Martinengo de Mitidieri (1999) mencionó la eficiencia de esta práctica para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* en lechuga, *Rhizoctonia solani* en frutilla, tomate y pimiento, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium* y *Phytophthora* en tomate y pimiento. Además, se incrementó la emergencia y el rendimiento en lechuga, a campo y en invernáculo. Martinengo de Mitidieri *et al*. (1999) optimizaron la solarización de suelo con un polietileno especial, controlando *Pythium* sp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* en lechuga. La eficiencia de *Trichoderma* sp. T643 aumentó en suelo solarizado. Mitidieri *et al.* (2005) observaron que la solarización sola o en combinación con biofumigación con estiércol de gallina disminuyeron la incidencia de *Fusarium solani* y *Pyrenochaeta lycopersici* en tomate y que la solarización fue la más eficiente para el control de nematodos. En lechuga, la solarización disminuyó el porcentaje de plantas con pudrición radical y el número de agallas causadas por nematodos.

Mitidieri *et al.* (2007) estudiaron el efecto de la biofumigación con brócoli en cultivos de tomate en San Pedro, donde disminuyó la población de *Sclerotium rolfsii*, no se detectó *Fusarium solani* a 10 cm de profundidad y disminuyó la mortandad final de plantas. Mitidieri *et al.* (2011) reportaron reducción en la población de nematodos fitófagos, agallas por nematodos y pudrición de raíces, mayor producción de raíces y menor número de plantas de tomate muertas a fin de ciclo para tratamientos repetidos en el tiempo de biofumigación con Brassicáceas, solarización o alternancia biofumigación-enmienda.

Wright *et al*. (1988) evaluaron la eficiencia de dos aislamientos de *Trichoderma koningii* (Tk1 y Tk2) y uno de *Trichoderma viride* (Tv) a través de cultivos duales con *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor*, en Buenos Aires. Tk2, obtenido de esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* parasitados, presentó el mayor crecimiento inicial, mantuvo un ritmo de crecimiento igual o superior al resto y colonizó totalmente la superficie cubierta por los patógenos. Goñi *et al*. (1989) estudiaron el comportamiento *in vitro* de posibles antagonistas de *Sclerotinia sclerotiorum* obtenidos a partir de muestras de suelo. De 31 aislamientos, una cepa de *Penicillium* sp. mostró la mayor eficiencia antagónica. Ortiz Molinuevo *et al*. (1995) evaluaron el crecimiento de los aislamientos de *Trichoderma koningii* Tk2, *Trichoderma harzianum* 6-4 y *Penicillium* sp. 5-11 en presencia de fungicidas. Se observó buen desarrollo a concentraciones bajas de Captan y PCNB, que podrían aplicarse en forma conjunta con los antagonistas. Luego de la solarización del suelo en una producción orgánica de radicheta *(Cichorium intybus)*, se reportaron resultados promisorios con relación al control de *Sclerotinia minor* (Quevedo *et al.* 2003).

En Balcarce (Buenos Aires) se protegieron plantas de papa de la infección por *Rhizoctonia* sp. mediante la aplicación de una cepa de *Rhizoctonia* binucleada no patogénica (Escande y Echandi 1991). Se aislaron bacterias fluorescentes y *Trichoderma* spp. de la rizósfera de plantas de tomate y berenjena cultivadas en Buenos Aires, La Plata y Mar del Plata (Buenos Aires) y se seleccionaron cepas bacterianas y de *Trichoderma* por su capacidad antagónica frente a *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*. *Trichoderma* Th1 y Tk2 aislados en la Facultad de Agronomía UBA presentaron el mejor

comportamiento (Bucki *et al.* 1998). De cultivos sanos de berenjena, pimiento y tomate en 18 localidades en Mar del Plata se obtuvieron 66 aislamientos de Actinomycetes, 276 de *Pseudomonas* fluorescentes y 26 de *Trichoderma*. La temperatura del aire y las técnicas de riego no influyeron en la frecuencia de obtención de *Trichoderma*, pero afectaron la obtención de Actinomycetes y *Pseudomonas* (Escande *et al.* 1998). Las cepas rizosféricas de *Pseudomonas* fluorescentes fueron más eficientes que las no rizosféricas para la protección de plántulas de tomate de la infección por *Rhizoctonia solani* (Clemente *et al.* 2000a). Clemente *et al.* (2000b) y Escande *et al.* (2000) ensayaron diferentes métodos de inoculación para establecer un protocolo para la protección de almácigos de tomate.

La solarización en invernadero resultó promisoria para el control del mal de los almácigos en Balcarce (Reybet *et al.* 1999). Se estimó la concentración de *Pseudomonas* fluorescentes antes de solarizar. En el primer año, con baja incidencia de enfermedad, se incrementó levemente el número de plántulas vivas. En el segundo año, incrementó de manera importante el número de plantas vivas. La población de *Pseudomonas* disminuyó con la solarización en los primeros 30 días, pero se restableció en un año (Reybet *et al.* 2005). Battistela y Ridao (2011) detectaron 100% de plantas de espárrago de 3, 6, 7 y 8 años colonizadas por micorrizas arbusculares, y mayor colonización en los ejemplares sin síntomas de fusariosis. Los géneros *Acaulopsora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Pacispora* y *Scutellospora* fueron identificados en la rizósfera de las plantas (Battistella *et al.* 2011).

Como resultado de investigaciones llevadas a cabo en La Plata, Mónaco *et al*. (1994) observaron que cepas de *Trichoderma koningii, Trichoderma pseudokoningii, Trichoderma harzianum, Trichoderma aureoviride, Trichoderma hamatum* y *Trichoderma viride* aisladas de cultivos hortícolas se desarrollan adecuadamente *in vitro*. *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma hamatum* presentaron la mayor eficacia frente a *Fusarium solani, Fusarium equiseti, Fusarium oxysporum, Rhizoctonia* sp., *Sclerotinia sclerotiorum, Sclerotinia minor* y *Sclerotium rolfsii*, en general asociada a la producción de metabolitos difusibles. En estudios poblacionales de bacterias de rizósfera de tomate, las cepas predominantes fueron Gram (-) y antagónicas de *Rhizoctonia solani*. La expresión del antagonismo requirió una baja disponibilidad de fósforo en el medio (Gara *et al.* 2000). Mónaco *et al.* (2006) caracterizaron especies de *Trichoderma* en forma molecular. Se detectó crecimiento de *Pythium* sp. y *Rhizoctonia* sp. *in vitro* y crecimiento de *Trichoderma virens* alrededor de las hifas de los patógenos. En invernáculo *Trichoderma virens* controló *Pythium* sp. en semillas de espinaca y tomate. Lampugnani *et al.* (2011) evaluaron el efecto de derivados botánicos para el control de patógenos de semillas de tomate Platense y ají vinagre. El extracto acuoso de ajo y un formulado comercial en base a árbol de té presentaron la mejor eficiencia *in vitro*. En almácigos, no se observaron efectos negativos sobre la germinación.

En Castelar (Buenos Aires), Gasoni (1994) determinó la actividad celulolítica del endófito *Cladorhinum foecundissimum*, biocontrolador de *Rhizoctonia solani*. Gasoni y Stegman de Gurfinkel (2009) confirmaron la eficiencia de control en plantas de papa por las cepas S8 y A32 en cámaras de crecimiento. No se registró enfermedad en plantas desarrolladas en suelo colonizado por

Cladorhinum foecundissimum y trasplantadas a suelo infestado por *Rhizoctonia solani*. La colonización de plántulas por *Cladorhinum foecundissimum* S8 incrementó el contenido de compuestos fenólicos.

Vicario *et al.* (1996) aislaron y caracterizaron antagonistas bacterianos de *Rhizoctonia solani* AG-4 en Castelar. Kobayashi *et al.* (1995, 1996b, 1999) aislaron bacterias y evaluaron su actividad antagónica frente a *Rhizoctonia solani*. Entre ellas, *Pseudomonas* sp. cepa 6, y *Bacillus* sp. cepas 96 y 235 se seleccionaron para pruebas subsiguientes y evaluaron turba y vermiculita como sustratos para vehiculizarlas. En formulaciones mezcladas con soluciones adhesivas aplicadas a semillas de rábano, posteriormente cubiertas con caolinita o arcilla, se mantuvo la concentración de inóculo de *Bacillus* durante tres meses sin modificar su germinación. Las combinaciones 6-turba-vermiculita, 96-turba-caolinita y 235-vermiculita-arcilla mostraron el mejor efecto supresor de *Rhizoctonia solani*. Las cepas 6 y 96 producen antibióticos (Kobayashi *et al.* 1996a). Con el objetivo de obtener una formulación líquida de *Trichoderma harzianum* para dispersar por riego, Cozzi y Gasoni (1995) evaluaron distintos adhesivos, protectores y emulsionantes que favorezcan la supervivencia de propágulos durante el almacenaje. También se evaluó una formulación como polvo mojable. Cozzi y Gasoni (1995, 1997) obtuvieron biomasa de antagonistas con alta producción de propágulos efectivos y resistentes, mediante fermentación de cepas seleccionadas en invernáculo y a campo. Ensayaron dos fórmulas con turba y vermiculita como soporte para cultivos de *Trichoderma harzianum* TH1 y desarrollaron un método de pildorización de semillas hortícolas. Gasoni *et al.* (1998) observaron la supervivencia de antagonistas en diferentes formulaciones y su habilidad para reducir la infección de almácigos de radicheta por *Rhizoctonia solani*. Babbitt *et al.* (2001) utilizaron con éxito pequeños tarugos de madera de pino como medio de cultivo para *Trichoderma* spp. Se determinó en Buenos Aires la permanencia de *Trichoderma* spp. en tarugos de madera almacenados a diferentes temperaturas (Zapata *et al.* 2000c). Se logró eficiencia en la distribución para el control de *Rhizoctonia solani* en berenjena (Babbitt *et al.* 2001, Zapata *et al.* 2000c, Zapata *et al.* 2003b) y se observó promoción del crecimiento de lechuga (Babbitt y Zapata 2004). Se estudiaron morfológica y molecularmente cepas de antagonistas y patógenos de suelo de los géneros *Trichoderma*, *Rhizoctonia* y *Fusarium* (Barrera *et al.* 2004) y se determinaron los mecanismos para varias interacciones patógeno-biocontrolador (Gasoni *et al.* 2004). Se monitorearon aislamientos de *Trichoderma harzianum* con técnicas moleculares (Barrera *et al.* 2005). En estudios preliminares, la aplicación de nisina (bacteriocina producida por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) a plantas de tomate, disminuyó los síntomas causados por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Romero *et al.* 2011).

En experimentos en Buenos Aires, se aplicaron diferentes concentraciones de cepas de *Trichoderma* preseleccionadas a semillas de cultivos hortícolas (con agregado de alginato o metilcelulosa), plántulas o suelo. Con formulaciones líquidas y sólidas se controló la podredumbre radical en los patosistemas *Sclerotinia sclerotiorum*-lechuga, *Sclerotinia sclerotiorum*-endivia y *Rhizoctonia solani*-papa (Zapata *et al.* 1997, Zumelzu *et al.* 1997, Gasoni *et al.* 2001). Se evaluó la capacidad antagónica frente a *Rhizoctonia solani* de cepas de *Trichoderma* de rizósfera y raíces de varios cultivos hortícolas de Buenos Aires. La caracterización

fisiológica, bioquímica y molecular permitió diferenciar tres grupos con gran diversidad genética entre aislamientos (Babbitt *et al.* 1999; 2000). Se seleccionaron *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* fluorescentes por su habilidad para promover el crecimiento de las plantas y controlar damping-off y podredumbre de raíces, aplicadas en formulaciones líquidas. Las cepas P218 y TH1 fueron evaluadas para el control biológico del cancro basal y podredumbre de raíces (*Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani*) en berenjena y del cancro (*Fusarium oxysporum* f.sp. *radicilycopersici*) en tomate y mal de los almácigos en berenjena (Zapata *et al.* 2000a, 2000b, 2001). TH1 disminuyó la incidencia de *Sclerotinia sclerotiorum* en una producción orgánica de lechuga, dependiente de la relación densidad-cultivar (Quiroga *et al.* 1998). Se logró promover el crecimiento de plántulas de lechuga con *Trichoderma* sp. (Zapata *et al.* 2003a, 2005). Se estudió la eficiencia de la distribución de polvos mojables basados en cepas bacterianas y fúngicas en sistemas de riego. Las formulaciones líquidas de *Trichoderma*, filtradas y no filtradas, se dispersaron eficientemente, y los polvos mojables presentaron dificultades (Palmucci *et al.* 2003).

La incorporación de compost de lombriz al suelo suprimió el mal de los almácigos causado por *Rhizoctonia solani* sobre zapallo blanco, zapallo criollo, tomate, pimiento, berenjena y alegría del hogar en Buenos Aires, en invernáculo. El tratamiento con 75% de compost superó al resto en eficiencia de control en almácigos de zapallo criollo (Wright *et al*. 1999a). En ensayos de control de *Rhizoctonia solani* en plantas adultas de zapallo blanco, se observó interacción entre las dosis de compost y la temperatura ambiente (Rivera *et al.* 2004a). Las respuestas al agregado de lombricompuesto fueron lineares o parabólicas de acuerdo a la temperatura de los ensayos. Los tratamientos con 50-75% de lombricompuesto (v/v) fueron los más eficientes en la supresión de *Rhizoctonia solani* en distintos hospedantes (Wright *et al.* 1998, 1999b, 1999c, 2001, 2003; Crespo 2001, Rivera *et al.* 2000, 2001). Se obtuvo una colección de la miroflora del lombricompuesto, 30% de la cual presentó antagonismo *in vitro* (Rivera et al 2004b). El cultivo de plantas de alegría del hogar en lombricompuesto o en una combinación de lombricompuesto:suelo 75:25, incrementó el área foliar, la altura de las plantas, los pesos frescos y secos de órganos aéreos y subterráneos. La protección se mantuvo luego del trasplante de plantines cultivados en compost de lombriz a sustratos infestados. El largo de la raíz no fue modificado por la adición de compost. El lombricompuesto al 75% (v/v) redujo levemente la incidencia de damping-off (Asciutto *et al*. 2006). La incorporación de compost termofílico o de lombriz al suelo de cultivo de rúcula (50% v/v) incrementó la altura de las plantas. La combinación de las enmiendas con *Trichoderma koningii* Tk2 por riego a la siembra y luego de la primera cosecha no tuvo efecto sobre el crecimiento vegetal (Wright *et al*. 2004).

En Buenos Aires, Moya *et al*. (2004) evaluaron la eficiencia de la incorporación de rúcula al suelo en un invernáculo orgánico comercial de achicoria con antecedentes de pudrición basal por *Sclerotinia minor*. Se observó una disminución muy importante en la incidencia promedio, pero sin diferencias significativas con el testigo. Se registró un incremento de rendimiento en la primera y la segunda cosecha. Moya *et al*. (2009) iniciaron un ciclo de ensayos de biofumigación en una huerta orgánica experimental con antecedentes de

fusariosis (*Fusarium oxysporum*). La incorporación de repollo picado al suelo antes del trasplante aumentó el peso de los frutos de tomate y berenjena. Además, en condiciones de alta temperatura, se observó una mejor recuperación y longevidad de las plantas en parcelas biofumigadas. von Baczko *et al.* (2011) reportaron la continuación de experiencias de biofumigación sobre tomate en la misma huerta, en situaciones de alta y baja heliofanía, bajo condiciones de alto régimen hídrico durante 2010. Como resultado, incrementó el área foliar a fin de ciclo, y disminuyó la incidencia de fusariosis y pudrición de frutos en el ensayo con baja heliofanía. En ambos ensayos, no varió el rendimiento, el contenido foliar de clorofila y polifenoles y el contenido edáfico de polifenoles. Para berenjena, Ardiaca (2012) observó que la biofumigación disminuyó la incidencia de podredumbre o momificación en frutos bajo condiciones de alta y baja heliofanía. Sin embargo, los menores rendimientos y menor concentración de polifenoles en hoja se presentaron cuando se biofumigó. Cámara Hernández *et al.* (2011) llevaron a cabo estudios similares. El agregado de repollo tendió a incrementar el área foliar y la producción y disminuyó la incidencia de fusariosis en tomate. En suelo, se observó incremento de la materia orgánica, relación C/N, P, S, Ca, Mg y K. Rivera *et al.* (2012b) compilaron los resultados de tres campañas de biofumigación en una producción orgánica de tomates. La sanidad y crecimiento-rendimiento del cultivo variaron según las condiciones ambientales, y en general mejoraron como resultado de la práctica.

Barrientos *et al*. (2007) sistematizaron una experiencia de manejo sanitario en el contexto de la investigación-acción-participativa, con productores del cinturón hortícola de La Plata. Vasquez *et al*. (2011) identificaron al nematodo *Meloydogine* sp. como limitante del cultivo de pimiento en la zona, planearon, ejecutaron y evaluaron junto con los productores la eficacia de la biofumigación en una finca. Se observó que la biofumigación tiende a incrementar el rendimiento en las 3 fechas de cosecha, y disminuye la incidencia de nódulos.

En relación con el control de *Sclerotinia sclerotiorum*, el purín de frutos de paraíso controló el crecimiento del micelio en experimentos en Buenos Aires. Luego de observaciones de campo y entrevistas, Moya *et al*. (2008) resumieron las distintas preparaciones utilizadas por productores hortícolas en los alrededores de La Plata y la finalidad de su aplicación. Rivera *et al*. (2011) estudiaron el efecto de caldos y purines de ortiga sobre el crecimiento de lechuga y de *Sclerotinia sclerotiorum*. A 62 y 45 días respectivamente para el ensayo en invernáculo y en la huerta, aumentó el peso húmedo y seco de las plantas de lechuga regadas con caldo o purín y no se observó manifestación de enfermedades. Wright *et al.* 2013a evaluaron el efecto biocontrolador de 3 diluciones de ortiga y concluyeron que 0,5 g de hojas por litro de agua es suficiente para controlar el crecimiento de *Sclerotinia sclerotiorum.* En una huerta experimental en Buenos Aires, Rivera *et al*. (2012c) evaluaron el efecto de caldos y purines de cebolla y ortiga sobre el crecimiento de un cultivo orgánico de lechuga. El área foliar y el peso fresco de la parte aérea de las plantas regadas con caldo de cebolla superó al resto de los tratamientos. En Salta, Quiroga *et al.* (2006) estudiaron la actividad de extractos acuosos vegetales sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. Los extractos de ajo inhibieron el crecimiento del patógeno a partir de una dilución del 5%. Los extractos de *Sartureja parvifolia* presentaron buena eficiencia a partir de una dilución del 25%.

Sidoti Hartman *et al.* (2011) evaluaron el efecto de la aplicación de purín de ortiga sobre un cultivo de tomate, en un lote orgánico en el Valle Inferior del Río Negro. El purín incrementó el número y peso de los frutos, y disminuyó el número de frutos de descarte por daños de peste negra (TSWV) y por *Phytophthora*.

Freixá *et al.* (2003) realizaron las primeras observaciones de eficiencia del caldo de cebolla para el control del crecimiento de *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* en Buenos Aires. El crecimiento de las colonias se redujo con caldo 8.3, 16.7 and 25% v/v. La producción de esclerocios de *Sclerotium rolfsii* disminuyó con el caldo y fue estimulada por el caldo esterilizado. Se aislaron *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium simplicissimum* y *Aspergillus niger* del caldo, que mostraron antibiosis, competencia e hiperparasitismo en confrontaciones con los patógenos. El riego con caldo al 50% v/v mostró la mayor eficiencia para el control de damping-off en almácigos de acelga, tomate, pimiento y berenjena (Rivera *et al*. 2013b) e incrementó la altura de plántulas de las tres especies (Rivera *et al.* 2013a). Nuñez *et al.* (2011a,b) obtuvieron una colección de microorganismos que desarrollan en caldos y purines de cebolla, fermentados a distintas temperaturas durante tiempos variables. La concentración de propágulos en el caldo fermentado 7 días superó al resto de los tratamientos, sin correlación con la temperatura de incubación. A 20ºC, las cepas T-28-7-11A y T-28-7-11B *(Trichoderma* sp.) disminuyeron el crecimiento de *Rhizoctonia solani*. A 28ºC, el crecimiento del patógeno fue menor en las confrontaciones con las cepas T-28-7-11A, T-28-7-11B y B-28-7-5 *(Penicillium* sp.), pero no se detectó estadísticamente la diferencia con el resto de los tratamientos. T-28-7-11A y T-28-7-11B parasitaron a *R. solani* y B-28-7-5 mostró antibiosis. T-28-711A y T-28-7-11B, con la máxima actividad a 28 y a 20ºC, fueron aisladas de un purín fermentado a 28ºC. Como resultado de inoculaciones sobre cebollas, se concluyó que ninguna de las cepas de los caldos son patógenas de los bulbos, y habrían colonizado los caldos durante su fermentación (Rivera y Nuñez 2013). Mellone *et al*. (2010) resgistraron la actividad de extractos acuosos de bulbos de ajo y cebolla sobre *Sclerotium rolfsii*. El crecimiento del patógeno fue reducido por los extractos de ajo colorado y ajo chino, sin diferir entre diluciones. Se detectó efecto de componentes difusibles en el agar y volátiles, especialmente para ajo chino, seguido de ajo colorado. Rivera *et al*. (2012a) observaron que el número de esclerocios del patógeno disminuyó especialmente con extractos de ajo chino y ajo colorado, y el poder germinativo y energía germinativa disminuyeron con extracto de ajo colorado.

Extractos hexánicos de *Chenopodium ambrosioides* fueron eficientes en el control del crecimiento de *Rhizoctonia solani in vitro*, en estudios llevados a cabo en Buenos Aires, con eficiencia cepa-dependiente. Aplicados a suelo infestado con el patógeno, los extractos disminuyeron la concentración del inóculo. Se observaron interacciones cepa-dosis (Chiessa *et al.* 2001, 2002). Extractos etanólicos de *Equisetum giganteum*, *Cissampelos pareira*, *Passiflora coerulea*, *Bauhinia candicans* y *Taraxacum officinale* presentaron resultados erráticos en el control de *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Rhizoctonia solani* (Llera *et al*. 2007) que mejoraron al incrementar la dosis (Santarcangelo *et al*., 2008). Rivera y Ruz (2012) observaron control de crecimiento de *S. rolfsii* con todos los extractos al 10% (especialmente *Taraxacum officinale*, *Passiflora coerulea* y *Bauhinia candicans*). Los dos primeros inhibieron la formación de esclerocios y los restantes redujeron su

número sin afectar su poder y energía germinativa. La inmersión de esclerocios en extractos al 10%, no afectó su poder germinativo pero sí su energía germinativa. Glomérulos de acelga inmersos en extractos de *Taraxacum officinale*, *Cissampelos pareira* y *Equisetum giganteum* mantuvieron su poder germinativo. San Andrés *et al*. (2010) reportaron que los mismos extractos diluidos al 10% presentaron buen a excelente control de *Sclerotium rolfsii* en almácigos de lechuga. Villores *et al*. (2008) observaron que el extracto de *Taraxacum officinale* al 10% produce alteraciones en hifas de *Rhizoctonia solani*, inhibe su crecimiento en el suelo y controla el mal de los almácigos de lechuga. Tito Mansilla *et al*. (2011, 2012) estudiaron la actividad de extractos de *Ovidia andina* sobre *Rhizoctonia solani*. El extracto cloruro de metileno 1:100 v/v y sus fracciones 2 y 5 redujeron el crecimiento del patógeno, que mostró alteraciones en hifas, y controló la infección en glomérulos de acelga sin afectar el porcentaje de germinación.

Se evaluó el efecto antagónico de cinco cepas de *Trichoderma* contra *Rhizoctonia solani* en laboratorio e invernáculo en Buenos Aires, sobre plantas de tomate. Cuatro cepas controlaron la podredumbre de los almácigos y modificaron el desarrollo y supervivencia de esclerocios (Durman *et al.* 1998). Menendez y Godeas (1998) aplicaron *Trichoderma harzianum* BAFC 742 para controlar *Sclerotinia sclerotiorum* en soja. En invernáculo, el antagonista vehiculizado en cápsulas de alginato incrementó la sobrevivencia de las plantas. En el campo, no mejoró la supervivencia pero se redujo la germinación de esclerocios. Se detectó actividad de quitinasa y 1,3-beta-glucanasa en cultivos de *Trichoderma harzianum* con paredes celulares de *Sclerotinia sclerotiorum* como fuente carbonada. Rodríguez *et al.* (2006) observaron que la cepa no patogénica *Fusarium oxysporum* S6 disminuyó el crecimiento de *Sclerotinia sclerotiorum* y suprimió la formación de esclerocios y compuestos antifúngicos, atribuible al metabolito ciclosporina A. En invernáculo, se observó un aumento de la supervivencia de plántulas inoculadas conjuntamente con el patógeno y *Fusarium oxysporum* no patogénico. Rodríguez *et al.* (2011) estudiaron los mecanismos de acción de la cepa antagónica *Clonostachys rosea* BAFC3874 aislada de suelos supresivos de *Sclerotinia sclerotiorum*, que aplicada en macetas controló la enfermedad. En cultivos duales, se confirmó micoparasitimo y producción de metabolitos secundarios (peptaibióticos) por *Sclerotinia*.

En Bahía Blanca (Buenos Aires) se estudió el efecto de *Phoma terrestris* (raíz rosada) y diversas enmiendas sobre la emergencia, crecimiento y supervivencia de cebollas en distintos suelos. Las enmiendas fueron cianamida, frutos y hojas de paraíso, hojas de rúcula, hinojo y trébol de olor blanco y bulbos de ajo. En un suelo pobre, se observó menor emergencia, menor crecimiento de las plantas y mayores pérdidas de plantas. *Phoma terrestris* disminuyó el crecimiento de las plantas y causó su muerte. La emergencia fue negativamente influenciada por la reciente incorporación de enmiendas. La adición de frutos de *Melia azedarach* estimuló el crecimiento de las raíces en plantas sanas, disminuyó el daño causado por *Phoma terrestris* y aumentó el desarrollo de hojas y raíces en plantas infectadas. Las hojas de paraíso y rúcula también atenuaron los síntomas. La cianamida aceleró e incrementó la emergencia pero causó una mayor mortalidad de las plantas (Kiehr *et al.* 1995). El compost o lombricompuesto en sustratos de crecimiento de plántulas de cebolla no afectaron la manifestación de *Phoma terrestris*; el compost atenuó el efecto negativo de *Rhizoctonia solani* y el

lombricompuesto lo incrementó (Baffoni *et al*. 2006). Al detectar sobrevivencia de *Sclerotinia sclerotiorum* en cáscaras de girasol (subproductos de industria aceitera) su uso como enmienda podría introducir el patógeno en cultivos hortícolas (Kiehr *et al.* 2000). *Sclerotinia sclerotiorum* también sobrevive cuando las cáscaras de girasol son utilizadas como cama de pollos previo a su incorporación en los suelos (Delhey *et al.* 2000).

Los abonos verdes disminuyeron la incidencia de raíz rosada en cebolla pre-cosecha y la podredumbre basal pos-cosecha, comparada con cultivos continuos de cebolla. El girasol como abono verde mejoró el comportamiento de las plantas de cebolla frente a raíz rosada comparado con el uso de *Setaria italica* y *Sorghum bicolor*; todos con mejores respuestas que el cultivo continuo de cebolla. El número de bulbos producidos en cada tratamiento confirma que los abonos verdes de girasol también influyen favorablemente sobre el rendimiento (Agamennoni *et al.* 1998, Delhey *et al.* 1998). En relación con el control de la raíz rosada, González *et al.* (2007) detectaron un aumento del peso seco de las hojas y peso seco total de plantas en parcelas suplementadas con frutos de paraíso o estiércol, sin diferencias para los parámetros de supervivencia, destrucción, coloración y peso seco de raíces. El monocultivo de cebollas determinó aumentos en la incidencia de podredumbre basal ocasionada por *F. oxysporum* f.sp. *cepae* (Agamennoni *et al.* 2000). González *et al.* (2007) detectaron un aumento del peso seco de las hojas y peso seco total de plantas de cebolla en parcelas solarizadas. Los autores infieren que existen distintos mecanismos que actúan sobre *Phoma terrestris*, la planta de cebolla y su interacción.

También en Bahía Blanca, Kiehr *et al.* (2005) inocularon bulbos de cebolla enraizados con cepas poco agresivas de *Phoma terrestris* que se trasplantaron a tierra infestada con cepas agresivas, y no se registró protección. En Alto Valle de Río Negro y Neuquén, Sosa *et al.* (2007) evaluaron el antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* sp. sobre *Fusarium* sp., patógeno de ajo y cebolla. En cultivos duales, *Trichoderma koningii* controló *Fusarium* B14, de alta patogenicidad. En Ascasubi (Buenos Aires) se evaluó el efecto de aplicaciones de *Trichoderma harzianum* T22 sobre la podredumbre basal causada por *Fusarium* spp. en cebolla y no se logró controlar la enfermedad (Baffoni *et al.* 2011). Hindi *et al.* (2011) observaron que la biota del suelo incide directamente sobre la disminución de la incidencia de podredumbre basal en cebolla. Sosa *et al.* (2011) obtuvieron 12 aislamientos de *Trichoderma* de suelos de Río Negro y Neuquén. T13 creció más que el resto y junto con T6 fue el antagonista más eficiente de *Fusarium oxysporum* en cebolla. En experimentos de rotación en cultivos de cebolla en Ascasubi, provincia de Buenos Aires, Andreotti *et al.* (2012) detectaron biocontroladores (*Trichoderma* spp., *Cladorhinum* spp., *Laetisaria* spp.) de distintos patógenos. Albarracín Orio *et al.* (2011) evaluaron el efecto de distintas rotaciones sobre la manifestación de pudriciones por *Fusarium* spp. en cebolla, en Ascasubi (Buenos Aires). Se hallaron en total trece especies de micorrizas arbusculares. La menor incidencia de enfermedad se detectó en esquemas con cinco o más años sin cultivo de cebolla. No se halló correlación entre incidencia de enfermedad y presencia o abundancia de determinada especie de micorriza. González *et al.* (2007) detectaron un aumento del peso seco foliar y total de plantas de cebolla biofumigadas con partes aéreas de brócoli o rabanito, menor al obtenido por solarización, incorporación de

estiércol o paraíso.

Sosa *et al.* (2007), en Alto Valle de Río Negro y Neuquén, ajustaron la metodología para inocular *Fusarium* sp. en almácigos de cebolla para ensayos de biofumigación. En Río Negro, Iriarte *et al.* (2011) evaluaron distintas dosis de repollo, concentraciones de inóculo de *F. oxysporum* y fechas de incorporación; y detectaron la mayor variabilidad en respuesta para la fecha de tratamiento. La incorporación de repollo en abril y diciembre disminuyó la población del patógeno, con mayor eficacia en diciembre y utilizando 5 kg/m^2. La biofumigación con repollo podría sustituir o suplementar métodos de control del patógeno, con niveles poblacionales no mayores a 10^2 conidios/g suelo.

Di Masi *et al.* (1996) evaluaron el efecto de la solarización sobre hongos, malezas y nematodos en un suelo del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, logrando controlar *Aspergillus*, *Penicillium* y *Pythium*. Entre febrero y marzo se registraron temperaturas promedio de 44ºC a 5 cm de profundidad y 40ºC a 20 cm. Esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* colocados en suelo solarizado no germinaron en medio de cultivo (Dobra *et al.* 1996). Se aislaron numerosas cepas de *Pseudomonas* fluorescentes de suelo y plántulas de especies hortícolas en el Alto Valle de Río Negro. Durante ensayos de invernáculo y campo, se evaluó la población de *Pseudomonas* antes y después de solarizaciones. La concentración bacteriana fue 100 veces mayor en suelo no tratado que en suelo solarizado, y casi nula en los tratamientos con bromuro de metilo (Escande *et al.* 1998b).

Se efectuó un estudio en Córdoba sobre la actividad de aceites esenciales de *Minthostachys* sp., *Tagetes minuta*, *Porophyllum obscurum*, *Schinus molle*, *Aloysia polisachya* y *Chenopodium ambrosioides* sobre el crecimiento de cultivos de *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Rhizoctonia solani*. El crecimiento de los tres patógenos fue inhibido por extractos de *Alloysia polisachya* y *Chenopodium ambrosioides* (Lucini *et al.* 1998). En relación con la pudrición del ajo por *Sclerotium cepivorum*, Yossen y Mestrallet (1998) aplicaron una cepa no patógena de *Penicillium* supresora *in vitro* de *Sclerotium cepivorum*. La mayoría de las plantas tratadas no manifestaron síntomas y en todos los casos presentaron promoción del crecimiento. Conles y Yossen (2000) observaron que *Penicillium* sp. PLL5 estimuló el desarrollo de plantas de ajo y controló *Sclerotium cepivorum* sobre cebolla y ajo. Varaschin *et al.* (2002), en Lomas de Zamora (Buenos Aires), seleccionaron seis cepas de *Trichoderma* entre 15 aisladas de cultivos sanos de ajo. Las aplicaciones de BL5, BL10, BL13 y BL14 redujeron la enfermedad.

Se evaluaron composts de corteza y madera de pino y algarrobo para el control de *Rhizoctonia solani* y la promoción del crecimiento de lechuga en Córdoba. Los composts y las mezclas compost-*Trichoderma* mejoraron ambos parámetros (Yossen *et al.* 1998). Al estudiar el impacto de distintos materiales orgánicos incorporados al suelo sobre *Sclerotium cepivorum*, Yossen *et al.* (2006) observaron una producción creciente de esclerocios para suelo:nabillo (45:1 peso), suelo-gallinaza-trigo (21:3:1) y testigo. La germinación de esclerocios recuperados fue 80, 90 y 40%, respectivamente. Yossen *et al.* (2011) condujeron ensayos en plantaciones comerciales de papa para determinar el efecto de la incorporación de avena silvestre y biocontroladores solos o en mezclas, sobre el rendimiento e incidencia de sarna (*Streptomyces* spp.). Se incorporó el abono verde un mes y medio antes de la siembra y las semillas fueron sumergidas

en suspensiones líquidas de *Bacillus subtilis* B-235 o *Trichoderma harzianum* Th-1, o su combinación. El abono y la combinación abono/B-235 incrementaron el rendimiento y redujeron la incidencia de enfermedad. La incorporación de salvado de trigo, riego y posterior cobertura del suelo con plástico, permitió la obtención de plantas sanas en campos de lechuga y cebolla con antecedentes de *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia solani* (Yossen *et al.* 2004).

En suelos naturalmente infestados con *Sclerotium rolfsii* en Córdoba, luego de solarizar por 40 o 60 días, se previno la manifestación del marchitamiento de la lechuga (Olmos 1998) y la solarización sola o combinada más aserrín permitieron cosechar el mayor número de plantas (Olmos 2003). Se estudió la eficiencia de la solarización y la adición de agentes de biocontrol en el aumento de los rendimientos de remolacha (Yossen *et al.* 2003, Gasoni *et al.* 2008). En plantaciones comerciales, se trataron las semillas con *Bacillus subtilis* (B-96, B-238, B-235), *Trichoderma harzianum* (Th-1) o la combinación B-235/Th-1. La solarización incrementó el número y el peso fresco de plantas en suelos colonizados con *Rhizoctonia solani*. En algunos casos la combinación solarización-biocontrolador mejoró la eficiencia.

Se condujeron ensayos en invernáculo en Río Cuarto (Córdoba) para determinar la eficiencia de *Pseudomonas aurantiaca* aislada de la rizósfera de soja en el control de enfermedades fúngicas en plantas de pimiento y se determinaron las dosis mínimas de 10^8 y 10^9 ufc/ml (Estrada *et al.* 2000). Rovera *et al.* (2000) identificaron metabolitos antifúngicos producidos por *Pseudomonas aurantiaca*, como fenoles, fenil-metil éter, metilbenceno y carbonil. Pérez *et al.* (2012) evaluaron una cepa de *Trichoderma* para el control de *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani* en un campo comercial de papa en Córdoba. La aplicación a tubérculos antes de plantar bajó la incidencia de enfermedades y aumentó el rendimiento.

En Tucumán, Fernández *et al.* (1999) evaluaron el efecto de inocular semillas de pimiento híbrido con *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp. y *Beijerinckia* sp. sobre la podredumbre del cuello ocasionada por *Phytophthora* sp. y el vigor de las plantas, y todos los tratamientos registraron excelente germinación, desarrollo, vigor y sanidad. Puente *et al.* (2007) estudiaron en Castelar el efecto de *Azospirillum brasilense* sobre el crecimiento radical en plantines de tomate, los que a 20 días del trasplante, aumentaron la biomasa y materia seca. En Mar del Plata y Balcarce la inoculación de semillas de lechuga con *Azospirillum brasilense* mejoró la energía germinativa, favoreció el crecimiento radical (Scobal *et al.* 2007), aceleró la germinación de semillas envejecidas e incrementó la germinación (Carrozzi *et al.* 2007).

Hongn *et al.* (2002) evaluaron en Tucumán el efecto de desinfectantes químicos, enmiendas orgánicas y su combinación sobre la incidencia de marchitamiento por *Ralstonia solanacearum* en invernadero de tomate. Todos los tratamientos mostraron eficiencia. La aguja de pino presentó el mejor desempeño entre las enmiendas, las que en general retrasaron la aparición de la enfermedad y disminuyeron su incidencia. Romero *et al.* (2007) aislaron cepas nativas de *Trichoderma* de muestras de suelo en Tucumán y entre distintos soportes para su multiplicación como estimulador del crecimiento de hortalizas, se destacó el arroz.

En Santa Fe, Sillon *et al.* (2000b) aislaron las cepas de *Trichoderma* TC63

y TC94 de flores de tomate, que lograron controlar el crecimiento de *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor* e impidieron la formación de esclerocios en *Sclerotinia minor*, *in vitro*. Sillon *et al*. (2001a) obtuvieron aislamientos de *Trichoderma* que disminuyeron la incidencia de damping-off en plantines de tomate en macetas. Sillon *et al*. (2001b), al evaluar el antagonismo de aislamientos de *Trichoderma* spp. de distintos orígenes frente a *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor*, observaron mayor eficiencia para los de suelo y rizósfera.

Varaschin *et al.* (2000b) seleccionaron cuatro cepas de *Trichoderma* en Lomas de Zamora por su antagonismo *in vitro* frente a *Rhizoctonia solani*, para su uso en tomate. Varaschin *et al.* (2000a) observaron aumento del crecimiento de tomate con formulaciones de *Trichoderma* preseleccionadas contra patógenos del mal de los almácigos. Varaschin *et al.* (2005) probaron en La Plata que formulados líquidos de una cepa de *Trichoderma harzianum* y una de *Trichoderma koningii* aplicados en bandejas de producción de plantines de lechuga y en el suelo al trasplante disminuyeron la incidencia de *Sclerotinia minor* y el número de esclerocios viables. Se aislaron micoparásitos asociados a esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor* de suelo de cultivos de lechuga, siendo *Chaetomiun* y *Nigrospora* los géneros más frecuentes. Se encontraron diferencias entre establecimientos hortícolas en relación con la diversidad y abundancia de micoparásitos, esclerocios parasitados y esclerocios viables (Rollán *et al.* 2006). La aplicación de *Trichoderma harzianum* SM2007 al sustrato de siembra de lechuga incrementó la materia seca (Martínez *et al.* 2009).

En La Plata, Nico *et al*. (2003a) evaluaron el efecto del agregado de enmiendas orgánicas (alfalfa enfardada, harina de pescado y compost de champiñón) al suelo sobre la capacidad patogénica de *Rhizoctonia solani* en plántulas de poroto chaucha. Las dos primeras enmiendas redujeron la incidencia y severidad de enfermedad, atribuible al ascenso del pH y la liberación de amonio. Nico *et al*. (2003b) evaluaron el impacto de polvo de carne, estiércol de pollo y heno de alfalfa sobre la incidencia de *Sclerotinia minor* en lechuga. La reducción de la enfermedad dependió de la dosis de enmienda. La incidencia final fue menor para los tratamientos con heno de alfalfa y estiércol de pollo al 7,5% v/v. El heno de alfalfa causó la mayor destrucción de los esclerocios. Se obtuvieron 17 aislamientos fúngicos de las enmiendas, con mayor frecuencia para los géneros *Trichoderma*, *Aspergillus* y *Fusarium*. Nico *et al*. (2005) determinaron que la alfalfa enfardada produjo el máximo incremento en la abundancia de la micoflora del suelo. La supresión de *Rhizoctonia solani* en poroto chaucha puede atribuirse a la estimulación general de la micoflora. En la producción de menta, Arango *et al.* (2008) determinaron que la actividad promotora del crecimiento por *Glomus intraradices* se basa en un aumento de la absorción de fósforo y potasio.

El seguimiento de *Pseudomonas fluorescens* C7R12 (productora de sideróforos) en suelos rizosféricos en Rosario (Santa Fe) permitió observar colonización en un amplio rango de condiciones redox. Suelos levemente alcalinos y ambientes reductores favorecieron su supervivencia (Perotti *et al.* 2000). La bacteria afecta las condiciones redox en la rizósfera (Pidello 2000). En estudios sobre raíces de tomate, el 1% de las cepas de *Pseudomonas fluorescens* adheridas fue liberado posteriormente. El índice de adsorción aumentó con la concentración bacteriana, mientras que la germinación de las semillas fue

estrictamente proporcional a dicha concentración. La adhesión está influida por la fase de desarrollo del inóculo y depende del medio iónico, con un pH de óptimo a neutro (Vázquez *et al.* 2000).

En Luján (Buenos Aires), Carletti (2000) exploró el uso de cultivos líquidos de especies rizogénicas preseleccionadas. La aplicación en hidroponía de *Azospirillum* spp., *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., *Bradyrhizobium* spp. y *Pseudomonas* spp incrementó el peso seco aéreo en tomate y pimiento. Sobero y Rojo *et al.* (2006) evaluaron la eficiencia de antagonistas fúngicos y bacterianos como promotores del crecimiento en plantines de frutilla en invernáculo, aplicados por inmersión de raíces antes del trasplante. Se observaron diferencias significativas entre las cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* y el fertilizante químico en peso fresco y seco de las raíces. Sobero y Rojo *et al.* (2008) aplicaron el aislamiento Th-1 de *Trichoderma harzianum* vehiculizado en turba, en almácigos de acelga. El tratamiento con 0,6 g turba/15 g de semilla incrementó el peso fresco y seco de las raíces.

En Corrientes se evaluó el antagonismo *in vitro* de hongos saprófitos (*Trichoderma* spp., *Cladosporium* spp., *Trichotecium* spp. y *Aspergillus* sp.) frente a *Sclerotinia sclerotiorum*. Siete cepas de *Trichoderma* disminuyeron el crecimiento del patógeno en cultivos duales. Dos de ellas disminuyeron la germinación de esclerocios en cultivos subsiguientes y fueron seleccionadas para pruebas en invernáculo (Cúndom *et al.* 2002a, 2002b). Posteriormente se seleccionaron nueve cepas de *Trichoderma* antagónicas de *Rhizoctonia solani* de acuerdo al biocontrol y la producción de metabolitos no volátiles (Cúndom *et al.* 2003). En Bella Vista, Corrientes, se evaluó la capacidad antagónica de *Trichoderma* sp. aislado de un suelo de invernadero solarizado y una cepa comercial de *Trichoderma harzianum* contra tres patógenos de suelo. La cepa nativa mostró buena capacidad *in vitro* frente a *Sclerotium rolfsii*, *Pythium aphanidermatum* y *Phytophthora* sp. (Obregón *et al.* 2010). En estudios *in vitro*, Colombo *et al.* (2011a) evaluaron el efecto antagónico de *Trichoderma koningii* (comercial), *Trichoderma virens* y *Trichoderma harzianum* (de suelos de Corrientes) frente a *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* y se destacó el primero de ellos.

Colombo *et al.* (2008) estudiaron la eficacia de la solarización para el control de *Ralstonia solanacearum* en Bella Vista, Corrientes. En invernadero, se practicó la solarización a manto total, en lomos y con atmósfera controlada (invernadero cerrado sin cubierta plástica en el suelo). No se detectó al patógeno luego de los tratamientos. Colombo *et al.* (2005) estudiaron el efecto de residuos orgánicos como biofumigantes (hojarasca de pino, pasto de jardín, mantillo, repollo, estiércol vacuno y plantas de sorgo) aplicados antes de solarizar. Se controló 100% nematodos fitófagos y no hubo muerte de plantas por *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pythium* spp. y *Pseudomonas corrugata*.

En investigaciones en Salta, la cepa Tr4C de *Trichoderma* spp. inhibió *in vitro* del crecimiento de *Sclerotinia sclerotiorum* y protegió plantas de poroto en invernáculo mediante metabolitos volátiles (Zapata y Vecchietti 2002, Zapata *et al.* 2004a, 2004b). Zapata y Vecchietti (2001) asociaron el biocontrol de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma harzianum* TE11 y TE15 y *Trichoderma koningii* TE5 a metabolitos volátiles. Zapata *et al.* (2001) observaron disminución en el crecimiento y en la producción de esclerocios, pero no detectaron antibiosis en

cultivos duales entre *Sclerotium rolfsii* y TE11 o TE5. También en invernáculo se controló *Sclerotium rolfsii* en cultivos de poroto, con 2 kg/ha de *Trichoderma harzianum* PC1 (Andreani *et al*. 2001b), basado en antibiosis, hiperparasitismo y competencia (Andreani *et al*. 2001a). En Salta y Jujuy, Dobruskin *et al.* (2009) estudiaron el control de la podredumbre de raíz del poroto ocasionada por *Fusarium* spp. con *Pseudomonas fluorescens* y *Trichoderma* spp. Las cepas presentaron promoción del crecimiento vegetal y biocontrol por producción de ácido indol acético y sideróforos, cianogénesis y solubilización de fosfatos. Flores *et al.* (2009) obtuvieron 40 aislamientos rizosféricos de *Trichoderma*, que confrontaron con *Fusarium oxysporum* aislado de tomate. BT9, BT12 y BT7 fueron seleccionados entre los siete aislamientos con actividad sobre el crecimiento del patógeno. En Salta y Jujuy, Flores *et al.* (2012) estudiaron las interacciones entre tres aislamientos de *Fusarium* de plantas de tomate enfermas y 13 aislamientos de *Trichoderma* de plantas de tomate sanas, mediante la inoculación de plantines de tomate con *Trichoderma* y posterior riego con el patógeno. A los 20 días, el aislamiento B69 de *Trichoderma* presentó la mayor concentración en suelo.

En Jujuy, se aislaron seis cepas rizosfericas de *Trichoderma* de plantas de tomate en invernadero. En siembras apareadas en laboratorio, T-012 redujo el crecimiento de *Rhizoctonia solani, Sclerotinia sclerotiorum* y *Phytophthora infestans*; y T-017 controló *Rhizoctonia solani, Sclerotium rolfsii* y *Fusarium* spp. Se observó producción de metabolitos difusibles para T-017 y T-015 y metabolitos volátiles para T-018, T-012 y T-017, frente a distintos patógenos (Alvarez 2005). Alvarez y Rivera (2006) obtuvieron tres aislamientos de *Trichoderma* locales y los confrontaron contra *Fusarium* spp. aislado de semillas sanas de poroto. No se detectaron diferencias de inhibición del crecimiento, pero se destacó el aislamiento T02 por la producción de metabolitos no volátiles y volátiles. Como resultado de la inmersión de semillas, el biofermento de cama de pollo y el té de lombricompuesto incrementaron en el largo de la raíz en plántulas de zapallo (Abdo *et al.* 2008b) En almácigos de poroto chaucha, el té de mantillo, el biofermento de cama de pollo y *Trichoderma* T20 aumentaron el largo de la raíz; mientras que el té de mantillo y el té de compost actuaron sobre el crecimiento del tallo (Abdo *et al.* 2008a). Álvarez *et al.* (2008) detectaron elongación de la raíz principal de cebollas por té de compost y *Trichoderma* T20 y Aguado *et al.* (2008) observaron promoción del crecimiento radical de berenjena por *Trichoderma* T20.

En Salta y Jujuy, Ramírez *et al.* (2012b) detectaron aumento en el número de frutos cosechables de melón en tratamientos combinados de micorriza y *Trichoderma* al trasplante.

Aschkar *et al*. (2004), investigadores de Río Negro, evaluaron cepas rizosféricas de *Pseudomonas fluorescens* y *Azospirillum* sp. como promotoras del crecimiento de plantas de tomate en invernáculo. No se detectaron diferencias en la formación de racimos florales. Sin embargo se incrementó el rendimiento en frutos y masa vegetativa con la cepa T44.

Varaschin *et al.* (2006b) evaluaron un formulado de *Trichoderma koningii* para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* en macetas con lechuga, que solo o combinado con carbendazim redujo la incidencia. Bajo cubierta en situación de alta conductividad, Varaschin *et al.* (2006a) registraron reducción de la incidencia similar a la aplicación de agroquímicos. Varaschin *et al.* (2011) concluyeron que el

riego con una suspensión acuosa o la aplicación a semillas de Biagro TL aumenta la germinación y el desarrollo de plantines de tomate.

Investigadores de Salta, Córdoba y Entre Ríos compararon el efecto de la intersiembra poroto-*Brachiaria* sp. con monocultivo de poroto sobre las poblaciones de biocontroladores e incidencia de patologías de suelo. La consociación aumentó las poblaciones de Actinomycetes, *Trichoderma* spp. y *Gliocladium* spp, y redujo la incidencia de enfermedades al final del ciclo (Pérez Brandán *et al.* 2009).

En Mendoza, Lucero *et al.* (2010b) observaron que concentraciones de 50 ppm de aceite esencial de orégano fueron las mínimas necesarias para controlar el crecimiento y reproducción de *Phytophthora palmivora* y *Phytophthora nicotianae*. En otros ensayos, el aceite esencial de orégano, tomillo y romero fueron efectivos en las más altas concentraciones probadas para reducir el crecimiento de *Phytophthora nicotianae* (Lucero *et al*., 2010a). Boiteux *et al.* (2012a) realizaron ensayos de crecimiento de *Phytophthora capsici* en medio agarizado adicionado con extractos acuosos de hojas de chañar, jarilla, retortuño, aguaribay y pájaro bobo. Los extractos de jarilla y pájaro bobo al 20% disminuyeron el crecimiento de micelio, seguidos por aguaribay y retortuño y chañar. En otros estudios, Pizzuolo *et al.* (2012) trabajaron con los mismos extractos para el control de *Fusarium solani,* y observaron que el extracto de jarilla al 10, 15 y 20% redujo el crecimiento 22, 80 y 82% respectivamente.

En Buenos Aires, se obtuvieron aislamientos de *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus amyloliquefaciens* obtenidos de la rizósfera de planta de soja inhibieron el crecimiento de *Botrytis cinerea* y *Sclerotinia sclerotiorum*, *in vitro*. Se inocularon hojas de plántulas de *Brassica napus* pre-inoculadas con cada uno de los aislamientos y se observó protección sistémica contra ambos patógenos (Simonetti *et al*. 2012).

Cereales

Se evaluó en Rosario el potencial antagónico de aislamientos celulolíticos de rastrojos de trigo (*Trichoderma aureoviride*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium purpurogenum*, *Gliocladium roseum* y *Bacillus* sp.) contra patógenos de trigo (*Fusarium graminearum*, *Fusarium moniliforme-verticillioides* y *Fusarium moniliforme-sacchari*). *Penicillium purpurogenum* y *Bacillus* sp. inhibieron el crecimiento en todos los casos (Pioli *et al.* 1998). Borghi *et al.* (1989a,b) estudiaron las interacciones entre *Streptomyces* y hongos toxicogénicos sobre semillas de trigo, y detectaron que la bacteria no altera el poder germinativo y estimula el crecimiento de plántulas en suelo infectado con *Aspergillus parasiticus*. De 258 cepas evaluadas, el 35% fue antagónica de *Fusarium graminearum*, y sólo 10 no inhibieron a *Fusarium triticinum*. Fulgueira *et al.* (1998a,b) estudiaron la interacción de *Streptomyces* spp. de suelo con hongos toxicogénicos con el fin de prevenir la contaminación de semillas de cereales. Se seleccionaron cepas con capacidad antagónica frente a *Aspergillus parasiticus* (productora de aflatoxinas), *Fusarium triticinum* (T-2 y HT-2) y *Fusarium graminearum* (deoxinivalenol). *Streptomyces* sp. C/33-6 (seleccionada por su habilidad para afectar el crecimiento vegetativo y la germinación de conidios asociados a exometabolitos peptídicos, previno la infección de *Fusarium*

graminearum en trigo.

Se concluyó en Río Cuarto que la liberación de ácido cianhídrico y producción de sideróforos son los mecanismos de biocontrol para cepas de *Pseudomonas corrugata* aisladas de maíz y soja (Olmedo y Thüar 1998). Olmedo *et al.* (2000) y Thuar *et al.* (2000) incrementaron el crecimiento de raíces de maíz inoculadas con nueve cepas de PGPR de rizósfera y rizoplano. En La Plata, Varaschin *et al.* (2000a) observaron promoción del crecimiento de maíz mediante la aplicación de formulaciones de *Trichoderma* seleccionadas *in vitro* contra patógenos del mal de los almácigos. Andrada *et al.* (2008b) estudiaron en Paraná el efecto de la aplicación de *Trichoderma* en semillas o surcos de siembra de maíz. Se verificó un mayor efecto sobre la emergencia para la cepa de *Trichoderma* colombiana *y Trichoderma virens* nacional agregados a chorrillo a la siembra. Se recuperó *Trichoderma* sp. de la rizósfera, especialmente en los tratamientos con la cepa colombiana en el surco. Se verificó aumento en el largo de raíz en todos los tratamientos, mayor para la cepa colombiana aplicada en surco. *Trichoderma* mezclado con la semilla no mejoró el peso de raíz.

En La Plata, Dal Bello *et al*. (2002) evaluaron 52 bacterias y seis *Trichoderma* spp. de la rizósfera de trigo para el control del tizón de plántulas ocasionado por *Fusarium graminearum*, y no encontraron correlación entre los resultados *in vitro* e *in vivo*. Luego de la primera evaluación en invernáculo, se seleccionaron 25 bacterias y seis hongos. En ensayos posteriores sobresalió *Stenotrophomonas maltophilia* en la promoción del crecimiento, con una disminución de la incidencia de enfermedad no significativa. Tres cepas de *Bacillus cereus* y una de *Trichoderma harzianum* presentaron buen control en algunos cultivares. Perelló *et al.* (2011) aplicaron jugo de bulbos de ajo a semillas de trigo, ajustados según el contenido de alicina. No se afectó la germinación de las semillas, se redujo la contaminación fúngica endógena y la manifestación de enfermedad por *Bipolaris sorokiniana* y *Drechslera tritici-repentis*. La estimulación del crecimiento vegetal dependió de la dosis y el cultivar.

Pedraza *et al*. (2009) evaluaron el efecto de una mezcla de seis aislamientos de *Pseudomonas* fluorescentes sobre arroz en Entre Ríos, para el control de *Sclerotium oryzae* y *Rhizoctonia* spp. La aplicación disminuyó la incidencia y severidad de *Sclerotim oryzae* en microparcelas y la severidad de *Rhizoctonia* spp. en macroparcelas. Asselborn *et al*. (2012), investigadores de Entre Ríos y Buenos Aires, evaluaron 10 cepas de *Pseudomonas* para el control de germinación de esclerocios de *Sclerotium oryzae, Rhizoctonia solani, Rhizoctonia oryzae y Rhizoctonia oryzae-sativae,* patógenos del arroz, y encontraron variabilidad en su efecto, que llegó a anular la germinación en algunos casos.

En relación con el cultivo de trigo, Alcaraz Fálico *et al.* (2006) inocularon cepas de *Trichoderma* en tres suelos de Entre Ríos y encontraron diferentes grados de colonización. Astiz Gassó *et al.* (2011), investigadores de Buenos Aires, aplicaron el producto Biagro a semillas de trigo y cebadilla con curasemillas. La concentración de inóculo del biocontrolador no varió luego de 12 horas de oreado y decreció desde el día 7 hasta el día 21.

Rapazzo *et al*. (2012) aislaron cepas de *Bacillus* de raíces sanas de trigo provenientes de Buenos Aires, Entre Ríos y Santa Fe, con potencial para el control de *Rhizoctonia solani*. La cepa B4 resultó la más promisoria por el antagonismo en

cultivos duales y su potencial promoción de crecimiento vegetal por producción de ácido indol acético.

Barrera (2012) efectuó un estudio polifásico integral del género *Hypocrea/ Trichoderma* de Argentina que incluyó biodiversidad, morfología, filogenia y análisis de variabilidad de cepas biocontroladoras de *Trichoderma harzianum*. Se identificaron 38 especies (que incluyen cuatro especies nuevas, dos especies nuevas para Sudamérica, 17 especies nuevas para Argentina y la primera cita de la relación teleomorfo-anamorfo para *Trichoderma longibrachiatum*). Se caracterizaron 25 cepas nativas biocontroladoras de *Trichoderma harzianum*, con diferentes requerimientos nutricionales y alta similitud genética. Se encontraron numerosos marcadores moleculares de RAPID y de UP-PCR, varios específicos.

Pseudocereales

Noelting y Sandoval (2002) evaluaron *in vitro* en Lomas de Zamora (Buenos Aires) el control de *Sclerotinia sclerotiorum*, patógeno de amaranto, con cepas de *Trichoderma*. Todas redujeron el crecimiento, grosor del micelio y viabilidad de esclerocios por micoparasitismo.

Oleaginosas

En Paraná, dos aislamientos de *Trichoderma* inhibieron el crecimiento de *Sclerotium rolfsii*, *Diaporthe phaseolorum* y *Fusarium* sp. (Fálico de Alcaraz *et al.* 1994). *Bacillus subtilis* Bs3, aislado de base de tallos de girasol, fue efectivo antagonista de *Fusarium* spp. y *Phomopsis* spp., patógenos de semillas de soja. Se halló evidencia de un metabolito bacteriano que afecta el crecimiento de micelio (Fálico de Alcaraz *et al.* 1996a,b). Se probaron aislamientos de *Bacillus subtilis* Bs3 y de *Bacillus* spp. B8 y B9 contra *Fusarium* sp., que causa pudrición de semillas. Todos afectaron el crecimiento del patógeno, pero no la germinación de conidios a 24 y 26ºC. Se observó mejor actividad antagónica a 30 ºC, y mejor habilidad inicial para B9 (Fálico de Alcaraz *et al.* 1998). *Bacillus* sp. B3 y B9 promovieron el crecimiento de plantas de soja (Fálico *et al.* 2000). *Trichoderma* sp. Ht3 y *Bacillus* sp. B8 mejoraron la emergencia de plántulas y Ht3 incrementó la altura de plantas (García *et al.* 2002).

Trichoderma harzianum y *Gliocladium roseum* fueron seleccionados en La Plata por su habilidad para invadir esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* e inhibir la producción de apotecios en una cepa patógena de soja (Rollán *et al.* 1998). Varaschin *et al.* (2000a) estudiaron el efecto promotor del crecimiento de formulaciones de *Trichoderma* seleccionadas *in vitro* contra patógenos del mal de los almácigos, con resultados variables. Dos formulaciones estimularon el crecimiento de soja y girasol, con gran variabilidad. Ninguna de las cepas produjo daños en semillas o plantas.

Se estudió el comportamiento de 60 cepas nativas y exóticas de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* frente a *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* y *Fusarium* spp.) en Castelar. Sólo una presentó actividad antibiótica frente a todos los patógenos. *Sinorhyzobium meliloti* mostró antibiosis y mayor supresión del

crecimiento fúngico. Aumentó la supervivencia de plantas de soja y fue eficiente la formación de nódulos para dos de las cepas (Gurfinkel y Perticari 2000). Rojo y Gasoni (2011) caracterizaron aislamientos de *Trichoderma harzianum* en relación a su comportamiento frente a *Rhizoctonia solani* patógeno de soja. El crecimiento del patógeno fue retardado por metabolitos producidos en medio sólido. Ningún aislamiento de *Trichoderma harzianum* protegió semillas de soja frente a la cepa R144, y sí lo hicieron frente a R117.

En Buenos Aires, se aisló *Bacillus amyloliquefaciens* (BNM122) de esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum*, que demostró antagonismo *in vitro* frente a *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotinia minor*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* (Souto *et al.* 1999, Souto 2000). Se bacterizaron semillas de soja con BNM122 vehiculizado en compost y el antagonista protegió las plántulas de la infección por *Rhizoctonia solani*, a nivel similar al PCNB (Bachur *et al.* 2002). La actividad antagónica fue atribuida a la producción de lipopéptidos del tipo de iturinas y a la actividad sinérgica de un surfactante tipo surfactina (Correa *et al.* 2000). El aislamiento tipo para *Bacillus amyloliquefaciens* (DSM7T) presentó también biocontrol, con mecanismos biológicos idénticos (De Estrada 2003). Con el objetivo de aislar y seleccionar cepas de *Pseudomonas* y *Bacillus* capaces de desarrollar múltiples mecanismos de control de hongos patógenos del cultivo de soja, León *et al.* (2009) realizaron en Buenos Aires pruebas de antagonismo, detección de genes relacionados con la actividad antifúngica, detección de productos antifúngicos *in vitro* y ensayos de colonización de raíces. Como resultado, se seleccionaron *Pseudomonas fluorescens* BNM296 y *Bacillus amyloliquefaciens* BNM340, que protegieron plantas de soja contra el damping-off ocasionado por *Pythium ultimum* e incrementaron la tasa de emergencia. Por otra parte, las plantas inoculadas con *Pseudomonas fluorescens* presentaron niveles más altos de nitrógeno. Yaryura *et al.* (2008) detectaron que la colonización de plantas y semillas de soja por *Bacillus amyloliquefaciens* BNM339 es influida por quimiotaxis y producción de biofilms, probablemente causada por cambios cualitativos en la composición de los exudados radicales. Correa *et al.* (2009) determinaron que *Bacillus amyloliquefaciens* BNM122 (antagonista de *Rhizoctonia solani* de soja) no alteró la estructura ecofisiológica ni los perfiles fisiológicos de la comunidad bacteriana rizosférica, ni afectó la nodulación.

Sillon *et al.* (2002) evaluaron *Trichoderma* spp. R7/72 (de rizósfera de frutilla), LEC992 (de lombricompuesto), TC63 y TC94 (de antósfera de tomate) y encontraron buena capacidad de colonizar y destruir esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* para las cepas de suelo y control de carpogénesis para las cepas de antósfera en Paraná. Fálico *et al.* (2005) incorporaron aislamientos de *Trichoderma*, *Gliocladium roseum* y *Bacillus* durante la siembra de soja. *Trichoderma* HT3 y *Bacillus* B8 incrementaron la emergencia. Andrada *et al.* (2008a) evaluaron el efecto de *Trichoderma* spp. de dos orígenes sobre el damping-off y desarrollo de soja. La cepa colombiana inhibió el crecimiento de *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia* spp. En ensayos de campo en suelos con antecedentes de *Phytophthora, Rhizoctonia y Fusarium*, se aplicó *Trichoderma* spp. mezclado con la semilla o incorporado en el surco. La cepa colombiana mejoró la emergencia. Ambas incrementaron el largo de raíz, con diferencias para la cepa colombiana incorporada a la línea de siembra. Las parcelas tratadas nodularon mejor.

En varias localidades de Tucumán, Yasem de Romero *et al.* (2002) evaluaron la frecuencia de aparición de hongos fitopatógenos y antagonistas en semillas de soja y poroto bajo distintos manejos. Se recuperaron cepas de *Trichoderma*, especialmente de semillas procedentes de Rosario de la Frontera,y se observó la menor riqueza microbiana en muestras de suelos degradados con labranza convencional. Yasem de Romero *et al.* (2005) confirmaron el efecto antagónico *in vitro* de tres cepas de *Trichoderma* obtenidas de semillas de soja frente a *Fusarium graminearum*. Durán *et al.* (2005) detectaron sensibilidad de cepas de *Trichoderma* al curasemillas Fludioxonil-MetalaxilM, siendo la cepa B la más tolerante. En todos los casos se registró esporulación. Maza y Yasem de Romero (2009) evaluaron el efecto de cepas de *Trichoderma* sobre el crecimiento *de Diaporthe-Phomopsis*, *Fusarium semitectum* y *Corynespora cassiicola* aislados de semillas de soja. Se detectó efecto de metabolitos volátiles sobre el crecimiento de los patógenos. Las cepas TZ y TZ fueron las más eficientes.

Con respecto de la podredumbre carbonosa ocasionada por *Macrophomina phaseolina*, Perez Brandán *et al.* (2011) realizaron siembras de soja en Salta bajo distintos sistemas de manejo. La enfermedad sólo se presentó bajo labranza convencional, con correlación negativa con la actividad microbiana del suelo y la microbiota total.

Villata (2003) encontró en Buenos Aires que la cepa *Trichoderma* T13 de la rizósfera de plantas sanas de olivo afectadas por el síndrome de la rama seca (*Fusarium solani*), aumenta la altura del tallo, el peso fresco total, el peso seco total y el peso seco de las raíces.

Santos López *et al.* (2011) reportaron en Bahía Blanca el efecto del extracto de alperujo al 3,5% v/v sobre *Verticillium dahliae*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Los extractos crudo y filtrado redujeron el crecimiento y el autoclavado no inhibió, lo que sugiere el rol de los fenoles y la micobiota en el biocontrol.

Industriales

Vicentini y Formento (1992) realizaron estudios de control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* en Entre Ríos. Se logró protección cruzada a campo con cepas poco virulentas, y permanencia del control en un segundo año de cultivo, sin tratamiento.

En Chaco, Campagnac *et al*. (1992) observaron marcado antagonismo de aislamientos de suelo y plántulas frente al complejo de patógenos causante del damping-off del algodón, principalmente *Rhizoctonia solani* y *Pythium* spp., tanto *in vitro* como a campo.

El antagonismo de *Trichoderma harzianum* Thamp15 y Thamp25 y *Trichoderma koningii* Tkcs8 frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *nicotianae* se evaluó *in vitro* en Salta (Zapata *et al.* 1998). En Buenos Aires, se estudiaron comunidades microbianas de suelo a través de la utilización de fuentes de carbono (Kahn *et al.* 2004). Se observó alteración de las habilidades funcionales en un monocultivo de tabaco al introducir *Trichoderma harzianum* R3P2 y se comprobó una baja bioactividad para el monocultivo. Si bien la introducción del biocontrolador

disminyó el número de compuestos metabolizados, estimularía el crecimiento de determinadas poblaciones bacterianas (Gasoni *et al.* 2008). Jousset *et al*. (2006) realizaron estudios básicos sobre la potencial permanencia de la cepa *Pseudomonas fluorescens* CHA0 aislada de rizósfera de tabaco en Suiza. Se sugiere que la producción de metabolitos secundarios contribuye a eludir el ataque de protistas a la cepa y así mantener su población.

En General Cabrera y Manfredi (Córdoba) se combinaron rotaciones y labranzas y se evaluaron las poblaciones de Actinomycetes, *Trichoderma* spp. y *Gliocladium* spp. y la incidencia de enfermedades fúngicas de suelo en maní. La secuencia de cultivos tuvo mayor incidencia que el sistema de labranza-siembra sobre la dinámica de los biocontroladores de suelo, con destacada influencia del maíz como base de la rotación seguido por soja o maní, especialmente en labranza conservacionista (Vargas Gil *et al.* 2003, 2005). Para el control biológico del complejo *Fusarium solani*, que ocasiona la podredumbre parda de la raíz de maní, Rojo *et al.* (2005) evaluaron cepas de *Trichoderma* en Río Cuarto. *In vitro*, se determinó la eficiencia de *Trichoderma harzianum* TEM 3636 y *Trichoderma longibrachiatum* TEM 3625. En un campo experimental inoculado y en un campo comercial con antecedentes, sembrados con semillas de maní microbiolizadas, *Trichoderma harzianum* fue la más efectiva en el control.

Con el fin de detectar cambios producidos por el uso, Montechia *et al.* (2011) caracterizaron suelos vírgenes, monocultivados con caña de azúcar y soja, deforestados y cultivados con soja; y vírgenes adyacentes a cultivos de caña y soja; todos en el Noroeste del país. Se detectó que deforestación y agricultura incrementan el pH y disminuyen la biomasa microbiana y el contenido de carbono orgánico. Además, la agricultura altera la estructura y fisiología de las comunidades microbianas. En suelos agrícolas, habría comunidades menos eficientes en el crecimiento que podrían reducir el almacenamiento de carbono.

Berruezo *et al.* (2011b) realizaron estudios de campo en Salta para evaluar el efecto supresor de bagazo-cachaza sobre *Rhizoctonia solani* en tabaco. La enmienda redujo la incidencia y severidad y mejoró el crecimiento vegetal. Berruezo *et al.* (2011a) observaron disminución del crecimiento de *Rhizoctonia solani* en placas con extracto de suelo enmendado. Mercado Cárdenas *et al.* (2011) determinaron el potencial de la enmienda orgánica en San Pedro para incrementar el rendimiento y bajar la incidencia.

Ramírez *et al.* (2012a), en Corrientes, seleccionaron aislamientos de rizósfera y semillas de yerba mate para controlar *Fusarium* spp., que fueron sometidos a pruebas de supervivencia y adaptabilidad en suelos rojos. *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Pseudomonas oryzihabitans*, *Burkholderia caledonica* y *Pantoea* sp. resultaron los más eficaces.

Aromáticas - Medicinales

Sandoval *et al.* (2002), investigadores de Lomas de Zamora, La Plata y Entre Ríos, estudiaron la estabilidad de cepas de *Trichoderma harzianum* del rizoplano de aromáticas, durante el almacenamiento en sustratos estériles. En trigo-arroz no hubo contaminación, en centeno hubo desarrollo de *Aspergillus y*

Penicillium y pobre desarrollo de los antagonistas, y en trigo-arroz-centeno hubo contaminación con *Aspergillus*, *Penicillium* y levaduras. Sandoval *et al.* (2006a) clasificaron 34 aislamientos de *Trichoderma*. Sandoval *et al*. (2006b) controlaron *Fusarium oxysporum* patógeno de salvia, romero y albahaca con una cepa de *Trichoderma* aislada de humus de lombriz.

Frutales

Se seleccionaron en Buenos Aires, por su resistencia térmica, 60 aislamientos de bacilos esporulados aerobios de suelo. Se evaluó su capacidad bicontroladora por cultivo dual con una cepa de *Fusarium* causante de podredumbre de raíces en arándano. Dos aislamientos de *Bacillus* redujeron significativamente el crecimiento del patógeno (Rossi *et al.* 2006).

Florales - Ornamentales

En Buenos Aires, se observó el antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y producción de metabolitos volátiles y no volátiles (Wright *et al.* 1996). También se evaluaron aislamientos bacterianos para el control del patógeno (Boschi *et al*. 1996). Se aisló *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium graminearum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Epicoccum* sp., cuatro hongos y dos bacterias no identificados, de plantas asintomáticas de clavel en cultivos afectados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en La Plata. *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme* y *Trichoderma harzianum* presentaron el mejor control del marchitamiento del clavel. No se encontró correlación entre resultados *in vitro* e *in vivo* (Wolcan *et al.* 1998). Se estudió la dinámica poblacional de los antagonistas *Fusarium oxysporum* y *Pseudomonas fluorescen*s y el patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Se introdujeron las cepas mutantes no patogénicas *Fusarium oxysporum* Fo47b10 (resistente al benomyl) y *Pseudomonas fluorescens* C7R12 (resistente a la rifampicina) en un suelo autoclavado, aisladamente y en mezclas. A 120 días, *Pseudomonas fluorescens* C7R12 no presentó actividad. La población de Fo47b10 incrementó en el suelo, rizósfera y raíces en presencia del patógeno y estuvo relacionada con el control de la enfermedad (Lori *et al.* 1998b). Posteriormente, se inocularon gajos de clavel con Fo47b10 y C7R12 antes de plantarlos en suelo proveniente de un cultivo de clavel. La incidencia de enfermedad disminuyó con la mezcla de antagonistas y con la cepa no patogénica. Fo47b10 mostró alta capacidad de colonización de suelo. El antagonismo no estuvo basado en la colonización del hospedante (Lori *et al.* 1998c). Lori *et al.* (2004) caracterizaron cepas no patógenas de *Fusarium oxysporum* relacionadas con el clavel mediante grupos de compatibilidad vegetativa y estudios moleculares. En Santa Fe, se confrontaron *Trichoderma* HT3 y HT4 con *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* y HT3 manifestó capacidad de control cuando fue inoculado simultáneamente con el patógeno ó 24-48 horas después (Sillon *et al.* 1998). En estudios de biodiversidad en suelos nunca cultivados con clavel se aislaron *Fusarium*, *Penicillium, Trichoderma* y *Rhizoctonia* spp. En suelos

con un año de cultivo, aumentó la frecuencia de aislamientos de *Fusarium*, *Penicillium* y *Trichoderma* spp., y disminuyó la de *Rhizoctonia* spp. En la microflora de suelos de monocultivo predominó *Fusarium* spp., lo que permitió concluir que el monocultivo disminuye la biodiversidad en suelo, beneficia la presencia de cepas de *Fusarium* y afecta negativamente a *Trichoderma* y *Penicillium* (Sillon *et al.* 2000a).

Se estudiaron prácticas de manejo integrado en un invernáculo comercial de clavel en La Plata. Se estudió la población nativa de *Fusarium* spp. luego de la solarización. Se incorporó *Pseudomonas fluorescens* C7, *F. oxysporum* no patogénicos Fo47 y Fox3 y *Trichoderma harzianum* al sustrato días antes y simultáneamente con la plantación de gajos. No se detectó el patógeno *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* a una profundidad de 5 cm en parcelas solarizadas, y se observaron pocos propágulos a 10 y 15 cm. La incidencia de la enfermedad disminuyó con la solarización y con la solarización más antagonistas (Lori *et al.* 1998a). En relación con métodos de esterilización reductora del suelo en Córdoba, la incorporación de salvado de trigo, riego y posterior cobertura del suelo con plástico, permitió disminuir la incidencia de fusariosis en clavel en invernáculo en dos años (Yossen *et al.* 2004).

Sillon y Fálico (1999) estudiaron en Santa Fe la capacidad inhibidora *in vitro* de un lombricompuesto de residuos de conejeras sobre patógenos en almácigos de especies hortícolas y florícolas. Se obtuvieron aislamientos de *Trichoderma* spp. que disminuyeron el crecimiento y producción de conidios de *Fusarium oxysporum* y *Fusarium graminearum*; y disminuyeron el crecimiento y producción de esclerocios de *Sclerotinia minor* y *Sclerotinia sclerotiorum*.

La aplicación de *Trichoderma* spp. en cultivos de violeta de los Alpes en Córdoba disminuyó la incidencia de *Fusarium oxysporum* (Orecchia y Matoff 2003).

La micorriza nativa *Glomus intrarradices* inoculada al sustrato al momento del trasplante mejoró el desarrollo (número de hojas, contenido de clorofila, altura) y el estado sanitario (respuesta a *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*) de pensamiento en invernáculo en Buenos Aires (Bompadre *et al.* 2001, Rivera *et al*. 2002b).

En Buenos Aires, se evaluó la eficacia de caldo de ajo y extracto hidroalcohólico de ajo para el control de *Penicillium* sp., patógeno de bulbos de tulipán. El caldo de ajo al 75% v/v inhibió el crecimiento del patógeno (Benva *et al.*, 2004). Petrone *et al.* (2006) monitorearon en Buenos Aires el efecto de caldos de ortiga sin autoclavar y autoclavado sobre el crecimiento de *Rhizoctonia solani* y su infección en almácigos de alegría del hogar. En ensayos *in vitro* observaron control del crecimiento del micelio. En almácigos, no se detectó control de enfermedad, pero sí adelanto de germinación y mejor crecimiento de plántulas.

Cuellas *et al.* (2011) evaluaron en La Plata el efecto del formulado de *Trichoderma* Biagro sobre la marchitez ocasionada por *Phytophthora* sp. en gerbera. Se registró un aumento en la población de *Trichoderma* en el suelo, pero no se detectaron diferencias en la incidencia de la enfermedad. Cuellas y Fernández (2012) observaron efecto positivo de la aplicación de *Trichoderma* cuando el nivel de incidencia fue elevado.

En la búsqueda de alternativas para el control de *Fusarium oxysporum* f.sp.*cyclaminis,* Wright *et al*. 2013b observaron que el caldo de cebolla produjo

una reducción del crecimiento del patógeno, con mayor efectividad para las diluciones 8.3, 16.7 y 25% v/v, mientras que la eficacia del caldo esterilizado fue marcadamente menor que la de C, lo cual sugiere un rol importante de los microorganismos de caldo en el biocontrol.

Forestales - Arbolado urbano

Se llevaron a cabo prácticas de solarización en dos sistemas productivos de Saladillo y Tandil, Buenos Aires. La incidencia de *Fusarium* spp. y *Pythium* spp. sobre plantas de *Eucalyptus viminalis* disminuyó marcadamente y se observó una promoción del crecimiento vegetal y disminución de la colonización de las raíces por micorrizas (Salerno *et al.* 1998).

Se determinó en La Plata que la competencia es modo de acción relacionado con la protección biológica contra *Fusarium oxysporum* (patógeno de eucalipto) por *Fusarium oxysporum* Fo47 (no patogénica). La conservación en los tejidos de la cepa no patogénica se caracterizaría por un aumento de cantidad o actividad de cuerpos de Golgi, que exportan pectina sintetizada *de novo* a las paredes celulares. Las pectinas no esterificadas generadas formarían puentes de calcio, para estabilizar la laminilla media y previenen la hidrólisis de los componentes de la pared por las enzimas pectinolíticas del patógeno (Salerno *et al.* 2000).

Control de patologías aéreas y promoción del crecimiento vegetal

Hortalizas

Castañón y Cúndom (1997) observaron parasitismo de *Dicma pulvinata* sobre *Fulvia fulva*, agente causal del moho de las hojas del tomate, en cultivos bajo cobertura plástica en Corrientes. Colombo *et al.* (2011b) disminuyeron la manifestación de oidiopsis del pimiento (*Leveillula taurica*) con 350 cc/hl de un fungicida obtenido del árbol de té en invernáculo, luego del mes del trasplante. En La Plata, luego de estudiar el crecimiento de antagonistas promisorios para el control de *Alternaria solani* (agente causal del tizón del tomate) en presencia de clorotalonil y manzate, se concluyó que *Rhodotorula* sp. y *Fusarium semitectum* podrían ser utilizados en programas de manejo integrado de enfermedades (Mónaco *et al.* 1998a). Al evaluar la variación de la micoflora saprobia del filoplano del tomate, los valores más altos se encontraron en las hojas inferiores del invernáculo testigo y los más bajos en las hojas superiores de un invernáculo comercial. La posición de la hoja influyó en la abundancia de algunas especies (Mónaco *et al*. 1999). Larrán *et al.* (2005) evaluaron la acción fungistática *in vitro* del aceite esencial de *Melaleuca alternifolia*, bicarbonato de sodio y un formulado a base de ácidos grasos vegetales. Se observó que el formulado es promisorio

para el control de *Alternaria alternata*, agente causal de la podredumbre negra del tomate.

Dal Bello *et al.* (2005) obtuvieron 100 aislamientos de levaduras del filoplano de tomates y las confrontaron con *Botrytis cinerea* en La Plata. Dos de las cepas que inhibieron la germinación del 50% de los conidios, redujeron el desarrollo de enfermedad sobre frutos en cámaras. Mónaco *et al.* (2006, 2009) aislaron hongos filamentosos de hojas, frutos y flores de Solanáceas cultivadas y espontáneas. En cultivos duales, 12 de 300 aislamientos afectaron el crecimiento de *Botrytis cinerea*. *Epicoccum nigrum* cepa 126, *Trichoderma harzianum* (110, 118, 248 y 252) y cuatro cepas de *Fusarium* spp. disminuyeron la germinación de conidios. En cámaras de crecimiento, *Epicoccum nigrum* (27), *Fusarium equiseti* (22, 105) y *Trichoderma harzianum* (118, 252) redujeron el diámetro de las lesiones en tomates. En invernáculo, aunque no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos y testigos, *Fusarium equiseti* (105), *Epicoccum nigrum* (27) y *Trichoderma harzianum* (118) disminuyeron la enfermedad. Dal Bello *et al.* (2008) continuaron estudios de biocontrol de la podredumbre gris de los tomates a través de 300 levaduras aisladas de Solanáceas. Se seleccionaron 14 cepas de *Rhodotorula rubra* y *Candida pelliculosa* con un fuerte antagonismo *in vitro*. Se desarrolló una técnica de aplicación consistente en la colocación de discos de papel de filtro esterilizado embebidos en suspensiones de los antagonistas y el patógeno sobre heridas en frutos. Once aislamientos redujeron el diámetro de la lesión y *Rhodotorula rubra* 231 inhibió la infección. En otro estudio, Vera Bahima *et al.* (2009) obtuvieron 100 cepas del filoplano de tomate, y seleccionaron las 25 más eficientes en cultivos duales. Ocho cepas (*Trichoderma harzianum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria alternata* y dos no identificadas), la mayoría obtenida de producciones orgánicas, redujeron el tamaño de las lesiones sobre tomates. Lampugnani *et al.* (2009) plantearon como objetivo evaluar la actividad de extractos crudos de ajo y cebolla para el control de *Botrytis cinerea in vitro* y del moho gris del tomate en invernáculo. El extracto más efectivo *in vitro* fue el de ajo, que redujo el tamaño de las colonias y la germinación de conidios. Sobre plantas, el extracto pulverizado antes de inocular el patógeno redujo la incidencia y severidad.

En La Plata, Cremaschi *et al.* (2011) observaron que la aplicación de *Trichoderma harzianum* (5CC, 118 y SM2007) al trasplante y a los 21, 55 y 85 días, sobre tomate conducido bajo invernadero no produjo diferencias en el rendimiento ni la cantidad de frutos obtenidos. Vita *et al.* (2007) inocularon *Azospirillum brasilense* en la base de plantas de tomate Platense 20 días luego del trasplante y detectaron un incremento del número de tomates/planta y peso/fruto.

En Luján, Sobero y Rojo y Carleti (2009) aplicaron *Bacillus subtilis* P6C1, *Bacillus coagulans* P8C1 y P8C5 y *Paenibacillus polymyxa* B4317 a semillas de tomate perita por inmersión, y observaron mayor número de hojas en plantines provenientes de semillas tratadas con *Paenibacillus polymyxa* y mayor altura en los tratados con *Bacillus coagulans* P8C1.

Sobre plantines de frutilla en macetas en un invernadero en Luján, disminuyó la incidencia de *Colletotrichum* spp. mediante la aplicación de las cepas *Trichoderma* spp. Th-1 y T6C, *Bacillus cereus* 96 y *Bacillus pumilis* 235 (Sobero y Rojo 2002). La aspersión de plantas de frutilla con suspensiones de Th-1 y T6C disminuyó la incidencia de pudrición de frutos por *Botrytis cinerea* (Sobero y Rojo

2003). En Tucumán, se realizaron varios estudios de control de la antracnosis de la frutilla causada por *Colletotrichum acutatum*. Salazar *et al.* (2007) observaron que la cepa avirulenta de *Colletotrichum fragariae* F7 creció sobre las plantas sin ocasionar síntomas y en laboratorio no mostró antagonismo frente al patógeno. Ello permitió inferir que desencadena una respuesta de defensa contra *Colletotrichum acutatum*, luego confirmada por la detección de una respuesta oxidativa dentro de las 4 horas de la inoculación con F7 y alteraciones anatómicas asociadas con mecanismos de defensa hasta 50 días. La respuesta de resistencia a la infección sería elicitada por compuestos difusibles producidos por F7. *Azospirillum brasilense* se presenta naturalmente en plantas de frutilla; fija nitrógeno, produce sideróforos e indoles (Pedraza *et al.* 2007). Bajo condiciones de baja disponibilidad de hierro, Totora *et al.* (2011) detectaron diferentes niveles y tasas de producción de sideróforos para diferentes cepas *de Azospirillum brasilense*, de acuerdo a su origen. Las cepas REC2 y REC3 secretan sideróforos del tipo catecol que incluyen ácido salicílico, detectado por estudios cromatográficos y espectrometría de masas. Dichos sideróforos mostraron actividad contra *Colletotrichum acutatum in vitro* e *in vivo*, lo que sugiere que algunas cepas de *Azospirillum. brasilense* podrían actuar como agentes de biocontrol para prevenir el desarrollo de la antracnosis en frutilla. Posteriormente, Totora *et al.* (2012) caracterizaron la resistencia sistémica inducida, a nivel bioquímico y molecular determinando contenido de compuestos fenólicos, deposición de calosa y contenido de ácido salicílico en hojas, proteínas relacionadas con la patogénesis, quitinasas y glucanasa.

En Corrientes, Lovato Echeverría (2009) obtuvo una colección de aislamientos de *Trichoderma* spp. de hojas, flores y rizósfera de plantas sanas de frutilla y evaluó su potencial antagónico *in vitro* contra *Botrytis cinerea*. Como resultado, encontró diferencias en la disminución del crecimiento del patógeno. Todos los aislamientos presentaron formación de clamidosporas y micoparasitismo y algunos, antibiosis, destacándose tres de ellos. En Luján, Sobero y Rojo *et al*. (2010) redujeron la incidencia de moho gris en frutillas con la aplicación de la cepa P6C1 de *Bacillus* sp. Colombo *et al.* (2005) estudiaron el efecto de residuos orgánicos como biofumigantes (hojarasca de pino, pasto de jardín, mantillo, repollo, estiércol vacuno y plantas de sorgo) aplicados antes de solarizar en Bella Vista (Corrientes). No se detectaron diferencias para las áreas bajo la curva de enfermedades del tomate ocasionadas por *Alternaria dauci* f.sp. *solani*, *Erysiphe* spp. y *Leveillula taurica.*

Sobero y Rojo *et al.* (2000) detectaron que la inmersión de raíces de frutilla en formulaciones líquidas de *Bacillus cereus, Bacillus pumilus* o *Trichoderma harzianum* + *Bacillus pumilus* adelantó el tiempo de cosecha dos semanas. Lovaisa *et al.* (2010) evaluaron en Tucumán la posibilidad de sustituir la fertilización nitrogenada en el cultivo de frutilla mediante la aplicación de una cepa local de *Azospirillum brasilense*. La combinación urea-bioinoculante generó un rendimiento mayor respecto del manejo convencional.

El rendimiento del cultivo de rúcula en suelo solarizado aumentó casi tres veces en un experimento en un invernáculo comercial en Buenos Aires. El riego con *Trichoderma koningii* Tk2 a la siembra no tuvo efecto en el crecimiento vegetal (Wright *et al*. 2004).

Investigadores de Luján evaluaron la promoción de crecimiento de

Trichoderma harzianum Th-1 aplicado en semillas y plantas de lechuga en ensayos a campo y observaron adelanto en la emergencia de las plántulas (Liewiski *et al.* 2007). En trabajos con cuatro cepas de *Trichoderma* en Jujuy, Bonillo *et al.* (2007) observaron un incremento en el porcentaje de germinación de lechuga criolla para las cepas T-9, T-10 y T-17, y aumento en el porcentaje de plántulas normales para las cuatro cepas. T-4 y T-17 incrementaron la altura de plántulas, y T-17 incrementó el largo de raíz. En La Plata, Martínez *et al.* (2007) trasplantaron espinaca, lechuga y apio a suelo con *Trichoderma harzianum*, y detectaron aumento en el rendimiento de lechuga. Mediante aplicaciones de *Trichoderma* sp. con diferentes metodologías al trasplante de un cultivo de lechuga en Tucumán, Minervini *et al.* (2008) observaron que la irrigación resultó promisoria en relación con el número y peso fresco de hojas, y peso fresco total. Martínez *et al.* (2008a,b) ajustaron la dosis de aplicación de *Trichoderma harzianum* SM2007 e incrementaron el peso seco de la parte aérea y el área foliar de plantas de lechuga.

Se exploró el potencial del quitosano para el control de podredumbres pos-cosecha de zapallo anquito en Bahía Blanca. La aplicación de quitosano y ácido acético sobre heridas antes de inocular los patógenos, disminuyó marcadamente los síntomas. Ambos tratamientos parecen inhibir la infección fúngica y el desarrollo de la pudrición por *Fusarium acuminatum*, y el desarrollo de la pudrición para *Didymella bryoniae* (Cifone *et al.* 1999). El quitosano calcáreo incrementó la proporción de frutos sanos en dos años subsiguientes (Cifone *et al.* 2001). El tratamiento con hipoclorito de sodio previo a la aplicación de quitosano incrementó la incidencia (Cifone *et al.* 2000).

Echarte *et al.* (2008) evaluaron en Mar del Plata la capacidad competitiva de la microflora nativa aislada de hojas de lechuga frente a la contaminación con *Escherichia coli.* Aplicada sobre lechuga contaminada y estresada por tratamiento térmico, manifestó acción bacteriostática hasta las 24 horas y bactericida a las 48 horas. Abalos *et al.* (2008) observaron protección contra *Escherichia coli* por la microflora nativa de lechuga y zanahoria, luego de la aplicación, procesamiento mínimo y almacenamiento de los vegetales a 20 ^{o}C; efecto enmascarado a 8 ^{o}C. Abalos *et al.* (2008) observaron que la aplicación de oleorresinas de orégano y romero al 1% controlan *Escherichia coli* sobre lechuga y zanahoria mínimamente procesadas y almacenadas a 8 y 20^{o}C, pero afectan la aceptabilidad sensorial del producto. Talay *et al.* (2010) estudiaron el efecto biopreservante de compuestos de granada, resveratrol, polen, propóleo, aceite esencial del árbol de té y romero sobre la microflora nativa de brócoli y sobre el crecimiento de *Escherichia coli, Listeria, Aeromona* y *Erwinia* sobre productos vegetales procesados en Mar del Plata. Granada, resveratrol, polen y árbol de té inhibieron *in vitro* la microflora nativa y los patógenos estudiados. Los productos bioactivos se asperjaron sobre brócoli mínimamente procesado que se refrigeró durante 7 días. Resveratrol, granada, polen y árbol de té mostraron efectos antimicrobianos sobre la flora nativa. Mediante la aplicación de quitosano a semillas de lechuga manteca, Goñi *et al.* (2010) observaron en Mar del Plata la disminución de las poblaciones de bacterias mesófilas totales, coliformes, hongos y levaduras, con efecto residual acotado para mesófilas totales; y efecto bactericida sobre *Escherichia coli.* A pesar de estos resultados alentadores, el tratamiento por inmersión de semillas en una solución de 10 g/l en ácido acético al 1% disminuyó la germinación. Yommi *et*

al. (2005), investigadores de Balcarce y Buenos Aires, observaron un retraso en la infección por *Alternaria alternata* mediante la aplicación de quitosano el día anterior a la cosecha de frutos de tomate.

Sobero y Rojo *et al.* (2008) aplicaron el aislamiento Th-1 de *Trichoderma harzianum* vehiculizado en turba en un ensayo en almácigos de acelga en Luján. El tratamiento con 0,6 g turba/15 g semilla incrementó el peso seco aéreo. Grosso *et al.* (2010) en General Pico (La Pampa) evaluaron el efecto de formulados (*Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* B235 y *Azospirillum brasilense* AZ39) y tiempo de aplicación sobre la productividad en cultivos de lechuga y acelga. En todos los casos, las aplicaciones produjeron un aumento en el rendimiento.

Frayssinet *et al.* (2011) evaluaron la actividad antifúngica del extracto acuoso de lombricompuesto sobre *Botrytis cinerea* y *Corynespora cassicola* en albahaca. En laboratorio, el té de compost al 3,5% v/v afectó el crecimiento de ambos patógenos. En invernadero, la pulverización de plantas de albahaca con el té de compost luego de la inoculación disminuyó la severidad de daños por *Botrytis cinerea*, sin fitotoxicidad.

Rodríguez y Valdez (2011) estudiaron en Mendoza el efecto de *Trichoderma* spp. y micorrizas sobre la manifestación de *Fusarium* spp. en poscosecha de ajo. No se encontraron diferencias entre tratamientos para el rendimiento pero el biocontrolador a dosis doble disminuiría la incidencia de pudrición en poscosecha. *Trichoderma* inhibió el desarrollo *in vitro* de *Fusarium proliferatum* aislado de ajo. Las micorrizas no tuvieron efecto sobre la colonización de bulbillos por *Fusarium*.

Cereales

En estudios en La Plata, se evaluó la microflora del filoplano del trigo (*Penicillium lilacinum, Penicillium crysogenum, Nigrospora sphaerica, Stemphyllium* sp., *Epicoccum nigrum, Bacillus* sp., *Cryptococcus* sp., *Rhodotorula rubra* y *Fusarium moniliforme* var. *anthophilum*) para el control de patógenos foliares en trigo. *Penicillium lilacinum, Nigrospora sphaerica* y *Stemphyllium* sp. presentaron la mayor inhibición *in vitro* respecto a *Alternaria tritici-maculans, Bipolaris sorokiniana, Drechslera tritici-repentis* y *Septoria tritici* (Perelló *et al*. 1998). Se evaluaron *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Bacillus licheniformis* NRRL B-1001, *Bacillus pumilus* (ATCC 7061), *Bacillus subtilis* ATCC 10783, *Brevibacillus laterosporus* BLA 170 y *Paenibacillus polymyxa* NRRL B-510 para el control de *Alternaria triticimaculans, Bipolaris sorokiniana, Drechslera tritici-repentis* y *Septoria tritici*. En invernáculo, *P. polymyxa* y *Bacillus cereus* fueron los más efectivos en el control de *Septoria tritici* y *Alternaria tritici-maculans*, respectivamente; y *Brevibacillus laterosporus* fue un buen biocontolador, particularmente de *Drechslera tritici-repentis* y *Bipolaris sorokiniana*. La supervivencia por medio de endosporas les daría una ventaja adicional (Alippi *et al*. 1998, 2000). Se realizaron estudios de las interacciones entre la microflora saprófita y patógenos necrótrofos del trigo *Alternaria grupo infectoria, Bipolaris sorokiniana, Drechslera tritici-repentis* y *Septoria tritici* (Perelló 1998, Perelló *et al*. 2001c). La germinación de esporas de *Septoria tritici* y *Bipolaris sorokiniana* disminuyó significativamente en presencia de *Epicoccum nigrum, Bacillus* sp.,

Cryptococcus sp., *Rhodotorula rubra*, *Penicillium lilacinum*, *Fusarium moniliforme* var. *anthophilum* y *Nigrospora sphaerica*. Se detectaron diferentes tipos de interferencia entre hifas para cada combinación patógeno-antagonista. La mayoría de las cepas redujo el área bajo la curva de enfermedad en invernáculo y la eficiencia dependió del momento de inoculación de los biocontroladores respecto de los patógenos. Mónaco *et al*. (2004) observaron reducción del crecimiento *in vitro* de *Alternaria alternata* y *Bipolaris sorokiniana*, patógenos del escudete negro en trigo. Se observó plasmólisis y vacuolización de hifas. Se efectuaron inoculaciones en antesis; y no se alteró la incidencia de la enfermedad ni la emergencia de plántulas provenientes de las semillas cosechadas.

Trichoderma harzianum (Th15, Th11, Th2, Th81 Th7, Th13, Th8, Th5), *Trichoderma aureoviride* (Ta, Ta 100) y *Trichoderma koningii* (Tk11, Tk6) fueron confrontados con *Drechslera tritici-repentis* en laboratorio e invernáculo (Perelló *et al.* 2001a) en La Plata. Se observaron fenómenos de hiperparasitismo y plasmolización de las hifas y conidios de los patógenos (Perelló *et al.* 2002). Perelló *et al*. (2003) observaron mecanismos de antagonismo *in vitro* en cultivos duales de *Trichoderma* spp. y *Drechslera tritici-repentis*. En invernáculo, siete cepas de *Trichoderma* spp. redujeron la severidad de mancha amarilla en plantas de trigo. Luego de ensayos a campo se concluyó que *Trichoderma harzianum* Th2 y Th5 son promisorios para el control de *Drechslera tritici-repentis* en trigo. Los tratamientos de semilla resultaron más efectivos que la pulverización de las plantas (Perelló *et al.* 2001b).

Dal Bello *et al.* (1994) realizaron en La Plata estudios de control del tizón de plántulas de trigo (*Bipolaris sorokiniana*) mediante la aplicación de *Trichoderma aureoviride, Trichoderma hamatum, Trichoderma harzianum, Trichoderma koningii, Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma pseudokoningii*, en laboratorio e invernáculo. *Trichoderma koningii* fue la más vinculada con fallas de germinación de semillas. Disminuyó el número de plántulas vivas y con lesiones de cuello en las semillas tratadas con antagonistas. Dal Bello *et al.* (1995) estudiaron la eficacia de *Epicoccum purpurascens*, *Gliocladium roseum*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* de rizósfera de trigo y no encontraron relación entre el control de la enfermedad bajo condiciones controladas y a campo. Posteriormente se evaluaron en invernáculo antagonistas aplicados a semillas, para su protección contra la infección de las plántulas. Se aislaron 120 rizobacterias de suelos cultivados con trigo y se evaluaron mediante cultivos duales, y se incluyeron 7 aislamientos de *Trichoderma* spp. con actividad sobre patógenos necrótrofos de trigo. Se estimó la severidad de la enfermedad y el peso seco de plántulas. Entre las bacterias, 33 disminuyeron el crecimiento del patógeno, con mayor eficiencia para cuatro aislamientos de *Bacillus cereus* y 1 de *Stenotrophomonas maltophilia*. Todos los aislamientos de *Trichoderma* controlaron el crecimiento del patógeno (Dal Bello *et al.* 1998, Dal Bello *et al.* 2008). Mediante el peleteado de semillas con cepas preseleccionadas. *Bacillus subtilis* 3 y *Gliocladium roseum* se redujo el nivel de enfermedad en invernáculo, mientras que no se logró control bajo condiciones de campo (Dal Bello *et al.* 2003). Dal Bello *et al.* (2003) estudiaron la eficiencia de biocontrol de *Bipolaris sorokiniana* con *Epicoccum purpurascens*, *Gliocladium roseum*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*, aislados de la rizósfera de trigo. Todas las cepas redujeron el crecimiento del patógeno y se preseleccionaron

Gliocladium roseum, *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis*. Posteriormente, se microbiolizaron semillas, que se incubaron en agar agua con el patógeno y se seleccionó *Gliocladium roseum*. Si bien no se logró supresión del tizón de plántulas en invernáculo, Th2 (*Trichoderma* sp.) se comportó igual que Guazatine, al estimular el crecimiento de las plántulas provenientes de semillas infectadas. Los autores discuten la validez de la evaluación *in vitro* de antagonistas (Dal Bello *et al.* 2008).

En La Plata, se evaluó el biocontrol de *Septoria tritici* mediante *Trichoderma harzianum* y *Gliocladium roseum*. Se confirmó el antagonismo mediante cultivos duales, con mayor eficiencia para *Trichoderma harzianum*, biocontrol que no se repitió en ensayos en invernáculo (Perelló *et al.* 1994, 1997). Luego de experiencias en invernáculo con 14 aislamientos, resultó más eficaz el tratamiento de semillas. *Trichoderma harzianum* Th5 mostró la mayor protección y ninguna de las cepas alteró el diámetro o peso seco de los tallos. *Trichoderma* spp. no penetró en los tejidos foliares. La actividad antifúngica evaluada a través de la actividad proteolítica en el apoplasto foliar a 7-22 días de la siembra aumentó en las plantas de un cultivar de trigo susceptible provenientes de semillas tratadas con Th5, y aportó resistencia. *Trichoderma harzianum* induciría a una respuesta bioquímica sistémica a la infección por *Septoria tritici* (Cordo *et al.* 2007, Mansilla *et al.* 2011). Perelló *et al.* (2009) observaron que aunque *Trichoderma* spp. reduce la incidencia y severidad en las primeras etapas de la enfermedad, los niveles se equiparan con los testigos a largo plazo. Cordo *et al.* (2011, 2012) lograron los menores valores de severidad y el mayor rendimiento al peletear semillas con *Trichoderma harzianum* y aplicar media dosis de fungicida azoxystrobin-propiconazole a plántulas. Stocco *et al.* (2011) reportaron la creación de un banco de especies de *Trichoderma* caracterizadas bioquímica y molecularmente, procedentes de distintos orígenes geográficos y con actividad biocontroladora comprobada sobre *Septoria tritici*.

Perelló *et al.* (2006) observaron que seis aislamientos de *Trichoderma* spp. redujeron la severidad de *Pyrenophora tritici-repentis* y *Mycosphaerella graminicola* en La Plata. El efecto contra *Pyrenochaeta tritici-repentis* se mantuvo hasta floración. Con el objetivo de evaluar el control de la mancha amarilla y la promoción del crecimiento de trigo, se evaluaron 14 cepas de *Trichoderma harzianum*. *Trichoderma harzianum* Th1 aplicado antes de la inoculación con el patógeno redujo las lesiones necróticas, y aplicado por tratamiento de semilla aumentó el peso fresco aéreo y de las raíces de las plantas (Perelló y Dal Bello, 2011).

En estudios de control del tizón de la espiga de trigo (*Fusarium graminearum*), Palazzini *et al.* (2007) en Río Cuarto (Córdoba) planificaron obtener aislamientos a partir de anteras de trigo y evaluar su efecto sobre la producción de deoxynivalenol (DON) en granos de trigo y sobre la manifestación de enfermedad. En 2004 muestrearon campos en Pergamino (Buenos Aires) muy afectados en años anteriores y aislaron 354 cepas bacterianas de las anteras. Se preseleccionaron 22 por su reducción de la producción de DON y el control de *Fusarium graminearum* en diferentes condiciones de actividad agua y temperatura. En invernáculo, se seleccionaron

Brevibacillus sp. BRC263 y *Streptomyces* sp. BRC87B por la reducción de la severidad de enfermedad y concentración de DON indetectable. Posteriormente, Palazzini *et al.* (2009) realizaron estudios de mejoramiento de la calidad fisiológica de *Bacillus subtilis* RC 218 y *Brevibacillus* sp. RC 263 aislados de anteras. La viabilidad de *Bacillus subtilis* RC 218 en condiciones de stress osmótico fue similar al tratamiento testigo, mientras que *Brevibacillus* sp. RC 263 mostró una adaptación limitada al crecimiento. Se observaron altos niveles de betaína en células modificadas, mientras que la acumulación de ectoína fue similar a los controles. En invernáculo, el tratamiento de plantas de trigo con las bacterias modificadas disminuyó la severidad de los daños por *Fusarium graminearum*. En Lomas de Zamora, Galián *et al.* (2012) evaluaron la cepa Az-39 INTA de *Azospirillum brasilense* para el control de *Fusarium graminearum* y lograron disminución del crecimiento del patógeno. En Buenos Aires, Perniola *et al.* (2011) evaluaron el efecto de mostaza parda, mostaza blanca y nabón en fructificación sobre el crecimiento *in vitro* de *Fusarium graminearum*, y concluyeron que mostaza blanca y nabón controlan el crecimiento del patógeno.

Moya *et al.* (2011) realizaron observaciones preliminares de control de la mancha en red de la cebada (*Drechslera teres*). Para ello, confrontaron al patógeno con *Trichoderma* spp. aislado de suelos de Buenos Aires. Se observó una acción biocontroladora cepa-específica, y se detectó micoparasitismo y plasmólisis. Moya *et al.* (2012) reportaron que cepas del endófito *Chaetomium* sp. aislado de plantas de cebada asintomáticas disminuyen el crecimiento de *Drechslera teres*, con plasmólisis, *coiling* y cambios de pigmentación. Carletti (2000) en Luján, logró incrementar el peso seco aéreo en plantas de cebada mediante la aplicación en hidroponía de *Azospirillum* spp., *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., *Bradyrhizobium* spp. y *Pseudomonas* spp.

Olmedo *et al.* (2000) y Thuar *et al.* (2000) lograron incrementar el crecimiento aéreo de plantas de maíz en Río Cuarto, inoculadas con nueve cepas de PGPR aisladas de rizósfera y rizoplano. Andrada *et al.* (2008b) lograron incrementos de peso en plantas de maíz provenientes de semillas mezcladas con *Trichoderma* o semillas sin tratar con aplicación de *Trichoderma* a chorrillo en el fondo del surco, en Santa Fe.

Forrajes

Se evaluó en Entre Ríos el efecto del endófito *Neotyphodium occultans* sobre la roya de hoja en *Lolium multiflorum* en un campo experimental, sin detectar diferencias en la severidad en hoja bandera (Medvescigh *et al.*, 2006). Vignale *et al.* (2010) estudiaron en Buenos Aires el rol de *Neotyphodium* spp. sobre la interacción *Bromus auleticus-Ustilago bullata* y micorrizas arbusculares. Las plantas del ecotipo El Palmar provenientes de semillas tratadas con *Neotyphodium tembladerae* presentaron menor mortalidad, pero no se encontraron diferencias entre las plantas del ecotipo La Pampa provenientes de semillas tratadas con *Neotyphodium pampeanum*. Mientras que el 100% y 30% de las plantas sin endófito de El Palmar y La Pampa, respectivamente, desarrollaron carbón sobre sus inflorescencias, no

se observaron síntomas en las tratadas con el endófito.

Oleaginosas

En Buenos Aires, Grijalba *et al*. (1992) evaluaron la actividad de *Trichoderma koningii* Tk2 sobre *Colletotrichum dematium*, que causa antracnosis e impide la germinación de semillas de soja. En el laboratorio, Tk2 parasitó al patógeno. En invernáculo, controló la enfermedad mediante aspersión de semillas con una suspensión de conidios. Salerno y Sagardoy (1997) estudiaron el antagonismo de *Bacillus* sp. B210 sobre *Xanthomonas campestris* pv. *glycines*, patógeno de la pústula bacteriana de la soja, en Bahía Blanca, luego de aislar y caracterizar 125 cepas obtenidas de hojas de soja. La aplicación disminuyó el daño foliar en inoculaciones en invernáculo.

En un trabajo desarrollado en Santa Fe, Andrada *et al.* (2008a) observaron un incremento en la altura de las plantas de soja en tratamientos con *Trichoderma* en línea de siembra, sin contacto directo con la semilla. Soldano *et al.* (2010) evaluaron el efecto antagónico de varias especies de *Bacillus* frente a *Cercospora kikuchii* (patógeno de la soja) en cultivos duales. La mayoría de las cepas de *Bacillus* inhibieron el crecimiento del patógeno. *Bacillus subtilis* 94 presentó la mejor actividad y redujo la cantidad de la toxina cercosporina acumulada. Romero *et al.* (2012) comprobaron *in vitro* la actividad fungicida de metabolitos obtenidos de un cultivo bacteriano frente a *Cercospora kikuchii* en estudios llevados a cabo en Tucumán. Se observó promoción del crecimiento en plantas de soja en invernadero en Río Cuarto (Córdoba) co-inoculadas con mezclas de PGPR y *Bradyrhizobium* (Olmedo *et al*. 2000).

Investigadores de Mar del Plata y Balcarce estudiaron la eficacia de seis aislamientos de *Trichoderma* sp. aplicados desde floración para controlar la pudrición del capítulo del girasol ocasionada por *Sclerotinia sclerotiorum*. La utilización de maíz como vehículo de *Trichoderma* redujo la eficacia del control. La aplicación por aspersión disminuyó la severidad. En la aplicación por espolvoreo, la eficacia de la mezcla de aislamientos superó a cada uno en particular (Pedraza *et al.* 1995). En Balcarce, Escande *et al*. (1997) redujeron la intensidad de podredumbre del capítulo mientras Laich *et al*. (1997) no detectaron efecto de aplicaciones de *Trichoderma* spp. dispersadas por abejas melíferas. Escande *et al.* (1998a) evaluaron la eficiencia de aislamientos de *Gliocladium* sp. y *Trichoderma* sp. para el control de la pudrición de capítulos en ensayos de campo, donde la mezcla de *Trichoderma* spp. fue más efectiva que los aislamientos individuales. Escande *et al.* (2002) evaluaron una mezcla de seis aislamientos pertenecientes a *Trichoderma koningii*, *Trichoderma aureoviride* y *Trichoderma longibrachiatum*, en ensayos en Balcarce. La formulación de *Trichoderma* (TF) incluyó conidios y fragmentos de hifas, talco industrial y granos de maíz molidos. Se utilizaron abejas melíferas para dispersar TF desde el comienzo de la floración. La incidencia de podredumbre del capítulo disminuyó cuando las abejas tomaron 100 g de TF en un período de diez horas/día.

Epicoccum purpurascens colonizó los tejidos senescentes de los capítulos de girasol, reduciendo la incidencia de *Sclerotinia sclerotiorum* en invernáculo

(Pieckenstain *et al.* 1998). En un estudio sobre microflora residente sobre piezas florales de girasol en Balcarce (Buenos Aires) *Alternaria cheiranti*, *Alternaria radicini*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Drechslera indica*, *Fusarium graminearum* y *Phoma glomerata* fueron aislados de cultivares tolerantes a *Sclerotinia sclerotiorum* y a otros hongos patógenos. *Cladosporium cucumerinum* se encontró asociado a cultivares susceptibles (Rodríguez *et al.* 1998). Rodríguez *et al.* (2000) observaron diferencias en la composición de la micoflora y en la frecuencia de las especies en variedades susceptibles o tolerantes a la pudrición del capítulo por *Sclerotinia sclerotiorum*. Confrontados con el patógeno, los aislamientos provenientes de cultivares susceptibles presentaron contacto entre hifas, mientras que los provenientes de cultivares tolerantes presentaron, además, antibiosis. Se concluye que la micoflora que coloniza los capítulos de los cultivares tolerantes presenta un rol activo en la protección contra la infección.

En Catamarca, se comprobó *in vitro* la eficiencia de *Azospirillum brasilense* contra una bacteria endorizosférica, agente causal de agallas en raíces de olivo. En bioensayos de antagonismo se usaron discos de zanahoria. El tratamiento con *Aspergillus brasilense* disminuyó el porcentaje de podredumbre (di Barbaro *et al*. 2006).

Industriales

Carletti (2000), investigador de Luján, observó que plantas de jojoba micropropagadas tratadas con *Azospirillum* spp. y *Azotobacter* spp. con mejora y adelanto de la rizogénesis y mejor rustificación. La aplicación en hidroponia de *Azospirillum* spp., *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., *Bradyrhizobium* spp. y *Pseudomonas* spp aumentó el peso seco aéreo.

Aromáticas - Medicinales

Entre cepas de *Trichoderma* spp. de distintos orígenes, Sandoval *et al.* (2006b) encontraron mayor eficiencia de control de *Alternaria alternata* y *Colletotrichum gloeosporioides* (patógenos de salvia, romero y albahaca) para la aislada de humus de lombriz.

Frutales

En Río Negro, fueron evaluadas cepas de *Trichoderma* como antagonistas de *Penicillium expansum*, agente causal de pudriciones de frutos. Se logró buen control en pruebas *in vitro*, pero los bioensayos demostraron que todas las cepas de *Trichoderma* probadas fueron patógenas sobre manzanas (Di Masi y Veronesi 1998). También se determinó la eficiencia de la aplicación de quitosano en la preservación pos-cosecha de peras (Rodríguez *et al.* 1999).

En San Pedro, se realizaron investigaciones de control del moho verde de los citrus (*Penicillium digitatum*) y la podredumbre morena del durazno

(*Monilinia fructicola*) mediante la aplicación de *Bacillus subtilis* (Martinengo de Mitidieri 1998a). Las formulaciones de *Bacillus subtilis* MBI 600 (concentrado de esporas) y MBI 600 F (esporas + metabolito activo) fueron evaluadas para el control de *Penicillium digitatum* y *Monilinia fructicola* sobre naranjas y duraznos. MBI 600 F fue tan efectiva como los controles químicos y las formulaciones no fueron afectadas por las bajas temperaturas de almacenamiento de los duraznos (Martinengo de Mitidieri 1998a). Mitidieri *et al.* (2011) detectaron inhibición de *Monilinia fructicola* en confrontaciones con *Trichoderma harzianum y Trichoderma viride*, con mayor capacidad de la primera para crecer en presencia de fungicidas. No hubo control en condiciones de infección natural. Mitidieri *et al.* (2012) evaluaron combinaciones de tratamientos con fungicidas y *Trichoderma* (Laboratorio San Pablo) para el control de enfermedades poscosecha de duraznos. Los tratamientos con *Trichoderma* SP en floración más Tebuconazole en precosecha, Carbendazim en floración más *Trichoderma* SP-Tebuconazole en precosecha y Pyraclostrobina-Buscalid en floración más *Trichoderma* SP-Tebuconazole en poscosecha presentaron el mayor control de pudrición.

Una levadura (Br) aislada de limones y *Bacillus* sp. (B9) aislado de girasol fueron evaluados en Paraná para el control de podredumbres poscosecha de citrus causadas por *Penicillium digitatum*. Br tuvo el mejor comportamiento, equiparable a tratamientos con fungicidas (Visintin *et al.* 1998). Visintin *et al.* (2006a) seleccionaron bacterias y levaduras nativas por su actividad *in vitro* frente a aislados de *Penicillium digitatum* resistentes y sensibles a fungicidas. La bacteria CNCo9, aislada de naranjas, inhibió la germinación de la cepa sensible e impidió visualizar el crecimiento de ambas cepas. La levadura CNCo8, también aislada de naranjas, redujo la germinación de conidios de la cepa sensible. Entre nueve sustratos evaluados en Entre Ríos, el arroz partido (vulgarmente denominado arrocín) fue el más adecuado para incrementar la biomasa de *Trichoderma* (Visintin *et al.* 2005). Visintin *et al.* (2006b) evaluaron el efecto de aditivos sobre la bioactividad de las cepas CNCo9 y CNCo8 sobre *Penicillium digitatum*, sobre frutas mandarinas, naranjas y limones. La bacteria sola o con aditivos redujo la pudrición, registrándose la menor incidencia con 2-deoxi-d-glucosa; mientras que la levadura no redujo la incidencia a niveles comercialmente aceptables. Visintin *et al.* (2009) aislaron la microflora asociada a frutas cítricas heridas en el campo y refrigeradas. Se obtuvo la mayor frecuencia de aislamientos de naranjas Valencia Late y pomelos Star Ruby. Visintin *et al.* (2011) aislaron la microflora de heridas y frutoplano de naranjas. La bacteria S9 mostró la mayor protección frente a *Penicillium digitatum* sobre frutas almacenadas a 5 ºC. Franchessi *et al.* (2012) estudiaron la microflora epífita de manzanas como fuente de antagonistas de *Penicillium expansum* adaptados a condiciones de almacenamiento en frío de manzanas. El tratamiento con mayor eficacia fue la mezcla de microorganismos.

En Tucumán, Carbajo *et al.* (2008) evaluaron el formulado Serenade, en base a *Bacillus subtilis* QST 713, para el control del moho verde de los citrus causado por *Penicillium digitatum*. En ensayos *in vitro*, concentraciones de 0,4 µg/ml presentaron eficacia comparable con un fungicida. Sobre frutos, la dosis más baja (10 g/l) fue la más efectiva para reducir la enfermedad. El formulado presenta un efecto preventivo de la enfermedad. Romero *et al.* (2011) evaluaron la producción de metabolitos en cultivos líquidos de una bacteria Gram (+)

aislada de caña de azúcar y su efecto sobre *Penicillium digitatum*. Los cultivos con agitación produjeron sobrenadantes concentrados con mayor actividad *in vitro* frente al patógeno.

Se desarrollaron ensayos *in vitro* con el objetivo de comprobar la susceptibilidad de cepas de *Xanthomonas* frente a *Xymomonas mobilis mobilis*, aislada de jugo de caña de azúcar en Tucumán. Como resultado, se determinó que *Xymomonas* ejerce un mecanismo de acción negativo (amensalismo) sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Romero *et al.* 2005). Canteros *et al.* (2011) realizaron estudios en Bella Vista (Corrientes) sobre la actividad del bacteriófago nativo φ-Xac-A1 sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* y bacterias saprófitas de citrus. La mayoría de las cepas del patógeno resultaron susceptibles al fago, y las bacterias, resistentes. Los fagos activos sobre cepas de la bacteria patógena pueden haber influido en la disminución en la intensidad de la enfermedad en la zona.

Bejarano *et al.* (2011) obtuvieron aislados *de Bacillus subtilis* del filoplano de citrus en Jujuy. Luego de enfrentamientos en cultivos duales con *Guignardia citricarpa*, se seleccionó una cepa que disminuyó el crecimiento del patógeno.

Sansone *et al.* (2007) en San Luis detectaron inhibición de la enzima detoxificante laccasa de *Botrytis cinerea* utilizando un catecol producido por las cepas mSL_1 y sML_4 de la bacteria *Rahnella aquatilis*. Calvo *et al.* (2007) estudiaron la capacidad de colonizadores de heridas en manzanas para antagonizar a *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea*. En experimentos *in vitro Rahnella aquatilis* bSL1 y *Rhodotorula glutinis* bSL30 redujeron la germinación de *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum*, con mayor eficiencia para el primero. La mezcla de biocontroladores inhibió la germinación de *Botrytis cinerea* y redujo la de *Penicillium expansum*. Beruzzi *et al.* (2007) detectaron que la adición de calcio en la formulación del crioprotector mantiene la viabilidad y la capacidad antagónica de *Rahnella aquatilis*. Calvente *et al.* (2007) estimularon la producción de sideróforos de *Rahnella aquatilis* y observaron la reducción del porcentaje de germinación de conidios de *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus* sp., *Alternaria* sp. y *Cladosporium cladosporioides*.

En Neuquén y Río Negro, Lutz *et al.* (2010) aislaron levaduras de peras a partir de suspensiones provenientes de la superficie de frutos sanos (A) y a partir del agua de lavados de heridas mantenidas sanas luego de conservación en frío (B). Se realizaron ensayos de control en placas y sobre frutos. De los aislamientos obtenidos de frutos sanos, *Aureobasidium pullulans* y *Rhodotorula mucilaginosa* presentaron la mayor eficiencia. De los aislamientos obtenidos de lavados de heridas, sobresalieron *Cryptococcus weringae, Cryptococcus victoriae, Cystofilobasidium infirmominiatum, Rhodotorula laryngis* y *Aureobasidium pullulans* contra *Penicillium expansum* y *Cryptococcus weringae* y *Cryptococcus victoriae* contra *Botrytis cinerea*. Se observaron diferencias de respuesta entre los ensayos *in vivo* e *in vitro*. En éstos, todas las levaduras presentaron mayor actividad contra *Penicillium expansum* comparada con *Botrytis cinerea*. La estrategia de aislamiento de lavados de heridas resultó la mejor para seleccionar levaduras para el control en la poscosecha. A partir de peras sanas provenientes de dos cámaras de empaque y almacenamiento, Robiglio *et al.* (2011) obtuvieron 75 cultivos (*Aureobasidum pullulans, Cryptococcus albidus, Cryptococcus difluens, Pichia membranifaciens, Pichia philogaea, Rhodotorula mucilaginosa* y *Saccharomyces cerevisiae*). Además, se aislaron

y caracterizaron 13 aislamientos nativos de *Penicillium expansum* y 10 de *Botrytis cinerea*. Se preseleccionaron las levaduras de acuerdo a su capacidad de crecimiento a temperaturas bajas. En un primer ensayo, *Aureobasidium pullulans* y *Rhodotorula mucilaginosa* resultaron los más promisorios para reducir el diámetro de las lesiones de *Penicillium expansum* en frutos refrigerados, aunque no redujeron la incidencia de *Botrytis cinerea*. En un segundo ensayo, se obtuvieron mejores niveles de protección por ambas levaduras, comparadas con fungicidas comerciales. Lutz *et al.* (2012) aislaron patógenos (*Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea*) y levaduras epífitas de peras con seis meses de conservación en cámaras frigoríficas en Río Negro y Neuquén. El agua de lavados de frutos con y sin heridas fue empleada como fuente de posibles antagonistas. En una primera selección, frutos desinfectados superficialmente y con heridas artificiales en la zona ecuatorial, fueron tratados con el agua de lavados y posteriormente con *Penicillium expansum*. A partir de las heridas que se mantuvieron sanas, se obtuvieron 26 aislamientos de 11 especies que fueron probadas en una segunda selección contra *Penicillium expansum*, a las que se sumaron dos cepas aisladas previamente con otra metodología. El 38% de las levaduras controló completamente a *Penicillium expansum*, pero sólo el 15% redujo el decaimiento por *Botrytis cinerea*. Plantas de manzano y cerezo micropropagadas tratadas con *Azospirillum* spp. y *Azotobacter* spp. mejoraron y adelantaron la rizogénesis y mejoró la rusticación (Carletti 2000).

Mildemberg y Flores (2008) realizaron un experimento de control de *Botrytis cinerea* con cepas de *Trichoderma* y levaduras en plantas de arándano, en un invernáculo en La Plata. Todas las cepas protegieron a las plantas de la infección.

En Mendoza, se probaron cepas de *Trichoderma* comerciales (europea y chilena) y autóctonas (de lechuga y frutilla) sobre cepas locales de *Botrytis cinerea* de vid. Las cepas de *Trichoderma* inhibieron el crecimiento del patógeno en cultivos duales. Uno de los aislados locales resultó más eficiente (Lucero *et al.*, 2008). En otra investigación, se trabajó con ocho aislamientos de *Trichoderma* spp. de la región de Cuyo. Se mezcló una alícuota de los filtrados culturales de cada aislamiento con conidios de *Botrytis cinerea*, y se observó disminución en la germinación de los conidios para todos los tratamientos con *Trichoderma* spp., con variación entre ellos. La actividad inhibitoria se asocia a metabolitos extracelulares (Hapon *et al.*, 2010). Hapon *et al.* (2007) detectaron efecto de aceites esenciales de limón, citrus, lavanda, menta, citronella, geranio, canela y clavo de olor sobre el largo del tubo germinativo de conidios de *Botrytis cinerea* y *Penicillium* sp. Aceites de geranio, canela y clavo de olor mostraron actividad sobre *B. cinerea*, mientras que los dos últimos y el de limón lo hicieron sobre *Penicillium*.

Con el objetivo de buscar alternativas de control de la infección de *Botrytis cinerea* en uvas de mesa, Boiteux *et al.* (2011, 2012b) evaluaron en Mendoza el crecimiento del tubo germinativo de conidios del patógeno en medio adicionado con soluciones acuosas de hojas de chañar, diluidas entre 0,8%, obteniendo inhibición. En ensayos sobre racimos de uvas, el tratamiento con extracto de chañar siguió en eficiencia al tratamiento convencional con difusores de anhídrido sulfuroso, reduciendo la severidad de los daños. Hapon *et al.* (2012a) observaron que la disminución de la germinación de conidios luego

del contacto con extracto de jarilla dependió de la concentración y el tiempo de exposición. En otra investigación, Hapon *et al.* (2012b) comprobaron la presencia de 2metoxi4vinilfenol en el extracto acuoso se hojas de jarilla. El efecto del extracto sobre la germinación de conidios en microcultivos de *B. cinerea* fue dosis-dependiente.

En relación con la podredumbre morena, Monardez *et al.* (2012) estudiaron en Mendoza el efecto de extractos acuosos de hojas de chañar, jarilla, retortuño, aguaribay y pájaro bobo sobre *Monilia* sp. Se observó que los extractos al 20% de pájaro bobo, retortuño y jarilla disminuyeron el crecimiento del patógeno 86, 58 y 53%, mientras que el extracto de pájaro bobo al 5% lo hizo en un 44%. El resto de los extractos y diluciones estimularon el crecimiento. Ocón *et al.* (2012) reportaron resultados de estudios preliminares llevados a cabo en Buenos Aires sobre el efecto de extractos metanólico y cloruro de metileno de *Lippia alba* sobre *Monilinia* sp. No se observó control del patógeno *in vitro* ni sobre frutos inoculados con las diluciones probadas.

Pagano *et al.* (2012) determinaron la composición química del extracto metanólico de hojas de batata y estudiaron su efecto sobre *Aspergillus* sp. *y Cladosporium* sp. Su actividad podría deberse a la presencia de derivados fenólicos.

Florales - Ornamentales

Palmucci *et al.* (1999) no lograron promoción de crecimiento de brinco, salvia y petunia mediante tratamiento de semillas con *Trichoderma harzianum* TH1 en Buenos Aires. Abbate *et al.* (2002) observaron que la inmersión de semillas de arvejilla en una suspensión de esporas de TH1 adicionada con un adherente, y una segunda aplicación por riego a los 31 días de la siembra no mejoraron parámetros deseables para la comercialización. Palmucci *et al.* (2004) aplicaron TH1 al trasplante y a los 30 días del mismo y no detectaron incremento de altura de plantas de hipoestes y lino, ni de diámetro de plantas de alegría del hogar.

En Buenos Aires, se desarrolló un estudio de residentes fúngicos sobre el filoplano de rosal, con el objetivo de encontrar cepas potenciales antagonistas de *Botrytis cinerea.* Se obtuvo una colección de 82 cepas fúngicas de hojas, pétalos, sépalos y tallos de ejemplares cultivados en los alrededores de la ciudad, que fueron agrupadas por su aptitud antagónica *in vitro* y sobre discos de hojas de rosal Se determinó la micoflora del filoplano del rosal está compuesta principalmente por hongos de los géneros *Trichoderma* y *Penicillium*, con actividad antifúngica diferencial frente a *Botrytis cinerea* (Wright *et al.* 2000). Los microorganismos seleccionados como antagonistas del patógeno presentaron comportamiento diferencial frente a diferentes dosis de fungicidas (Wright 2007). El tizón de los rosales ocasionado por *Botrytis cinerea* fue controlado a través de la aspersión de tallos con suspensiones de esporas de *Trichoderma atroviride*, de *Penicillium minioluteum* o la mezcla de ambos con *Penicillium purpurogenum* (Agostinelli *el al*. 2005, Wright 2007). Posteriormente se evaluaron los mismos antagonistas sobre pimpollos de rosal. Si bien no se observaron diferencias significativas con el testigo, la inoculación con *Trichoderma atroviride* en dos aplicaciones mostró menores niveles de severidad (Fernández Lescano *et al*. 2008). El control biológico

a través del uso de estos antagonistas es una herramienta promisoria para el manejo integrado de la enfermedad (Wright *et al*. 2011).

En Buenos Aires, se obtuvo una colección de hongos del filoplano de ejemplares asintomáticos de violeta de los Alpes (Rivera *et al.* 1999, Lopez *et al.* 2000). La capacidad antagónica de 66 cepas frente a *Botrytis cinerea* fue evaluada mediante confrontación sobre pétalos, hojas, pecíolos y pedúnculos (Rivera *et al.* 2002a, Rivera y Lopez 2006). Se determinó la existencia de cuatro grupos de cepas que difieren en su aptitud biocontroladora, siendo la más apta constituida por 34 cepas, con predominancia de *Clonostachys rosea* y *Penicillium* spp. Se observó antibiosis y parasitismo para *Clonostachys rosea* (Rivera *et al*. 2009).

En Luján, la aplicación de *Azospirillum* spp., *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., *Bradyrhizobium* spp. y *Pseudomonas* spp. en hidroponía incrementó el peso seco aéreo en plantas de vinca (Carletti 2000).

Mónaco *et al.* (1998b) estudiaron el momento del día óptimo para la aplicación de *Gliocladium roseum* sobre plantas de geranio. Como resultado, observaron que la longitud del período de sequía después de la inoculación disminuye el número de unidades formadoras de colonias, sin diferencias entre 3, 6 y 9 horas desde la inoculación.

Se reportó la presencia en Buenos Aires del micoparásito *Darluca filum* asociado a pústulas de roya (*Puccinia thaliae*) en plantas de achira (Pérez *et al.* 2010).

Forestales - Arbolado urbano

Zulpa *et al.* (2003) observaron en Buenos Aires que productos extracelulares de *N. muscorum* 79a y el extracto metanólico de *Microchaete tenera* 84b inhibieron el crecimiento de *Sphaeropsis sapinea*, relacionado con la tinción azul de la madera. En investigaciones sobre el control biológico de pudriciones blandas de la madera, colonias de *Scytalidium lignicola* y *Trichoderma koningii* controlaron las especies más frecuentemente asociadas a postes tratados con creosota, incluyendo *Phialophora richardsiae* (Ribichich y Lopez 1996).

Epicoccum purpurascens, un componente natural de la corteza, fue evaluado como agente de control biológico de Basidiomycetes responsables de las podredumbres de la madera frecuentes en el arbolado urbano de Buenos Aires (*Ganoderma platense*, *Inonotus rickii*, *Inonotus patouillardii* y *Rigidoporus ulmarius*). El crecimiento de *Rigidoporus ulmarius* fue inhibido por *Inonotus patouillardii* y manifestó alteraciones en la morfología del micelio en cultivos duales (Pildain y Lopez 2000). En un trabajo posterior, se estudiaron las interacciones de *Epicoccum purpurascens* con *Ganoderma platense*, *Inonotus rickii* y *Rigidoporus ulmarius* en cultivos duales sobre bloques de madera de *Acer negundo*. Cuando *Epicoccum purpurascens* colonizó la madera antes de la introducción del xilófago, disminuyó el porcentaje de pérdida de peso seco. El antagonista ejerció un efecto considerablemente menor como colonizador secundario. No se observaron modificaciones en la degradación ocasionada por *Inonotus rickii.* El nivel de degradación por *Rigidoporus ulmarius* se incrementó con la presencia del agente de biocontrol. Se supone que, como un colonizador temprano, *Epicoccum*

purpurascens puede ser considerado como antagonista de los tres patógenos. El antagonismo puede deberse a competencia por nutrientes accesibles en la madera (Mielnichuk 2002). Se evaluó la actividad antifúngica de filtrados de cultivos líquidos de *Epicoccum purpurascens* como un posible mecanismo antagónico de *Ganoderma platense*, *Inonotus rickii* y *Rigidoporus ulmarius*. Se observó control del crecimiento de las colonias de *Ganoderma platense* y *Inonotus rickii.* El porcentaje de inhibición disminuyó con el tiempo (Mielnichuk *et al.* 2003). Robles *et al.* (2012) realizaron confrontaciones en diferentes secuencias de inoculación entre cuatro Basidiomycetes xilófagos (*Bjerkandera adusta*, *Trametes trogi*, *Ganoderma resinaceum*, *Inonotus rickii*) y cepas endófitas (*Cladosporium cladosporioides, Alternaria alternata, Trichoderma harzianum, Trichosporon sporotrichoides, Granulobasidium vellereum, Coprinopsis cinerea*). *Granulobasidium vellereum* y *Trichoderma harzianum* presentaron poder antagónico y constituye el primer registro en Argentina de un Basidiomycete (*Granulobasidium vellereum*) como antagonista de hongos xilófagos.

Altamirano *et al.* (2000) observaron en Jujuy promoción del crecimiento en plantas de cedro coya tratadas con siete cepas de rizobacterias.

Reglamentación relacionada con la inscripción y control de formulados para Terapéutica Vegetal

El SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria) es el organismo del Estado argentino que ejecuta las políticas nacionales de sanidad y calidad animal y vegetal, y verifica el cumplimiento de la normativa (SENASA 2012e). La Dirección de Agroquímicos y Biológicos, depende de la Dirección Nacional de Agroquímicos, Productos Veterinarios y Alimentos. Todos los fitosanitarios se inscriben en el Registro Nacional de Terapéutica Vegetal (Decretos 3489/58 y 5769/59), según el Manual de Procedimientos, Criterios y Alcances para el Registro de Productos Fitosanitarios en la República Argentina (Resolución SAGPyA 350/99). La Resolución adopta la 5º Edición del Manual sobre elaboración y empleo de las especificaciones de la FAO para productos destinados a la protección de plantas. Una vez inscriptos, un Certificado de Uso y Comercialización habilita a los productos para su uso y comercialización en el país, para el control de plagas en los cultivos para los que se encuentran autorizados (SENASA 2012c).

El Decreto 3489/58, Art. 1 dice: "*La venta en todo el territorio de la Nación de productos químicos o biológicos, destinados al tratamiento y destrucción de los enemigos animales y vegetales de las plantas cultivadas o útiles, así como de los coadyuvantes de tales productos, queda sometida al contralor del Ministerio de Agricultura y Ganadería.*" (SENASA 2012a). El Decreto 5769/59 Art. 1 dice: "*Toda persona de existencia visible o ideal, que se dedique a la comercialización con marca propia o por cuenta propia, o representación si se tratare de productos importados, de productos químicos o biológicos, destinados al tratamiento o destrucción de los enemigos animales o vegetales de las plantas cultivadas útiles, así como de coadyuvantes de tales productos y de sustancias de actividad hormonal para el control de plagas, debe inscribirse como requisito indispensable para la*

venta de los citados productos dentro del territorio de la República, en el Registro Nacional de Terapéutica Vegetal que al efecto se crea y que dependerá de la Dirección General de Sanidad Vegetal de la Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería de la Nación. Las empresas que exploten servicios de lucha contra las plagas, para terceros o por cuenta de terceros, deberán utilizar los productos inscriptos en dicho Registro, cuando en la prestación de tales servicios la empresa aporte por su cuenta los productos señalados en el presente artículo (Aclaratoria en disposición Nº 61, del 5/4/68-Dirección General de Sanidad Vegetal)." Y define las categorías de productos, tales como Nematicidas, Fungicidas, Bactericidas, Antibióticos, Hormonas, Coadyuvantes, Fitorreguladores, etc. Un Ingeniero Agrónomo matriculado en el país debe ser responsable por los datos de composición cuali-cuantitativa de componentes activos, concentración, usos, forma de preparación, aplicación y demás características del producto que se consignan en la declaración jurada de la solicitud de inscripción, que incluye clase de producto, bibliografía, antecedentes de experimentación en el país y en organismos oficiales en el extranjero (experiencias realizadas por el asesor técnico para productos nuevos). Se debe acompañar un proyecto de marbete y presentar muestras para su análisis físico-químico. La bibliografía o experiencia realizada en el país debe contener datos precisos sobre el lugar de experimentación, nombre del o de los técnicos ejecutores, fecha, desarrollo de la experiencia, resultados, plagas tratadas, producto, dosis, condiciones climáticas reinantes en el momento del ensayo. Para tratamientos sobre productos vegetales destinados al consumo humano o animal, se fijarán los plazos de suspensión del tratamiento para evitar residuos nocivos. Asimismo, deberán determinarse las precauciones y antídotos, cuando se tratare de productos de manipulación peligrosa o tóxica para el hombre o animales domésticos. En el cuarto bimestre de cada año se da a publicidad la lista de los productos inscriptos en el Registro Nacional de Terapéutica Vegetal, en la que figurarán también los nombres de los Ingenieros Agrónomos, asesores técnicos responsables (SENASA 2012b).

De acuerdo a lo expuesto, no existe una legislación específica para el registro y comercialización de agentes biológicos. Toda la actividad se regula a través de la Resolución 350/99, que aprueba el Manual de Procedimientos, Criterios y Alcances para el Registro de Productos fitosanitarios en la República Argentina con el fin de aprobar la venta y utilización de los mismos previa evaluación de datos científicos suficientes que demuestren que el producto es eficaz para el fin que se destina y no entraña riesgos indebidos a la salud y el ambiente (SENASA 2012f).

Productos registrados en el país para Terapéutica Vegetal

En Argentina, hay en la actualidad 3958 formulados inscriptos en el SENASA, entre fungicidas, antibióticos, insecticidas, herbicidas, acaricidas, nematicidas, coadyuvantes, rodenticidas, fitorreguladores, defoliantes, desecantes, tensioactivos o adherentes. Se contabilizan 965 registros de actividad fungicida y 15 de actividad bactericida. Entre ellos, los productos biológicos son

sólo 11. La Tabla 1 resume los productos de origen biológico registrados en el Registro Nacional de Terapéutica Vegetal como fungicidas y fitorreguladores. En relación a acción insecticida, existen seis registros de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, siete de *Bacillus thuringiensis*, un de virus de la granulosis de *Cydia pomonella* y un de *Beauveria bassiana*. No hay ningún producto biológico registrado para la Línea Jardín, que incluye formulados aplicables a nivel de pequeñas superficies implantadas con especies ornamentales. No se encuentra demasiada información sobre usos recomendados para los productos biológicos inscriptos. Serenade MAX, está registrado para su aplicación en arándano, frutales y hortalizas, frutilla y vid. Se cita que proporciona más de 30 lipopéptidos diferentes que destruyen la membrana celular causando la deshidratación y muerte de los patógenos y que posee varios modos de acción (BASF 2012).

Tabla 1. Productos microbiológicos con función fungicida registrados en Argentina

Microorganismo	Nº Registro	Denominación commercial	Empresa	Clase toxicológica
Bacillus subtilis QST	34347	Serenade WP	Syntech Research	IV
Bacillus subtilis	35757	Serenade MAX	BASF Argentina	IV
Bacillus subtilis	35806	Serenade ASO	BASF Argentina	IV
Bacillus subtilis	37569	Azo Foliar	Naturalis	IV
Bacillus subtilis	37560	Azo Granero	Naturalis	IV

(Elaboración personal en base a datos de SENASA (www.senasa.gov.ar)

Reglamentación relacionada con la inscripción y control de Fertilizantes, Enmiendas, Sustratos, Acondicionadores, Protectores y Materias Primas

Se inscriben en el Registro Nacional de Fertilizantes, Enmiendas, Sustratos, Acondicionadores, Protectores y Materias Primas aquellos productos destinados a la incorporación de nutrientes en el suelo y las plantas, al acondicionamiento del suelo, al revestimiento de las semillas para favorecer su germinación.

La Resolución 264/2011 dice que están sujetos a Registro, las personas físicas o jurídicas que importen, exporten, distribuyan, elaboren y/o fraccionen productos fertilizantes, enmiendas, acondicionadores, sustratos, protectores, productos biológicos y materias primas; las plantas mezcladoras, plantas preinoculadoras de semillas y laboratorios elaboradores de productos biológicos y los productos fertilizantes, enmiendas, acondicionadores, sustratos, protectores, productos biológicos y materias primas. Se crean los registros de Laboratorios Elaboradores de Productos Biológicos, Plantas Preinoculadoras y Plantas Mezcladoras (químicos sólidos y líquidos, orgánicos, químico-orgánicos), en el marco del Registro Nacional de Fertilizantes, Enmiendas, Sustratos, Acondicionadores, Protectores y Materias Primas dependientes de la Dirección de Agroquímicos y Biológicos, de la

Dirección Nacional de Agroquímicos, Productos Veterinarios y Alimentos del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. El registro se realiza mediante el formulario de Solicitud de Inscripción de Productos Biológicos, Anexo V de la Resolución (SENASA 2012c).

Productos registrados en el país como Fertilizantes, Enmiendas, Sustratos, Acondicionadores, Protectores y Materias Primas

En el Registro Nacional de Fertilizantes y Enmiendas, se encuentra un listado de 22 fitoterápicos de origen biológico, registrados como fertilizantes o bioestimulantes (Tabla 2). La inscripción de estos productos bajo esas categorías se basa en su capacidad de colonización de la rizósfera, el incremento en la disponibilidad de nutrientes, y en consecuencia, sus características de promoción del crecimiento vegetal. Se destaca su habilidad para solubilizar el fósforo mineral y orgánico debido a la liberación de ácidos orgánicos y fosfatasas respectivamente, su capacidad de producir fitohormonas (auxinas, giberelinas, citoquininas) que estimulan el desarrollo radical (Agro Advance Technology 2012, Bilav 2012, Formulagro 2012, Laboratorios Biagro 2012, Novozymes 2012, Rizobacter 2012). Si bien el registro está orientado a la estimulación del crecimiento vegetal, en algunos casos se mencionan para las cepas constitutivas de los formulados mecanismos de control biológico tales como liberación de sustancias del tipo sideróforos (Rizobacter 2012), competencia por velocidad de colonización y formación de biofilms (Formulagro 2012) o colonización de suelo y raíces (Giten 2013), producción de enzimas líticas (Formulagro 2012, Laboratorio San Pablo 2012) y antibióticos (Rizobacter 2012, Formulagro 2012, Laboratorio San Pablo 2012) e inducción de resistencia sistémica (Formulagro 2012).

Fungicidas *versus* Fertilizantes

La planilla de inscripción de fertilizantes biológicos requiere solamente: aptitud, marca comercial, tipo, organismo (libre, simbiótico, aeróbico, facultativo, anaeróbico), especificidad, estado físico, composición biológica (género, especie, cepa, concentración) vehículo, inerte, otros componentes, esterilidad del soporte, vencimiento/meses de fabricación, posición arancelaria, origen, envases (tipo, material, capacidad). Se debe garantizar la inocuidad del microorganismo. Para inscribir fertilizantes biológicos, la documentación requerida (SENASA 2012d) es: 1 - Juego de planillas completo: inscripción del producto. Indicaciones de uso. Protocolo oficial de análisis. Solicitud del certificado de aptitud. 2 - Tres muestras del producto y 500 g de semillas de la especie para la cual es específico. 3 - Identificación de las cepas, si es importado, fitosanitario, de ser orgánico sin antecedentes, técnica para determinación de PCR. 4 - Certificado del análisis de origen en original y fotocopia del mismo (para productos importados) o análisis particular

Tabla 2. Productos microbianos registrados como fertilizantes o bioestimulantes en Argentina

Microorganismo	Nº Registro	Denominación comercial	Empresa	Origen
Pseudomonas fluorescens	20474	Rizofos	Rizobacter Argentina	Argentina
Sin datos	20904	Protec F	Fragaria	Argentina
Pseudomonas fluorescens	20929	Nitro-Fix PF Maíz	Bilab	Argentina
Trichoderma	21018	Tricofull	Brometan	Argentina
Trichoderma harzianum	92125	Plant Shield HC	Wassington	EE.UU.
Trichoderma	92134	NoctinTricho	Síntesis Química	Argentina
Trichoderma atroviride+*Glomus* spp.+bact. rizosféricas	92138	Tifi	APN Arg. de Productos Naturales	España
Trichoderma	92140	Tricho - D WP	Protegran	Colombia
Trichoderma harzianum	92141	Tratbac	Bea Tecno Bio	Argentina
Penicillium bilaii	92145	Nitragin Semillero	Novozymes Bioag	Argentina
Trichoderma viride	92146	*Trichoderma* San Pablo S	Laboratorio San Pablo Productos Biológicos	Argentina
Trichoderma viride	92147	*Trichoderma* San Pablo L	Laboratorio San Pablo Productos Biológicos	Argentina
Azospirillum brasilense + *Pseudomonas fluorescens*	92149	Phoebus	Agro Advance Technology	Argentina
PGPR	92150	Biofertilizante foliar Insuar	Alterbio	Argentina
Pseudomonas aurantica	92155	Biagro PSA Liquid	Laboratorios Biagro	Argentina
Sin datos	92159	Limite	Naturalis	Argentina
Bacillus subtilis	92170	Azobac	Fomulagro	Argentina
Sin datos	92172	Maizazo	Fragaria	Argentina
Pseudomonas fluorescens	92179	Rizofos Liq Trigo Preinoculado	Rizobacter Argentina	Argentina
Sin datos	92181	Robust	Becker Underwood Argentina	EE.UU.
Sin datos	92182	Ene-2 Endophyte Plus	Laboratorios Arbo	Argentina
Trichoderma	92192	Omnifert	Rizobacter Argentina	Argentina

(Elaboración personal en base a datos de SENASA) y páginas web de las empresas

realizado en un laboratorio habilitado por el proyecto de marbete o rótulo. 5- Nota de presentación.

En cambio, la documentación requerida para inscribir productos fitosanitarios (SENASA 2012d) es:

Sustancias activas grado técnico nuevas. Autorización de uso experimental (Res. SAGPyA 350/99- CAP.V)

I. Expediente

- Nota con membrete de la empresa solicitando la autorización de Uso Experimental.
- Formulario impreso de solicitud de inscripción.
- Diseño de los ensayos de eficacia agronómica, fitotoxicidad y de los ensayos de residuos.
- Indicación de las zonas donde se planea instalar los ensayos, tamaño de las parcelas y volumen de producto a ser utilizado por ciclo de ensayo y responsable de los ensayos.
- Comprobante del pago del arancel vigente.

II.Información confidencial (en sobre cerrado)

- Composición cuali-cuantitativa de la sustancia activa grado técnico.
- Métodos analíticos apropiados tanto para la sustancia activa como para las impurezas.
- Drogas grado patrón (si son requeridas).
- Concentración mínima de la sustancia activa en el grado técnico.
- Declaración de impurezas >0,1% y de declaración obligatoria.
- Justificación de la presencia de impurezas.
- Certificado de origen de la sustancia activa grado técnico.

III.Cuerpo Técnico

- Identidad
- Propiedades físicas y químicas.
- Aspectos relacionados a su utilidad.
- Efectos tóxicos en especies mamíferas (agudos, subcrónicos y mutagénesis).
- Ficha médica provisoria.

Sustancias activas grado técnico nuevas. Inscripción Definitiva: (Res. SAGPyA 350/99 - CAP.6)

I. Expediente

- Nota con membrete de la empresa.
- Formulario impreso de solicitud de inscripción.
- Estado de patentamiento.
- Estado de registración y Límites Máximos de Residuos en el país de desarrollo de la investigación, en el país sede del Productor Básico y en los países del Mercosur.

- Droga patrón.
- Muestras.
- Hoja de Datos de Seguridad (2/3 hojas)
- Comprobante del pago del arancel vigente.

II. Información confidencial (en sobre cerrado)
- Descripción sintética del proceso de producción.

III. Cuerpo Técnico
- Resultados de campo relacionados a su utilidad.
- Métodos analíticos
- Información de campo sobre residuos en productos tratados.
- Información con respecto a la seguridad.
- Efectos tóxicos en especies mamíferas (crónica)
- Elaboración de ficha médica definitiva
- Efectos sobre el medio abiótico (suelo, agua, aire).
- Efectos tóxicos sobre otras especies (aves, acuáticos, benéficos, lombrices, microorganismos de suelo).

La diferencia en el número de registros de productos biológicos como fungicidas en comparación con el número de registros como fertilizantes podría atribuirse a la facilidad comparativa para la inscripción bajo esta última categoría, aún para microorganismos con clara aptitud antagónica además de su capacidad de inducir el crecimiento vegetal.

Conclusiones

Se han realizado numerosos estudios de control biológico de enfermedades de las plantas en Argentina, tanto básicos como aplicados. Dado lo extenso del país, donde se presentan diferentes condiciones edafo-climáticas; se necesitan aplicar estrategias de manejo particulares. Si bien puede observarse cierta concentración de estudios en algunas zonas, en los últimos años se destaca la realización de investigaciones en gran parte del territorio y sobre producciones diversas, que abarcan desde la iniciación del cultivo hasta la poscosecha. Se ha intensificado el estudio de microorganismos promotores del crecimiento de los cultivos. Se han realizado avances muy importantes, aunque en casi todos los casos no se ha llegado a una etapa de registro y comercialización.

Agradecimientos

A todos los investigadores que colaboraron con el envío de trabajos relacionados, cooperando generosamente con nuestro trabajo de recopilación: Viviana Barrera, Gladys Clemente, Gustavo Dal Bello, Rolf Delhey, Laura Gasoni, Silvia Lopez, Alfonso Lovato Echeverría, Gabriela Lucero, Roxana Maumary, Mariel Mitidieri, Cecilia Mónaco, Analía Perelló, Sergio Salazar, Margarita Sillon,

María Cristina Sosa y Silvina Vargas Gil.

Bibliografía

Abalos R, Ponce A, Roura S, Moreira M. 2008. Aplicación de biopreservantes como antimicrobianos en lechuga y zanahoria mínimamente procesadas. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 389.

Abbate FM, Palmucci HE, Morisigue DE, López MV. 2002. Efecto de la cepa TH1 de *Trichoderma harzianum* sobre el crecimiento de *Lathyrus odoratus* L. Resúmenes I Congreso Argentino de Floricultura y Plantas Ornamentales. P. 33.

Abdo G, Rivera A, Aguado R, Álvarez S, Hamiti V, Bonillo M. 2008a. Efecto del tratamiento de semillas de poroto chaucha (*Phaseolus vulgaris* L.) con diferentes biofermentos y suspensiones de cepas de *Trichoderma* spp. sobre longitud de raíz principal y parte aérea de plántulas. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 440.

Abdo G, Rivera A, Aguado R, Álvarez S, Hamiti V, Bonillo M. 2008b. Efecto del tratamiento de semillas de zapallo (*Cucurbita máxima* L.) con diferentes biofermentos y suspensiones de cepas de *Trichoderma* spp. sobre longitud de raíz principal y parte aérea de plántulas. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 439.

Agamennoni R, Rivas J, Delhey R, Azpilicueta A. 1998. Abonos verdes de verano en la producción de cebolla. Resúmenes XXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 113.

Agamennoni R, Rivas J, Delhey R, Prioletta S. 2000. Rotación con abonos verdes y pastura perenne para el manejo de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en cebolla. Horticultura Argentina 19:366.

Agostinelli JF, Wright ER, López MV, Pizzingrilli P, Cabral D. 2005. Control biológico del atizonamiento de los tallos del rosal ocasionado por *Botrytis cinerea*. Resúmenes XVIII Congreso Latinomericano de Fitopatología. p. 244.

Agro Advance Technology. 2012. www.agroat.com (consultado en octubre 2012).

Aguado R, Álvarez S, Abdo G, Hamiti V, Rivera A, Bonillo M, Arias P. 2008. Efecto de la imbibición de semillas de berenjena (*Solanum melongena* L.) con diferentes biofermentos y suspensiones de cepas de *Trichoderma* spp. sobre el peso de plántulas. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 442.

Albarracín Orio A, Brücher E, Marquez N, Agamennoni R, Plazas G, Guerra C, Ducasse DA. 2011. Impacto de diferentes rotaciones en poblaciones de HMA e incidencia de *Fusarium* spp. en cultivos de cebolla. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 327.

Alcaraz Fálico ME, Barredo G, García B, Fálico L. 2006. Comportamiento de *Trichoderma* spp. asociadas al cultivo de trigo en tres suelos de Entre Ríos. Resúmenes XII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Pp. 189-190.

Alippi AM, Perelló A, Sisterna M, Greco N, Cordo C. 1998. Control biológico de enfermedades foliares del trigo con bacterias de los géneros *Bacillus*, *Paenibacillus* y *Brevibacillus*. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 1.

Alippi AM, Perelló AE, Sisterna MN, Greco NM, Cordo CA. 2000. Potential of spore-forming bacteria as biocontrol agents of wheat foliar diseases under laboratory and greenhouse conditions. Journal of Plant Diseases and Protection 107:155-169.

Altamirano FE, Arias MP, Lázzaro ME, Zankar G. 2000. Effects of rhizobacteria on the growth of *Cedrela lilloi* C.CD. (cedro coya o cedro peludo). Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 2.

Álvarez S. 2005. Estudio de la capacidad antagónica de aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a hongos patógenos de tomate. Resúmenes XVIII Congreso Latinomericano de Fitopatología. P. 245.

Álvarez S, Abdo G, Hamiti V, Rivera A, Bonillo M, Aguado R, Arias P. 2008. Efecto del tratamiento de semillas de cebolla (*Allium cepa* L.) con diferentes biofermentos y suspensiones de aislados locales de *Trichoderma* spp. sobre la longitud de raíz principal y el desarrollo de raíces secundarias. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 441.

Alvarez S, Rivera A. 2006. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. en función de su capacidad biocontroladora sobre *Fusarium* spp. transmitido por semilla de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.). Resúmenes XII Jornadas Fitosanitarias Argentinas (Suplemento).

Andrada P, Sillon M, Canova D, Ridley N. 2008a. Evaluaciones de efectos de *Trichoderma* spp. de distintos orígenes sobre dumping-off y desarrollo de cultivos de soja. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 197.

Andrada P, Sillon M, Canova D, Ridley N. 2008b. Experiencias a campo con *Trichoderma* app. para seleccionar formas de aplicación a cultivos de maíz. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 198.

Andreani E, Vecchieti N, Zapata S. 2001a. Control biológico de *Sclerotium rolfsii* con *Trichoderma harzianum* en cultivo de poroto. Horticultura Argentina 20:21 (artículo 014).

Andreani E, Vecchieti N, Zapata S. 2001b. Mecanismos de control biológico de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium rolfsii*. Horticultura Argentina 20:21 (artículo 013).

Andreotti M, Rojo R, López N, Beribe MJ, Agamennoni R, Baffoni P, Gasoni L, Martínez MC, Barrera V. 2012. Efecto de las rotaciones en cultivos de cebolla sobre la presencia de *Fusarium oxysporum* Schlecht. y hongos antagonistas en el suelo. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 365.

Arango C, Ruscitti M, Ronco M, Beltrano J. 2008. Efecto de la inoculación con hongos micorrícicos (*Glomus intraradices* y *Glomus mosseae*) y la disponibilidad de P sobre la producción de biomasa y absorción de nutrientes en *Mentha piperita* L. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 17.

Ardiaca E. 2012. Biofumigación en un cultivo de berenjena. Su efecto sobre crecimiento y producción. Facultad de Agronomía Universidad de Buenos Aires. Tesis de Grado. 84 pp.

Aschkar GM, Pozzo Ardizi MC, Pellejero G. 2004. Evaluación de cepas bacterianas rizosféricas utilizadas como estimuladores de crecimiento en el cultivar Río Grande de tomate (*Lycopersicum sculentum*). En: Monzón de Asconegui MA, García de Salomone IE, Miyasaki SS (eds.). Biología del Suelo. Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires. Pp. 143-147.

Asciutto K, Rivera MC, Wright ER, Morisigue D, López MV. 2006. Effect of vermicompost on the growth and health of *Impatiens wallerana*. Phyton 75:115-123.

Asselborn MN, Correa OS, Pedraza MV. 2012. Biocontrol de esclerocios para el manejo integrado de enfermedades en arroz. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 363.

Astiz Gassó MM, Pagliocca R, Varaschin C. 2011. Comportamiento del formulado biológico Biagro TL en el manejo integrado de enfermedades. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 373.

Babbitt S, Gasoni L, Cozzi J, López MV. 1999. Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma* isolates to improve fermentation process. Proceedings International Congress of Plant Protection. ?completar

Babbitt S, Gasoni L, López MV, Barrera V. 2001. Utilización de aislamientos de *Trichoderma* desarrollados sobre tarugos de madera en el control de *Rhizoctonia solani* en *Solanum melongena*. Fitopatologia Brasileira 26 (Suplemento):13.

Babbitt S, Martinez MC, Lucca F, López MV, Tozzini A, Gasoni L. 2000. Relationship between the antagonistic ability and the physiological, biochemical and molecular

characteristics of *Trichoderma* strains. Proceedings 5th International PGPR Workshop.P. 6.

Babbitt S, Zapata R. 2004. Effectiveness of strains of *Trichoderma* spp. in softwood chips as biocontrol and plant growth promoting agent in eggplant. Proceedings International Seminar on Biological Control of Soilborne Plant Diseases. Japan-Argentina Joint Study. Pp. 124-127.

Bachur M, Correa OS, Montecchia M, Grijalba P, Pucheu NL, Kerber NL, García AF. 2002. Evaluación e identificación de *Bacillus* sp. Bch1 como agente de control biológico del damping-off causado por *Rhizoctonia solani* en soja (*Glicine max* L. Merr.). Resúmenes XXXVIII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigaciones Bioquímicas y Biología Molecular.

Baffoni PA, Kiehr M, Delhey R. 2006. *Phoma terrestris* y *Rhizoctonia solani* en plántulas de cebolla: respuesta diferencial a substratos conteniendo compost o lombricompuesto. Resúmenes XXIX Congreso Argentino de Horticultura. P. 69.

Baffoni PA, Zelaya CE, Prioleta SM, Perez Pizarro J. 2011. Efecto de un fungicida biológico a base de *Trichoderma harzianum* (cepa T22) sobre podredumbre basal en cebolla. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 275.

Barrera V, Babbitt S, Martínez MC. 2004. Characterization of fungal biocontrol agents and pathogens from soil. En: Biological Control of Soilborne Plant Diseases, JICA, Buenos Aires. Pp. 148-161.

Barrera V, Martínez MC, Gasoni L, Romero A. 2005. Monitoreo de aislamientos de *Trichoderma harzianum* utilizados en ensayos de control biológico empleando la técnica de UP-PCR. Resúmenes XVIII Congreso Latinomericano de Fitopatología. P. 250.

Barrera VA. 2012. El gênero Hypocrea Fr. (Hypocreales, Ascomycota) em la Argentina. Estudio de la variabilidad molecular de su estado anamórfico *Trichoderma*. Universidad de Buenos Aires. Tesis de Doctorado. 241 pp.

Barrientos ME, Petrone ME, Vasquez PA, Vega D, Moya MC, Wright ER, Rivera MC. 2007. Sistematización de una experiencia de manejo sanitario en el contexto de la investigación-acción-participativa. V Jornadas Interdisciplinarias de Estudios Agrarios.

BASF. 2012. www.basf.com.ar (consultado en octubre 2012).

Battistella RA, Cabello MN, Ridao AC. 2011. Composición de especies de hongos micorrícicos arbusculares en espárrago de diferente edad, con o sin síntomas de fusariosis. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 277.

Battistella RA, Ridao AC. 2011. Colonización micorrícica en plantas de espárrago de diferente edad, con o sin síntomas de fusariosis. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 276.

Bejarano N, Catacata J, Montiel I, Calizaya E, Curzei V, Villaroel M. 2011. Antagonista de *Guignardia citricarpa* aislado del filoplano cítrico. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 278.

Benva M, Wright ER, Rivera MC, Fabrizio MC. 2004. Eficiencia de preparados de ajo en el control de *Penicillium* sp., patógeno de tulipán (*Tulipa* sp.). Resúmenes II Congreso Argentino de Floricultura y Plantas Ornamentales. Pp. 231-233.

Berruezo L, Mercado Cárdenas G, Herrando C. 2011a. Efecto *in vitro* de la adición de enmienda orgánica sobre la capacidad patogénica de *Rhizoctonia* en tabaco. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 280.

Berruezo L, Mercado Cárdenas G, Herrando C. 2011b. Efecto *in vivo* de la adición de enmienda orgánica sobre la capacidad patogénica de *Rhizoctonia* en tabaco. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 279.

Beruzzi D, Calvente V, Calvo J, Sanz Ferramoia M. 2007. Inóculos para control biológico en postcosecha: Efecto del calcio sobre la viabilidad de *Rahnella aquatilis*. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 344.

Bilav 2012. www.bilav.com.ar (consultado en octubre 2012).

Boiteux J, Lucero G, Hapon MV, Pizzuolo P. 2012a. Actividad biológica de diversos extractos vegetales, sobre el crecimiento miceliar de *Phytophthora capsici* Leo. responsable de enfermedades en cultivos de importancia económica en Argentina. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 323.

Boiteux J, Pizzuolo P, Hapon MV, Lucero G. 2012b. Primeros estudios referidos al efecto del extracto acuoso de chañar (*Geoffroea decorticans*) sobre *Botrytis cinerea*, como posible alternativa de control en uvas de mesa. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 334.

Boiteux J, Pizzuolo P, Lucero G, Hapon MV. 2011. Cinética de inhibición de conidios de *Botrytis cinerea* con extractos de *Geoffroea decorticans* (chañar). Resúmenes 2º C ongreso Argentino de Fitopatología. P. 281.

Bompadre J, Pérgola M, Divo de Sesar M, Godeas A, Stella A, Rivera MC, Wright ER, Herrera O, Vilella F. 2001. Producción en plugs de plantines de *Viola* x *wittrockiana* F2 var. Saint Tropez con cepas nativas de *Glomus intradices*. Resúmenes VIII Congreso de Horticultura.

Bonillo M, Rivera A, Álvarez S. 2007. Efecto de la imbibición de semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) con suspensiones de cuatro cepas de *Trichoderma* spp. sobre la germinación y el desarrollo de las plántulas. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 289.

Borghi AL, Fulgueira CL, Coralini de Bracalenti BJ. 1989a. Efectos de las investigaciones entre *Streptomyces* y hongos toxicogénicos sobre semillas de trigo. Resúmenes IV Congreso Argentino de Micología. P. 81.

Borghi AL, Fulgueira CL, Coralini de Bracalenti BJ. 1989b. Poblaciones de *Streptomyces* en suelos con cultivos alternantes de cereales y leguminosas. II. Propiedades antagónicas sobre cepas de *Fusarium* toxicogénicos. P. 79.

Boschi C, Wright ER, López MV, Fabrizio M del C. 1996. Estudios preliminares del efecto antagónico *in vitro* de aislamientos bacterianos sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Resúmenes VIII Congreso Latinoamericano de Horticultura. P. 108.

Bucki PM, Laich FS, Melegari AL, Escande AR. 1998. Mal de los almácigos en berenjena (*Solanum melongena* L.): Aislamiento y selección de agentes causales y de microorganismos para el control biológico. Fitopatología 33:108-115.

Caire GZ, Cano MS, Mulé MCZ, Halperin DR. 1990. Antimycotic products from the Cyanobacterium *Nostoc muscorum* against *Rhizoctonia solani*. Phyton 51:1-4.

Caire GZ, Cano MS, Mulé MCZ, Halperin DR, Calvagno M. 1987. Action of cell-free extracts and extracellular products of *Nostoc muscorum* on growth of *Sclerotinia sclerotiorum*. Phyton 47:43-46.

Caire GZ, Mulé MCZ, Doallo S, Halperin DR, Halperin L. 1976. Acción de extractos algales acuosos y etéreos de *Nostoc muscorum* Ag. (Nº79a). I. Efecto sobre plántulas de mijo (*Panicum miliaceum* L.) mediante tratamiento de sus semillas. Boletín Sociedad Argentina de Botánica 17:280-300.

Calvente V, Benuzzi D, Sansone G, Sanz Ferramoia M. 2007. Reducción de germinación de mohos fitopatógenos mediante un sideróforo producido por el agente de biocontrol *Rahnella aquatilis*. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 392.

Calvo J, Calvente V, Beruzzi D, Sanz Ferramola M. 2007. Biocontrol de mohos fitopatógenos en postcosecha de manzanas utilizando un consorcio microbiano. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 217.

Cámara Hernández V, De Luca E, Rivera MC. 2011. Biofumigación con repollo: Su efecto sobre sanidad y producción de un cultivo de tomate. Horticultura Argentina 30:72.

Campagnac N, Bonacic M, Bonacic I, Ojeda A. 1992. Control biológico de las enfermedades de plántulas "damping-off" (*Rhizoctonia-Pythium*) del algodón: estudios y posibilidades prácticas. Resúmenes VIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas.

Canteros BI, Hermosis F, Gochez AM, Soliz J, Benitez R. 2011. Actividad de un bacteriófago nativo sobre cepas de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* y bacterias saprófitas. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 263.

Carbajo MS, Díaz Ricci JC, Torres Leal GJ. 2008. Control biologico del moho verde de los cítricos por un biofungicida: Serenade®. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 205.

Carletti S. 2000. Use of plant growth-promoting rhizobacteria in plant micropropagation. Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 21.

Carrozzi L, Monterubbianesi G, Barassi CA, Creus CM. 2007. Adelantamiento de la germinación de semillas de lechuga envejecidas tratadas con *Azospirillum brasilense*. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 288.

Castañón MAM, Cúndom MA. 1997. MIcoparásito de *Fulvia fulva*, agente causal del moho foliar del tomate. Resúmenes IX Congreso Latinoamericano de Fitopatología. P. 289.

Chiessa G, Rivera MC, Wright ER, López MV, Leicach S, Yaber Grass M. 2002. Estudio del efecto de extractos de *Chenopodium ambrosioides* sobre el crecimiento de *Rhizoctonia solani*. Resúmenes XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 19.

Chiessa G, Wright ER, Leicach S, López MV, Yaber Grass M. 2001. Evaluación del efecto "*in vitro*" de extractos de *Chenopodium ambrosioides* sobre el crecimiento de *Rhizoctonia solani*. Horticultura Argentina 20:24.

Cifone N, Delhey R, Chaves H, Martínez RS, Agulló E, Kiehr M. 2000. Control de podredumbres de poscosecha en zapallo anquito aplicando films de quitosano. Horticultura Argentina 19:175.

Cifone N, Delhey R, Kiehr M, Agulló E, Martínez RS, Chaves H. 2001. Quitosano controla podredumbres de frutos de zapallo anquito (*Cucurbita moschata*). En: Resúmenes Taller Química de Quitina y Quitosanos y su Aplicación en Control Ambiental. Pp. 53-55.

Cifone N, Kiehr M, Delhey R, Agulló E. 1999. El potencial de quitosano y de ácido acético para controlar podredumbres de poscosecha en zapallo anquito. Resúmenes X Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 85.

Clemente G, Melegari A, Quadrelli A, Bucki P, Lemanceau P, Escande A. 2000a. Effect of geographical and rhizosphere or non-rhizosphere origins of fluorescent Pseudomonads on their suitability to protect tomato seedlings cv. Early Mech from *Rhizoctonia solani* AG-4 infection. Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 24.

Clemente G, Quadrelli AM, Melegari A, Escande A. 2000b. Inoculation methods of fluorescent *Pseudomonas* to control tomato damping-off (*Rhizoctonia solani* AG-4). Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 25.

Colombo MH, Lattar T, Obregón V, Cardozo N, Monteros J, Mónaco C. 2011a. Acción antagónica "*in vitro*" de *Trichoderma koningii, T. virens y T. harzianum* sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* patógeno del tomate en invernaderos plásticos. Resúmenes XXXIV Congreso Argentino de Horticultura. P. 348

Colombo MH, Obregón V. Monteros J. 2008. Eficacia de la solarización en el control de *Ralstonia solanacearum* en invernaderos en Bella Vista, Corrientes. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 73.

Colombo MH, Obregón V, Monteros J, Cardozo N. 2011b. Control biológico de la oidiopsis del pimiento causada por *Leveillula taurica*. Resúmenes III Jornadas de Enfermedades en Cultivos Bajo Cubierta. P. 81

Colombo MH, Gauna P, Lencak MP. 2005. Desinfección de suelos por biofumigación. Resúmenes XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. P. 519.

Conles M, Yossen E. 2000. *Penicillium* sp. as plant growth promotor and suppresssor of *Sclerotium cepivorum* Berk. in garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepae*). Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 26.

Cordo CA, Mónaco CI, Segarra CI, Simón MR, Mansilla AY, Perelló AE, Kripelzi NI, Bayo D, Conde RD. 2007. *Trichoderma* spp. as elicitors of wheat plant defense responses against *Septoria tritici*. Biocontrol Science and Technology 17: 687-698.

Cordo CA, Simón MR, Mónaco CI, Stocco M, Lampugnani G, Abramoff C, Kripelz NI, Alonso N, Paredes E, Navarrette F, Aventín J. 2011. Control químico-biológico de la mancha de la hoja del trigo en el campo. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 289.

Cordo CA, Simón MR, Stocco M, Lampugnani G, Abramoff C, Kripelz NI, Mónaco CI. 2012. Aplicaciones de *Trichoderma harzianum* y su efecto sobre las curvas de progreso de la septoriosis del trigo y el rendimiento. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 153.

Correa OS, Montecchia MS, Berti MF, Fernández Ferrari MC, Pucheu NL, Kerber NL, García AF. 2009. *Bacillus amyloliquefaciens* BNM122, a potential microbial biocontrol agent applied on soybean seeds, causes a minor impact on soil microorganisms. Applied Soil Ecology 41:185-194.

Correa OS, Souto GI, Pucheu NL, Kerber NL, García AF. 2000. Caracterización y purificación parcial de metabolitos antifúngicos de *Bacillus* sp. Resúmenes XXXVI Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigaciones Bioquímicas y Biología Molecular. Chile.

Cozzi J, Gasoni L. 1995. Producción de biomasa de *Trichoderma harzianum* en distintos medios y condiciones de cultivo. Revista Forestal Venezolana 1:28.

Cozzi J, Gasoni L. 1997. Temporal relationship of inoculum formulation to density, variability on biocontrol efectiveness of *Trichoderma harzianum*. Proceedings 4th International PGPR Workshop. Pp. 468-471.

Cremaschi G, Andreau R, Chale W, Garbi M. Morelli G, Stocko M, Mónaco C, Martínez S. 2011. Efecto de cepas de *Trichoderma harzsanum* sobre la producción de tomate producido bajo cubierta plástica. Ressúmenes de las III Jornadas de Enfermedades en Cultivos bajo Cubierta. P. 83.

Crespo S. 2001. Incorporación de compost de lombriz al sustrato de *Armeria maritima* como alternativa para el control del patógeno *Rhizoctonia solani* y la promoción del crecimiento de las plantas. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Tesis de Grado. 24 pp.

Cuellas M, Fernández R. 2012. *Trichoderma* spp.: su efecto para el control de *Phytophthora* spp., en un cultivo de gerbera. Resúmenes XXXV Congreso Argentino de Horticultura. P. 238.

Cuellas M, Fernández R, Stocco M, Mónaco C, Balatti P. 2011. Evaluación del efecto de aplicación de *Trichoderma* sp. sobre el control de *Phytophthora* spp., en un cultivo de gerbera. Resúmenes XXXIV Congreso Argentino de Horticultura. P. 96.

Cúndom MA, Gutiérrez SA, Maza SM, Vallejos G. 2002a. Actividad antagónica *in vitro* de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani*, patógeno de arroz. Resúmenes XIII Reunión de Comunicaciones Científicas y Técnicas.

Cúndom MA, Maza SM, Gutiérrez SA. 2003. Selection of *Trichoderma* spp. isolates against *Rhizoctonia solani*. Spanish Journal of Agricultural Research 1:1-4.

Cúndom MA, Maza SM, Mazzanti MA, Gutiérrez SA, Couthino M. 2002b. Actividad antagónica *in vitro* de hongos saprófitos del departamento Capital, provincia de Corrientes, Argentina, contra *Sclerotinia sclerotiorum*. Fitopatología 37:133-141.

Dal Bello G, Mónaco CI, Rollán MC, Lampugnani G, Arteta N, Abramoff C, Ronco L, Stocco M. 2008. Biocontrol of postharvest grey mould on tomato by yeasts. Journal of Phytopathology 56:257-263.

Dal Bello G, Mónaco CI, Ronco L, Larrán S. 2005. Control biológico de la podredumbre del fruto del tomate causada por *Botrytis cinerea*. Resúmenes XIII Congreso Latinomericano de Fitopatología. P. 263.

Dal Bello GM, Mónaco CI, Simón MR. 2002. Biological control of seedling blight of wheat caused by *Fusarium graminearum* with beneficial rhizosphere microorganisms. World Journal of Microbiology & Biotechnology 18:627-636.

Dal Bello GM, Mónaco CI, Sisterna MN. 1994. Efecto de *Trichoderma* spp. sobre el control del tizón de la plántula en trigo ocasionado por *Bipolaris sorokiniana* bajo condiciones de invernáculo. Fitopatologia Brasileira 19:394-400.

Dal Bello GM, Mónaco CI, Sisterna MN, Nico AI. 2008. Relationship between an *in vitro* and greenhouse assay for biological control of *Bipolaris sorokiniana*-induced seedling blight of wheat. Biological Agriculture and Horticulture 26:103–119.

Dal Bello GM, Sisterna MN, Mónaco CI. 1995. Correlación entre el potencial biocontrolador *in vitro* y a campo de antagonistas de *Bipolaris sorokiniana*, agente causal del tizón de la plántula de trigo. Resúmenes IX Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P 96.

Dal Bello GM, Sisterna MN, Mónaco CI. 2003. Antagonistic effect of soil rhizosphere microorganisms on *Bipolaris sorokiniana*, the causal agent of wheat seedling blight. International Journal of Pest Management 49: 313-317.

Dal Bello GM, Sisterna MN, Simón MR, Mónaco CI. 1998. Control biológico del tizón de la plántula del trigo causado por *Bipolaris sorokiniana*. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 2.

De Estrada M. 2003. Mecanismos involucrados en la actividad antifúngica de *Bacillus amyloliquefaciens* DSM7. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Tesis de Grado.

Delhey R, Kiehr M, Azpilicueta A. Agamennoni R, Rivas J, Frayssinet S. 1998. El efecto de abonos verdes sobre la sanidad y productividad de cebolla. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 35.

Delhey R, Kiehr M, Frayssinet S, Badino H, Lusto J, Gaido E. 2000. Sobrevivencia de *Sclerotinia sclerotiorum* en "cama de pollo" hecha con cáscara de girasol. Horticultura Argentina 19:42.

Di Barbaro MG, Seleme F del V, Pernasetti DS, Lucena V, Stegmayer A. 2006. Capacidad de biocontrol de *Azospirillum* spp. sobre microorganismo fitopatógeno. Pruebas de antagonismo en zanahoria (*Daucus carota*). Resúmenes XXIX Congreso Argentino de Horticultura. Pp. 78-79.

Di Masi S, Rossini M, Gómez R, Frattini M, Iglesias N, Veronesi A. 1996. Primeras experiencias de solarización en el control de hongos, nematodos y malezas en la región del Alto Valle de Río Negro y Neuquén. Resúmenes XIX Congreso Argentino de Horticultura. P. 26.

Di Masi S, Veronesi A. 1998. Efecto antagónico de cepas locales de *Trichoderma* spp. sobre *Penicillium expansum* Ling en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén en Argentina. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. . P. 4.

Dobra A, González Junient RN, Schutz R. 1996. Temperaturas alcanzadas y su efecto sobre esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* en suelo solarizado en invernadero. Resúmenes XIX Congreso Argentino de Horticultura. P. 27.

Dobruskin J, Torres N, Pérez Brandán C, Zapata R, Altamirano F. 2009. Control biológico de la podredumbre de raíz (*Fusarium* spp,) en poroto mediado por *Pseudomonas fluorescens*. Resúmenes XXXII Congreso Argentino de Horticultura. P. 338.

Durán E, Yasem de Romero M, Romero E, Ramallo JC. 2005. Sensibilidad in vitro del agente de control biológico *Trichoderma* spp. de semilla de soja al curasemilla fludioxonil-metalaxil M. Resúmenes XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. P. 524.

Durman S, Menendez A., Godeas A. 1998. Evaluación de *Trichoderma* spp. como antagonista de *Rhizoctonia solani* y como biocontrolador del damping-off de plantas de tomate en invernadero. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas.Pp. 5.

Echarte SD, Moreira, M, Roura S, Ponce A. 2008. Control biológico de *Escherichia coli* por enriquecimiento de la microflora nativa en una hortaliza de hoja. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 390.

Escande A, Bucki P, Reybet C, Bustamante A, Rodríguez G, Rainez P, Maero E, Azpilicueta C. 1998b. Manejo de la sanidad del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) mediante solarización y antagonistas. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 36.

Escande A, Clemente G, Laich F. 1998a. Efecto de la especie vegetal cultivada, la temperatura del aire y el sistema de riego sobre la frecuencia de aislamiento sobre la rizósfera de potenciales biocontroladores de la enfermedad de las almácigas. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 37.

Escande A, Echandi E. 1991. Protection of potato from *Rhizoctonia* canker with binucleate *Rhizoctonia* spp. Plant Pathology 40:197-202.

Escande A, Laich FS, Pedraza MV. 2002. Field testing of honeybee-dispersed *Trichoderma* spp. to manage sunflower head rot (*Sclerotinia sclerotiorum*). Plant Pathology 51:346-351.

Escande A, Melegari A, Quadrelli AM, Clemente G. 2000. *Rhizoctonia solani* inoculation methods to induce tomato damping-off for the screening of beneficial fluorescent *Pseudomonas* isolates. Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 37.

Escande A, Pedraza MV, Agüero ME. 1998. Evaluación de *Gliocladium* spp. y *Trichoderma* spp. para el biocontrol de la pudrición húmeda del capítulo del girasol (*Sclerotinia sclerotiorum* Lib. De Bary). Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 6.

Escande A, Pedraza MV, Ruffinengo S, Palacio A, Peryra VR, Laich FS. 1997. Manejo de la podredumbre del cpaítulo del girasol (*Sclerotinia sclerotiorum*) en el campo mediante *Trichoderma* spp. dispersado por abejas melíferas. Resúmenes IX Congreso Latinoamericano de Fitopatología. P. 215.

Estrada D, Rossi MS, Andrés JA, Rovera M, Correa NS, Rosas SB. 2000. Greenhouse evaluation of *Pseudomonas aurantiaca* formulated as inoculant for the biocontrol for plant pathogenic fungi. Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 38.

Fálico de Alcaraz L, García B, Bucari R. 1994. Microorganisms antagonistic to pathogenic fungi in soybean. En: Proceedings IV Chilean Congress of Phytopathology. P. .61.

Fálico de Alcaraz L, Visintin G, Benintende S. 1996a. El efecto de una bacteria biocontroladora sobre los hongos que afectan la calidad de la semilla de soja. Resúmenes V Siconbiol. Simposio de Controle Biológico. P. 250.

Fálico de Alcaraz L, Visintin G, Benintende S. 1996b. Bacteria biocontroladora de hongos que afectan la germinación de semilla de soja. RIA 27:169-175.

Fálico de Alcaraz L, Visintin G, García B. 1998. Selección *in vitro* de *Bacillus* spp. como biocontrolador de *Fusarium* sp. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 7.

Fálico L, García B, Sillon M, Visintin G. 2000. *Bacillus* sp. and growth promotion in soybean. En: Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 40.

Fálico L, Visintin G, García B, Alcaraz E, Sillon M. 2005. Implantación de soja con microorganimos biocontroladores. Resúmenes XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. P. 268.

Fernández Lezcano GC, Wright ER, López, MV, Vasquez PA, Rivera MC. 2008. Evaluación de antagonistas para el control de *Botrytis cinerea* en pimpollos de rosal. Resúmens del Cuarto Congreso Argentino de Floricultura y Plantas Ornamentales. Décimas Jornadas Nacionales de Floricultura. Pp. 378-383.

Fernández RR, Jaime MA, Martín GO, Nasif A, Martínez Pulido L, Fernández JA. 1999. Observaciones sobre la incidencia de la inoculación de microorganismos fijadores

libres de nitrógeno atmosférico en la sanidad de plantines de pimiento híbrido (*Capsicum annum* L.). Resúmenes XXXII Congreso Argentino de Horticultura. 1.1.4.A:32. (en CD).

Flores CR, Bejarano S, Rueda N, Rueda E. 2012. Interacción entre aislamientos locales de *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp. Resúmenes XXXV Congreso Argentino de Horticultura. P. 460.

Flores CR, Flores Alzaga D, Colque R, Rueda NM, Bejarano SG, Rueda RE, Rivadeneira M. 2009. *Trichodermas* rizosféricos con posible actividad supresiva sobre el marchitamiento por *Fusarium oxysporum* en tomate. Resúmenes XXXII Congreso Argentino de Horticultura. P. 37.

Formulagro 2012. www.formulagro.com.ar (consultado en octubre 2012)

Franchessi VE, Cáceres CM, Visaintín GL, García BB. 2012. Microflora epífita de manzano como antagonista potencial de *Penicillium expansum*. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 126.

Frayssinet S, Ayastuy E, Rodríguez R, Persiani L. 2011. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto acuoso de vermicompost sobre *Botrytis cinerea* y *Corynespora cassicola* en albahaca. Resúmenes XXXIV Congreso Argentino de Horticultura. P. 33.

Freixá GA, Rivera MC, Wright ER, Fabrizio MC, Tito G. 2003. Eficiencia del uso de cebolla (*Allium cepa*) en el control de *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*. Resúmenes Taller Latinoamericano sobre control orgánico de plagas y enfermedades. Horticultura:12 (en CD).

Fulgueira C, Amigot S, Sannazzaro A, Gómez C, Chacón G, Borghi A. 1998a. Interacción entre hongos toxicogénicos y cepas de *Streptomyces* spp. aisladas de suelo. (parte II). Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas, Buenos Aires, Argentina. P. 9.

Fulgueira C, Borghi A, Bracalenti BJC de. 1998b. Interacción entre hongos toxicogénicos y cepas de *Streptomyces* spp. aisladas de suelo. (parte I). Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas, Buenos Aires, Argentina. p. 8.

Galián LR, Trejo NG, Tagliatella DI; Salvarezza A, Astiz Gassó MM. 2012. Comportamiento del formulado biológico *Azospirillum brasilense* Az-39 INTA sobre *Fusarium graminearum* Schwabe en trigo. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 361.

Gara PMD, Vázquez TEE, Aguilar OM, Lodeiro AR, Favelukes G. 2000. A study of soil bacterial populations associated to tomato roots. Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 46.

García B, Visintin G, Alcaraz ME, Fálico LM. 2002. Biocontrol de enfermedades en la implantación del cultivo de soja. Resúmenes XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 24.

Gasoni L. 1994. Actividad celulolítica de *Cladorhinum foecundissimum*, agente biocontrolador de *Rhizoctonia solani.* Resúmenes IV Siconbiol. Simposio de Controle Biologico. P. 61.

Gasoni L, Cozzi J, Kobayashi K. 1998. Survival of potential biocontrol bacteria in various formulations and their ability to reduce radish damping-off caused by *Rhizoctonia solani*. Journal of Plant Disease and Protection 105: 41- 48.

Gasoni L, Cozzi J, Kobayashi K, Yossen V, Zumelzú G, Babbitt S, Kahn N. 2001. Yield response of lettuce and potato to bacterial and fungal inoculants under field conditions in Córdoba (Argentina). Journal of Plant Disease and Protection 108:530-535.

Gasoni L, Khan N, Yokoyama K, Chiessa GH, Kobayashi K. 2008. Impact of *Trichoderma harzianum* biocontrol agent on functional diversity of soil microbial community in tobacco monoculture in Argentina. World Journal of Agricultural Sciences 4:527-532.

Gasoni L, Kahn N, Yossen V, Cozzi J, Kobayashi K, Babbitt S. 2008. Effect of soil solarization

and biocontrol agents on plant stand and yield on table beet in Cordoba (Argentina). Crop Protection 27:337-342.

Gasoni L, Kobayashi K, Vicario A, Stegman de Gurfinkel B, Cozzi J. 2004. Biocontrol agents and mechanisms involved. Proceedings International Seminar on Biological Control of Soilborne Plant Diseases, Japan-Argentina Joint Study. P. 53-69.

Gasoni L, Stegman de Gurfinkel B. 2009. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* by the endophytic fungus *Cladorrhinum foecundissimum* in cotton plants. Australasian Plant Pathology 38:389-391.

Giten. 2013. www.giten.com (consultado en febrero 2013).

González S, Kiehr M, Ayastuy ME, Rodríguez R, Delhey R. 2007. Solarización y biofumigación para el control de raíz rosada (*Phoma terrestris*) en cebolla. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 393.

Goñi GE, Wright ER, Zapata RL, López MV, de Delfino OSF, Senlle M. 1989. Selección *in vitro* de posibles antagonistas de *Sclerotinia sclerotiorum*. Resumenes VII Jornadas Fitosanitarias Argentinas.

Goñi MG, Moreira MR, Viacava GE, Roura SI. 2010. Aplicación de quitosano a semillas de lechuga manteca: efecto sobre la carga microbiana y la germinación. Resúmenes XXXIII Congreso Argentino de Horticultura. P. 407.

Grijalba PE, Devitto GA, Wright ER, López MV, Delfino OSFde. 1992. Eficiencia antagónica "in vitro" y en invernáculo de *Trichoderma koningii* sobre *Colletotrichum dematium* var. *truncata*. Revista Facultad de Agronomía 13:157-162.

Grosso R, Muguiro A, Pechin C, Mondino MC. Estanga U. 2010. Efecto de la aplicación de formulados *Trichoderma* sp., *Bacillus* sp. y *Azospirillum* sp. en cultivos de lechuga y acelga bajo cubierta en General Pico, provincia de La Pampa. Resúmenes XXXIII Congreso Argentino de Horticultura. P. 250.

Gurfinkel BS de, Perticari A. 2000. Nitrogen fixing rhizobacteria and their relationship with soilborne fungi. Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 28.

Hapon MV, Fernández M de los A, Colonia LL, Monárdez C, Lucero G, Pizzuolo P. 2007. Efecto inhibor "in vitro" de aceites esenciales sobre el crecimiento de hongos fitopatógenos (*Botrytis cinerea* y *Penicillium* sp.) Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 196.

Hapon MV, Pizzuolo P, Boiteux J, Lucero G. 2012a. Estudio de la cinética de inhibición de la germinación de conidios de *Botrytis cinerea* Pers. tratados con extractos de *Larrea divaricata* Cav. (jarilla). Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 324.

Hapon MV, Pizzuolo P, Boiteux J, Monasterio R, Lucero G, Silva MF. 2012b. Inhibición de la germinación de conidios de *Botrytis cinerea* asociada a compuesto fenólico presente en el extracto acuoso de *Larrea divaricata* Cav. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 351.

Hapon MV, Pizzuolo P, Lucero G, Boiteux J. 2010. Actividad biológica de metabolitos extracelulares producidos por aislados de *Trichoderma* spp. sobre *Botrytis cinerea*. Revista Argentina de Microbiología 42(Supl. 1):213.

Hindi A, Ridao AC, Salvalaggio AE. 2011. Pérdida de biótica de un suelo de monocultivo frente a la podredumbre basal de cebolla. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 306.

Hongn S, Baino O, Gil MJ, Ramallo JC. 2002. Efecto de enmiendas orgánicas y desinfectantes químicos en la incidencia de *Ralstonia solanacearum* en tomate en invernadero. Resúmenes XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 75.

Iriarte LE, Sosa MC, Reybet GE. 2011. Efecto de la biofumigación con repollo sobre el control de *Fusarium oxysporum* en suelo. RIA 37:231-237.

Jousset A, Lara E, Wall LG, Valberde C. 2006. Secondary metabolites help biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* CHA0 to escape protozoan grazing. Applied and Environmental Microbiology 72:7083-7090.

Kahn N, Yokoyama K, Gasoni L, Chiessa G, Kobayashi K. 2004. Statistical utilities supporting BIOLOG Microstation System. Proceedings International Seminar on Biological Control of Soilborne Plant Diseases. Japan-Argentina Joint Study. Pp. 187-193.

Kiehr M, Delhey R, Castro L. 1995. Efecto del hongo *Phoma terrestris* y diversas enmiendas sobre emergencia, crecimiento y supervivencia de plántulas de cebolla. Resúmenes IX Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 14.

Kiehr M, Delhey R, Frayssinet S, Gaido E, Lusto J. 2000. Enmiendas con cáscara de girasol en suelos hortícolas como vía de introducción de *Sclerotinia sclerotiorum*. Horticultura Argentina 19:42.

Kiehr M, Zappacosta D, Delhey R. 2005. La preinoculación de raíces de cebolla con cepas poco agresivas de *Phoma terrestris* no protege contra una inoculación desafío con cepas agresivas. Resúmenes XVIII Congreso Latinomericano de Fitopatología. P. 285.

Kobayashi K, Gasoni L, Cozzi J. 1995. Selección de bacterias productoras de antibióticos específicos contra *Rhizoctonia solani*. Revista Forestal Venezolana 1:28.

Kobayashi K, Gasoni L, Cozzi J. 1996a. Antibiotic production by bacterial isolates antagonistic of *Rhizoctonia solani*. Resúmenes V Sincobiol. Simposio de Controle Biológico. P. 227.

Kobayashi K, Gasoni L, Cozzi J. 1996b. Preliminary results on the biological control of *Rhizoctonia solani* with bacterial isolates on coated seeds. Resúmenes V Sincobiol. Simposio de Controle Biológico. P. 226.

Kobayashi, K, Gasoni L, Vicario A, Cozzi J. 1999. Suppressive effects of antagonistic bacteria and metabolites on a pathogenic *Rhizoctonia solani* strain. Increased production in a specific medium. RIA 29:63-76.

Laboratorio San Pablo 2012. www.laboratoriosanpablo.com.ar (consultado en octubre 2012)

Laboratorios Biagro. 2012 www.biagrosa.com.ar (consultado en octubre 2012)

Laich F, Pereyra VR, Escande AR. 1997. Efecto del riego, el sombreado y la dispersión de *Trichoderma* spp. mediante abejas sobre la podredumbre del capítulo del girasol (*Sclerotinia sclerotiorum*). Resúmenes IX Congreso Latinoamericano de Fitopatología. P. 219.

Lampugnani G, Dal Bello G, Abramoff G, Laporte C, Arteta G, Mónaco C. 2009. Efecto de los extractos acuosos de ajo y cebolla sobre el control de *Botrytis cinerea* en plantas de toamte. Resúmenes II Jornadas de Enfermedades y Plagas en Cultivos Bajo Cubierta. P. 43.

Lampugnani G, Sisterna M, Abramoff C, Dal Bello G, Garat J. 2011. Actividad antifúngica de derivados botánicos para el control de patógenos de semillas en tomate Platense y ají vinagre. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 367.

Larrán S, Mónaco C, Dal Bello G, Ronco L. 2005. Estrategias alternativas para el control de la podredumbre negra del tomate. Resúmenes XVIII Congreso Latinomericano de Fitopatología. P. 287.

León M, Yaryura PM, Montechia MS, Hernández AI, Correa OS, Pucheu NL, Kerber NL, García AF. 2009. Antifungal activity of selected indigenous *Pseudomonas* and *Bacillus* from the soybean rhizosphere. International Journal of Microbiology doi 10.1155/2009/572049

Liewiski AP, Sobero y Rojo MP, Rodríguez PI. 2007. Evaluación de la capacidad promotora de crecimiento de *Trichoderma harzianum* Rifai aplicado en semillas y plantas de lechuga en ensayos a campo. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 286.

Llera A, Vicente W, Brambilla M, De Benedetto JP, Asciutto K, Fabrizio MC, Rivera MC, Wright ER. 2007. Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento de fitopatógenos del suelo. Resúmenes 11º Congreso Nacional de Hortifruticultura del Uruguay. 3º Panamericano de Promoción del Consumo de Frutas y Verduras. En CD.

Lopez SE, Cabral D, Rivera MC, Wright ER, López MV. 2000. Enfermedades fúngicas en especies ornamentales: Estudios básicos de las primeras fases de la infección y su control biológico. Resúmenes IV Jornadas de Trabajos en Realización sobre Plagas Vegetales, Buenos Aires, Argentina.

Lori G, Edel-Hermann V, Gautheron N, Alabouvette C. 2004. Genetic diversity of pathogenic and nonpathogenic populations of *Fusarium oxysporum* isolated from carnation fields in Argentina. Phytopathology 94:661-668.

Lori G, Mónaco C, Ronco L, Wolcan S, Lemanceau P, Alabouvette C. 1998a. Lucha intregada contra la fusariosis del clavel. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 38.

Lori G, Mónaco C, Ronco L, Wolcan S, Silvestrini P, Lemanceau P, Alabouvette C. 1998b. Dinámica poblacional de los antagonistas *Fusarium oxysporum* no patógeno Fo47 y *Pseudomonas fluorescens* C7 en suelo inoculado con *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 13.

Lori G, Ronco L, Mónaco C, Wolcan S, Silvestrini P, Lemanceau P, Alabouvette C. 1998c. Comportamiento de los microorganismos antagonistas Fo47 y C7 frente al marchitamiento del clavel en la Argentina. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 15.

Lovaisa NC, Salazar SM, Pedraza RO. 2010. Incidencia de la aplicación de *Azospirillum brasilense* como biofertilizante en el costo de producción de frutilla (*Fragaria ananassa* Duch.) en la provincia de Tucumán, Argentina. Resúmenes XXXIII Congreso Argentino de Horticultura. P. 278.

Lovato Echeverría AD. 2009. Aislamiento de *Trichoderma* spp posibles antagonistas de *Botrytis cinerea*, agente causal de la podredumbre gris de la frutilla. Tesina para optar por el título de Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Nordeste. 18 pp.

Lucero G, Pizzuolo P, Franceschini S, Di Stéfano C, Vettraino AM, Vannini A. 2010a. Preliminary results on the *in vitro* reduction of growth and sporangia production of *Phytophthora nicotianae* by biological treatments. 13th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union. Pp. 542-543.

Lucero G, Pizzuolo P, Hapon MV. 2008. Acción antagónica "in vitro" de *Trichoderma* sp. sobre *Botrytis cinerea*, responsable de la podredumbre gris de la vid. Revista Enología V:1-4

Lucero G, Pizzuolo P, Hapon MV, Boiteux J, Castroviejo L, Vallejo G. 2010b. Efecto *in vitro* del aceite esencial de orégano en el crecimiento miceliar, producción de zoosporangios y zoosporas de *Phytophthora palmivora* y *P. nicotianae*. Revista Argentina de Microbiología 42(supl..1):221.

Lucini EI, Rovetto L, Zigadlo J. 1998. Los aceites esenciales como inhibidores del desarrollo miceliar. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 39.

Lutz MC, Lopez CA, Sosa MC, Sangorrin MP. 2012. A new improved strategy for the selection of cold-adapted antagonist. Biocontrol Science and Technology 22:1465-1483.

Lutz MC, Robiglio A, Sosa MC, Lopez CA, Sangorrin MP. 2010. Two selection strategies of epiphytic with potential biocontrol capacity against post harvest pear pathogens in Patagonia. Acta Horticulturae 909:761-768.

Mansilla Y, Segarra C, Cordo C, Stocco M, Lampugna G, Abramoff G, Kripelz N, Alonso N, Paredes E, Navarrete F, Aventín G, Mónaco C. 2011. *Trichoderma harzianum* as inductor of a biochemical defense responses against *Septoria tritici.* Proceedings 8th International Symposium on *Mycosphaerella* and *Stagonospora* Diseases of Cereals.

Martinengo de Mitidieri IZ. 1986. Control biológico de hongos del suelo con *Trichoderma*

spp. Resúmenes VI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P 1.
Martinengo de Mitidieri IZ. 1988. Control biológico de hongos patógenos del suelo. 2º Jornadas sobre control integrado de plagas agrícolas. Comisión Técnica para el Control Integrada de Plagas agrícolas.Pp. 11-26
Martinengo de Mitidieri IZ. 1989. Control biológico de hongos patógenos del suelo. Boletín de Divulgación Técnica EEA INTA San Pedro. 17 pp.
Martinengo de Mitidieri IZ. 1993. Efecto de la solarización del suelo en el control de la podredumbre del cuello de la lechuga (*Sclerotinia sclerotiorum* y *S. minor*) de las malezas y en las condiciones edáficas. Resúmenes XVI Congreso Argentino de Horticultura. Pp. 113.
Martinengo de Mitidieri IZ. 1994. Control biológico del damping-off del tomate con *Trichoderma* spp. Resúmenes XXXVII Congreso Argentino y 6° Congreso Latinoamericanos de Horticultura. P. 88.
Martinengo de Mitidieri IZ 1996. Control biológico de hongos patógenos del suelo con *Trichoderma* spp. en cultivos hortícolas. Resúmenes VIII Congreso Latinoamericano de Horticultura. P. 107.
Martinengo de Mitidieri IZ. 1998a. Control biológico del moho verde de los citrus (*Penicillium digitatum*) y de la podredumbre morena del durazno (*Monilinia fructicola*) con *Bacillus subtilis*. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 18.
Martinengo de Mitidieri IZ. 1998b. Trece años de estudio sobre control biológico de hongos patógenos del suelo con *Trichoderma* spp. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 17.
Martinengo de Mitidieri IZ. 1999. Solarización de suelos, nueva técnica de desinfección. Conferencia. Resúmenes X Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Pp. 10-12.
Martinengo de Mitidieri IZ, Francescangeli N, Constantino A, Mitidieri M. 1999. Mejoras en la práctica de solarización del suelo con polietileno especial y control biológico. Resúmenes X Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 150.
Martínez S, Mónaco C, Andreau R, Garbi M, Morelli G, Giménez D, Carbone MA, Zeoli F, Chale W. 2009. Efecto del momento de aplicación de *Trichoderma harzianum* (SM 2007) sobre la biomasa y la sanidad en un cultivo de lechuga bajo cubierta. Resúmenes II Jornadas de Enfermedades y Plagas en Cultivos Bajo Cubierta. P. 53.
Martínez S, Mónaco C, Barrenechea M, Giménez D, Zeoli F. 2008a. *Trichoderma harzianum* (SM2007): Evaluación de la aplicación de diferentes concentraciones y su efecto sobre el rendimiento de lechuga cv amarilllo conducida en invernadero plástico en el cinturón hortícola de La Plata. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 80.
Martínez S, Mónaco C, Carbone A, Bidondo D, Cremaschi G, Zeoli F. 2008b. Evaluación del efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* (SM2007) en una concentración conocida, sobre el peso seco y el área foliar de lechuga cv. Amarillo. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 77.
Martínez S, Mónaco Cl, Etchevers P. 2007. Efecto de *Trichoderma harzianum* (SM2007) sobre el rendimiento y sanidad en hortalizas de hoja bajo invernadero en el cinturón hortícola de La Plata. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 74.
Maza M, Yasem de Romero MG. 2009. Inhibición del crecimiento micelial de tres patógenos de semillas de soja por metabolitos volátiles producidos por *Trichoderma* spp. Resúmenes XIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. E 067.
Medvescigh JC, Barsanti L, De Battista J, Costa M. 2006. Efecto del hongo endófito *Neotyphodium occultans* sobre la enfermedad roya de hoja en *Lolium multiflorum*. Resúmenes XII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Pp. 348-349
Mellone G, Wright ER, Pérez JA, Fabrizio MC, Rivera MC. 2010. Actividad de extractos acuosos de ajo y cebolla sobre *Sclerotium rolfsii*. Horticultura Argentina 29: 64.

Menendez AB, Godeas A. 1998. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* attacking soybean plants. Degradation of the cell walls of this pathogen by *Trichoderma harzianum* (BAFC 742). Mycopathologia 142:153-60.

Mercado Cárdenas G, Chocobar M. Monge JG, Fraile O, Carmona M, March G, Ramallo A. 2011. Eficiencia de enmienda orgánica y productos biológicos en el control de la podredumbre radical del tabaco. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 314.

Mielnichuk N. 2002. Efecto de *Epicoccum purpurascens* en la colonización de madera de arce por Basidiomycetes xilófagos del arbolado urbano. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires Tesis de Grado.

Mielnichuk N, Calcagno J, López SE. 2003. Produccion de metabolitos antifúngicos por *Epicoccum purpurascens* y su efecto sobre hongos xilófagos del arbolado urbano. Resúmenes XXIX Jornadas de Botánica.

Mildemberg JC, Flores D. 2008. Control biológico de *Botrytis* sp. en plantas de arándano (*Vaccinium* sp.) mediante el empleo de *Trichoderma* y levaduras. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. Pp. 224.

Minervini MG, Maza N, Ricardes MG, Álvarez ME, Varela LM, Ortiz de Arana N del V., Villagra EL. 2008. Determinación del efecto de cepas nativas de *Trichoderma* spp. como promotoras de crecimiento en cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.). Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 323.

Mitidieri M, Barbieri M, Brambilla V, Peralta R, Piris E, Piris M, Celié R, Arpía E, Verón R. 2011. Evaluación de dos cepas comerciales de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* como biocontroladores de *Monilinia fructicola* en San Pedro. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 315.

Mitidieri MS, Brambilla V, Barbieri M, Constantino A, Peralta R, Piris E, Celié R, Arpía E, Barbosa R, Vera J, Verón R. 2012. Evaluación de combinaciones de tratamientos con fungicidas y *Trichoderma* spp. para el control de enfermedades de postcosecha en duraznero. Resúmenes XXXV Congreso Argentino de Horticultura. P. 301.

Mitidieri M, BrambillaV, Gablondo J, Saliva V, Piris M. 2005. Efectos de la solarización y biofumigación sobre la incidencia de podredumbres radiculares en cultivo de tomate bajo cubierta. Resúmenes XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. P. 533.

Mitidieri MS, Brambilla V, Peralta R, Barbieri M, González J, del Pardo K, Piris E, Piris M, Celé R, Arpía E, Saliva V, Chaves E. 2011. Ocho años de biofumigación en cultivo de tomate bajo cubierta: efectos sobre el suelo y la sanidad del cultivo. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. .363.

Mitidieri M, Brambilla V, Saliva V, Piris E, Piris M, Celié R, Pereyra, Del Pardo K, Chaves E, González J. 2007. Efecto de distintas secuencias de tratamientos de biofumigación sobre la sanidad del cultivo, los parámetros físicos y químicos del suelo y el rendimiento de un cultivo de tomate bajo cubierta. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 375.

Mónaco C, Dal Bello G, Rollán MC, Ronco L, Lampugnani G, Arteta N, Abramoff C, Aprea A. 2009. Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato using naturally occurring fungal antagonists. Archives of Phytopathology and Plant Protection 42:729-737.

Mónaco C, Moreno V, Stenglein SA, Martínez Alcántara V, Saparrat M, Bonfiglio C, Balatti PA. 2006. *Trichoderma virens*. Caracterización molecular con ISSR y RAPD y control de patógenos causantes de damping-off en especies hortícolas. Resúmenes Jornada de Enfermedades en Cultivos Bajo Cubierta. Pp. 78-79.

Mónaco C, Nico A, Alippi H. 1999. Micoflora saprobia del filoplano de tomate: efecto de la aplicación de fungicidas y la ubicación de las hojas en el canopeo sobre la abundancia, composición y diversidad. Resúmenes X Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 151.

Mónaco C, Nico A, Rollán M, Urrutia M. 1998a. Efecto *in vitro* de funguicidas empleados para el control del tizón temprano del tomate sobre la microflora antagonista del

filoplano. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas, Buenos Aires, Argentina.P. 40.

Mónaco C, Pérelló A, Rollán MC. 1994. Ensayos in vitro del comportamiento antagónico de *Trichoderma* spp. frente a especies patógenas de la zona hortícola de La Plata, Argentina. Microbiología SEM 10:423-428.

Mónaco C, Rollan MC, Lampugnani G, Arteta N, Abramoff C, Aprea A, Ronco L, Larran S, Stocco M, Dal Bello G. 2006. Control biológico de la podredumbre del tallo de tomate causada por *Botrytis cinerea*. Resúmenes Jornada de Enfermedades en Cultivos Bajo Cubierta. Pp. 80-81.

Mónaco C, Sisterna M, Perelló A, Dal Bello G. 2004. Preliminary studies on biological control of the blackpoint complex of wheat in Argentina. World Journal of Microbiology and Biotechnology 20: 285-290.

Mónaco C, Yu H, Sutton J. 1998b. Efecto del momento de inoculación sobre la supervivencia de las esporas de *Gliocladium roseum* sobre las hojas de geranio. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 19.

Monardez C, Boiteux J, Hapon MV, Lucero G, Pizzuolo P. 2012. Inhibición del crecimiento miceliar de *Monilia* sp. mediante el uso de extractos vegetales. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 335.

Montechia MS, Correa OS, Soria MA, Frey SD, García AF, Garland JL. 2011. Multivariate approach to characterizing soil microbial communities in pristine and agricultural sites in Northwest Argentina. Applied Soil Ecology 47:176-183.

Moya M, Durand P, Rivera MC, Vasquez P. 2008. El saber técnico popular en la investigación y desarrollo de tecnologías apropiadas. El caso de los horticultores del Parque Pereyra Iraola. Revista Facultad de Agronomía 28:89-98.

Moya M, Español M, Nicolini F, Wright ER, Rivera MC. 2009. Efecto de la biofumigación sobre la producción de cultivos de tomate y berenjena. Horticultura Argentina 28: 76.

Moya M, Möhle R, Wright ER, Rivera MC, López MV. 2004. Effect of biofumigation practices on soilborne diseases and growth promotion in acommercial organic production of arrugula in Buenos Aires. En: Monzón de Asconegui MA, García de Salomone IE, Miyasaki SS (eds.). Biología del Suelo. Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires. Pp. 269-273.

Moya P, Arambarri A, Sisterna M. 2011. Estudios preliminares de biocontrol de "mancha en red" de la cebada en semilla, con cepas de *Trichoderma* spp. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 319.

Moya P, Pedemonte RD, Esterich C, Sisterna M. 2012. Antagonismo in vitro del hongo *Chaetomium* spp., potencial biocontrolador de *Dreschslera teres*, agente causal de la mancha en red de la cebada. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P.76

Mulé MCZ de; Caire GZ de, Cano MS de, Halperin DR de. 1991. Bioactive compounds from *Nostoc muscorum* (Cianobacteria). Cytobios 66:169:172.

Nico AI, Mónaco CI, Dal Bello G, Alippi H. 2003a. Efecto de la adición de enmiendas orgánicas al suelo sobre la capacidad patogénica de *Rhizoctonia solani*: test de patogenicidad y actividad biológica de metabolitos volátiles y difusibles. Revista de Investigaciones Agropecuarias 32:173-191.

Nico AI, Mónaco CI, Dal Bello G, Alippi H. 2005. Efecto de la adición de enmiendas orgánicas al suelo sobre la capacidad patogénica de *Rhizoctonia solani*: II Micoflora asociada y antagonismo in vitro de los aislados más frecuentes. RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias 34:29-44.

Nico AI, Rollán MC, Mónaco CI, Dal Bello GM. 2003b. Organic amendment effects on survival and incidence of lettuce drop caused by *Sclerotinia minor*. Biological Agriculture and Horticulture 21:103-114.

Noelting MC, Sandoval MC. 2002. Evaluación "in vitro" de cepas de *Trichoderma* sobre

Sclerotinia sclerotiorum, patógeno en cultivos de amaranto. Resúmenes XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 22.

Novozymes 2012. http://www.bioag.novozymes.com (consultado en octubre 2012)

Nuñez L, Lopez SE, Rivera MC. 2011a. Aislamiento de microorganismos de caldos y purines de cebolla como base para estudios sobre su rol en el control biológico de *Rhizoctonia solani*. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 320.

Nuñez L, Lopez SE, Rivera MC. 2011b. Evaluación de hongos filamentosos de fermentos de cebolla como antagonistas del fitopatógeno *Rhizoctonia solani*. Resúmenes VI Congreso Latinoamericano de Micología. Costa Rica.

Obregón V, Nacimiento L, Colombo M del H. 2010. Evaluación in vitro de la capacidad antagónica de un aislado de *Trichoderma* spp. nativa y *Trichoderma harzianum* comercial para el control biológico de tres patógenos de suelo. Resúmenes XXXIII Congreso Argentino de Horticultura. P. 393.

Ocón N, Rivera MC, Cufre IM, Tarcaya VP, Broussalis AM, von Baczko OH, Colavolpe B, Wright ER. 2012. Estudios preliminares de evaluación de extractos de *Lippia alba* para el control de la pudrición morena en ciruelas. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 381.

Olmedo C, Thüar A. 1998. Evaluación del efecto de la producción de cianuro por cepas de *Pseudomonas corrugata* en el biocontrol de hongos fitopatógenos. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas, Buenos Aires, Argentina. P. 41.

Olmedo C, Thüar A, Bellone C. 2000. Studies of co-inoculation of Bradyrhizobia with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in soybean. Proceedings 5th International Workshop on PGPR, Córdoba, Argentina. P. 88.

Olmos C. 1998. Control del marchitamiento de la lechuga (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) mediante solarización. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 42.

Olmos C. 2003. Control del marchitamiento de la lechuga (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) mediante solarización. Resúmenes Taller Latinoamericano de Control Orgánico de Plagas y Enfermedades. Horticultura:5. (en CD)

Orecchia E, Matoff E. 2003. Tratamiento de sustratos para control de *Fusarium oxysporum* en clavel. Resúmenes V Jornadas Nacionales de Floricultura. 2.6 (en CD).

Ortiz Molinuevo P, Wright ER, Delfino OSFde, Grijalba PE, López MV. 1995. Desarrollo de microorganismjos antagonistas en presencia de distintas concentraciones de fungicidas. Revista Facultad de Agronomía 15:37-42.

Pagano NS, Corbino GB, Vega AS, Martí H, Chludil HD. 2012. Estudios preliminares del potencial uso de extractos de *Ipomoea batatas* (L.) Lam. en el control de hongos fitopatógenos. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 376.

Palazzini JM, Ramírez ML, Alberione EJ, Torres AM, Chulze SN. 2009. Osmotic stress adaptation, compatible solutes accumulation and biocontrol efficacy of two potential biocontrol agents on *Fusarium* head blight in wheat. Biological Control 51:370-376.

Palazzini JM, Ramírez ML, Torres AM, Chulze SN. 2007. Potential biocontrol agents for *Fusarium* head blight and deoxynivalenol production in wheat. Crop Protection 26:1702-1710.

Palmucci HE, López MV, Vence L, Mascarini A, Zapata RL. 2004. Efecto de *Trichoderma harzianum* Th1 sobre el crecimiento y desarrollo de plantas florales. Resúmenes II Congreso Argentino de Floricultura y Plantas Ornamentales. Pp. 130-132.

Palmucci HE, López MV, Zapata RL, Mascarini A. 1999. Efecto de *Trichoderma* spp. nativas sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas. Resúmenes V Jornadas Nacionales de Floricultura. 6.5 (en CD).

Palmucci HE, Zapata RL, López MV, Palamara A. 2003. El riego por goteo como sistema para la aplicación de agentes biocontroladores de fitopatógenos del suelo. Revista

Facultad de Agronomía 23(1):31-35.
Pedraza MV, Asselborn MN, Cattaneo F, Liberman CA, Restelli Y, Clemente GE. 2009. Control biológico de enfermedades de tallo y de vaina en arroz con *Pseudomonas* fluorescentes. Resúmenes XIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. PV58.
Pedraza MV, Laich F, Escande A. 1995. Desarrollo de técnicas de control biológico de la podredumbre del capítulo de girasol (*Sclerotinia sclerotiorum*) con *Trichoderma* spp. Resúmenes IX Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 26.
Pedraza RO, Motok J, Tortora ML, Salazar SM, Díaz Ricci JC. 2007. Natural occurence of *Azospirillum brasilense* in strawbery plants. Plant and Soil 295:169-178.
Perelló A. 1998. Interacciones entre patógenos foliares y la microflora saprobia del filoplano del trigo. Universidad Nacional de La Plata. Tesis de Doctorado
Perelló A, Cordo C, Mónaco C. 1994. *Trichoderma harzianum* and *Gliocladium roseum*: antagonistic agents introduced to wheat phylloplane for biological control of *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritci*). Proceedings 4th International Workshop on *Septoria* of Cereals.
Perelló A, Dal Bello GM. 2011. Suppression of tan spot and plant growth promotion of wheat by synthetic and biologic inducers in field conditions. Annals of Applied Biology 158: 267-274.
Perelló A, Gruhlke M, Noll U, Slusrenko A. 2011. Effect of garlic juice on seed-borne fungi of wheat: seed germination, seedling health and vigour index. Proceedings 4th International Symposium Plant Protection and Plant Health in Europe.
Perelló A, Mónaco C, Cordo C. 1997. Evaluation of *Trichoderma harzianum* and *Gliocladium roseum* in controlling leaf blotch of wheat (*Septoria tritici*) under *in vitro* and greenhouse conditions. Zeitschrift fur Pflanzenkrankkheiten und Pflanzenschutz - Journal of Plant Diseases and Protection 104(6):588-598.
Perelló A, Mónaco CI, Moreno MV, Cordo CA, Simón MR. 2006. The effect of *Trichoderma harzianum* and *T. koningii* on the control of tan spot (*Pyrenophora tritici-repentis*) and leaf blotch (*Mycosphaerella graminícola*) of wheat under field conditions in Argentina. Biocontrol Science and Technology 16:803-813.
Perelló A, Mónaco C, Simón MR, Sisterna M. 2001a. Biocontrol de la mancha amarilla del trigo (*Drechslera tritici-repentis*) con *Trichoderma* spp. Fitopatología Brasileira 26(Suplemento):467-468.
Perelló A, Mónaco C, Simón MR, Sisterna M, Dal Bello G. 2003. Biocontrol efficacy of *Trichoderma* isolates for tan spot of wheat in Argentina. Crop Protection 22:1089-1106.
Perelló A, Moreno MV, Mónaco C, Simón MR, Cordo C. 2009. Biological control of *Septoria tritici* bloth on wheat by *Trichoderma* spp. under field conditions in Argentina. BioControl 54:113-122.
Perelló A, Simón MR, Arambarri AM. 2002. Interactions between foliar pathogens and the saprophytic microflora of wheat (*Triticum aestivum* L.) phylloplane. Journal of Phytopathology 150:232-243.
Perelló A, Simón MR, Arambarri AM, Cordo C. 2001b. Greenhouse screening of the saprophytic resident microflora for control leaf spots of wheat (*Triticum aestivum* L.). Phytoparasitica 29:341-351.
Perelló A, Simón MR, Sisterna M, Cordo C. 1998. Efecto de microorganismos saprótrofos del filoplano del trigo en el control de patógenos foliares. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 22.
Perelló A, Simón MR, Sisterna M, Cordo C, Arambarri AM. 2001c. Microflora of wheat (*Triticum aestivum* L.) in Buenos Aires Province (Argentina) and its possible significance in the biological control of foliar pathogens. Zeitschrift fur Pflanzenkrankkheiten und Pflanzenschutz - Journal of Plant Diseases and Protection 108:459-471.
Pérez AA, Muñoz JO, Arregui GO. 2012. Evaluación de la capacidad biocontroladora de una cepa nativa de *Trichoderma* sobre *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani* Kühn en un

cultivo de papa. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 38.
Pérez BA, Manzano M, Rivera MC, Wright ER. 2010. Primera cita de *Puccinia thaliae* y su micoparásito *Darluca filum* en *Canna* spp. Horticultura Argentina 29:142.
Pérez Brandán C, Huidobro J, Conforto C, Arzeno JL, March G, Meriles J, Vargas Gil S. 2011. Influencia de la microbiota del suelo en la incidencia de la podredumbre carbonosa (*Macrophomina phaseolina*) en soja. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 352.
Pérez Brandán C, Huidobro C, García Medina S, Conforto C, Fekete A, Giménez Monge JL, Meriles J, Vargas Gil S. 2009. Relación entre la actividad microbiana del suelo y la incidencia radicular (*Rhizoctonia solan*i Kühn) en el cultivo de poroto. Resúmenes XXXII Congreso Argentino de Horticultura. P. 364.
Perniola OS, Staltari S, Chorzempa SE, Molina M del C. 2011. Biofumigación con Brassicáceas: Actividad supresora sobre *Fusarium solani*. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 326.
Perotti EBR, Cozacov S, Menendez LT, Pidello A. 2000. Redox state and pH effect on *Pseudomonas fluorescens* survival. Proceedings 5th International Workshop on PGPR. P. 99.
Petrone E, Vega D, Rivera MC, Fabrizio M, Wright ER, Moya M, Durand P, Tito G. 2006. Uso de preparados vegetales para controlar hongos del suelo. Resúmenes Jornada de Enfermedades en Cultivos Bajo Cubierta. Pp. 76-77.
Pidello A. 2000. *Pseudomonas* C7R12 strain as redox effector in rhizospheric zone. Proceedings 5th International Workshop on PGPR. P. 100.
Pieckenstain F, Bazzalo M, Roberts A, Ugalde R. 1998. *Epicoccum purpurascens* como agente de control biológico de la podredumbre de capítulos de girasol causada por *Sclerotinia sclerotiorum*. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 23.
Pildain MB, Lopez SE. 2000. Biocontrol activity of *Epicoccum purpurascens* against xylophagous basidiomycetes from urban trees. Proceedings 5th International Workshop on PGPR. P. 102.
Pioli R, Luque A, Gómez E, Sianca R, Toresanni S, Salas J, Borghi A. 1998. Evaluación de microorganismos celulolíticos aislados del rastrojo de trigo, como potenciales antagonistas de hongos patógenos. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 24.
Pizzuolo P, Boiteux J, Monardez C, Hapon MV, Lucero G. 2012. Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento miceliar de *Fusarium solani*. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 325.
Presidencia de la Nación. 2012. Guía del Estado. http://www.argentina.gob.ar/pais/59-mapas.php (consultado en octubre 2012).Puente ML, García JE, Ullé JA, Perticari A. 2007. Respuesta a la inoculación con *Azospirillum brasilense* en plantines de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) producidos en sustratos vermicompostados. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 281.
Quevedo R, Wright ER, Rivera MC, López MV, Möhle R, Moya M, Gasoni L. 2003. Solarización y aplicación de antagonistas para el control de *Sclerotinia minor* en radicheta. Resúmenes Taller Latinoamericano sobre Control Orgánico de Plagas y Enfermedades. Publicado en C.D.
Quiroga D, Oberti Arnaudo A, Zapata RL, Filippini de Delfino S, García J. 1998. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* sobre la incidencia de *Sclerotinia sclerotiorum* en tres cultivares de lechuga. Resúmenes Primer Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 25.
Quiroga MA, Zapata SR, Mercado G, Hamles E, Villegas BV. 2006. Efecto de extractos vegetales en la inhibición del crecimiento de *Sclerotinia sclerotiorum*. Resúmenes XXIX Congreso Argentino de Horticultura. P. 81.

Ramírez G, Flores CR, Bejarano S, Rueda N, Rueda E. 2012b. Aplicación combinada de micorrizas y *Trichoderma* en cultivo de melón. Resúmenes XXXV Congreso Argentino de Horticultura. P. 450.

Ramírez LA, Collavino MM, Pérez MM, Galdeano E. 2012a. Selección in vitro de bioantagonistas nativos para el control de *Fusarium* sp. en yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil). Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 355.

Rapazzo F, Rojo RA, Gasioni LA, Zapiola JM. 2012. Aislamiento e identificación de cepas del género *Bacillus* con posible utilización en biocontrol de enfermedades y promoción del crecimiento vegetal. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 366.

Reybet G, Bucki P, Azpilicueta C, Maero E, Reybet G, Rodríguez G, Escande A. 1999. Efecto de la solarización en invernadero sobre los patógenos del complejo del mal de los almácigos. Resúmenes XXII Congreso Argentino de Horticultura. P.93.

Reybet G, Bucki P, Bustamante A, Reybet C, Clemente G, Escande A. 2005. Efecto de la solarización en invernadero sobre el mal de los almácigos y *Pseudomonas* fluorescentes. Resúmenes XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. P. 318.

Ribichich KF, Lopez SE. 1996. *In vitro* interactions among species related to soft rot. Material und Organismen 30:231-236.

Rivera MC, López MV, Lopez SE. 2009. Mycobiota from *Cyclamen persicum* and its interaction with *Botrytis cinerea.* Mycologia 101:173-181.

Rivera MC, Lopez SE, López MV. 2002a. Influencia de microorganismos del filoplano de violeta de los Alpes sobre la colonización de pecíolos y tejidos florales por *Botrytis cinerea.* Resúmenes XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 26.

Rivera MC, Lopez SE. 2006. Aspectos biológicos del patosistema *Cyclamen persicum* - *Botrytis cinerea* y micoflora asociada. Resúmenes XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. P. 321.

Rivera MC, Mellone G, Montiel V, Wright ER, Pérez JA, Fabrizio MC. 2012a. Efecto de extractos de Liliáceas sobre el crecimiento y esclerocios de *Sclerotium rolfsii*. Resúmenes 45ª Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Trabajo Nº 760.

Rivera MC, Moya MC, Aguirre A, Español M, von Baczko OH, Cámara Hernández V, Fabrizio MC, Wright ER. 2012b. Experiencias de biofumigación en la producción orgánica de tomates. Resúmenes de las XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 380.

Rivera MC, Nuñez L. 2013. Estudios de patogenicidad de la biota de los caldos de cebolla, que incluye cepas supresoras de *Rhizoctonia solani*. Anais do VI Congreso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais. Fitopatologia_006. P. 125.

Rivera MC, Ruz MF. 2012. Extractos de plantas nativas: su efecto sobre *Sclerotium rolfsii* y el poder germinativo de acelga. Resúmenes 45º Congresso Brasileiro de Fitopatologia.

Rivera MC, Wright ER, Caballini R, Fabrizio MC. 2013a. Avances en el conocimiento de efectos benéficos de caldos de cebolla: supresión de enfermedades y promoción del crecimiento vegetal. Anais do VI Congreso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais. Fitopatologia_005. P. 124.

Rivera MC, Wright ER, Cabral D, Lopez SE, López MV. 1999. Aislamiento, evaluación y preselección de biocontroladores fúngicos en especies ornamentales. Fitopatología 34:61.

Rivera MC, Wright ER, Fabrizio MC, Freixá G, Caballini R, Lopez SE. 2013b. Control of damping off caused by *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* using onion infusions. Phyton. International Journal of Experimental Botany 82:82:117-124.

Rivera MC, Wright ER, Fabrizio MC, Pamio MF. 2011. Preparados de ortiga (*Urtica dioica*): promoción del crecimiento en cultivos de lechuga y ensayo de biocontrol de *Sclerotinia sclerotiorum*. Fitopatología Colombiana 35 (Suplemento):96.

Rivera MC, Wright ER, López MV, Fabrizio MC. 2004a. Temperature and dosage dependent suppression of damping-off caused by *Rhizoctonia solani* in vermicompost amended nurseries of white pumpkin. Phyton 54:31-136.

Rivera MC, Wright ER, López MV, Garda D, Barragué MY. 2004b. Promotion of growth and control of damping-off (*Rhizoctonia solani*) of greenhouse tomatoes amended with vermicompost. Phyton 53:229-235.

Rivera MC, Wright ER, López MV, Guastella GS, Garda D. 2000. Control of *Rhizoctonia solani* and growth promotion in nurseries of tomato, pepper and eggplant by amendment with vermicompost. Proceedings 5th International Workshop on PGPR. P. 111.

Rivera MC, Wright ER, López MV, Guastella GS. 2001. Use of vermicompost to suppress *Rhizoctonia solani* in nurseries of eggplant. Biological and Cultural Tests for control of plant diseases. http://www.scisoc.org/online/B&Ctests.

Rivera MC, Wright ER, Piñero M, López MV, Pérgola M, Bompadre J, Godeas A, Herrera O, Ciarla V, Divo de Sesar M, Vilella F. 2002b. Efecto de la micorrización y el fósforo en el crecimiento y sanidad de plantines de pensamiento. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Floricultura y Plantas Ornamentales.P. 69.

Rivera MC, Wright ER, Salice S, Fabrizio MC. 2012c. Effect of plant preparations on lettuce yield. Acta Horticulturae 933:173-180.

Rizobacter 2012. www.rizobacter.com.ar (consultado en octubre 2012)

Robiglio A, Sosa MC, Lutz MC, Lopez CA, Sangorrin MP. 2011. Yeast biocontrol of fungal spoilage of pears stored at low temperature. International Journal of Food Microbiology 147:211-216.

Robles CA, Carmarán CC, Lopez SE, 2012. Interacciones "in vitro" entre Basidiomycetes xilófagos y cepas endofíticas del arbolado urbano. Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas P. 322.

Rodríguez AF, Valdez JG. 2011. Efecto de *Trichodermas* y micorrizas sobre *Fusarium* spp. en ajo cv. Sureño INTA. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 336.

Rodríguez MA, Cabrera G, Godeas A. 2006. Cyclosporine A from a nonpathogenic *Fusarium oxysporum* suppressing *Sclerotinia sclerotiorum*. Journal of Applied Microbiology 100:575-586.

Rodríguez MA, Cabrera G, Gozzo FC, Eberlin MN, Godeas A. 2011. *Clonostachys rosea* BAFC3874 as a *Sclerotinia sclerotiorum* antagonist: mechanisms involved and potential as a biocontrol agent. Journal of Applied Microbiology 110:1177-1185.

Rodríguez MA, Venedikian N, Bazzalo ME, Godeas AM. 1998. Control biológico de la podredumbre del capítulo de *Helianthus annus*, selección de antagonistas de *Sclerotinia sclerotiorum*. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 26.

Rodríguez MA, Venedikian N, Godeas A. 2000. Fungal populations on sunflower (*Helianthus annus*) anthosophere and their relation to susceptibility or tolerance to *Sclerotinia sclerotiorum*. Mycopathologia 150:143-150.

Rodríguez MS, Ramos V, Pistonesi M, Delhey R, Agullló E. 1999. Preservación de peras con filmes de quitosano. Parte I. Resúmenes VIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Rojo R, Gasoni L. 2011. Caracterización de aislamientos de *Trichoderma harzianum*. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 337.

Rojo, FG, Reynoso MM, Torres AM, Chulze SN. 2005. Control biológico de *Fusarium solani* causante de la podredumbre parda de la raíz de maní por especies de *Trichoderma*. Resúmenes XIII Congreso Latinomericano de Fitopatología. P. 322.

Rollán MC, Mónaco C, Lampugnani G, Arteta N. 1998. Variación de la población de hongos antagonista de *Sclerotinia sclerotiorum* en el suelo por la aplicación de agroquímicos. Resúmenes Primer Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 27.

Rollán MC, Mónaco C, Lampugnani G, Arteta N, Abramoff C, Urrutia MI. 2006. MIcoparásitos asociados a los esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* y *S. minor* en suelos de cultivos de lechuga del cinturón hortícola de La Plata. Resúmenes Jornada de Enfermedades en

Cultivos Bajo Cubierta. Pp. 90-91.
Romero AM, Zapata R, Ollua F. 2011. Nisina: una bacteriocina para el manejo del cancro bacteriano del tomate. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 267.
Romero JI, Maza N, Jaldo ÁM, Luján E, Minervini M, Cuezzo H, Duarte D, Varela L, Yasem de Romero M, Villagra EL. 2007. Aislamiento y multiplicación masiva de aislamientos nativos de *Trichoderma*, probable estimulador del crecimiento en hortalizas –resultados preliminares-. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 434.
Romero ME, Claps MP, González Anta G, Díaz M, Magnago S, Ploper LD. 2012. Evaluación de métodos in vitro para determinar la actividad fungicida de metabolitos obtenidos de un cultivo bacteriano frente a *Cercospora kikuchii* (T. Matsumoto & Tomoyasu). Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 352.
Romero ME, Díaz M, Muñoz L, Fogliata GM, Magnano S, González Anta G, Ploper LD. 2011. Control in vitro de *Penicillium digitatum* con antimicrobianos obtenidos en cultivos agitados. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 337.
Romero ME, Ramallo J, Ploper LD. 2005. Sensibilidad de diferentes cepas de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* frente a compuestos antimicrobianos producidos por *Xymomonas*. Resúmenes XVIII Congreso Latinomericano de Fitopatología. P. 219.
Rossi MS, Jones LR, Wright ER, Pérez BA. 2006. Antagonicidad de cepas de *Bacillus* provenientes de la rizósfera de plantaciones de arándano. Horticultura Argentina 25: 89.
Rovera M, Correa MN, Reta M, Andrés JA, Rosas SB, Correa NS. 2000. Chemical identification of antifungal metabolites produced by *Pseudomonas aurantiaca*. Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 117.
Salazar SM, CastagnaroAP, Arias ME, Chalfoun M, TonelloU, Díaz Ricci JC. 2007. Induction of a defense response in strawberry mediated by an avirulent strain of *Colletotrichum*. European Journal of Plant Pathology 117:109-122.
Salerno CA, Sagardoy MA. 1997. Antagonismo de *Bacillus* sp. sobre *Xanthomonas aompestris* pv. *glycines* (Nakano) Dye, en soja. Resúmenes IX Congreso Latinoamericano de Fitopatología. P. 236.
Salerno MI, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V. 2000. Mechanisms involved in the biological effects of the pathogenic Foeu1 *Fusarium oxysporum* strain in *Eucalyptus viminalis* seedlings by the non pathogenic Fo47 strain. Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 123.
Salerno MI, Lori G, Giménez D, Giménez JE, Beltrano J. 1998. Aumento del crecimiento de plántulas de eucaliptus después de la solarización. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 43.
San Andrés JM, Rivera MC, Wright ER, Fabrizio MC. 2010. Control del damping off ocasionado por *Scleorium rolfsii* en lechuga mediante la aplicación de extractos de distintas especies vegetales. Horticultura Argentina 29: 64.
Sandoval MC, Fálico LM, Atlas E, Noelting MC. 2002. Establilidad en almacenamiento de substratos empleados en la multiplicación de cepas de *Trichoderma harzianum*. Resúmenes XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 18.
Sandoval MC, Fálico LM, Noelting MC. 2006a. Clasificación de aislamientos de *Trichoderma* spp. Resúmenes XII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Pp. 290-291.
Sandoval MC, Fálico LM, Noelting MC. 2006b. Procedencia de cepas de *Trichoderma* spp. y niveles de eficacia alcanzados en control biológico de tres patógenos fungosos. Resúmenes XII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Pp. 288-289.
Sansone G, Rezza I, Benuzzi D, Calvente V, Sanz MI. 2007. Evaluación de un inoculante de *Azospirillum brasilense* en tomate platense cultivado en invernáculo. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 75.
Santarcangelo G, Rivera MC, Fabrizio M, Wright ER. 2008. Efecto de extractos de origen vegetal sobre el crecimiento de *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Rhizoctonia*

solani. Resúmenes Primer Congreso Argentino de Fitopatología. P. 253.
Santos López S, Frayssinet S, Baldini M, Aguirre M. 2011. Determinación in vitro del efecto biopesticida del alperujo. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. .361
Scobal MV, Monterubbianesi G, Creus CM, Sueldo RJ, Barassi CA, Carrozzi L. 2007. Pretratamiento osmótico e inoculación con *Azospirillum* de semillas envejecidas de Lactuca sativa L. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 287.
SENASA 2012a. Decreto 3489/58. http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=1192&io=15682 (consultado en junio 2012).
SENASA 2012b. Decreto 5769/59. http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=1192&io=15681 (consultado en junio 2012).
SENASA. 2012c. DNAPVyA. Dirección de Agroquímicos y Biológicos. http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=524&io=2956 (consultado en junio 2012)
SENASA 2012d. Guía de Trámites. http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=nyin=524yio=2956 (consultado en octubre 2012).
SENASA 2012e. ¿Qué es el SENASA? http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?in=583yto=nyino=583yio=2279ygl=1 (consultado en junio 2012) .
SENASA. 2012f. Resolución 350/00. http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=nyin=1043yio=4375 (consultado en octubre 2012).
Sidoti Hartmann B, van Konijnerburg A, Doñate T. 2011. Purín de ortga: Efecto sobre la productividad en un cultivo orgánico de tomate. Resúmenes XXXIV Congreso Argentino de Horticultura. P. 466.
Sillon M, Fálico L. 1999. Compost de lombriz. Estudio in vitro de la potencial capacidad biocontroladora de patógenos. Resúmenes XXXII Congreso Argentino de Horticultura. 6 :206. (en CD).
Sillon M, Fálico L, Sutton J, Visentín B. 2000a. Biodiversity in soils planted to carnation in Santa Fe (Argentina). Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 125.
Sillon M, Herzog L, Rista L, Maumary R. 2001a. Control biologico del damping-off y su efecto sobre el crecimiento de plantines de tomate. Horticultura Argentina 20:22 (artículo 019).
Sillon M, Monte Vázquez E, García B, Fálico de Alcaraz L. 1998. Estudio de la capacidad antagónica de aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 29.
Sillon M, Rista L, Herzog L. 2001b. Inhibición del desarrollo *in vitro* de *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor* con *Trichoderma* spp. de diferentes orígenes. Horticultura Argentina 20:53.
Sillon M, Rista L, Herzog L, Acosta M. 2000b. Hongos benéficos en flores de tomate y su antagonismo con *Sclerotinia* spp. Resúmenes XXIII Congreso Argentino, X Congreso latinoamericano y III Congreso Iberoamericano de Horticultura. Mendoza, Argentina. 203.
Sillon M, Sutton J, Rista L, Maumary R. 2002. Inhibición de carpogénesis de *Sclerotinia sclerotiorum* por efecto de *Trichoderma* spp. Resúmenes XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 20.
Simonetti E, Hernández AI, Kerber NL, Pucheu NL, Carmona MA, García AF. 2012. Protection of canola (*Brassica napus*) against fungal pathogens by strains of biocontrol rhizobacteria. Biocontrol Science and Technology 22:111-115.
Sobero y Rojo MP. 2002. Resistencia sistémica inducida en frutilla para el control de *Colletotrichum* spp. Actas Jornadas de la Ciencia y Tecnología UNLu. P. 84.
Sobero y Rojo MP 2003. Control biológico de *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. en frutilla bajo condiciones de invernáculo. Actas Jornadas de la Ciencia y Tecnología UNLu. P. 40.
Sobero y Rojo MP, Carletti SM. 2009. Aplicación de Rhizobacterias del género *Bacillus* en semillas de tomate perita y su efecto sobre el desarrollo del plantín. Resúmenes XXXII

Congreso Argentino de Horticultura. P. 383.
Sobero y Rojo MP, Gasoni L, Cozzi J. 2000. Growth promotion in strawberry crop. Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 126.
Sobero y Rojo MP, Lagrecca F, Gasoni L. 2006. Uso de agentes biológicos y su efecto como promotor de crecimiento vegetativo en frutilla lbajo condiciones de invernáculo. Resúmenes XXIX Congreso Argentino de Horticultura. P. 75.
Sobero y Rojo MP, Liewiski A, Licari F, Lattanzio G. 2008. Efecto de la dosis y el momento de aplicación de un formulado de *Trichoderma harzianum* sobre lechuga. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Horticultura. P. 107.
Sobero y Rojo MP, Retamal M, Carletti S. 2010. Evaluación de la aplicación de rhizobacterias en plantas de frutilla como agentes de biocontrol de *Botrytis cinerea* causante del moho gris. Resúmenes XXXIII Congreso Argentino de Horticultura. P. 408.
Soldano A, Vera Garate V. Vaccari M C, Latorre Rapela G, Lurá MC, González AM. 2010. Inhibición del crecimiento de *Cercospora kikuchii* por especies de *Bacillus* y efecto sobre la acumulación de cercosporina. Revista FABICIB 14:97-106.
Sosa MC, Iriarte L, Reybet G, Mañueco L. 2007. Estudio de métodos alternativos de control de *Fusarium* sp. patógeno de ajo y cebolla, en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 376.
Sosa MC, Sánchez A, Barrera V, Reybet E, Escande AR. 2011. Aislamiento y selección de *Trichoderma* para el control de la podredumbre basal (*Fusarium oxysporum*) en cebolla. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 343.
Souto GI. 2000. Selección de cepas de *Bacillus* sp. con actividad antagónica *in vitro* contra *Sclerotinia sclerotiorum*, caracterización y purificación parcial de los metabolitos antifúngicos producidos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Tesis de Grado.
Souto GI, Correa OS, Kerber NL, Pucheu MK, García AF. 1999. Biocontrol de podredumbre húmeda del tallo en cultivos de soja con cepas de *Bacillus* sp. Resúmenes XXXV Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigaciones Bioquímicas y Biología Molecular. Stocco M, Mónaco C, Lampugnani G, Abramoff C, Kripelz N, Laporte G, Segarra S, Consolo F, Cordo C. 2011. Banco micológico de species de *Trichoderma*. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 392.
Talay M, Alvarez MV, Roura S, Ponce, Moreira MR. 2010. Uso de compuestos bioactivos de origen vegetal: derterminación "*in vitro*" de actividad antimicrobiana y aplicación "*in vivo*" sobe brócoli minimamente procesado. Resúmenes XXXIII Congreso Argentino de Horticultura. P. 360.
Tassara C, López MV, Wright ER. 2001. Efectos de extractos de una cianofita *(Nostoc muscorum)* sobre *Sclerotinia sclerotiorum* en plántulas de lechuga. Revista de la Facultad de Agronomía 21:1-4.
Thuar AM, Olmedo CA, Bellone C. 2000. Greenhuse studies on growth promotion of maize inoculated with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 130.
Tito Mansilla JV, Tarcaya V, Cufre I, Fabrizio MC, Wright ER, Broussalis A, Rivera MC. 2012. Efficiency of *Ovidia andina* extracts in the control of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*. Acta Horticulturae 933:547-552.
Tito Mansilla J, Tarcaya VP, Cufre IM, Fabrizio MC, Wright ER, Broussalis AM, Silveyra A, Rivera MC. 2011. Control de *Rhizoctonia solani* con extractos de Pillo-Pillo. Fitopatología Colombiana 35(1 Suplemento):92-93.
Totora MI, Díaz Ricci JC, Pedraza RO. 2011. *Azospirillum brasilense* siderophores with antifungal activity against *Colletotrichum acutatum*. Archives of Microbiology 193:275-286.
Totora MI, Díaz Ricci JC, Pedraza RO. 2012. Protection of strawberry plants (*Fragaria ananassa* Duch.) against anthracnose disease induced by *Azospirillum brasilense*. Plant and Soil 356:279-290.

Varaschin C, Astiz Gassó MM, de Souza J. 2002. Ensayos preliminares de biocontrol de la podredumbre blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk), en ajo. Resúmenes XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 25.

Varaschin C, Astiz Gassó MM. Prosperi A. 2000a. Growth promotion with *Trichoderma* spp. formulations in four crops during early stages. Proceedings V International PGPR Workshop. P. 137.

Varaschin C, Durman S, Geloso V. 2006a. Evaluación de un formulado biológico para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, en lechuga. Resúmenes Jornadas de Enfermedades en Cultivos Bajo Cubierta. Pp. 67-68.

Varaschin C, Durman S, Geloso V. 2011. Efecto de Biagro TL sobre plantines de tomate. Resúmenes III Jornadas de Enfermedades en Cultivos Bajo Cubierta. P. 109.

Varaschin C, Durman S, Llama AM, Cánepa G, García Stepien E, Introna G, Geloso V. 2006b. Efectividad de un formulado biológico de *Trichoderma* spp. en el control de *Sclerotinia* spp. en cultivo de lechuga bajo cubierta. Resúmenes Jornada de Enfermedades en Cultivos Bajo Cubierta. Pp. 74-75.

Varaschin C, Mónaco C, Rollán C, Ronco L, Sánchez de la Torre ME, Bayo D, Willemoes J, Geloso V. 2005. Evaluación de la eficacia de dos cepas de *Trichoderma* spp. en el control de *Sclerotinia minor* en lechuga. Resúmenes XIII Congreso Latinomericano de Fitopatología. P. 330.

Varaschin C, Prosperi A, Astiz Gassó MM. 2000b. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* with strains of *Trichoderma* spp. under greenhouse conditions. Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 138.

Vargas Gil S, March C, Benítez G, Meriles J, Cassini C, Haro R. 2005. Biodiversidad y manejo de enfermedades causadas por hongos de suelo en maní. Resúmenes XVIII Congreso Latinomericano de Fitopatología. P. 331.

Vargas Gil S, March GJ, Marinelli A, Oddino C, Kearney M. 2003. Biocontroladores y su relación con los sistemas de labranza y rotación de cultivos. Resúmenes Taller Latinoamericano de Control Orgánico de Plagas y Enfermedades. Cereales y Oleaginosas:4. (en CD)

Vasquez PE, López R, Moya MC, Wright ER, Fabrizio MC, Rivera MC. 2011. Experiencia en investigación-acción participativa: biofumigación de un cultivo de pimiento y evaluación de su efecto sobre rendimiento y sanidad. Fitopatología Colombiana (1 Suplemento):97.

Vázquez TEE, Gara PMD, Lodeiro AR, Aguilar OM, Favelukes G. 2000. Early interaction of protective *Pseudomonas fluorescens* with tomato roots: characterization of the process of bacterial attachment to roots. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 139.

Vera Bahima J, Dal Bello G, Mónaco C. 2009. Hongos habitantes del filoplano de tomate como potenciales antagonistas de *B. cinerea*. Resúmenes XIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. E 109.

Vicario A, Gasoni L, Benintende G. 1996. Aislamiento y caracterización de bacterias antagonistas de *Rhizoctonia solani* AG-4. Resúmenes V Siconbiol. Simposio de Controle Biológico. P. 53.

Vicentini R, Formento N. 1992. Control biológico del marchitamiento del lino. Resúmenes VIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas.

Vignale MV, Novas MV, Pinget AD, Astiz Gasso MM, De Battista JP, Iannone LJ. 2010. The role of *Neotyphodium* on the interaction of *Bromus auleticus* with the smut fungi Ustilago bullata and mycorrhizal fungi. Inoculum 61(4):81 -82.

Villata A. 2003. Control biológico de *Fusarium solani*, agente de la "rama seca" en olivo, con *Trichoderma* spp. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Tesis de grado.

Villores G, Rivera MC, Wright ER. 2008. **Efecto de un extracto etanólico de** *Taraxacum officinale* **sobre el crecimiento, la concentración de inóculo y la incidencia de damping-**

off del fitopatógeno *Rhizoctonia solani*. **Resúmenes** VI Congreso Latinoamericano de Micología. P. 253.

Visintin G, Fálico L, García B, Garran S. 1998. Agentes biocontroladores de *Penicillium digitatum* sobre frutos cítricos. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 31.

Visintin G, Fálico L, García B, Sendra N. 2005. Metodología: arrocín como sustrato para incrementeo de biomasa de *Trichoderma* sp. Resúmenes XIII Congreso Latinomericano de Fitopatología. P. 335.

Visintin G, García B, Cáceres C, Ludi Barzante L. 2011. Microflora de naranja Salustiana adaptada al frío y su actividad antagónica frente a *Penicillium digitatum*. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 350.

Visintin G, García B, Fálico L, Roncoroni A. 2006a. Antibiosis de microorganismos bioactivos frente a *Penicillium* digitatum resistente y sensible a fungicidas de síntesis. Resúmenes XII Jornadas Fitosanitarias Argentinas Pp. 181-182.

Visintin G, García B, Fálico L, Roncoroni A. 2006b. Efecto de aditivos sobre la bioactividad de microorganismos frente a *Penicillium digitatumen* frutas cítricas. Resúmenes XII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Pp. 298-299.

Visintín G., García B, Cáceres C, Barredo G. 2011. Potencial antagónico de la microflora cítrica adaptada aheridas y bajas temperaturas frente a *Penicillium digitatum*. Resúmenes XIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. PV 96.

Vita FA, Rodríguez Cácerez EA, Mezquiriz N, Carletti SM. 2007. Evaluación de un inoculante de *Azospirillum brasilense* en tomate platense cultivado en invernáculo. Resúmenes XXX Congreso Argentino de Horticultura. P. 50.

von Baczko OH, Ardiaca E, Moya MC, de Nichilo D, Divo de Sesar M, Fabrizio MC, Wright ER, Rivera MC. 2011. Evaluación del efecto de la biofumigación de suelo sobre crecimiento, rendimiento y sanidad en tomate. Resúmenes 2º Congreso Argentino de Fitopatología. P. 351.

Wolcan S, Mónaco C, Lori G. 1998. Selección de microorganismos biocontroladores de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* en Argentina. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 32.

Wright ER, Asciutto K, Morisigue D, Rivera MC, López MV. 2001. Evaluación del efecto de un compost de lombriz sobre la incidencia del damping-off ocasionado por *Rhizoctonia solani* y el crecimiento de plántulas de *Impatiens wallerana*. Resúmenes VII Reuniâo de Controle Biológico de Fitopatógenos.

Wright ER, Leston C, Rivera MC, Fabrizio MC. 2013b. Control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cyclaminis* con caldo de cebolla. Anais do VI Congreso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais. Fitopatologia_008. P. 127.

Wright ER, Palmucci HE, Rivera MC, Delfino OSF, Fabrizio MC. 1996. Estudios preliminares del efecto antagónico de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Resúmenes V Siconbiol. Simposio de Controle Biológico. P. 122.

Wright ER, Palmucci HE, Rivera MC, Zapata RL, Babbitt S, López MV, Fabrizio MC, Gasoni L, Cozzi J, Delfino OSF de. 2003. Investigación en control biológico de enfermedades en la Cátedra de Fitopatología de la facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. Resúmenes Taller Latinoamericano sobre Control Orgánico de Plagas y Enfermedades. Publicado en C.D.

Wright ER, Pizzingrilli PA, López MV, Cabral D, Rivera MC. 2000. Evaluation of microorganisms for biocontrol of *Botrytis cinerea* in rose in Argentina. En: Proceedings 5th International Workshop on PGPR. P. 144.

Wright ER, Rivera MC, Möhle R, López MV, Moya M, di Rienzo L, Quevedo R, Gasoni L. 2004. Growth promotion in a comercial organic production in Buenos Aires. En: Monzón de Asconegui MA, García de Salomone IE, Miyasaki SS (eds.). Biología del Suelo. Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires. Pp. 219-225.

Wright ER, Zapata R, Rivera MC, Palmucci H, López M, Fabrizio M, Babbitt S, Cheheid

A, Pinto R, Gasoni L, Cozzi J, Escande A. 1999c. Use of antagonists and organic amendments for the control of soilborne plant pathogens in horticultural crops. Fitopatología 34:61-62.

Wright ER. 2007. Atizonamiento del rosal: determinación de los agentes causales y control biológico de *Botrytis cinerea*. Universidad de Buenos Aires. Tesis de Doctorado. 161 pp.

Wright ER, Zapata R, Delfino OSFde, López MV, Senlle M. 1988. Eficiencia in vitor de antagonistas de *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor*. Revista Facultad de Agronomía 9:119-116.

Wright ER, Rivera MC, López MV, Fabrizio M. 1998. Evaluación de un compost de lombriz en relación a la capacidad supresiva de *Rhizoctonia solani* en almácigo de zapallo blanco. Fitopatología 33:55-56.

Wright ER, Cheheid A, Rivera MC, Fabrizio M, Mosedale J. 1999a. Evaluación de un compost de lombriz en relación a la capacidad supresiva de *Rhizoctonia solani* en almácigo de zapallo criollo. Fitopatología 34:59-60.

Wright ER, Rivera MC, Cheheid AL, Fabrizio MC, Mosedale J. 1999b. Control of *Rhizoctonia solani* in nurseries of autumn squash by the amendment with vermicompost. Biological y Cultural Tests for Control of Plant Diseases 14:183.

Wright ER, López MV, Cabral D. 2011. Rose stem blight: Identification of causal agents and biological control of *Botrytis cinerea*. Proceedings First Annual Symposium of Antimicrobial Research. P. 028.

Wright ER, García V, Rivera MC, Fabrizio MC. 2013a. Efecto de distintas diluciones de caldo de ortiga *(Urtica dioica)* sobre el crecimiento de *Sclerotinia sclerotiorum*. Anais do VI Congreso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais. Fitopatologia_007. P. 126.

Yaryura PM., León M, Correa OS, Kerber NL, Pucheu NL, García AF. 2008. Assesment of the role of chemotaxis and biofilm formation as requir ements for colonization of roots and seeds of soybean plants by *Bacillus amyloliquefaciens* BNM339. Current Microbiology 56:625-632.

Yasem de Romero M, Durán E. Díaz C. Aredes JL, Ramallo JC. 2002. Hongos fitopatógenos y antagonistas en semillas de soja y poroto bajo distintos sistemas de manejo. Resúmenes XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 30.

Yasem de Romero M, Durán E, Romero E, Ramallo JC. 2005. Actividad antagónica de *Trichoderma* sp. aislado de semillas de soja, frente a *Fusarium graminearum* y *Colletotrichum* sp. Resúmenes XIII Congreso Latinomericano de Fitopatología. P. 336.

Yommi A, Escande A, López Camelo A, Cendoya G, Sozzi G. 2005. Efecto del quitosano aplicado en pre-cosecha sobre la pudrición del tomate causada por *Alternaria alternata*. Resúmenes XVIII Congreso Latinomericano de Fitopatología. P. 337.

Yossen V, Kopp S, Carrera C, Conles M. 2006. Efecto de diferentes materiales orgánicos incorporados al suelo, sobre la población de esclerocios de *S. cepivorum* y su germinación. Resúmenes XII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Pp. 354-355.

Yossen V, Mestrallet M. 1998. Control biológico de *Sclerotium cepivorum* Berk. en ajo (*Allium sativum* L.) por medio de un aislamiento de *Penicillium* sp. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 33.

Yossen V, Rojo R, Barrera V, Chiessa G, Zumelzu G, Cozzi J, Kobayashi K, Gasoni L. 2011. Effect of green manure and biocontrol agents on potato crop in Córdoba, Argentina. Journal of Plant Pathology 93:713-717.

Yossen V, Vargas S, Olmos C. 1998. Efecto de diferentes susptratos y de un aislamiento de *Trichoderma* sp. en el crecimiento de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y en la supresión de *Rhizoctonia solani* Kühn. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 46.

Yossen,V, Zumelzú G, Gasoni L, Cozzi J, Kobayashi K, Babbitt S, Barrera V, Kahn N. 2003. Efficiency of solarization and biocontrol agents to improve yield of table beet (*Beta vulgaris*). Proceedings 8th International Congress of Plant Pathology, Nueva Zelanda.

Yossen V, Zumelzú G, Kobayashi K, Gasoni L. 2004. Soil reductive sterilization, an alternative

to Methyl Bromide in Córdoba, Argentina. Proceedings International Seminar on Biological Control of Soilborne Plant Diseases, Japan-Argentina Joint Study. Pp. 167-174.

Zapata RL, Frezza D, Babbitt S, Mangione J. 2005. Efecto promotor del crecimiento en lechuga de *Trichoderma* sp. Resúmenes XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. P. 547.

Zapata RL, Frezza D, Mangione JL, Moro S, Babbitt SB. 2003a. Efecto promotor del crecimiento en plantines de lechuga de una cepa de *Trichoderma*. Resúmenes Taller Latinoamericano sobre Control Orgánico de Plagas y Enfermedades. Horticultura:9 (en CD).

Zapata RL, Fuhrman S, López MV. 2000a. Control de la podredumbre de raices causada por *Fusarium solani* en berenjena mediante la aplicación de *Trichoderma harzianum* y *Pseudomonas* sp fluorescente. Resúmenes III Congreso Iberoamericano de Horticultura.

Zapata RL, Fuhrman S, López MV. 2000b. Management of eggplant canker and root rot (*Rhizoctonia solani*) with benefic microorganisms. Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 148.

Zapata RL, Gasoni L, BarreraV, Babbitt SB, Khan N. 2003b. Efectividad de aislamientos de *Trichoderma* spp. vehiculizados en tarugos de madera en el control de *Rhizoctonia solani* en berenjena. Resúmenes Taller Latinoamericano sobre Control Orgánico de Plagas y Enfermedades. Horticultura:7 (en CD).

Zapata RL, Palmucci HE, Blanco Murray V, López MV. 2000c. Biological control of damping-off in eggplant (*Solanum melongena)* with *Peudomonas* fluorescentes and *Trichoderma harzianum*. Proceedings 5th International PGPR Workshop. P. 147..

Zapata RL, Palmucci HE, Blanco Murray V. López MV. 2001 Control biológico del mal de los almácigos en berenjena por *Pseudomonas fluorescentes* y *Trichoderma harzianum*. Revista de la Facultad de Agronomía 21:207-211.

Zapata RL, Spivak S, Delfino S, Fabrizio MC. 1997. Control de la podredumbre de la endivia (*Cichorium intybus* L. var. *foliosum*) producida por *Sclerotinia sclerotiorum* mediante la aplicación de *Trichoderma harzianum*. Revista Facultad de Agronomía 17:151-155.

Zapata SR, Vecchieti NB. 2001. Control biológico de esclerotinia en poroto: I. Determinación del efecto de metabolitos volátiles producidos por antagonistas. Horticultura Argentina 20:21 (artículo 015).

Zapata SR, Vecchietti NB. 2002. Comportamiento de dos aislamientos de *Trichoderma* spp. nativas frente a *Sclerotinia sclerotiorum*. Resúmenes XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. P. 21.

Zapata SR, Vecchietti NB, Andreani E. 1998. Acción antagónica de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae*. Resúmenes 1º Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de las Plantas. P. 34.

Zapata SR, Vecchietti NB, Harries E. 2004a. Evaluación del comportamiento de cepas de *Trichoderma* spp. en el control de la "podredumbre húmeda" del poroto: I. Cultivos duales. Resúmenes XXVII Congreso Argentino de Horticultura. H S 26 (en CD).

Zapata SR, Vecchietti NB, Harries E. 2004b. Evaluación del comportamiento de cepas de *Trichoderma* spp. en el control de la "podredumbre húmeda" del poroto: II. Metabolitos volátiles. Resúmenes XXVII Congreso Argentino de Horticultura. H S 27 (en CD).

Zapata SR, Vecchieti NB, Morales L. 2001. Control biológico de la "podredumbre húmeda del poroto". II. Determinación in vitro del efecto de *Trichoderma* spp. sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. Horticultura Argentina 20:21 (artículo 016).

Zulpa G, Zaccaro MC, Boccazzi F, Parada JL, Storni M. 2003. Bioactivity of intra and extracellular substances from cianobacteria ad lactic acid bacteria on "wood blue stain" fungi. Biological Control 27:345-348.

Zumelzu G, Cozzi J, Zapata RL, Delfino S. 1997. Control integrado de sarna negra de la papa en invernáculo. En: Resúmenes IX Congreso Latinoamericano de Fitopatología, Uruguay.P. 259.

Capítulo 2

Control biológico de enfermedades de plantas en Bolivia

Javier Franco*, E. Urquieta, G. Main, O. Diaz, G. Plata, L. Crespo

*Fundación PROINPA. Cochabamba, Bolivia *Autor para correspondencia: j.franco@proinpa.org*

En ambientes no disturbados, todos los seres vivos viven en equilibrio. Cuando el hombre ingresa a estos lugares, por lo general destruye hierbas, arbustos y árboles que son nichos de insectos benéficos y de insectos plagas, de aves y otros animales. Además en el afán de obtener su alimento se inicia la agricultura, se dedican al monocultivo o manejan sistemas de producción con tres a cuatro cultivos; en el transcurso del tiempo, aparecen enfermedades de poca importancia que con el tiempo y las condiciones favorables se tornan en enfermedades de importancia económica por que reducen los rendimientos, afectan la calidad y generalmente inciden en los costos de producción generando un uso indiscriminado de plaguicidas.

Bajo este manejo todos los organismos benéficos se ven afectados, las poblaciones de microorganismos se van reduciendo poco a poco por el desplazamiento de los patógenos. Una alternativa para retornar al equilibrio, es aislar poblaciones nativas de microorganismos benéficos para devolverlos a estos lugares y tratar de subir las poblaciones de tal forma que nuevamente se encuentren en equilibrio. Otra forma importante es la utilización de agentes de biocontrol disponibles en el mercado en sustitución de los fungicidas químicos.

En la Tabla 1, se muestra la lista de productos biológicos registrados en el Bolivia hasta 10/06/2011. Hasta la fecha ese número debe ser mayor pero no existen registros de los mismos en las fuentes oficiales.

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

Tabla 1: Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad Alimentaria. Unidad Nacional de Sanidad Vegetal (SENASAG-Bolivia). Estado del Registro de Productos Biológicos. Total Productos Encontrados: 6. Web Actualizada: 10/06/2011.

Nombre Comercial	Ingrediente Activo	Clase	Tipo	Cat. Tox.	Formulación	Fabricante, Formulador	Pais Origen	Titular De Registro
Terraforte	N, P, K, Ca, Mg, S, Bacterias de *Planococeus*, *Bacillus*, *Rhodopseudomonas* Y *Nitrosomonas*	Fertilizantes	Fertilizante	IV	Polvo Soluble Para Tratar Semillas	Cor & Cor	Italia	Ecoterra
Trichobiot	Trichoderma Sp.	Plaguicidas	Fungicida Biológico	IV	Polvo Mojable	Microbiot S.R.L.	Bolivia	Microbiot S.R.L.
Tricobio	Concentrado De Metabolitos Bioactivos *Trichoderma* sp. Cepa Lk-001	Plaguicidas	Fungicida Biológico	IV	Otros	Control Biotecnologico De Cultivos Cbc	Bolivia	Control Biotecnologico De Cultivos Cbc
Tricodamp	*Trichoderma* sp.	Plaguicidas	Fungicida	IV	Concentrado Emulsionable	Probioma	Bolivia	Probioma
Turilav Wp	*Bacillus thuringiensis*	Plaguicidas	Insecticida Biológico	IV	Polvo Mojable	Laverlam	Colombia	Distribuidora Boliviana De Insumos
Valoram	Extractos De Aji + Aceite De Mostaza	Plaguicidas	Insecticida	IV	Emulsionable, Aceite En Agua	Soil Technologies Corp	Estados Unidos	Bolusa International Corporation

Evaluación en invernadero y campo de aislamientos bacterianos para el control de nematodos fitoparásitos en papa (*Solamun tuberosum* ssp. *andigena)*

Un amplio rango de microorganismos de la rizosfera pueden promover el crecimiento vegetal, dirigido por complejas señales químicas. Algunos de estos compuestos químicos señalizadores incluyen auxinas, giberelinas, glicolipidos, y citocininas; las rizobacterias que promocionan el crecimiento vegetal y favorecen el desarrollo radicular de la planta, incluyen los géneros: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Azospirillum, Bacillus, Burkholderia, Klebsiella*, etc.

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), han sido estudiadas por mucho tiempo, sin embargo estudios recientes sobre las bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno indican que estas ultimas pueden ser más importantes que las bacterias de la *Herbaspirillum* en promover el crecimiento de la planta debido a que ellas escapan la competencia con los microorganismos de la rizósfera y logran un contacto de la cercano con los tejidos vegetales. Los géneros de PGPR mejor conocidos son *Azospirullim, Azotobacter, Bacillus, Burkholderia, Enterobacter, Klebsiella* y *Pseudomonas*, pero algunas de estos géneros incluyen especies endofiticas también. La mejor bacteria endófita caracterizadas incluyen especies de *Azoarcus spp., Gluconacetobacter diazotrophicus* y *Herbaspirillum seropedicae* (Fuentes-Ramirez y Caballero-Mellado 2005).

Asimismo estudios recientes han demostrado que las bacterias endófitas pueden ser fundamentales para la supervivencia de las plantas, pues las ayudan a controlar ataques de patógenos, insectos y nematodos, debido a que pueden identificar la presencia de estos organismos en la planta de una manera rápida y ayudan en el desencadenamiento del sistema de resistencia inducida (ISR) de las plantas, estos beneficios son posibles gracias a la capacidad general de las bacterias de sintetizar substancias metabólicas como antibióticos y fungicidas, al igual que otros metabolitos secundarios que incluyen compuestos anticarcinogénicos, compuestos volátiles orgánicos, antivirales y agentes inmunosupresores (substancias que inhiben o previenen la acción del sistema inmune. Por otro lado se han encontrado que muchas de las bacterias endófitas son resistentes a metales pesados, antibióticos, y son capaces de degradar compuestos orgánicos complejos y herbicidas.

Por muchos años se viene investigando la mejor manera de poner en contacto estos microorganismos con la planta y se han probado por mucho tiempo diferentes tipos de soportes ya sean orgánicos (turba, estiércol) o inorgánicos (caolinita, vermiculita, lignita y talco) siendo los soportes con mejores resultados la turba y el talco (Vidhyasekaran y Muthamilan 1995). Sin embargo debido a los costos y a la disponibilidad del material se vienen buscando otras alternativas entre estas nuevas propuestas figuran los geles. Aunque de acuerdo a Gasgue (2006), los hidrogeles es una nueva tecnología desarrollada para la optimización del recurso agua en la horticultura y agricultura en general, por lo que se desarrolló una nueva clase de hidrogeles macromoleculares super absorbentes capaces desarrolló de absorber hasta 1.5 litros por gramo de material seco.

Los polímeros superabsorventes han mostrado resultados alentadores

no solo en la capacidad de retención de agua que parece ser uno de los principales beneficios sino también en la mejora en la calidad de las plantas. Los hidrogeles polímeros superabsorbentes podrían ser usados para controlar la liberación lenta de elementos nutritivos. Entonces la planta aun podría acceder algunos fertilizantes. Sin embargo su aplicación no solo se limita a fertilizantes químicos sino también a productos biológicos. Pellets con aceite parcialmente hidrogenado, talco y polímeros superabsorbentes a base de almidón, fueron usados para formular *Bacillus sphaericus*. Esta formulación mejoró la actividad residual contra larvas de *Culex* spp. en parcelas grandes y pequeñas incluyendo agua contaminada (Zohuriaan y Doroudiani 2010).

A su vez Ardakani *et al.* (2010) indica que debido a un creciente interés en los productos de control biológico con rizobacterias, las cuales cuando son mezcladas con transportadores orgánicos o minerales han mostrado un incremento en su eficiencia.

Con el fin de contribuir con el uso de microorganismos benéficos se evaluaron en invernadero y campo aislamientos bacterianos (*Pseudomonas jessenii* R42086; *Pseudomonas cedrina* subsp. *cedrina/cedrina* subsp. *fulgida/extremaustralis/ veronii* R41757; *Pseudomonas cedrina subsp. fulgida/extremaustralis/cedrina* subsp. *cedrina/veroni* R41761; *Bacillus weihenstephanensis* R41798; *Pseudomonas jessenii* R41805; *Bacillus mycoides* R41815; *Bacillus weihenstephanensis* R41849; *Bacillus mycoides* R41850; *Pseudomonas thivervalensis/brassicacearum* subsp. *brassicacearum* R41947; *Bacillus weihenstephanensis* R41958; *Pseudomonas moraviensis* R42020; *Pseudomonas marginalis* R42058; *Pseudomonas moraviensis* R42071; *Pseudomonas thivervalensis/ brassicacearum* subsp. *brassicacearum/ corrugata* R42090; *Pseudomonas thivervalensis/ brassicacearum* subsp. *brassicacearum/ corrugata* R42098; *Curtobacterium flaccumfaciens* R42100; *Enterobacter* sp. R42141; *Bacillus subtilis* FBZ24; *Bacillus amyloliquefaciens (*producto BioTop*)* Ba) con propiedades como microorganismos promotores de crecimiento (PGPR) y a su vez con capacidad antagónica contra hongos fitopatógenos los cuales fueron aplicados en dos transportadores diferentes orgánico (hidrogeles) e inorgánico (caolín) ambos de bajo costo.

Todas las cepas bacterianas fueron colectadas después de tres días de crecimiento en caldo TSB, para luego ser centrifugado a 3000 rpm por 20 minutos y ser luego resuspendido en PBS (0,01 M, pH 7,0). El inoculo fue producido por transferencia o subcultivo de 0,5 ml del vial eppendorf a100 ml de TSB en Erlenmeyer de 250 ml los cuales fueron incubados a 28 ±2 °C en un shaker a 130 rpm por 48 h. De acuerdo a los diferentes tratamientos a los cuales fueron sometidos las materias primas, el control de calidad que se realizó a las mismas estableció que las materias primas fueron aceptables es decir que no hubo contaminación microbiana, só lo en el caso del caolín se disminuyó hasta 70 UFC/g de caolín, sin embargo hubo una reducción de 4 unidades logarítmicas. De acuerdo con la analise estadistica existen diferencias significativas entre los aislamientos bacterianos, y a su vez existen diferencias altamente significativas en la interacción entre el los tratamientos las cepas evaluadas, como estas fueron aplicadas (hidrogeles y caolín) y el efecto en el número de nódulos de *Nacobbus* sp. presentes en la raíz.

Se observó que las cepas R42098 (*Pseudomonas thivervalensis/brassicacearum*

subsp brassicacearum/corrugata), Ba (*Bacillus amyloliquefaciens),* R42090 (*Pseudomonas thivervalensis/brassicacearum subsp brassicacearum/corrugata*), R42100 (*Curtobacterium flaccumfaciens*), R42141 (*Enterobacter* sp.), mostraron el menor número de nódulos causados por los nematodos cuando fueron aplicadas en hidrogeles. A su vez se observó que las cepas aplicadas en soporte de caolín con el menor número de nematodos fueron R41757 (*Pseudomonas cedrina subsp. cedrina/cedrina* subsp. *fulgida/extremaustralis/veronii*), R41805 (*Pseudomonas jessenii*) y R42058 (*Pseudomonas marginalis).* En general las cepas aplicadas con hidrogeles fueron más eficientes en el control de *Nacobbus* sp. (Figura1).

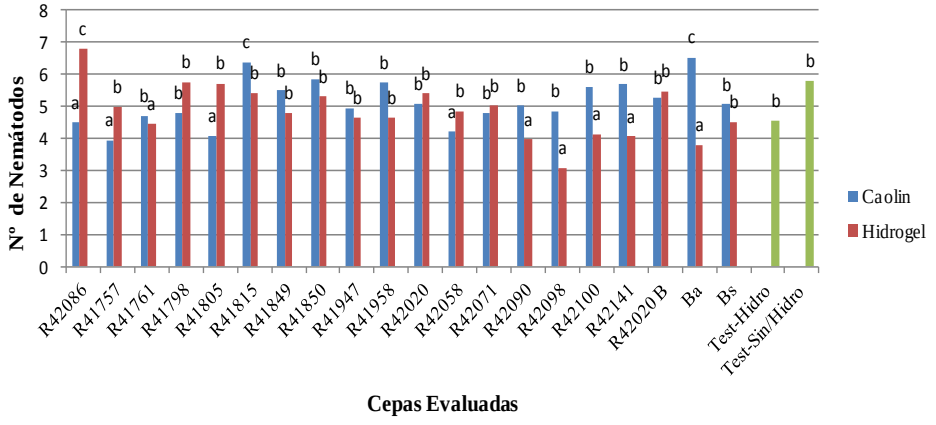

Figura1. Efecto de las cepas bacterianas aplicadas con hidrogeles (H) o caolín (C) como vehículo sobre el número de nódulos causados por *Nacobbus aberrans*.

No se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos para las variables altura de planta, número de tallos y volumen de raíz cuando estos fueron aplicados ya sea en hidrogel o en caolín. En cuanto al rendimiento se observo mayor número de aislamientos con mejores resultados tras ser aplicados en hidrogeles. Mayor peso de tubérculos por planta se obtuvo con 14 cepas, sobresaliendo los tratamientos con *Bacillus weihenstephanensis* (R41798) con 54 g/planta, *Pseudomonas cedrina* subsp. *cedrina* (R41757), con 50 g/planta, *Pseudomonas jessenii* (R42086) con 49 g/planta en hidrogel, en cambio aplicados en caolín sobresalieron 8 cepas, destacando *Bacillus mycoides* (R41815) con 49,7 g/ planta seguida de *Pseudomonas cedrina* subsp. *Cedrina* (R41757) con 49,4 g/ planta (Figura 2).

En la prueba de campo aun cuando no se observaron diferencias significativas en el rendimiento, sin embargo las cepas de *Bacillus weihenstephanensis* (R41798), *Pseudomonas moraviensis* (R42071) y *Pseudomonas thivervalensis* (R42090) mostraron mejores rendimientos con 2,9; 2,8 y 2,7 kg/6 plantas. Por otro lado, tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de nodulación por ataque de *Nacobbus aberrans* en los diferentes tratamientos, sin embargo fueron menores con las cepas de *Pseudomonas cedrina* subsp. *fulgida* (R41761) con 16,3%, seguida de *Pseudomonas jessenii* (R41805) con

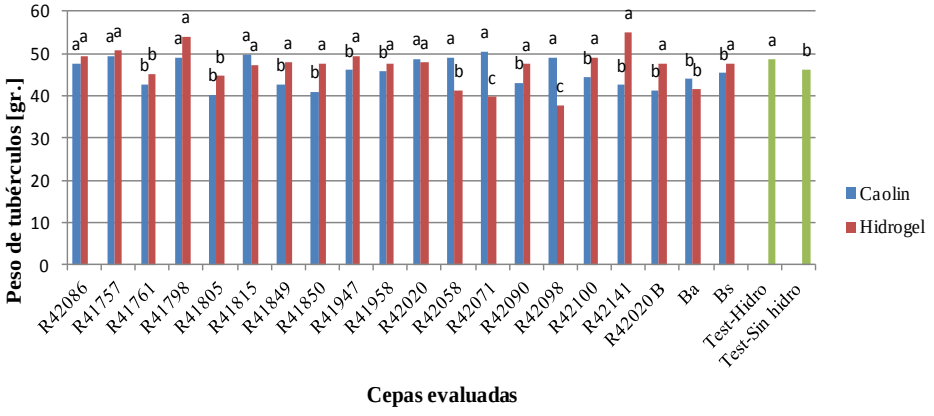

Figura 2. Efecto de las cepas bacterianas aplicadas con hidrogeles (H) o caolín (C) como vehículo sobre e peso de tubérculos.

18,2% y finalmente *Bacillus weihenstephanensis* (R41798) con 20,9%.

Estos resultados coincidirían con Akhtar y Siddiqui (2010) que discuten que la supresión de enfermedades es favorecida por la producción de ciertos compuestos como el caso de la supresión de *Pythium* con la cepa de *Pseudomonas* y que induce a la resistencia inducida (IRS) en el tomate contra *Meloydogine javanica*. A su vez al evaluar 20 aislamientos de *Pseudomonas* fluorescentes, 4 aislamientos (Pf604, Pf605, Pf611 y Pa616) mostraron efecto inhibitorio contra la apertura y penetración de nematodos (Siddiqui y Shakeel 2006). Al respecto, Akhtar y Siddiqui (2010) indica que modificaciones de quitina tiene un efecto supresor sobre poblaciones de nematodos a través de la liberación de amonio durante la descomposición y por la estimulación de organismos quitinoliticos tales como bacterias y actinomicetos que atacan la cubierta de nematodos.

Control biológico de enfermedades en plantas

En los últimos 10 años la Fundación PROINPA, en el área de Manejo Integrado ha creado el área de microbiología, cuyo objetivo es aislar microorganismos benéficos que controlen insectos plagas y enfermedades y también se trabaja con microorganismos ligados a la fertilidad del suelo. El propósito es devolver microorganismos que faciliten la disponibilidad de los nutrientes en el suelo y los otros controlen los problemas fitosanitarios.

A nivel mundial se han estudiado muchos microorganismos benéficos (hongos, bacterias, nematodos, etc.) entre los que se destacan los hongos y las bacterias. Los mecanismos de acción de estos microorganismos son diversos, como competencia, antibiose, parasitismo, inducción de resistencia y lisis enzimática.

Experiencias de PROINPA para el control de enfermedades

Uno de los microorganismos más utilizados es *Trichoderma*, por los trabajos realizados, por lo general se lo encuentra asociado con aislamientos de *Fusarium* sp. Al presente, se dispone de un cepario de unos 35 aislamientos, los cuales son evaluados en laboratorio en forma *in vitro* (enfrentamientos o crecimientos duales), uso de metabolitos volátiles y no volátiles, producción de metabolitos en medio líquido, posteriormente se seleccionan los mejores aislados y son evaluados en invernadero y finalmente en campo. Estos aislamientos han sido evaluados para el control de enfermedades como fusariosis, mildiu de la quinua, mancha chocolate en haba, antracnosis en tomate de árbol y chirimoya. De todas estas evaluaciones una de las alternativas más prometedoras es el control preventivo para el mildiu de la quinua con *Trichoderma*. Este ensayo se ha realizado en invernadero aplicando en suspensión líquida diferentes aislados de *Trichoderma* y posterior inoculación con *Peronospora variabilis,* agente causal el mildiu de la quinua. De un total de 30 aislamientos diferentes, se han seleccionado tres aislamientos (Ch-16B, Ch-9B y m-Ch13A) que sólo inhiben el desarrollo del mildiu, su control es por encima del 60% de eficiencia. Además se han encontrado que otros seis aislamientos (CBBA-2, SC-12t, h-15, parc-6SC, parc-6 y parc-14) además de inhibir el desarrollo del mildiu también son promotores de crecimiento de las plantas.

En el caso de hortalizas, *Trichoderma* funciona muy bien en el control de damping off en almacigueras, es uno de los hongos que compite mejor con *Fusarium*. La producción de *Trichoderma* para almacigueras puede ser realizada en diferentes sustratos sólidos ó líquidos: arroz, cascarilla de arroz, medio de cultivo Papa Dextrosa Agar o simplemente un caldo de papa dextrosa. Los sustratos que funcionan mejor son los sólidos, debido a que el hongo entra con nutrientes y aunque no existan las condiciones favorables para su establecimiento este aún permanece en el sustrato de origen. En cambio, cuando se inocula con las suspensiones líquidas debemos asegurarnos de que exista en la almaciguera materia orgánica y además muy buena humedad.

También se ha trabajado con *Bacillus* sp. para el control de *Agrobacterium tumefaciens,* agente causal de agalla del duraznero. En este ensayo se ha evaluado *Bacillus subtilis* y *Bacillus amyloliquefaciens*, en campo se ha identificado plantas con inicios de formación de agallas y se ha procedido a la extracción de la misma con mucho cuidado, se ha eliminado completamente la agalla y posteriormente con una navaja desinfestada se ha sacado un poco de tejido sano inmediatamente se ha preparado una suspensión pastosa con cada uno de los *Bacillus* y se ha aplicado sobre la herida recubriéndola con una materia orgánica. Después de 15 días se ha observado la cicatrización, en 50% de las plantas tratadas con *Bacillus subtilis* no se ha observado rebrote de agalla, en cambio aquellas que se las trató con *Bacillus amyloliquefaciens* hubo bastante rebrote.

En campo para el control del mildiu de la papa se ha evaluado un aislado de *Bacillus subtilis*, pero los resultados indican que no controlan la enfermedad en campo cuando las condiciones son muy favorables: alta humedad relativa (>

80%), períodos de lluvia prolongados (7 a 10 días) alternado con días soleados. Si se compara el control de la bacteria con una estrategia de control químico su eficiencia oscila entre el 20 a 25%, en relación al químico que está por encima del 70%.

Bibliografía

Akhtar MS, Siddiqui ZS. 2010. Role of Plant growth Promoting Rhizobacteria in Biocontrol of Plant Diseases and Sustainable Agriculture. En: Maheshwari DK (Ed.) Plant Growth and Health Promoting Bacteria, Microbiology Monographs 18. Springer-Verlag, Berlin. pp157-195.

Ardakani SS, Heydari, A, Khorasani, N, Arjmandi R. 2010. Development of new formulations of *Pseudomonas fluorescens* and evaluation of these products against damping-off of cotton seedlings. Journal of Plant Pathology 92: 1: 83-88.

Fuentes-Ramirez L, Caballero-Mellado J. 2005. PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Springer Dordrecht. The Netherlands. pp 143-172.

Gasgue B. 2006. Los hidrogeles poliméricos como potenciales reservorios de agua y su aplicación en la germinación de semillas de tomate en diferentes tipos de suelos. Revista Iberoamericana de Polimeros 7:199- 210.

Siddiqui ZS, Shakeel U. 2006. Use of fluorescent Pseudomonads isolates for the biocontrol of wilt disease complex in pigeonpea in green house and under pot condition. Plant Pathology J. 5:99-105.

Vidhyasekaran P, Muthamilan M. 1995. Development of formulations of *Pseudomonas fluorescens* for control of Chipkpea Wilt. Plant Disease, 79: 8: 782-786.

Zohuriaan M, Doroudiani S. 2010 Advances in non hygienic applications of superabsorbent hydrogel materials, Journal Mater Science, 45:5711- 5735.

Capítulo 3

Control biológico de enfermedades de plantas en Brasil

Wagner Bettiol[1*], Luiz Antonio Maffia[2*], Maria Luiza Marcico Publio de Castro[3]

*[1]Embrapa Meio Ambiente; CP 69, 13820-000, Jaguariúna, SP, Brasil, wagner.bettiol@embrapa.br; [2]Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000, Viçosa, MG, lafmaffia@ufv.br. *Bolsistas de Produtividade do CNPq. [3]Cesis Ltda, Brasilia, DF, marialuiza@cesis.bio.br.*

Introducción

Brasil es líder mundial en el sector de los agronegocios y ese liderazgo ocurre a costas de una dependencia creciente de insumos importados. Según el Departamento do Agronegócio da Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (Deagro/Fiesp), en 2012, las importaciones de insumos para los segmentos de fertilizantes, agrotóxicos, máquinas e implementos, nutrición animal y salud animal sobrepasaron los 18 billones de dólares (Lopes 2012). En el segmento de los agrotóxicos, en 2012, se previó un aumento casi tres veces superior al de 2007 y, actualmente, Brasil también es líder mundial en el consumo de agrotóxicos (Agência Câmara de Notícias, de 09/05/2012). En 2012, el director de la Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), José Agenor Álvares da Silva, afirmó que el país es responsable por 1/5 del consumo mundial de agrotóxicos, ya que utiliza el 19% de los producidos en el mundo. Para Gerson Freitas (Sindag. Uso de defensivos é intensificado no Brasil. Jornal Valor. 30/07/2012), los productores brasileños están usando una mayor cantidad de agrotóxicos, cuyas ventas entre 2006 y 2012 aumentaron de 480,1 mil a 826,7 mil toneladas (más de 72%). El área cultivada con cultivos de granos, fibras, café y caña de azúcar en ese período creció de 68,8 millones a 81,7 millones de ha, por lo tanto, menos de 19%. Para el autor, el consumo medio de agrotóxicos entre 2005 y 2011 pasó de poco más de 7 kg/ha a 10,1 kg/ha, lo que implica un aumento de 43,2%. El mayor crecimiento de las ventas ocurrió con los fungicidas: entre 2006 y 2011. El uso anual pasó de 56 mil a 174 mil toneladas, más del triple, en cinco años.

Las cifras sobre el consumo de agrotóxicos en Brasil impresionan y

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

reconocidamente, el uso intensivo de agrotóxicos en la agricultura causa varios problemas, como la contaminación de los alimentos, del suelo, del agua y de los animales; la intoxicación de agricultores; la resistencia de plagas a principios activos; la intensificación del surgimiento de enfermedades iatrogénicas; el desequilibrio biológico, alterando el ciclo de nutrientes y de la materia orgánica; la eliminación de organismos benéficos y la reducción de la biodiversidad. Esos hechos preocupan a los distintos segmentos de la sociedad en tanto el uso indiscriminado de agrotóxicos genera, por lo menos, dos consecuencias importantes: i. cambios en la agenda ambiental de varios países; y ii. creación de mercados de alimentos con certificación de que los agrotóxicos fueron usados adecuadamente; o no fueron usados (productos orgánicos). Por lo tanto, crece la demanda de alternativas para atender las restricciones ambientales y las exigencias de los consumidores. Entre las alternativas, se encuentra el control biológico, incluido en el contexto de manejo integrado de plagas.

Se puede definir el biocontrol de enfermedades de plantas como el control de un microrganismo patógeno, por otro microrganismo, normalmente denominado antagonista. Existen conceptos más exhaustivos como el de Cook y Baker (1983), quienes consideran al control biológico como "la reducción de la cantidad de inóculo de un patógeno o de sus actividades para causar enfermedad, obtenida por o a través de uno o más organismos diferentes del hombre". Para dichos autores, las actividades determinantes de enfermedades involucran crecimiento, infectividad, virulencia, agresividad, sobrevivencia y otras características del patógeno, o procesos que determinan infección, desarrollo de síntomas y reproducción. Para el biocontrol, se pueden utilizar poblaciones residentes o se puede introducir un antagonista. Así, las prácticas culturales pueden acompañar al biocontrol, con el objetivo de lograr un ambiente favorable para los antagonistas y la planta hospedante. Algunos autores incluyen la resistencia genética de plantas hospedantes como forma de biocontrol, pero no es nuestro caso. Por otro lado, consideramos la inducción de resistencia - por poblaciones avirulentas o hipovirulentas de patógenos, antagonistas o agentes abióticos - como biocontrol. Adicionalmente, abordaremos el biocontrol de enfermedades de plantas en Brasil por medio de agentes microbianos. Consideraremos como biopesticidas a los microrganismos vivos (hongos, bacterias, virus, nematodos) y los macrorganismos (predadores y parasitoides, insectos y ácaros) o productos naturales derivados de esos organismos usados en el control de enfermedades. Las plantas producen compuestos alelopáticos y de metabolismo secundario, extensivamente estudiados en Brasil y también son considerados como biopesticidas, pero no serán abordados aquí.

En tanto, la mera sustitución de un producto químico por uno biológico no es la situación adecuada, si no se avanza en el desarrollo de sistemas de cultivo más sustentables y por lo tanto, menos dependientes del uso de agrotóxicos. El concepto de agricultura sustentable incluye el manejo adecuado de los recursos naturales, evitando la degradación del ambiente de forma a permitir la satisfacción de las necesidades humanas de las generaciones actuales y futuras (Bird *et al.* 1990). Ese enfoque altera las prioridades de los sistemas convencionales de agricultura en relación al uso de fuentes no renovables, principalmente de energía, y cambia la visión sobre los niveles adecuados del

balance entre la producción de alimentos y los impactos en el ambiente. Las alteraciones implican la reducción de la dependencia por productos químicos y otros insumos energéticos y el mayor uso de procesos biológicos en los sistemas agrícolas (Bettiol y Ghini 2003).

Mercado de pesticidas en Brasil

Si se toman en consideración las cifras mencionadas, no sorprende constatar que Brasil sea uno de los mayores consumidores mundiales de pesticidas químicos en la agricultura con ventas de, aproximadamente, US$ 7,304 billones en 2010, US$ 8,487 billones en 2011, y valores de US$ 9,710 billones en 2012 (Bettiol 2011, Sindag 2013). En 2010, los herbicidas fueron los más importantes con ventas de US$ 2,428 billones, seguidos por los insecticidas (US$ 2,365 billones) y fungicidas (US$ 2,128 billones) (Bettiol 2011, Sindag 2011). En 2012, los inseticidas representaron US$3,606 billones, seguidos por los herbicidas con US$3,315 billones y por los fungicidas con US$2,468 billones (Sindag 2013). En general, los productos basados en agentes de biocontrol representan alrededor de 1-2% de las ventas de los pesticidas químicos (US$97 millones a US$194 millones). Los agentes de biocontrol de malezas no están disponibles en el mercado. Así, considerando que son sólo comercializados bioagentes para el control de plagas y enfermedades, el porcentaje de ese mercado alcanza 2%. Estimaciones optimistas proyectan ventas de biopesticidas cercanas al 10% en 2020, pero aún se necesitan muchos trabajos de investigación, desarrollo y de reglamentación, que son críticos, para alcanzar esa cifra (Bettiol 2011). En tanto, según Luiz Eduardo Rangel (www.agrow.com; Robert Birkett de 25/07/2012 – Brazil to raise biopesticides to 10% of production), responsable en el Ministério de la Agricultura, Pecuária y Abastecimento (MAPA) por el registro de agrotóxicos y afines, el objetivo es que en 2015 la suma de productos biológicos alcance el 10% de los pesticidas producidos en Brasil. Afirma que hubo un aumento de 75% en el número de esos productos, incluyendo feromonas para uso en la agricultura en Brasil, pasando de 41 a 75 los productos disponibles.

En Brasil, los productos basados en macro y microrganismos son considerados como productos para protección de plantas, por lo tanto, se rigen con la misma reglamentación para registro y uso que los pesticidas químicos. Sin duda, lo dificultoso del proceso de registro es una de las razones que explican el pequeño mercado de biopesticidas en Brasil. Por ello, en los últimos años las autoridades de los órganos de medio ambiente, salud pública y de agricultura, están estimulando/facilitando el registro de biopesticidas. Esas autoridades están trabajando para establecer una legislación específica de registro de biopesticidas. Un decreto de registro de agentes de biocontrol para agricultura orgánica que fue aprobado en julio de 2009, simplifica el proceso de registro para ese modelo de agricultura. Esos aspectos son discutidos más adelante en este capítulo.

A pesar de ello, continúan algunos grandes desafíos como: aprobar una legislación específica para registro de biopesticidas, reducir el período (4 a 5 años) y reducir los costos de registro de biopesticidas, exceptuar del registro a macrorganismos usados como biopesticidas, y establecer el registro de

biopesticidas considerando el problema objetivo y no el cultivo.

En octubre de 2007 fue creada la Associação Brasileira das Empresas de Biocontrole –ABCBIO - en el ámbito del Foro Permanente de Adecuación Fitosanitaria de Embrapa Medio Ambiente, para organizar el sector en Brasil. Actualmente, la ABCBIO tiene 25 compañías asociadas. En junio de 2009, fue organizado por Embrapa Medio Ambiente y por el MAPA, un Workshop para discutir "Las ventajas del registro de los productos biológicos para el control de enfermedades y plagas". Esas acciones, asociadas al desempeño de la ABCBIO, han resultado en un aumento creciente del envío a registro especial temporario (RET), por las empresas, primer paso para el registro de biopesticidas. Posiblemente, con esas acciones, así como el interés de la sociedad y del mercado, ocurra un aumento en el número de biopesticidas registrados en Brasil y ese número crezca continuamente.

Somos optimistas, y pensamos que dentro de 2 a 3 años el número de biopesticidas registrados en Brasil crecerá sustancialmente, pues todos los actores involucrados en el proceso han discutido activamente el tema e intentado realizar los ajustes necesarios.

Mercado de biopesticidas en Brasil

Los agentes de biocontrol representan solamente un pequeño porcentaje de los pesticidas registrados en Brasil. En agosto de 2011, había 1.352 pesticidas químicos (formulaciones y mezclas) registrados (Tabla 1) y solamente 27 agentes de biocontrol (Tabla 2). Ya en julio de 2012 el número de pesticidas químicos era de 1.357 y el de biopesticidas 31, siendo que en abril de 2013 el número de biopesticidas registrados para agricultura orgánica era de 16. En Noviembre de 2013 eran 52 biopesticidas registrados (Tabla 2). Entre tanto, el número de agentes de biocontrol comercializados, pero no registrados es muy superior. Sin duda, el alto costo y el tiempo que se demora en el proceso de registro es una de las razones por la que se utilizan productos no registrados.

Tabla 1. Número de productos comerciales por categoría de pesticidas registrados en Brasil en Agosto de 2011.

Pesticida	Número
Herbicida	485
Insecticida	406
Fungicida	377
Acaricida	143
Feromona	43
Nematicida	25
Bactericida	14
Otros	56
Total	1.352

Fuente: http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina-inicial/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit (10 de agosto de 2011).

Tabla 2. Especies y número de agentes de biocontrol registrados para uso agrícola como biopesticidas en Brasil en Octubre de 2011, Febrero de 2012 y Noviembre 2013.

Bioagente	10/2011	02/2012	11/2013
Aspergillus flavus NRRL 21882	1	1	1
Bacillus thuringiensis	9	9	9
Bacillus subtilis	1	1	1
Bacillus pumilus	1	1	1
Baculovirus anticarsia	3	3	3
Beauveria bassiana	1	2	3
Condylorrhiza vestigialis Nucleopolyhedrovirus			2
Ceratitis capitata (macho estéril)	1	1	1
Cotesia flavipes	1	3	13
Metarhizium anisopliae	3	4	6
Paecilomyces lilacinus			1
Steinernema puertoricense	1	1	1
Trichogramma galloi	1	1	1
Trichoderma asperellum	1	2	2
Trichoderma harzianum	1	1	2
Trichoderma stromaticum			1
Neoseiulus californicus		1	4
Otros	1		

Fuente:http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina-inicial/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit (Octubre, 2011, Febrero, 2012 y Noviembre 2013).

Con todo, debe ser considerado que el número de productos en base a agentes de biocontrol en los estados iniciales de registro ha aumentado de manera significativa en los últimos dos años. Eso demuestra el interés de las empresas en comercializar legalmente esos productos. Varios agentes de biocontrol son comercializados como promotores de crecimiento, composts, biofertilizantes o inoculantes debido a que para este tipo de productos el proceso de registro es mucho más simple, los costos son menores y son aprobados con mayor rapidez (Bettiol 2011).

Las especies registradas son *Baculovirus anticarsia* y *Condylorrhiza vestigialis Nucleopolyhedrovirus* (virus), *Bacillus thuringiensis, Bacillus subtilis* y *Bacillus pumilus* (bacteria), *Aspergillus flavus* NRRL 21882, *Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae, Paecilomyces lilacinus, Trichoderma asperellum, Trichoderma stromaticum* y *Trichoderma harzianum* (hongos), *Steinernema puertoricense* (nematodo), *Ceratitis capitata* (macho estéril), *Cotesia flavipes, Neoseiulus californicus* y *Trichogramma galloi* (parasitoides). Las especies más importantes comercializadas son *Cotesia* y *Trichogramma* para el control de *Diatraea saccharalis* (barrenador del tallo) en caña de azúcar en, aproximadamente, 3 y 0,5 millones de ha, respectivamente; *Metarhizium anisopliae* para el control de *Mahanarva* (cigarrita) de la caña de azúcar, aproximadamente, 2 millones de ha; *Trichoderma* spp. para el control de varios patógenos habitantes del suelo en, aproximadamente, 3 millones de ha; *Bacillus thuringiensis* en, aproximadamente, 0,3 millones de ha para el control de orugas; *Baculovirus anticarsia* para el control

de *Anticarsia gemmatalis* (isoca) de la soja en 0,3 millones de ha; y *Metarhizium anisopliae* en pasturas para el control de *Mahanarva posticata* (cigarrita) en, aproximadamente, 60.000 ha. Además de esas especies, se comercializan otras, pero sin registro: *Clonostachys rosea, Isaria* sp., *Lecanicillium lecanii, Lecanicillium longisporum, Pochonia chlamidosporia* y *Trichoderma* spp.; *Orius insidiosus, Podisus nigrispinus* (ácaros) y otros (Bettiol 2011).

Un indicador del aumento de la demanda por agentes de biocontrol es la evolución del uso de *Trichoderma.* El área tratada con *Trichoderma* en 2008 era de aproximadamente, 600.000 ha y en 2010 el área aumentó a más de 1.200.000 ha. Un incremento de aproximadamente, 100% en tres años. La demanda por ese agente de biocontrol se debe al aumento de los problemas con el moho blanco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum*, en soja, actualmente el cultivo más importante en Brasil.

Sin dudas, la demanda de biopesticidas se encuentra en aumento. Su crecimiento seria mayor si se incrementase la disponibilidad de productos lo que, en gran parte, depende de la adecuación de la legislación para el registro.

Evolución de la legislación brasileña para el registro de productos de baja toxicidad y peligrosidad

El registro de un producto es la forma legal que habilita su comercialización en el país, ya sea mediante la formulación/fabricación de sus componentes y/o de la importación/exportación del mismo. El objetivo del registro es, entre otras cosas, el de garantizar la seguridad de la población y del medio ambiente, además de garantizar patrones de calidad y eficiencia de los productos.

El avance de los bioplaguicidas, considerados productos de baja toxicidad y peligrosidad, utilizados en el control de plagas y enfermedades, se constata a nivel mundial en los últimos años. Según fuentes del CPL *Business Consultants*, hubo un aumento del 47% en la producción de estos insumos, en el período de 2005 a 2008, con una producción que varió de US$ 270 millones a U$S 396 millones (CPL 2011).

Brasil tiene una avanzada legislación para el registro de productos destinados a la agricultura y entornos urbanos. A su vez existen otras leyes relacionadas que también deben ser respetadas por los empresarios que pretendan legalizar sus productos. Por más paradójico que parezca, en el Brasil, los productos de baja toxicidad y peligrosidad, como por ejemplo, los productos biológicos utilizados en el control de plagas y enfermedades agrícolas, en función de su encuadre, son regulados por la ley Nº 7.802/89 (Brasil 1989), Ley de agrotóxicos y afines. Es de destacar, que no es el origen de los productos lo que lleva a ser abarcados por esta ley, sino la finalidad para la que son destinados, o sea, controlar seres vivos considerados nocivos (Castro y Oliveira Filho 2006).

Un producto es definido como agrotóxico o afín, según esta legislación, cuando se trata de un producto o agente "*de procesos físicos, químicos o biológicos, destinados al uso en la producción, almacenamiento y transformación de productos agrícolas, en las pasturas, en la protección de bosques nativos o implantados y otros*

ecosistemas y también en ambientes urbanos, hídricos e industriales, cuya finalidad sea alterar la composición de la flora o fauna, con el fin de preservarlas de la acción dañina de seres vivos considerados nocivos". En este contexto, se encuadran los agentes de control biológico (entomopatógenos, parasitoides, predadores, nematodos, antagonistas, competidores), los semioquímicos, otros bioquímicos, extractos vegetales y minerales, utilizados en la agricultura con la finalidad de controlar organismos considerados nocivos, además de todo otro producto que sea utilizado para el control de plagas agrícolas y que se ajuste a la definición legal.

Anteriormente a la Ley de agrotóxicos y afines, la legislación que reglamentaba al sector era extremamente antigua, teniendo como base al Decreto Nº 24.114/34 (Brasil 1934). En aquella época, el registro de productos agrotóxicos era sólo competencia del Ministerio de Agricultura. La Ley Nº 7.802/89 (Brasil, 1989) trajo una serie de innovaciones y beneficios garantizando la seguridad de la población y del medio ambiente, asegurando patrones de calidad y eficiencia, además del uso seguro do los agrotóxicos en el país, con la participación conjunta de tres órganos federales reguladores: el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento (MAPA), la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA) y el Instituto Brasileño de Medio Ambiente y Recursos Naturales Renovables (IBAMA). El detalle de los requisitos necesarios para el registro de productos agrotóxicos y afines se encuentra en el Decreto 4.074/02 (Brasil 2002) que, además de mencionar la necesidad de publicar los demás instrumentos jurídicos normativos específicos existentes para cada producto considerado de baja toxicidad y peligrosidad, sostiene el tratamiento priorizado y evaluación diferenciada de los productos de ésta categoría.

Un factor de complicación para llevar a cabo la priorización y evaluación diferencial de los productos considerados de baja toxicidad y peligrosidad, de los que trata el Decreto 4.074/02 (Brasil 2002), es la inexistencia de una norma que defina el término "Baja Toxicidad y Peligrosidad". Este detalle es de extrema importancia, pues al no haber una definición apropiada, cada uno de los organismos federales reguladores puede interpretar a su manera qué productos, analizando caso a caso, deben o no recibir la tramitación priorizada establecida en el Decreto. Téngase en cuenta que la evaluación de estos productos no sigue un patrón previo, como acontece con los agrotóxicos químicos convencionales, ya que presentan peculiaridades que los colocan en una situación individualizada y muchas veces, inédita para el evaluador (Castro y Oliveira Filho 2006). Esta singularidad se produce con frecuencia, pues con el avance de la ciencia, nuevos productos llamados "alternativos" están apareciendo constantemente en el mercado.

Antes de que se publicasen las normas especificas que contemplan los requisitos técnicos exigidos para el registro, diferenciando los productos de baja toxicidad y peligrosidad de los agrotóxicos convencionales, todo el proceso de evaluación y registro, estaba volcado exclusivamente a la evaluación de sustancias químicas y los demás productos, enmarcados por la misma Ley, totalmente distintos, venían siendo procesados siguiendo esos protocolos. A diferencia de la regulación de los agrotóxicos convencionales, los productos considerados de baja toxicidad y peligrosidad son evaluados aplicándose el sistema de etapas, desde la publicación de la normativa específica para productos microbiológicos,

la Portaria Normativa IBAMA nº 131/97 (IBAMA 1997).

Ese primer avance, frente a la reglamentación de los agrotóxicos denominados convencionales, además de reducir el número de estudios obligatorios requeridos para el registro de los productos, minimizando los costos relacionados a la presentación de datos de los productos considerados de baja toxicidad y peligrosidad, tuvo también la intención de optimizar el tiempo de evaluación de las solicitudes de registro de productos con esa característica.

Uno de los problemas que se presentaron con la publicación Portaria nº 131/97 (Brasil 1997) fue la armonización de los requisitos y procedimientos necesarios para el registro de los productos microbiológicos, una vez que la ley de agrotóxicos y afines definió la competencia conjunta entre ANVISA, MAPA y IBAMA para la evaluación y registro de los mismos y solamente IBAMA presentó el documento legal detallando cuales serían los parámetros técnicos exigidos para la solicitud de registro. En este sentido, ANVISA, entendiendo que las regulaciones existentes para agrotóxicos y afines relativos a la salud humana, tales como la Portaria nº 03/92 (Brasil 1992), no trataban específicamente de productos microbiológicos, publicó la Resolución de la Junta Diretiva Colegiada (RDC) nº 195/02 (ANVISA 2002), con el fin de diferenciarlos y priorizarlos en el contexto de los agrotóxicos y afines.

La completa armonización de las normas y requisitos técnicos para el registro de los productos biológicos, con base en la ley de agrotóxicos y afines se completó con la publicación de las Instrucciones Normativas Conjuntas, mencionadas por el Decreto Nº 4.074/02, al establecer la priorización para la evaluación diferenciada de los productos de esa categoría. La Instrucción Normativa Conjunta Nº 3/06 (Brasil 2006b), que trata sobre la regulación de productos microbiológicos contemplando todos los aspectos referentes a las evaluaciones de ANVISA, IBAMA y MAPA, es el principal ejemplo de esto.

Los instrumentos legales después de armonizados por las agencias gubernamentales competentes mediante el registro de productos considerados de baja toxicidad y peligrosidad, inserto en la ley de agrotóxicos y afines, mantuvieron la división en etapas de los requisitos técnicos obligatorios a ser presentados durante el proceso de registro sugerido desde la Portaria Normativa IBAMA Nº 131/97 (Brasil 1997), específica para productos microbiológicos. Al mantener este sistema, el Gobierno Federal evidenció el intento de reducir algunos sesgos existentes en la legislación, aumentando la posibilidad de registro de estos productos en el mercado brasileño (Rangel 2006). Esto se realiza en el entendido de que cuanto menor sea la toxicidad de los productos usados en el control de plagas y enfermedades, mayor será la seguridad para la población y el medio ambiente.

Considerando la posible baja toxicidad, el alcance del análisis se divide en tres fases (I, II y III) y apunta a exigir lo que es realmente necesario para comprobar la toxicidad de esos productos diferenciados. Como ya fue mencionado, este sistema fue elaborado para facilitar el registro y valorizar aún más a los productos de baja toxicidad y peligrosidad, como es el caso de los productos microbiológicos. La fase I consiste en una batería de test de corta duración. En caso de que ningún efecto adverso sea observado en esta primera fase, no es necesario realizar los demás test de las fases II y III. La fase II evalúa

una situación particular, cuando son encontrados indicios de toxiciad o efectos adversos en la fase I. En caso de observarse daños en los resultados de la fase II, se deben realizar directamente los estudios de la fase III (Tablas 3 a 9).

Otro ejemplo importante que demuestra avances en la diferenciación de los productos de baja toxicidad y peligrosidad de aquellos considerados agrotóxicos convencionales son los requisitos exigidos por la Instrucción Normativa Conjunta Nº 25/05 (Brasil 2005), que trata del RET (Registro Especial Temporario), mecanismo creado por el gobierno, para estar informado sobre las

Tabla 3. Estudios requeridos para la evaluación toxicológica, ecotoxicológica y de la patogenicidad de productos microbiológicos según la INC Nº 03/2006. 1 - Estudios requeridos para la caracterización del producto

Propiedades Físico-Químicas		
3. Miscibilidad (T)	PT o PF	
4. pH (T)	PT o PF	
5. Densidad (T)	PT o PF	
6. Estabilidad (T)	PT o PF	A la luz solar, pH 5, 7,9; aire, temperatura, metales y sus iones
7. Estabilidad durante almacenaje (T)	PT o PF	Condiciones para mantenimiento del producto
8. Viscosidad (T)	PT o PF	Sólo para líquidos a temperatura ambiente
9. Características corrosivas (T)	PT o PF	En relación a materiales de acondicionamiento

Referencias: IA = ingrediente activo; PT = producto técnico; PF = producto formulado; T = prueba

Tabla 4. Estudios requeridos para la evaluación toxicológica, ecotoxicológica y de la patogenicidad de productos microbiológicos según la INC Nº 03/2006. 2 - Estudios requeridos para la evaluación toxicológica y de la patogenicidad, divididos en tres fases distintas: FASE I

Parámetros	EE	Producto(s) a ser evaluado(s)	Observaciones
1. Toxicidad/patogenicidad oral aguda	R	IA o PT y PF	
2. Toxicidad/patogenicidad pulmonar aguda	R	IA o PT y PF	
3. Toxicidad/patogenicidad intravenosa aguda	CR	IA o PT y PF	Requerido cuando el IA es bacteria o virus
4. Toxicidad/patogenicidad intraperitoneal	CR	IA o PT y PF	Requerido cuando el IA es hongo o protozoo
5. Sensibilización dérmica	R	PT y PF	
6. Cultivo de células	CR	IA o PT	Requerido cuando el IA es virus
7. Toxicidad cutánea aguda	R	IA o PT y PF	
8. Irritación/infección ocular primaria	R	IA o PT y PF	
9. Irritación cutánea primaria	CR	IA o PT y PF	Requerido cuando el microrganismo estuviera taxonómicamente relacionado con otro conocido como irritante. Exceptuado para pH < 2 o pH > 11

Referencias: EE = especificación de la exigencia R = requerido CR = condicionalmente requerido

Tabla 5. Estudios requeridos para la evaluación toxicológica, ecotoxicológica y de la patogenicidad de productos microbiológicos según la INC Nº 03/2006. Estudios requeridos para la evaluación toxicológica y de la patogenicidad, divididos en tres fases distintas: FASE II

Parámetros	EE	Producto(s) a Ser evaluado(s)	Observaciones
1. Toxicidad oral aguda - DL_{50}	CR	IA o PT y PF	Requerido cuando se observaran toxicidad oral, pero no patogenicidad o infectividad en los estudios agudos de la Fase I.
2. Toxicidad inhalatoria aguda - CL_{50}	CR	IA o PT y PF	Requerido cuando fueran observadas toxicidad pulmonar, pero no patogenicidad o infectividad en los estudios agudos de la Fase I. Requerido cuando fueran observadas infectividad y/o persistencia anormal, en ausencia de patogenicidad y/o toxicidad de los estudios de la Fase I; las vías de exposición deben corresponder a aquellas en las que fueran observados efectos adversos. También puede ser exigido para evaluar efectos adversos debido a contaminantes microbianos o subproductos tóxicos, independiente de cualquier efecto en la Fase I.
3. Toxicidad/ patogenicidad subcrónica	CR	IA o PT	

Referencias: EE = especificación de la exigencia; CR = condicionalmente requerido; IA= ingrediente activo; PT = producto técnico; PF = producto formulado.

Tabla 6. Estudios requeridos para la evaluación toxicológica, ecotoxicológica y de la patogenicidad de productos microbiológicos según la INC Nº 03/2006. Estudios requeridos para la evaluación toxicológica y de la patogenicidad, divididos en tres fases distintas: FASE III

Parámetros	EE	Producto(s) a ser evaluados	Observaciones
1. Efectos sobre reproducción/ fertilidad y capacidad teratogénicas	CR	IA o PT	Requerido cuando fueran observadas cualquiera de las siguientes situaciones: infectividad del agente de control en animales en el estudio subcrónico de la Fase II, sin ninguna señal de patogenicidad o toxicidad; si el agente de control fuera virus que pueda persistir o replicar en cultivos de células de mamíferos, el agente microbiano no es totalmente conocido taxonómicamente y está relacionado con organismos parasíticos de células de mamíferos; cuando existan indicaciones de que puedan contener contaminantes que son parásitos de animales. Requerido para productos que contengan o sean sospechosos de contener virus carcinogénicos. Requerido para productos que contengan o sean sospechosos de contener virus que puedan intervenir adversamente sobre componentes del sistema inmunológico de mamíferos.
2. Capacidad carcinógena	CR	IA o PT	
3. Respuesta de impunidad celular	CR	IA o PT	

Referencias: EE = especificación de la exigencia; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente activo; PT = producto técnico

Tabla 7. Estudios requeridos para la evaluación toxicológica, ecotoxicológica y de la patogenicidad de productos microbiológicos según la INC Nº 03/2006. Estudios requeridos para la evaluación ecotoxicológica, divididos en tres fases distintas: FASE I

Pruebas	EE	Producto(s) a ser evaluado(s)	Observaciones
1. Oral para aves	R	IA o PT	
2. Inhalatorio para aves	CR	IA o PT	Requerido cuando la naturaleza del agente microbiológico y/o sus toxinas indicaran patogenicidad potencial p/ aves.
3. Mamíferos silvestres	CR	IA o PT	
4. Peces de agua dulce	R	IA o PT	
5. Invertebrados de agua dulce	R	IA o PT	
6. Animales de estuarios y marinos	CR	IA o PT	Cuando el uso fuera directo en estuario y ambientes marinos, o con expectativa de alcanzar tales ambientes en concentraciones significativas (patrón de uso, movilidad del agente).
7. Plantas no objetivo	CR	IA o PT	
8. Insectos no objetivo	R	IA o PT	
9. Abejas	R	IA o PT	
10. Lombrices	CR	IA o PT	

Referencias: EE = especificación de exigencia; R = requerido; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente activo; PT = producto técnico.

investigaciones y experimentos que se están llevando a cabo en Brasil en el área de la protección vegetal. Para recibir el Certificado de RET es necesario el envío de informaciones para que el gobierno tome conocimiento de las investigaciones de eficacia y toxicidad del producto investigado. Tratándose de productos diferentes a los agrotóxicos convencionales, donde se incluyen productos microbiológicos entre otros, no se considera su encuadre de la misma forma que los agrotóxicos (sustancias químicas), dependiendo del tamaño del área en experimentación y de la cantidad de producto utilizado. La buena noticia es que si el producto no es encuadrado en la categoría de químico convencional no tendrá necesidad de pagar la tasa RET establecida por el IBAMA, que puede variar de R$ 532,00 (quinientos treinta y dos reales) a R$ 2.130,00 (dos mil ciento treinta reales). Hasta el momento el cambio ha ocurrido solamente en el IBAMA, pues las tasas cobradas por la ANVISA, dependiendo del tamaño de la empresa, continúan siendo las mismas. Otro ejemplo de evolución de la legislación apuntando a minimizar las dificultades para el registro de productos considerados de baja toxicidad debido a las exigencias, muchas veces complejas, como por los costos relacionados a ellas, una vez que tales productos son regidos por la ley de agrotóxicos y afines, la no necesidad de destrucción da las áreas de terceros luego de utilizadas para la experimentación con productos como los agentes de control biológico

Tabla 8. Estudios requeridos para la evaluación toxicológica, ecotoxicológica y de la patogenicidad de productos microbiológicos según la INC Nº 03/2006. Estudios requeridos para la evaluación ecotoxicológica, divididos en tres fases distintas: FASE II

Pruebas	EE	Producto(s) a ser evaluado(s)	Observaciones
1. Comportamiento en el ambiente terrestre	CR	IA o PT	Requerido cuando fueran observados efectos patogénicos o tóxicos en las pruebas de la Fase I con organismos terrestres. Requerido cuando fueran observados efectos patogénicos en las pruebas de la Fase I con organismos acuáticos de agua dulce.
3. Comportamiento en ambiente estuarino y marino	CR	IA o PT	Requerido cuando el producto fuera para aplicación terrestre o en agua dulce, y fueran observados efectos tóxicos o patogénicos en cualquiera de los estudios de la Fase I con organismos de estuario u marinos; o cuando el producto fuera recomendado para ambientes marinos o de estuarios, o fueran observados efectos tóxicos o patogénicos en cualquiera de las siguientes pruebas de la Fase I: oral agudo en aves; inhalación con aves; toxicidad/patogenicidad en animales marinos o de estuarios.

Referencias: EE = especificación de la exigencia; R = requerido; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente activo; PT = producto técnico.

(parasitoides y depredadores) – Instrucción Normativa Conjunta nº 2/06 (Brasil 2006c), además de los productos semioquímicos. Antes de la publicación de la Instrucción Normativa Conjunta nº 25/05 (Brasil 2005), el propietario de la tierra debería recibir una indemnización por la destrucción de los restos de cultivo después de finalizado el experimento ya que no podría utilizar ese cultivo para ningún otro fin.

En los años 2007 y 2008, algunas soluciones fueron implantadas por los órganos gubernamentales con la idea de optimizar la ejecución de los trámites presentados frente a la ley de agrotóxicos y afines. El SISRET – Sistema Electrónico de Requisitos de Análisis de Registro Especial Temporario fue una de esas soluciones, sin embargo, desde su implantación hasta hoy, el SISRET atiende solamente las necesidades de los agrotóxicos químicos convencionales. Hasta el momento no son contemplados por el sistema electrónico productos biológicos y/o naturales, considerados de baja toxicidad y peligrosidad, que continúan teniendo que realizar sus trámites ante los organismos reguladores mediante papel. Eso diminuye la agilidad del análisis necesario, ya que los protocolos electrónicos son recibidos y analizados de inmediato, en tanto que aquellos recibidos en papel siguen por otro camino de tramitación hasta llegar a la mesa de los técnicos analistas.

Otras importantes iniciativas presentadas por el gobierno con el fin de agilizar el registro de los productos denominados de baja toxicidad y peligrosidad llegaron con la publicación del Decreto nº 6.323/07 (Brasil 2007) que reguló las actividades de la ley de orgánicos nº 10.831/03 (Brasil 2003) estableciendo que los insumos con uso regulado para la agricultura orgánica deberían ser objeto de proceso de registro priorizado y diferenciado, y para ello, el MAPA tiene

Tabla 9. Estudios requeridos para la evaluación toxicológica, ecotoxicológica y de la patogenicidad de productos microbiológicos según la INC Nº 03/2006. Estudios requeridos para la evaluación ecotoxicológica, divididos en tres fases distintas: FASE III

Pruebas	EE	Producto(s) a ser evaluado(s)	Observaciones
1. Organismos terrestres y acuáticos	CR	IA o PT	Requerido cuando fueran observados efectos tóxicos sobre organismos no-objetivo (salvajes, terrestres o acuáticos) en una o más pruebas de la Fase I y los resultados de la Fase II indicaran exposición de tales organismos al agente microbiológico.
2. Patogenicidad crónica y reproducción de aves	CR	IA o PT	Requerido cuando fueran observados efectos patogénicos en aves en la Fase I; efectos crónicos carcinogénicos o teratogénicos fueran relatados en pruebas de evaluación (tóxico - patológica); pruebas de comportamiento en el ambiente de la Fase II indicaran que la fuera probable exposición de animales terrestres al agente de control.
3. Especificidad a invertebrados acuáticos y Estudios del ciclo biológico de peces	CR	IA o PT	Requerido cuando el producto fuera indicado para uso en agua o cuando hubiera posibilidad de que sea transportado en cantidades significativas a través del agua desde el sitio de utilización, y cuando fuera observada patogenicidad o infectividad en las pruebas acuáticas de la Fase I.
4. Perturbación del ecosistema acuático	CR	IA o PT	Si fuera determinado que su uso pude resultar en efectos adversos (principalmente infectividad, patogenicidad o viabilidad en agua natural) a organismos no-objetivo de columna de agua y de sedimentos, luego del análisis de las informaciones exigidas para los agentes microbiológicos y evaluación de los resultados de las Fases I y II sobre organismos no - objetivo y comportamiento ambiental.
5. Plantas no--objetivo	CR	IA o PT	Si el producto es transportado desde el lugar de aplicación por el suelo, aire, agua o por animales, y cuando se observase patogenicidad sobre plantas no-objetivo; el grado de movimiento será determinado por las pruebas de la Fase II.

Referencias: EE = especificación de la exigencia; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente activo; PT = producto técnico.

Tabla 10. Especificaciones de referencia de productos fitosanitarios con uso aprobado para agricultura orgánica, presentando las características y los patrones de concentración establecidos por el Gobierno para productos basados en *Cotesia flavipes*, según: INC SDA/SDC nº 02 de 02 de junio de 2011.

Agente biológico de control		*Cotesia flavipes*
Clasificación Taxonómica	Reino	Animal
	Filo	Arthropoda
	Clase	Insecta
	Sub-clase	Pterygota
	Orden	Hymenoptera
	Super família	Ichneumonoidea
	Família	Braconidae
	Sub-família	Microgastrinae
	Género	*Cotesia*
	Especie	*Cotesia flavipes*
Clase de uso		Insecticida biológico
Forma de presentación		Insectos vivos
	Objetivo biológico	*Diatraea saccharalis* (barrenador de la caña)
Indicación de uso	Cultivos	En todos los cultivos con ocurrencia del objetivo biológico. Eficiencia agronómica comprobada para el cultivo de caña de azúcar. El parasitoide (avispita) debe ser comercializado en la forma de pupa, pero las liberaciones realizadas solo después de 8 a 12 horas del inicio del "nacimiento" (emergencia) de los adultos. El nivel de control del barrenador se basa en la población de orugas y se recomienda liberar la avispita toda vez que fuera constatada la presencia de 800 a 1.000 larvas de *Diatraea saccharalis* por hectárea. Si la evaluación poblacional del barrenador no hubiera sido realizada en la finca, se debe liberar la avispita en aquellas áreas donde la intensidad de infestación haya sido superior a 2% en la cosecha anterior. En general, se deben liberar 6.000 avispitas/ha divididas en 8 puntos de liberación (750 avispitas/punto de liberación), cantidad que puede ser repetida, 15 días después, cuando se constate la presencia de 800 a 1.000 larvas no parasitadas/ha. Las liberaciones deben ser realizadas al atardecer o por la mañana, evitar las horas más calientes del día.

Tabla 11. Especificaciones de referencia de productos fitosanitarios con uso aprobado para agricultura orgánica, presentando las características y los patrones de concentración establecidos por el Gobierno para productos basados en Baculovirus *Anticarsia gemmatalis*, según instrucción normativa conjunta nº 04 de 04 de abril de 2012.

Agente microbiológico de control	Baculovirus *Anticarsia gemmatalis*		
Clasificación Taxonómica	Familia	Baculoviridae	
	Género	*Alphabaculovirus* - Nucleopolyhedrovirus	
	Especie	*Anticarsia gemmatalis multiple nucleopolyhedrovirus* (AgMNPV)	
Composición			
Descripción		Función	%
Anticarsia gemmatalis multiple nucleopolyhedrovirus (7 x 10^9 cuerpos poliédricos de inclusión del virus / g de producto)		Ingrediente activo	0,6
Caolinita		Inerte	73
Materia Orgánica (fase líquida y semi-sólida del cuerpo de insecto conteniendo el virus)		Inerte	26,4
Clase de uso	Insecticida microbiológico		
Forma de presentación	Polvo mojable		
Indicación de uso			
Objetivo: *Anticarsia gemmatalis* (isoca de la soja – oruga de las leguminosas)			
Cultivos: En todos los cultivos con ocurrencia del objetivo biológico. Eficiencia agronómica comprobada para el cultivo de la soja. Dosis recomendada de 20 g del producto por hectárea (correspondiendo a un mínimo de 1,4 x 10^{11} cuerpos poliédricos de inclusión del virus). Para cada hectárea de cultivo la dosis recomendada debe ser diluida en agua y aplicada por pulverización con cualquier tipo de equipamiento terrestre (tractorizado o manual). Para ello, disolver el producto en un balde con agua y enseguida colocar en el tanque del pulverizador, colocar nuevamente agua en el balde para hacer el lavado y colocar ese agua en el pulverizador. En aplicaciones terrestres usar entre 120 y 170 litros de caldo por hectárea. Para obtener mejor eficiencia, dar preferencia para aplicación luego de las 16 horas y procurar cubrir toda la planta. La aplicación debe ser hecha aún para larvas pequeñas (menores de 1,5 cm). Cuando fueran encontradas 20 isocas por metro lineal de soja o 40 isocas por golpe de red (10 grandes + 30 pequeñas). Reaplicar en caso de reinfestación.			

Tabla 12. Especificaciones de referencia de productos fitosanitarios con uso aprobado para agricultura orgánica, presentando las características y los patrones de concentración establecidos por el Gobierno para productos basados en *Metarhizium anisopliae,* aislamiento IBCB 425, según instrucción normativa conjunta SDA/SDC nº 03 de 11 de mayo de 2012.

Agente microbiológico de control	*Metarhizium anisopliae,* aislamiento IBCB 425	
Clasificación Taxonómica	Super-reino	Eukaryota
	Reino	Fungi
	Sub Reino	Dikarya
	División	Ascomycota
	Subdivisión	Pezizomycotina
	Clase	Sordariomycetes
	Subclase	Hypocreomycetidae
	Orden	Hypocreales
	Familia	Clavicipitacea
	Género	*Metarhizium*
	Especie	*Metarhizium anisopliae*
Composición		
Descripción	Función	Concentración
Esporas del hongo *Metarhizium anisopliae*, aislamiento IBCB 425*	Ingrediente activo	5×10^8 a 2×10^{12} esporas viables del hongo por gramo de producto formulado
Partículas de arroz (esterilizado)	Sustrato de crecimiento/vehículo	----------
Clase de uso	Insecticida microbiológico	
Tipo de Formulación	Polvo mojable o granulado	
Indicación de uso		
Objetivo biológico 1: *Mahanarva fimbriolata* (cigarrita de la raíz)		
Cultivos: En todos los cultivos con ocurrencia del objetivo biológico. Eficiencia agronómica comprobada para el cultivo de caña de azúcar. Monitorear la presencia de ninfas en el campo luego de las primeras lluvias. Iniciar la aplicación luego de detectar la plaga (espumas con ninfas en la base de los macollos). Dosis de aplicación de 1 x 1012 conidios/ha. Realizar dos aplicaciones por ciclo de cultivo.		
Objetivo biológico 2: *Zulia entreriana* (cigarrita de las pasturas)		
Cultivos: En todos los cultivos con ocurrencia del objetivo biológico. Eficiencia agronómica comprobada en pasturas. Monitorear la presencia de ninfas en el campo luego de las primeras lluvias. Iniciar a aplicación luego de detectar la plaga (espumas con ninfas en la base de los macollos). Dosis de aplicación de 1×10^{12} conidios/ha. Realizar dos aplicaciones por año.		

* Identificación de la colección de depósito del agente microbiológico: IBCB - Instituto Biológico (Campinas - SP)

la responsabilidad de garantizar su simplificación y agilización estableciendo procedimientos técnicos en actos complementarios, en conjunto con los demás órganos federales involucrados en la evaluación y registro de esos productos, ANVISA e IBAMA.

Aún así, solamente con la publicación do Decreto nº 6.913/09 (Brasil 2009) la conexión de la ley de orgánicos con la ley de agrotóxicos y afines se ha entendido mejor, ya que este Decreto, sumó a las disposiciones del Decreto 4.074/02 (Brasil 2002), que reglamenta la ley de agrotóxicos y afines, definiciones importantes como la de producto fitosanitario para uso en la agricultura orgánica y también la definición de especificación de referencia, como especificaciones y garantías mínimas que los productos fitosanitarios con uso aprobado para la agricultura orgánica deberán seguir para la obtención del registro. El Decreto nº 6.913/09 detalló además, los procedimientos a ser seguidos para el registro de

Tabla 13. Especificaciones de referencia de productos fitosanitarios con uso aprobado para agricultura orgánica, presentando las características y los patrones de concentración establecidos por el Gobierno para productos basados en *Trichoderma stromaticum,* aislamiento CEPLAC 3550, según instrucción normativa conjunta SDA/SDC nº 03 de 11 de mayo de 2012.

Agente microbiológico de control	*Trichoderma stromaticum*, aislamiento CEPLAC 3550	
Clasificación Taxonómica	Reino	Fungi
	División	Ascomycota
	Clase	Sordariomycetes
	Orden	Hypocreales
	Familia	Hypocreaceae
	Género	Trichoderma
	Especie	*Trichoderma stromaticum*

Composición		
Descripción	Función	Concentración
Conidios de *Trichoderma stromaticum,* aislamiento CEPLAC 3550*	Ingrediente activo	2,3 x 10^8 conidios viables del hongo por gramo del producto formulado
Grano de arroz (esterilizado)	Sustrato de crecimiento/ vehículo	----------

Clase de uso	Fungicida microbiológico
Tipo de Formulación	Polvo mojable (WP)
Indicación de uso	
Objetivo biológico: *Moniliophthora perniciosa* (escoba de brujas del cacao)	
Cultivos: En todos los cultivos con ocurrencia del objetivo biológico. Eficiencia agronómica comprobada para el cultivo de cacao. Dosis de aplicación: 2 kg de producto/ha, conteniendo 2,3 x 10^8 conidios por gramo de producto formulado o 320 litros de caldo por ha, conteniendo 1,4 x 10^6 conidios por ml de caldo. Realizar cuatro aplicaciones anuales en el período de mayo a agosto.	

* Identificación de la colección de depósito del agente microbiológico: Laboratório de Biocontrol da Sección de Fitopatologia do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC/CEPLAC).

esos productos, que para ser incluidos en esta categoría, deben de aguardar a que se establezca su especificación de referencia.

En este contexto, hasta fin de 2012, fueron publicadas 11 (once) especificaciones de referencia, presentando las características y normas de concentración establecidas por el Gobierno para cada uno de esos productos que estarían liberados para tramitar el registro como producto fitosanitario con uso aprobado para la agricultura orgánica, teniendo garantizado un proceso simplificado así como la prioridad y agilidad del análisis de los trámites en cada uno de los órganos federales reguladores, MAPA, ANVISA y IBAMA. En las Tablas 10 - 13 son presentados ejemplos de las especificaciones de referencia, considerando un agente de biocontrol de enfermedades, un entomopatógeno, un virus y un macroorganismo.

Los productos que forman parte de la lista positiva de las especificaciones de referencia publicadas hasta el momento por el Gobierno son: 1- Instrucción Normativa Conjunta SDA/SDC nº 02/11 (Brasil 2011): *Cotesia flavipes, Trichogramma galloi; Neoseiulus californicus;* 2 - Instrucción Normativa Conjunta SDA/SDC nº 02/12 (Brasil, 2012a): Baculovirus *Anticarsia gemmatalis* y Baculovirus *Condylorrhiza vestigialis*; 3- Instrucción Normativa Conjunta SDA/SDC nº 03/12 (Brasil 2012b): *Metarhizium anisopliae* aislado IBCB 425, *Trichoderma stromaticum* aislado CEPLAC 3550, *Beauveria bassiana* IBCB 66 y *Phytoseiulus macropilis*; 4- Instrucción Normativa Conjunta SDA/SDC nº 2/13 (Brasil 2013): esta legislación contempla todas las epecificaciones de referencia publicadas en las normas anteriores, además de incluir nuevas epecificaciones para *Trichogramma pretiosum* y *Paecilomyces lilacinus* UEL Pae 10.

Otros avances importantes se refieren al contenido de las informaciones obligatorias a colocar en el prospecto y etiqueta de los productos considerados de baja toxicidad y peligrosidad, así como el uso de pictogramas tales como calavera entre otros símbolos que a lo largo de esta evolución, también fueron entendidos por el Gobierno como inadecuados. En este sentido, aquellos productos registrados como productos fitosanitarios con uso aprobado en la agricultura orgánica, se les asignó el uso de colores de advertencia en las bandas de prospectos y etiquetas, que indican la clase toxicológica a la que pertenecen, como ocurre con los agrotóxicos convencionales. Del mismo modo, los productos semioquímicos y agentes biológicos de control, a saber, predadores, parasitoides y nematodos, quedan eximidos de incluir la calavera con los huesos cruzados en sus prospectos y etiquetas por tratarse de productos que poseen baja toxicidad y peligrosidad y baja exposición al aplicador (Brasil Ato. CGA/SDA/MAPA 2010, Brasil Ato. CGA/SDA/MAPA 2011).

El avance de la legislación brasileña en lo que atañe a la reglamentación del registro de productos diferenciados de los agrotóxicos convencionales apunta a traer a la legalidad productos que forman parte de alternativas sustentables para el control de plagas en la agricultura brasileña. Aún así, el encuadramiento de los productos considerados de baja toxicidad y peligrosidad como los productos microbiológicos, los productos semioquímicos y los agentes biológicos de control, además de tantos otros, en la definición de agrotóxicos y afines, presentó dificultades para su registro, debido a los requisitos técnicos, muchas veces complejos, que deben ser cumplidos, como también por los costos relacionados

con la obtención de todos esa información. Las numerosas innovaciones implementadas por el Gobierno con la publicación de las normativas vigentes enfrentan aún dificultades debido al pequeño número de técnicos especializados, volcados al trabajo de análisis de esos productos diferenciados comparado con aquellos que trabajan con los agrotóxicos convencionales, dentro de los Órganos Federales, comprometiendo así la agilidad de los trámites.

Es imprescindible recordar que el registro de los productos agrotóxicos y afines es una condición obligatoria, pero no suficiente, para toda actividad específica que utilice esos productos en Brasil. Para poder usufructuar los derechos adquiridos por el Certificado de Registro, un titular de registro no debe olvidarse de conocer todas las eventuales normas legales que rigen al sector.

Marcos históricos de control biológico de insectos plaga y malezas

Como fue mencionado, la preocupación por el uso excesivo de agrotóxicos catalizó la adopción del biocontrol de plagas en la agricultura. De los tres grupos de plagas - malezas, insectos plaga y patógenos - la investigación relacionada al biocontrol de malezas es más reciente en Brasil. Como en otros países, nuestra investigación en biocontrol de malezas, involucra dos enfoques: clásico o inoculativo - introducción de enemigos naturales obtenidos del centro de origen de la planta en áreas donde la misma, libre de los enemigos naturales se tornó invasora de ecosistemas naturales o manejados; o la inundativa o bioherbicida - uso de enemigos naturales, usualmente patógenos, que pueden encontrarse donde la maleza está presente, sin embargo sin controlarla eficientemente, y que son producidos en masa y aplicados como bioherbicidas. Los trabajos pioneros en Brasil, que involucran el desarrollo de un bioherbicida para control del lecherón (*Euphorbia heterophylla*), se iniciaron en el comienzo de la década de 1980 por investigadores de la Embrapa Soja (Tessman 2011). En los años 1990, investigadores de la Universidade Federal do Paraná (UFPR), Universidade Federal de Viçosa (UFV) y Universidade Estadual Paulista (UNESP - Jaboticabal) iniciaron estudios para el control de plantas nativas de Brasil que se tornaron malezas en los EUA (Florida y Hawai), Australia y Nueva Zelandia. En esos trabajos, se adoptó el abordaje clásico con la búsqueda, estudio y exportación de agentes para el biocontrol. Aún no hay ejemplos de introducción de enemigos naturales en Brasil para controlar malezas, a pesar de los graves problemas derivados de la invasión de ecosistemas naturales y agrícolas, pero hay varios trabajos en curso con resultados promisorios para el desarrollo de bioherbicidas. Para conocer la historia y evaluación del estado de las actividades de los grupos de investigación en el biocontrol de invasoras en Brasil y en el resto de América Latina, así como el potencial y desafíos del área, consulte Barreto (2008, 2009) y Barreto *et al*. (2012). A pesar de la inexistencia de productos biológicos en el mercado brasileño para el control de malezas, la necesidad de la agricultura es muy grande, pues el uso de herbicidas es el más intenso en el país y no existen alternativas económicamente viables en este momento.

En Brasil, comparativamente al biocontrol de los demás problemas fitosanitarios, los programas relacionados a insectos plaga fue implementado primeramente y presenta mayor número de casos exitosos y de adopción por productores. Esos programas se iniciaron con la importación de enemigos naturales: en 1888, se introdujo *Rodolia cardinalis* para el control de la cochinilla acanaldada (*Icerya purchasi*) en cítricos; en 1921, se introdujo *Prospaltella berlesei* de los EUA, para controlar la cochinilla blanca del duraznero (*Pseudaulacaspis pentagona*). En 1950, el Prof. Domingos Gallo (ESALQ/USP) logró el control del barrenador de la caña de azúcar (*Diatraea saccharalis*) con taquínidos nativos (*Lydella minense* y *Paratheresia claripalpis*). En 1962, tuvo lugar el primer Simpósio Brasileño de Controle Biológico de Pragas, en el Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícola en Rio de Janeiro – ENA, RJ. Un aspecto importante fue la publicación en 1967 y 1968 del Quarto Catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil: seus parasitos e predadores (Parte 1 y Parte 2), por Lima y Silva (1968), Ministério da Agricultura, Serviço de Defesa Fitossanitária Vegetal. En 1969, en el Nordeste, se inició el control de la cigarrita (*Mahanarva posticata*) de la caña de azúcar con el hongo *Metarhizium anisopliae*, considerado uno de los programas más exitosos de biocontrol en la América Latina (Loureiro *et al*. 2012). En la década de 1970, ocurrieron las importaciones de *Cotesia flavipes*, de Trinidad-Tobago, para controlar el barrenador de la caña de azúcar en 1971, y de otros parasitoides, también en 1971, para controlar plagas forestales por los Profs. Domingos Gallo, Roger Williams y Evôneo Berti Filho. Otro hecho importante, ocurrió en 1973 con la creación de la primera disciplina de Control biológico de plagas en un curso de posgrado en entomología, dictada por el Prof. Domingos Gallo y a partir de 1975 por el Prof. Evôneo Berti Filho. También en relación con la educación, se dictó en 1974 el primer curso de patología de insectos por el Dr. Nelson Suplicy Filho, en el Instituto Biológico de São Paulo. En esa época, más precisamente en 1979, fue iniciado, por el Dr. Flávio Moscardi, Embrapa Soja, el programa de control de la isoca de la soja (*Anticarsia gemmatalis*) con *Baculovirus anticarsia*, que fue aplicado en más de 2 millones de ha. En la década de 1980, comenzó en Minas Gerais el programa de control de plagas forestales con *Trichogramma* spp. Esa década se caracterizó también por el lanzamiento en 1986 del primer libro sobre Controle microbiano de insectos, organizado por el Dr. Sérgio Batista Alves; y por la organización en 1987 del Primeiro Simpósio Brasileño de Controle Biológico-Siconbiol, que ya se encuentra en su XIV edición. En los años 1990, comenzó en la región de Fraiburgo, SC, el programa de control del ácaro rojo de la manzana (*Panonychus ulmi)* con ácaros predadores (*Neoseiulus californicus*). Y, en 1992, coordinado por el Dr. Gilberto Moraes, se creó el Laboratório de Quarentena "Costa Lima" en la Embrapa Meio Ambiente, responsable por la introducción de agentes de biocontrol en el país. Un hecho importante para el área fue el lanzamiento, en 2005, de la Revista electrónica "Bioassay" para abrir espacio para investigaciones con agentes de biocontrol.

En 2008, se registró el primer producto comercial en base a *Metarhizium anisopliae* para control de insectos, a pesar de la existencia de más de 25 marcas comerciales de bioproductos para controlar plagas basados en ese hongo. En relación con ese bioagente, ocurrió un hecho importante en 2013, pues se publicaron especificaciones de referencia de productos fitosanitarios con

uso aprobado para agricultura orgánica, presentando las características y los patrones de concentración establecidos por el gobierno para productos basados en *Metarhizium anisopliae,* aislamiento IBCB 425, según instrucción normativa conjunta SDA/SDC nº 03 de 11 de mayo de 2012. En 2010, hubo un registro de *Cotesia flavipes* y *Trichogramma galloi* para control del barrenador de la caña de azúcar. En 2013, con la publicación de las especificaciones de referencia también para *Cotesia*, hasta el momento existen más de 10 productos registrados basados en ese macrorganismo, junto con el MAPA, para uso en agricultura orgánica. En 2011, el área de caña de azúcar tratada con *Cotesia flavipes* fue superior a 3 millones de ha y la tratada con *Metarhizium anisopliae*, superior a 2 millones de ha. Había, también, más de 500.000 ha de maíz, tomate y caña de azúcar tratados con *Trichogramma* spp.

En vista de la demanda, en 2012 se simplificó la legislación para registro de macroorganismos para biocontrol de plagas, y actualmente la mayoría de los agentes de biocontrol registrados se destina al control de plagas. Actualmente, los organismos registrados incluyen: *Baculovirus anticarsia* y *Condylorrhiza vestigialis Nucleopolyhedrovirus* (virus); *Bacillus thuringiensis (*bacteria); *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (hongos); *Steinernema puertoricense* (nematodo); *Ceratitis capitata* (macho estéril); *Cotesia flavipes* y *Trichogramma galloi* (parasitoides); y *Neoseiulus californicus*. Las especies más comercializadas son *Cotesia flavipes* y *Trichogramma galloi* para el control del barrenador de la caña de azúcar; *Metarhizium anisopliae* para el control de cigarritas de la caña de azúcar; y *Bacillus thuringiensis* para control de orugas. Hay otras especies comercializadas, pero sin registro, como los hongos *Isaria* sp., *Lecanicillium lecanii* y *Lecanicillium longisporum* y los ácaros *Orius insidiosus* y *Podisus nigrispinus* (Bettiol 2011). La demanda de esos organismos, registrados o no, está aumentando a lo largo de los años, lo que también viene ocurriendo con los agentes de biocontrol de fitopatógenos, discutidos en el resto de este capítulo.

Marcos históricos del control biológico de enfermedades de plantas en Brasil

La historia del control biológico de enfermedades en Brasil es relativamente reciente y, en varios aspectos, difiere de la del controle biológico de plagas. Por ejemplo, en el inicio del biocontrol de plagas, se priorizó la introducción de enemigos naturales, en el biocontrol de enfermedades en Brasil, no se priorizó la introducción de antagonistas de fitopatógenos. De este modo, inicialmente, la tecnología y los antagonistas aquí usados son originarios de Brasil. Más recientemente, en 2012, hubieron registros en el país de los productos Serenade y Sonata, basados en *Bacillus subtilis* y *Bacillus pumilus*, respectivamente, oriundos de los EUA.

El biocontrol de enfermedades de plantas en Brasil ha sido realizado principalmente por investigadores de instituciones públicas que han trabajado con recursos públicos, en un principio escasos, siendo los actores principales de los hechos que se relatan resumidamente de aquí en adelante. Tales hechos

fueron divulgados y sirvieron de base para proporcionar una breve historia del biocontrol de los principales grupos de fitopatógenos y para resumir el estado del arte del uso de tecnologías/productos en Brasil. A nuestro entender, los principales hechos que retratan la evolución del biocontrol en Brasil fueron:

- 1950 – Publicación del primer artículo sobre el tema: "Inactivación del virus del mosaico comú del tabaco por el filtrado de cultivos de *Trichoderma* sp. (Foster 1950)" por Reinaldo Foster, entonces investigador del Instituto Agronômico de Campinas (IAC), SP;
- 1959 - Inicio del programa de pre-inmunización o protección cruzada de plantas cítricas con cepas débiles de la tristeza de los citrus para control de la virosis, desarrollado por Gerd W. Müller y Álvaro Santos Costa, de IAC, Campinas, SP (Muller y Costa 1991).
- 1983 – Inicio, en el Instituto Biológico de São Paulo, de estudios de inducción de resistencia contra la roya del cafeto por la Dr. Walkiria BC Moraes, publicando el artículo: Martins EMF, Beretta MJG, Roveratti DS, Moraes WBC. Comparative induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants by non-specific inducers from different fungal and bacterial origin; y formando un gran equipo en el tema;
- 1985 – Inicio de los estudios orientados al control biológico de la escoba de brujas del cacao por Cleber Bastos, CEPLAC, Belém, PA;
- 1986 – Realización de la 1ª Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas, en Piracicaba, SP, coordinada por Itamar Soares de Melo, de Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. Las reuniones se continuaron realizando cada dos o 3 años y en el año 2013 se realizó la 13ª reunión. Inicio de los estudios orientados al control biológico del mal de las hojas de la planta de caucho, por Nilton Vilela Junqueira, de la Embrapa Seringueira e Dendê, Manaus, AM (Junqueira y Gasparotto 1991);
- 1987 – Disponibilidad del primer bioproducto comercial, basado en *Trichoderma viride,* para el control de *Phytophthora cactorum* en manzano, desarrollado por la Dra. Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza, de la Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS;
- 1990 – Inicio del uso del bioproducto basado en *Acremonium persicinum* para el control de la *lixa do coqueiro*, desarrollado por Shinobu Sudo, da Souza Cruz; inicio de los estudios con control biológico de nematodos fitopatógenos por Silamar Ferraz, en la Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- 1991 – Publicación del primer libro titulado "Controle Biológico de Doenças de Plantas", editado por Wagner Bettiol y publicado por el Centro Nacional de Pesquisa de Defesa da Agricultura, de la Embrapa, Jaguariúna, SP (Bettiol 1991);
- 1992 – Realización de la primera sesión exclusiva de presentación oral de trabajos sobre control biológico de enfermedades de plantas en el XXV Congresso Brasileiro de Fitopatologia (XXV), realizado en Gramado, RS, y organizado por Wilmar Corio da Luz;
- 1992 – Creación de la primera disciplina sobre biocontrol, "Controle

biológico de enfermedades de plantas", en el curso de posgrado en Protección de Plantas, en la UNESP/Botucatu, por Wagner Bettiol, de la Embrapa Meio Ambiente;

- 1993 – Incubación de la primera empresa (Bioagro Alan Ltda.), especializada en la producción y comercialización de *Trichoderma* sp., por Anduir Lenhardt, en el Departamento de Fitossanidade, UFRGS, Porto Alegre, RS;
- 1995 – Emisión del primer registro especial temporario (RET) para fungicida biológico basado en *Bacillus subtilis*, cepa AP-3, para el producto desarrollado en conjunto por la Embrapa Meio Ambiente (Wagner Bettiol) y Turfal (Rubens C Buchmann Junior), Quatro Barras, PR;
- 1997 – Publicación por el IBAMA de la ordenanza 131 de 03/11/1997, estableciendo los criterios y procedimientos para registro y evaluación ambiental de agentes microbianos empleados en la defensa fitosanitaria; inicio de los estudios con *Clonostachys rosea* para el control biológico de *Botrytis cinerea* por Luiz Antonio Maffia en la Universidade Federal de Viçosa y Rosa Maria Valdebenito Sanhueza en la Embrapa Uva e Vinho, siendo, en ambos los investigadores locales, con colaboración de Dr. John Sutton, de Guelph University;
- 2000 - Producción de Tricovab® basado en *Trichoderma stromaticum* para el control de la escoba de brujas del cacao por el CEPEC/CEPLAC en Ilhéus, BA y actualmente registrado para Agricultura Orgánica por el MAPA;
- 2002 – Realización de la Primera Reunión Brasilera sobre inducción de resistencia de plantas a patógenos (ya ocurrieron seis hasta 2012), ideada por los Professores Sérgio Florentino Pascholatti, Mário Lúcio Vilela Rezende, Reginaldo da Silva Romeiro y Fabrício A. Rodrigues y coordinada por Sérgio F. Pascholatti de la ESALQ, Piracicaba, SP, en São Pedro, SP;
- 2007 - Creación de la Associacción Brasileira das Empresas de Controle Biológico (ABCBio), durante la IX Reunión Brasilera sobre control biológico de enfermedades de plantas, en Campinas, SP;
- 2008 – Registro de Trichodermil®, el primer biofungicida comercial conteniendo *Trichoderma harzianum*, para control de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* del poroto, por Itaforte Bioproductos Ltda.;
- 2010 – Creación, en la Esalq/USP, de la Red Brasilera de inducción de resistencia en plantas contra fitopatógenos – REBIRFito (http://www.rbirfito.bio.br); más de 1 millón de ha tratadas con *Trichoderma* para el control de patógenos habitantes del suelo;
- 2011- Creación de la primera disciplina de control biológico de enfermedades de plantas en un curso de Ingeniería Agronómica, en la Universidad Federal de Lavras, Lavras, MG.
- 2012- total de nueve productos para control biológico de enfermedades registrados en el MAPA.

Se discutirán algunos ejemplos que se consideran relevantes, principalmente por el hecho de la adopción por el sector productivo. Antes de ello y para que sirva de registro histórico, vale la pena mencionar los libros relacionados al biocontrol de enfermedades que han sido editados en Brasil. Hasta 1991, había registrado un libro: "Controle biológico de doenças de plantas". A partir de los años 2000, con la acumulación de conocimiento y de experiencias exitosas, se editaron varias otras obras (Tabla 3). A pesar de que algunas de las

Tabla 1. Libros relacionados al biocontrol de enfermedades de plantas, editados en Brasil hasta 2012.

Año	Título	Autor(es) / Editor(es)	Editorial, Localidad
1991	Controle biológico de doenças de plantas	Bettiol W	Embrapa, Jaguariúna
1995	Métodos de Seleção de Microrganismos Antagônicos a Fitopatógenos. Manual Técnico	Melo IS; Sanhueza RMV	Embrapa, Jaguariúna
2000	Controle biológico (3 volúmenes)	Melo IS; Azevedo JL	Embrapa, Jaguariúna
2003	Métodos alternativos de controle fitossanitário	Campanhola C; Bettiol W	Embrapa, Jaguariúna
2004	Manejo ecológico de doenças de plantas	Stadnik MJ; Talamini V	UFSC, Florianópolis
2005	Controle alternativo de pragas e doenças	Venzon M; Paula Júnior TJ; Pallini,A	EPAMIG, Viçosa
2007	Métodos usados no biocontrole de fitopatógenos	Sanhueza RMV; Melo IS	Embrapa, Bento Gonçalves
2007	Controle biológico de doenças de plantas- Fundamentos	Romeiro RS	UFV, Viçosa
2007	Controle biológico de doenças de plantas- Procedimentos	Romeiro RS	UFV, Viçosa
2008	Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas: panorama atual e perspectivas na agricultura	Poltronieri LS; Ishida AKN	Embrapa, Belém
2008	Controle microbiano de pragas na América Latina	Alves SB; Lopes RB	FEALQ, Piracicaba
2009	Biocontrole de doenças de plantas – uso e perspectivas	Bettiol W; Morandi MAB	Embrapa, Jaguariúna
2010	Manejo sustentável de fitonematóides	Ferraz S; Freitas LG; Lopes EA; Dias-Arieira CA	UFV, Viçosa
2012	Produtos comerciais à base de agentes de biocontrol de doenças de plantas	Bettiol W; Morandi MAB; Pinto ZV; Paula Junior TJ; Correa EB; Moura AB; Lucon CMM; Costa JCB; Bezerra JL	Embrapa, Jaguariúna

obras citadas no versan sólo sobre el biocontrol de enfermedades, consideramos pertinente incluirlas.

Agentes de biocontrol desarrollados o disponibles en el mercado brasileño

En Brasil, varios productos biológicos están disponibles para su utilización, entre ellos pueden ser citados: cepas hipovirulentas de CTV para preinmunización o protección cruzada contra la tristeza de los cítricos, cepas hipovirulentas de PRSV-W para preinmunización contra el mosaico da calabacín, *Acremonium* sp., *Clonostachys rosea*, *Hansfordia pulvinata, Paecilomyces, Pochonia, Trichoderma asperellum, Trichoderma stromaticum, Trichoderma harzianum, Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* y *Bacillus licheniformis* para el control de patógenos de suelo y sustrato y de la parte aérea. Detalles sobre esos y otros productos son discutidos por Bettiol (1996), Bettiol (2003), Bettiol *et al*. (2008), Bettiol y Morandi (2009) y Bettiol *et al*. (2012). De los agentes citados, algunos ejemplos serán discutidos a continuación, pero todos están presentados con informaciones detalladas en la Tabla 14 al final del capítulo.

Biocontrol de enfermedades causadas por hongos

Control de patógenos de suelo/sustrato y de la parte aérea con *Trichoderma* spp. De los 133 productos descriptos como disponibles en el mercado mundial en base a agentes de biocontrol de enfermedades de plantas, el 43% lo está en base a *Trichoderma* spp. (Bettiol *et al*. 2008). En ese contexto, gran parte de las investigaciones sobre el biocontrol se destinan a la prospección y evaluación del potencial de esas especies para el manejo de enfermedades. En consecuencia, generalmente en las reuniones brasileñas relacionadas con el biocontrol de enfermedades de plantas, la mayoría de los trabajos presentados aborda el uso de *Trichoderma*. Varios investigadores fueron pioneros en la investigación con *Trichoderma* spp. en Brasil, habiéndose destacado Rosa María Valdebenito Sanhueza (Embrapa Uva e Vinho, Bento Conçalves, RS) e Itamar Soares de Melo (Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP).

En 1987, la Dra. Rosa M.V. Sanueza lideró los trabajos que culminaron con el uso comercial del primer producto basado en *Trichoderma viride* para el control de la pudrición de raíces y cuello del manzano, causada por *Phytophthora cactorum* (Sanhueza 1991). El agente de biocontrol, aislado a partir de raíces de manzano con pudrición, fue seleccionado por su capacidad de colonizar el suelo y proteger las plántulas luego de la plantación. El hongo era multiplicado en granos de sorgo y acondicionado en bolsas plásticas con la dosis recomendada para cada hoyo de plantación de manzano (24 g). En 1989 y 1990, se produjeron en Embrapa más de 50.000 bolsas con el producto para su utilización en la Región Sur. Un hecho interesante fue el depósito, en el Instituto Nacional de la Propiedad Industrial, de la patente

"Proceso de obtención de material activo de *Trichoderma* para colonización de suelo esterilizado con el objetivo del biocontrol de los hongos que causan la pudrición de raíces de plantas de manzano", por Sanhueza en 1998.

La primera empresa privada especializada en la producción masiva y comercialización de *Trichoderma* en Brasil inició sus actividades en 1993, en el estado de Río Grande do Sul, con el nombre de Bioagro Alan Ltda. y fue incubada en el Departamento de Fitosanidad de la Facultad de Agronomía de la Universidad Federal de Rio Grande do Sul. El responsable técnico fue el Ingeniero Agrónomo Anduir Lenhardt, quien concluyó su maestría con orientación del Prof. Valmir Duarte en 2000, con la disertación sobre "Control biológico de *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* sp. en tabaco cultivado bajo sistema float". El sector tabacalero, con la empresa Souza Cruz SA, también adoptó el control biológico del mal de los almácigos con *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, en trabajos liderados por Shinobu Sudo y Elio Galina (Galina *et al*. 1998). El biocontrol del mal de los almácigos fue con el producto Trichobiol, en base a *Trhichoderma harzianum*, desarrollado en Souza Cruz (Bettiol 2003). La empresa cultivaba el hongo en arroz cocido y esterilizado, contenido en bolsas plásticas. Luego de 30 días, secaba y envasaba el producto, que era distribuido gratuitamente al 50% de los productores de tabaco integrados de la empresa. El producto fue usado en los sistemas de producción de plántulas en vivero y en el sistema float. El control de la escoba de brujas del cacao con *Trichoderma stromaticum (Hypocrea stromatica)* resume la importancia del antagonista para el país. Se obtuvieron resultados promisorios con el hongo, antagónico de *Moniliophthora perniciosa*, agente causal de la escoba de brujas, en la Región Norte por Bastos (1988/2000), quien aisló el hongo y lo evaluó posteriormente en Bahía (Costa 2003; Costa et *al.* 1998). El antagonista fue inicialmente identificado como *Trichoderma viride* (Bastos 1988) y fue reclasificado como una nueva especie, *Trichoderma stromaticum* (Samuels *et al*. 2000). Actualmente, el producto basado en este aislamiento está debidamente registrado en el MAPA como Tricovab. Para el control de la escoba de bruja se recomienda la remoción de los tejidos enfermos, la poda y adecuación de la copa, asociados al control biológico. Para ello, en ocasión de la poda fitosanitaria, se recomienda pulverizar Tricovab (2 kg/ha) o el antagonista (6×10^6 conidios/mL) inmediatamente luego de la poda, sobre la copa, las escobas secas y los restos del cultivo alrededor de la planta (Costa *et al*. 2009). En abril de 2008, Bettiol y Morandi (2009) caracterizaron el mercado de *Trichoderma* en Brasil, y concluyeron que el área tratada está aumentando significativamente. Por ejemplo, en 2008 el área tratada en el país era de 600.000 ha y en 2010 era superior a 1.200.000 ha, con un incremento de aproximadamente 100% en tres años. Un factor determinante del aumento de la demanda fue el aumento de los problemas con el moho blanco de la soja, causado por *Sclerotinia sclerotiorum* (Bettiol 2011). En 2009, había 13 empresas que comercializaban varias especies (*Trichoderma asperellum, Trichoderma harzianum, Trichoderma stromaticum* y *Trichoderma viride*), usando la fermentación sólida en granos de arroz, mijo u otros cereales (Bettiol y Morandi 2009). El volumen de la producción giraba en torno a 550 t de granos/año. A modo de comparación, actualmente una empresa multiplica ese hongo en más de 3 t/día de granos. Los formulados disponibles

en el mercado incluían polvo mojable, gránulos dispersables en agua, suspensión concentrada, aceite emulsionable, granos colonizados y esporas secas. Los patógenos-objetivo incluían especies de *Fusarium, Pythium, Rhizoctonia, Macrophomina, Sclerotinia, Sclerotium, Botrytis* y *Crinipellis*, en las producciones de poroto, soja, algodón, tabaco, frutilla, tomate, cebolla, ajo, plantas ornamentales y cacao. Algunos productos eran también recomendados para tratamientos de sustratos y de semillas. La vida de estante de los productos variaba de 30 a 180 días a temperatura ambiente (aproximadamente 25 ºC) y 180 a 360 días en heladera o cámara fría (4-6 ºC). El costo medio de uso de los productos disponibles en el mercado, en el período de estudio, era de R$90,00/ha/aplicación, variando de R$20,00 a R$300,00, dependiendo de la marca comercial, formulación, cultivo y patógeno objetivo. El costo medio para el control del moho blanco del poroto fue de R$92,00/ha, mientras que el tratamiento con fungicidas era de R$150,00/ha (Pomella 2008; Pomella y Ribeiro 2009). La importancia de *Trichoderma* en el mercado brasileño también fue discutida por Lorito *et al*. (2011), que consideran a Brasil como el mayor mercado mundial de consumo de productos en base a *Trichoderma*.

Control del moho gris con *Clonostachys rosea.* *Botrytis cinerea* infecta frutos, flores, tallos y hojas y causa el moho gris en diversos cultivos como frutilla, eucalipto, tomate y plantas ornamentales, principalmente en cultivo protegido. El control biológico del moho gris se realiza con *Clonostachys rosea* (teleomorfo: *Bionectria ochroleuca)*. El nombre anterior del hongo, *Gliocladium roseum,* fue modificado para *Clonostachys rosea,* en función de características morfológicas, ecológicas y de análisis de secuencias de DNA (Schroers *et al*. 1999). El hongo se encuentra comúnmente como saprófito de suelo con distribución cosmopolita (Schroers 2001), sobre diferentes sustatos (Sutton *et al*. 1997). En medio de cultivo, *Clonostachys rosea* es fácilmente reconocido por su coloración levemente blanquecina, rosa o salmón (Sutton *et al*. 1997), que crece entre 5 y 30 ºC, con óptimo en torno de 20 ºC (Knudsen 1994). Una característica importante del bioagente es que no afecta a las abejas, que dispersan el hongo en el campo y depositan los conidios en las flores, campo de infección importante de *Botrytis cinerea*. Otro hecho que torna seguro el uso agrícola de *Clonostachys rosea* es su incapacidad de crecer a la temperatura corporal humana y no causar patologias dermatológicas y oculares en ratas y conejos (Sutton *et al.* 1997). En Brasil, los trabajos iniciales con *Clonostachys rosea* fueron con el aislamiento obtenido por Peng y Sutton (1991) en Canadá y cedido por el Dr. John C. Sutton, investigador canadiense y líder mundial en investigaciones con *Clonostachys rosea.* Aislamientos obtenidos en condiciones brasileñas, en trabajos coordinados por el Prof. Luiz A. Maffia, de la Universidad Federal de Viçosa, y la Dra. Rosa M. Valdebenito Sanhueza, de Embrapa Uva e Vinho, presentaron una eficiencia similar al aislamiento canadiense y deben transformarse en un producto comercial. El antagonista es multiplicado en granos de trigo, avena o arroz. El producto aplicado consiste básicamente en esporas o micelios secos del bioagente. En frutilla, la época adecuada para su aplicación es desde el inicio de la floración hasta la cosecha, en intervalos semanales. La concentración recomendada es de 10^6 a 10^7 conidios o UFC/mL en mezcla con dispersante adhesivo al 0,01%. La eficiencia del producto

es semejante a la de los fungicidas recomendados para el cultivo de frutilla, lo que permite suprimir el uso de fungicidas en los frutos para consumo. La técnica aún permanece restringida a áreas pequeñas y principalmente a productores de plantas ornamentales y de frutilla. Su producción está siendo realizada por algunas empresas, pero aún con mercado limitado, y con pocos productos en el mercado. Cota *et al*. (2008) demostraron que son promisorias las experiencias de utilización de *Clonostachys rosea* para el control del moho gris de la frutilla en las condiciones brasileñas. Se demostró también que el hongo puede promover el crecimiento de algunas especies vegetales.

Control de la lija del cocotero con *Acremonium persicinum.* La lija pequeña (*Phyllachora torrendiella;* sin. *Catacauma torrendiella*) y grande *(Sphaerodothis acrocomiae;* sin. *Cocostroma palmicola)* del cocotero sólo existen en Brasil, y todas las variedades e híbridos cultivados son susceptibles en diferente grado. Las lijas del cocotero ocurren en forma generalizada desde Pará a Río de Janeiro y su importancia aumenta cuando se asocian con el quemado de las hojas ocasionada por *Botryosphaeria cocogena.* El control biológico se realiza con el micoparásito *Acremonium persicinum*, aislado de estromas de lija del cocotero naturalmente parasitados (Sudo 1986). El bioagente puede ser producido masalmente en arroz y la disponibilidad en el mercado depende de la encomienda por el cliente a los laboratorios de las Empresas Estaduales de Investigación. Se recomienda la aplicación anual de 3 kg/ha (100 plantas) promedio del producto, por medio de pulverizaciones con equipos mecanizados, con una eficiencia superior al 65%. Se observó que, si el antagonista se instala en un área, no hay necesidad de reaplicaciones constantes. La eficiencia del biocontrol depende del momento de aplicación: cuando *Acremonium persicum* fue aplicado en concentración de 10^7 conidios/mL en período de lluvias y después de las 16:00, colonizó el 68% de los estromas del patógeno, pero no hubo éxito en el parasitismo de los estromas cuando se aplicó durante la mañana en período seco o lluvioso (Warwick 2001).

Biocontrol de enfermedades causadas por virus

Control de la tristeza de los citrus por medio de la preinmunización (protección cruzada) con estirpes débiles de Citrus Tristeza Virus (CTV). La tristeza de los citrus es causada por CTV, closteovirus limitado al floema. Los síntomas de la enfermedad varían con la cepa presente del virus y con el hospedante. La tristeza, que es el síntoma clásico, ocurre en combinaciones de cítricos con portainjertos de naranjo agrio y causó en el pasado la muerte de aproximadamente 10 millones de plantas en Brasil. Ese tipo de sintoma ya no ocurre en Brasil, ya que no se utiliza más el naranjo agrio como portainjerto. Sin embargo, pueden ocurrir pérdidas considerables por cepas de CTV que inducen los síntomas conocidos como acanaladuras, depresiones que se forman en el leño de las plantas. Las acanaladuras son acompañadas por atrofia de las plantas, follaje de tamaño reducido con clorosis semejante a la que ocurre en deficiencias nutricionales, principalmente de zinc o manganeso. El síntoma más grave es la producción de frutos pequeños, frecuentemente de conformación defectuosa

y sin valor comercial. La forma convencional de control del CTV es el uso de portainjertos tolerantes al virus, lo que permitió la ampliación de la citricultura brasileña, principalmente paulista, contribuyendo para que se torne la mayor del mundo. La adopción del portainjerto tolerante al CTV no permitió controlar las pérdidas derivadas de la infección por cepas inductoras de acanaladuras. En este caso, se adoptó el uso de la preinmunización con una estirpe poco virulenta del virus, que no causa síntomas severos y que protege de la estirpe agresiva. Las estirpes poco virulentas del CTV se encontraron en plantas que sobresalían en montes del cultivar que se deseaba preinmunizar. Actualmente, prácticamente todas las plantas de naranja 'Pêra' plantadas en Brasil, alrededor de 200 millones de árboles, provienen de material preinmunizado con cepas poco virulentas de CTV y están creciendo satisfactoriamente. Se multiplica el agente por medio de la perpetuación de plantas madres preinmunizadas. Normalmente, los agricultores adquieren las plantas ya preinmunizadas con cepas poco virulentas de CTV, sin costos adicionales: una vez preinmunizada, la planta se mantendrá por toda la vida. La eficiencia de la técnica gira en el entorno del 90%, y es evaluada periódicamente por los organismos de investigación (Costa y Müller 1980, Müller y Costa 1991).

Preinmunización de calabacín con estirpes débiles de *Papaya Ringspot Viurus Watermelon Strain* (PRSV-W) para control del mosaico. En Brasil, el mosaico causado por el virus del mosaico del mamón estirpe sandía (PRSV-W) es la virosis más común en plantaciones de abobrinhas de moita, "Menina Brasileira" y zapallo híbrido del tipo Tetsukabuto. Las pérdidas de la producción pueden alcanzar el 100%, especialmente cuando las plantas son infectadas en el inicio de su desarrollo. El biocontrol del mosaico en los dos tipos de calabazas es realizado por medio de la preinmunización con estirpes poco virulentas de PRSV-W. Para la preinmunización, se inocula la estirpe débil en las plántulas en estado de hoja cotiledonar. Para ello, se maceran hojas previamente inoculadas con la estirpe poco virulenta agregando un abrasivo y se inocula la suspensión a las plántulas. Los productores adquieren las plántulas preinmunizadas directamente de viveristas o realizan su propia preinmunización (Rezende y Müller 1995, Rezende y Pacheco 1998, Rezende *et al*. 1999, Dias y Rezende 2000). En la mayoría de las plantas que fueron preinmunizadas en el estado de hoja cotiledonar, no se observan síntomas de la enfermedad a campo durante los 60 a 70 días posteriores a la preinmunización. En estas plantas, la producción es superior a la de las no tratadas infectadas con el virus y la calidad de las frutas es semejante a la de las plantas sanas (Rezende y Müller 1995, Rezende y Pacheco 1998, Rezende *et al*. 1999, Dias y Rezende 2000). A pesar de la eficiencia en el control de la virosis, la preinmunización en calabacín no tuvo éxito comercial en razón de su mercado limitado.

Biocontrol de enfermedades causada por nematodos

Control de *Meloidogyne* spp. con *Pochonia chlamydosporia*. Este hongo, nativo de los suelos brasileños, es considerado como uno de los agentes más

promisorios de biocontrol de nematodos. En Brasil, fue encontrado por primera vez parasitando huevos de hembras de *Meloidogyne incognita* (Freire y Bridge 1985). En virtud de su variabilidad genética, el hongo demanda una criteriosa selección como agente de biocontrol, ya que la eficiencia en reducir las poblaciones de fitonematodes varía en función del aislamiento, de su capacidad de producir clamidosporas, de las condiciones edafoclimáticas, de la micobiota antagonista del suelo, del nematode objetivo y su hábito parasítico y de la planta hospedante (Stirling 1991). En diferentes experimentos, se observaron reducciones de hasta 85% en el número de huevos de *Meloidogyne javanica*, mediante la utilización de cuatro aislamientos de *Pochonia chlamydosporia* (Lopes *et al*. 2007). En Brasil, se encuentran dos productos basados en *Pochonia chlamydosporia* en fase de registro: Rizotec y Rizomax. Se testó el Rizomax como aditivo de sustrato para la producción de plántulas de lechuga: la aplicación de 18 g/l de sustrato en el almácigo (4,8 x 10^6 clamidosporas/g de sustrato) redujo el número de huevos/g de raíz 57,4% al final del ciclo de la lechuga, luego del trasplante de las plántulas a suelo infestado con 3.000 huevos de *Meloidogyne javanica*/maceta. Entonces, el tratamiento de sustrato puede ser un nuevo método de aplicación del hongo y la bio-protección puede ser una herramienta adicional para el manejo de nematodos en la horti-fruticultura. El método se adecua a cultivos perennes, como el de café, guayaba, acerola, naranja, uva, banana etc, en los cuales no se puede remover el suelo debajo de las copas para no herir las raíces. Luego de distribuir 250 a 500 g/pie en la proyección de la copa, se debe cubrir el producto con una camada de materia orgánica (hojas secas del cultivo, cama de pollo o estiércol de corral maduro, humus de lombriz y otras). Con la aplicación de Rizomax, en la dosis de 75 g de producto húmedo/hoyo, en la forma de granos colonizados húmedos, asociado a humus de lombriz, en hoyos para la plantación de pepino en suelo altamente infestado con *Meloidogyne javanica*, se observó una reducción del 58% en el índice de agallas en las raíces, al final del ciclo del cultivo (Viggiano 2011).

Control de *Meloidogyne* spp. con *Pasteuria penetrans*. La bacteria fue descrita por Sayre y Starr (1985) infectando *Meloidogyne incognita,* pero otras especies de *Meloidogyne* también son parasitadas (Gowen y Ahmed 1990). Freitas *et al*. (2009) describen las características de *Pasteuria penetrans*, el proceso por el cual reduce la población de *Meloidogyne* y la eficiencia de la bacteria en diferentes condiciones edafoclimáticas. Uno de los aspectos aún limitantes es la multiplicación de la bacteria en larga escala. Un ejemplo de éxito en la inducción de supresividad de suelo por *Pasteuria penetrans* en Brasil es el del control de *Meloidogyne javanica* en jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), planta medicinal brasileña de donde se extrae la pilocarpina, alcaloide usado en colirios para el tratamiento del glaucoma. El jaborandi se cultiva en plantaciones bajo pivotes centrales en el municipio de Barra do Corda, MA, donde se cosechan las hojas quincenalmente. Bajo condiciones de altas temperaturas, agua abundante durante todo el año y suelo con hasta 99% de arena y menos de 1% de materia orgánica, se registran altas poblaciones de *Meloidogyne javanica*. El nematodo causa agallas radiculares grandes, que determinan un menor desarrollo de las plantas y la reducción del tenor de pilocarpina en las hojas. Como el cultivo de la planta medicinal restringía el uso de nematicidas químicos y la gran extensión

de área con suelo arenoso inviabilizaba la introducción de materia orgánica (rápidamente ocurría la mineralización), se evaluó el efecto de la introducción de *Pasteuria penetrans*. En 1996, se multiplicó la bacteria en raíces de tomatero infectadas por el nematodo, se trituró el sistema radicular, se preparó una suspensión acuosa y en 170 m^2 de un área con el patógeno en el campo bajo el pivote, se pulverizó la suspensión resultando en 10^3 endosporas/g de suelo en los primeros 20 cm de profundidad. En evaluaciones entre 1999 y 2004, en el área total del pivote (102,4 ha), se observaron reducciones de 57 a 82% en el número de agallas y de 69 a 92% en el número de huevos. Se concluyó que hubo reproducción de *Pasteuria penetrans* y supresividad del suelo (Freitas *et al.* 2009). Para los autores, es importante considerar que la inducción de supresividad no es tan rápida como la obtenida con nematicidas y la aplicación de *Pasteuria penetrans* en otras áreas requiere más estudios.

Situación del control biológico de enfermedades de plantas en Brasil

A pesar de la creciente demanda de la sociedad por productos libres de residuos de agrotóxicos y con menores impactos sobre los recursos naturales, el uso de agentes de control biológico de enfermedades de plantas en Brasil es aún pequeño. La restricción en el uso se debe, principalmente, a factores relacionados con los agentes en sí, a las características de los agricultores, a la difusión del uso de los bioproductos y al conocimiento disponible. A continuación, se enumeran algunos de estos factores.

En cuanto a los agentes en sí, el factor de restricción más importante es la baja disponibilidad de productos comerciales para el biocontrol de enfermedades. Además, en vista de las exigencias para el registro de bioproductos, apenas una parte de los productos disponibles está debidamente registrada y presenta garantías de calidad y pureza. Así, la calidad de los produtos disponibles no siempre es satisfactoria y el control no es el esperado. La deficiencia en el control también puede ser resultado de la poca estabilidad/viabilidad de los microrganismos que, en general, es baja en condiciones de almacenamiento y de campo. Comúnmente estos productos tienen corta vida de estante. Tales problemas pueden deberse al bajo nivel tecnológico de la producción en amplia escala de agentes de biocontrol en Brasil, pues, en general, la infraestructura de desarrollo de los productos de biocontrol es deficitaria. Por otro lado, la mayoría de los productos no es sometida a estudios rigurosos de pre-formulación, formulación, control de calidad y eficiencia en diversos patosistemas y condiciones climáticas. Uno de los factores que dificulta las inversiones en el desarrollo de bioproductos es la especificidad, característica común en varios productos de biocontrol: normalmente un agente de control biológico es eficiente para el control de una o pocas enfermedades, lo que torna prohibitivo el costo de desarrollo y registro. Vale mencionar que en Brasil, no existen incentivos tributarios para el desarrollo, producción y uso de agentes de biocontrol.

Debido a los altos costos mencionados, a menudo el precio del producto final es alto para los usuarios a los que se destina, los agricultores. Además del precio, otros factores relacionados con los agricultores restringen la adopción de bioproductos. Un hecho crucial se relaciona al paradigma actual de la producción agrícola: si una enfermedad ocasiona pérdidas, se aplica un fungicida químico el cual, independientemente de la región, controla la enfermedad. La sobredosificación, toxicidad, número excesivo de pulverizaciones, etc. son problemas para las próximas generaciones o para los consumidores. Existe otro aspecto relacionado con el nivel educacional: si se conoce como pesar, medir y operar la maquinaria agrícola, la tarea de pulverizar fungicidas se torna fácil. Y hacemos hincapié, los resultados esperados surgen rápidamente. En cuanto al uso de bioproductos, los agricultores tienen desconfianza, temor a riesgos y resistencia a los cambios de paradigmas. Se menciona que los agricultores – y a menudo los técnicos que los asisten – desconocen aspectos básicos del biocontrol. Adicionalmente, se considera que los resultados con los bioproductos en el campo no siempre son consistentes, por falta de calidad del producto o también por diferencias regionales de ambiente; comúnmente, la acción de los microorganismos es más lenta y "menos espectacular" que la de los fungicidas y para asegurar la eficiencia, los bioproductos demandan cuidados diferenciales de almacenamiento, manipulación y aplicación. Entonces, es común que los agricultores comprensiblemente, reaccionen escépticos y desconfiados en relación con los bioproductos. Prevaleciendo los paradigmas actuales, es difícil esperar que los agricultores cambien conceptos y adopten el biocontrol y que prefieran continuar con la cultura del uso de agrotóxicos. Por tanto, es grande la deficiencia de prácticas de difusión del uso del biocontrol.

En cuanto a la difusión, no existe promoción adecuada del control biológico, ni una legislación que fomente su utilización. En este contexto, no hay campañas dirigidas a agricultores y técnicos sobre el biocontrol de enfermedades de plantas y tampoco a consumidores sobre los problemas de salud y ambientales devenidos del uso intensivo de agrotóxico ni sobre las ventajas del biocontrol. El propio conocimiento de los técnicos es deficitario, pues en la currícula de la mayoría de las carreras de Ingeniería Agronómica y Forestal no existen disciplinas dedicadas a los principios, desarrollo y uso del biocontrol. Como resultado, los profesionales que actúan en la extensión rural carecen de conocimientos sobre la lucha biológica y métodos alternativos de control de enfermedades de plantas. Entonces, como fue mencionado, los agricultores y los técnicos no distinguen las diferencias fundamentales entre los controles químico y biológico. Como agravante, la asistencia técnica oficial está relativamente desestructurada, la industria química tiene un papel importante en la asistencia técnica y el conocimiento que se transmite a los agricultores privilegia la continuidad de la cultura del uso de agrotóxicos. Asimismo, el conocimiento disponible, relacionado al biocontrol en condiciones semitropicales y tropicales, aún es deficitario.

En cuanto al conocimiento, la investigación sobre el biocontrol ha estado aumentando, pero en nuestras condiciones, aún no se elucidaron las interacciones antagonistas-patógenos-plantas-ambiente. Faltan, también, estudios de impacto ambiental de los agentes de biocontrol, para ser adoptados de

forma segura y controlada. La carencia de estudios es el resultado de la existencia de pocas instituciones público-privadas de investigación dedicadas al control biológico, tanto en aspectos básicos como en el desarrollo de formulaciones de productos comerciales. Esto es resultado, también de la falta de programas específicos de financiamiento de proyectos destinados al desarrollo y producción de bioproductos en gran escala. Habiendo pocas instituciones y pocos programas específicos, existe una carencia de investigadores dedicados al biocontrol de enfermedades y aún entre los existentes, falta integración con investigadores de otras áreas, principalmente para actuar en forma multidisciplinaria en el desarrollo de bioproductos.

En vista de lo expuesto en este ítem, varios factores limitan la expansión más rápida del biocontrol en Brasil. Tales factores constituyen los principales desafíos al aumento de la adopción y al desarrollo de los biopesticidas en Brasil.

Desafíos para el desarrollo de biopesticidas en Brasil

Los desafíos están ligados a los cuatro factores presentados en el ítem anterior – agentes de biocontrol, características de los agricultores, difusión de uso de los bioproductos conocimiento disponible.

En cuanto a los **agentes de biocontrol**, se debe buscar: aumentar la disponibilidad de bioproductos comerciales y la calidad de estos productos; monitorear los productos en el mercado en relación al registro, calidad y pureza; aumentar el nivel tecnológico de la producción en gran escala y exigir análisis de pre-formulación, formulación, control de calidad y de eficiencia en diversas condiciones climáticas; aumentar incentivos tributarios para el desarrollo, producción y uso de agentes de biocontrol; realizar análisis real del mercado y productos que compiten con los bioagentes; adecuar la escala de producción y logistica de la distribución de bioproductos; adecuar la política pública para el control biológico, por medio de incentivos fiscales y crediticios; adecuar las regulamentaciones para investigación, desarrollo y registro de biopesticidas y definir legislación que fomente su utilización.

En cuanto a las **características de los agricultores**, es necesario: poner a disposición bioproductos con precio real; diseñar campañas educativas destinadas a la concientización de los agricultores sobre las peculiaridades y cuidados de bioproductos; efectuar entrenamientos específicos a productores y técnicos en relación con la manipulación y aplicación de bioproductos; promover entrenamiento en relación con el uso e integración de los biopesticidas en los sistemas de cultivo, con énfasis en el manejo integrado (MI).

En cuanto a la **difusión de uso de los bioproductos** es importante: efectuar la promoción adecuada del biocontrol, con campañas dirigidas a agricultores y técnicos sobre el biocontrol de enfermedades de plantas; diseñar campañas específicas para consumidores sobre las ventajas del biocontrol; incluir en la currícula de las carreras de Ingeniería Agronómica y Forestal disciplinas específicas sobre el biocontrol; entrenar vendedores y agentes de asistencia técnica (oficial y privada) sobre el biocontrol y sus especificidades.

En cuanto al **conocimiento disponible,** se demanda: incrementar estudios básicos sobre la ecología de antagonistas y sus interacciones en el triángulo patógenos-hospederos-ambiente, efectuar estudios de impacto ambiental de los agentes de biocontrol, crear institutos que prioricen el MIP, apoyar proyectos dedicados al desarrollo de formulaciones de bioproductos comerciales, priorizando aquellos con equipos multidisciplinarios; invertir en concursos específicos para investigadores dedicados al biocontrol de enfermedades; ampliar el número de laboratorios de estudio y monitoreo de calidad de bioproductos; alterar la relación entre compañías privadas e instituciones públicas de investigación para el desarrollo de proyectos conjuntos, en los cuales se combinen los conocimientos de la industria en investigación y desarrollo y los conocimientos básicos/aplicados en microbiología, fitopatología y agronomía.

Consideraciones finales

Globalmente, viene ocurriendo un crecimiento rápido en el desarrollo, comercialización y uso de bioproductos. A pesar de existir tendencia de crecimiento en Brasil, la tasa de crecimiento es más lenta. Aquí, problemas educacionales-sociológicos-culturales dificultan la adopción/aceptación del control biológico de enfermedades de plantas, pues la generación actual de agentes del agronegocio brasileño se formó orientada para el desarrollo y uso de agrotóxicos. Adicionalmente, a menudo productores y técnicos (incluyendo los Ingenieros Agrónomos) no están suficientemente instrumentalizados/entrenados para introducir el control biológico en los sistemas agrícolas de producción. Además, el modelo agrícola brasileño también dificulta la implementación del control biológico, pues se basa en cultivos de pocas especies en grandes extensiones de terreno, casi únicamente cultivadas con granos. Modificar este modelo es utópico. Por tanto, se demanda mejorar las tecnologías de uso del biocontrol en las grandes extensiones y principalmente, desarrollar programas educacionales e informativos para los agentes agrícolas.

Otro aspecto fundamental para a ampliar el uso del biocontrol de enfermedades de plantas consiste en aumentar el incentivo al manejo integrado de plantas (MIP), el cual ha sido relegado a un segundo plano en la agricultura brasileña. En este aspecto, se demanda generar más conocimiento en cuanto a las diferentes estrategias de MIP aplicadas a los diferentes cultivos. Nuevamente resultan fundamentales campañas educativas destinadas a revendedores, técnicos y productores.

La disponibilidad de productos para los agricultores constituye un factor crucial para la expansión del biocontrol. Esta necesidad será cubierta parcialmente con la entrada en el mercado de los biopesticidas de grandes empresas del sector de agroquímicos. A pesar de que las instituciones de enseñanza e investigación se están adecuando para participar activamente de esta nueva realidad de nuestra agricultura, aún requieren un mayor aporte de recursos públicos y privados. Habrá un mayor aporte si el público consumidor demanda más productos obtenidos de forma alternativa a los paradigmas de la agricultura post revolución verde. Una de las formas de

Tabla 14. Principales productos biológicos en base a microrganismos para el control de enfermedades de plantas y de nematodos comercializados en Brasil.

Nombre comercial	Principio activo, formulación y vida en estante (VE)	Enfermedad y/o patógeno registrado	Modo de acción	Características del bioagente	Método de aplicación	Empresa Productora, Registro e comercialización
			Hongo – *Aspergillus*			
Afla-guard®	*Aspergillus flavus* 21882 o NPRL 45. La formulación es granular, concentración de 1 a 2,7x10^{10} esporas/g (EPA, 2009). VE no encontrada.	Recomendado para el control de *Aspergillus flavus* en maní.	Actúa por competencia por espacio y nutrientes con aislamientos productores de aflatoxina.	Las cepas no producen aflatoxina y fueron aisladas de semillas de maní en Georgia, EUA.	La aplicación del bioproducto se realizad en el suelo una vez por estación de cultivo, en el período de 40 a 80 días luego de la implantación del cultivo de maní.	Circlo One Global, One Arthur St., Shellman, GA, 39886, EUA (EPA, 2009). Site: http://www.circleoneglobal.com/. É registrado no MAPA.
			Hongo – *Clonostachys rosea*			
Clonosnat®	*Clonostachys rosea*. Formulación en polvo mojable. Acompaña aditivo basado en extractos vegetales. EP no encontrada.	*Botrytis cinerea* en varios cultivos.	Actúa inhibiendo la colonización de *Botrytis cinerea* en la planta y esporulación en rastrojos.	-	Aplicación por pulverización.	Natural Rural, Brasil. Site: http://www.naturalrural.com.br. No registrado.
Kamoi®	*Clonostachys rosea*. Formulación en polvo mojable conteniendo 10^6 ufc/g.	*Botrytis* spp., *Rhizoctonia* spp., *Sclerotinia* spp., *Sclerotium* sp. y *Cylindrocladium* spp.	Actúa por competición.	Hongo de amplia distribución en el ambiente.	Se recomienda aplicación de 2 a 3 kg/ha.	Agrivalle - Biotecnologia Agrícola. Pouso Alegre, MG. RET solicitado.
			Hongo – *Hansfordia pulvinata*			
Hansfordia pulvinata	*Hansfordia pulvinata*.	*Microcyclus ulei* en caucho.				Prefeitura de São José do Rio Claro, MT (Brasil). Comercializado sobre pedido.

Tabla 14. Principales productos biológicos en base a microrganismos para el control de enfermedades de plantas y de nematodos comercializados en Brasil.

Hongo - *Paecilomyces*						
Nemat	*Paecilomyces lilacinus*, Polvo mojable, con 7,5x10^9 UFC/g de producto comercial.	Control de *Meloidogyne* sp.	Afecta la capacidad de reproducción de los nematodos ya que parasitan los huevos o ataca a las hembras sedentarias.	Se encuentra naturalmente en muchos suelos.	La aplicación por pulverización con boquillas cónicas. Equivalente a 500 l/ha y una presión constante de 40 lb//pol^2.	Ballagro Ltda. Bom Jesus dos Perdões, SP. http://www.ballagro.com.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=117&Itemid=21
Nemateam	*Paecilomyces* sp. Formulación basada en conidios de *Paecilomyces sp.*. VE no encontrada.	Control de insectos y nematodos.	Actúa por contacto, penetrando la cutícula del nematodo o insecto y se reproduce dentro del mismo, causando la muerte del hospedante.	Es patogénico sobre insectos y nematodos, pero inofensivo para los vegetales, animales y seres humanos.		Bioteam Ind. e Com. Ltda. – Ribeirão Preto / SP. Site: http://www.bioteam.com.br. No registrado.
Paecilomyces JCO	*Paecilomyces lilacinus*. Polvo mojable, con validez de 30 días.	Nematodos en general, principalmente huevos.	Parasitismo y predación.	Presenta adaptabilidad a diferentes tipos de suelo y condiciones climáticas, alta capacidad de multiplicación.	El producto se aplica por pulverización.	JCO Indústria e Comércio de Fertilizantes LTDA. Barreiras, BA. Site: http://www.jcofertilizantes.com.br/# En proceso de registro.
Hongo - *Pochonia*						
Rizotec	*Pochonia chlamydosporia* PC -10	Recomendado para el control de nematodos endo y ectoparasitos en varios cultivos.	Se alimenta de los huevos de nematodos y disponibiliza nutrientes de la materia orgánica del suelo para la planta.	El agente fue desarrollado en el Instituto de Biotecnologia Aplicada a la Agricultura de la Universidad Federal de Viçosa.	Se recomienda aplicar directamente en el suelo de 3-5 kg/ha. En cultivos perennes se recomienda aplicar en la región de proyección de la raíz.	Rizoflora Biotecnologia. - Viçosa/MG. Site: http://www.centev.ufv.br/parque/interna.php?area=empreendimento&idIdioma= 1&sis =3&escolha =2. En proceso de registro en Brasil.

Tabla 14. Principales productos biológicos en base a microrganismos para el control de enfermedades de plantas y de nematodos comercializados en Brasil.

Hongo - *Trichoderma*						
Agrotrich® y Agrotrich Plus®	Mezcla de de seis cepas de *Trichoderma* spp. Polvo mojable con 10^9 conidios/mL. VE no fue encontrada.	Enfermedades causadas por *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Verticillium*, *Phomopsis* y *Roselinia* para los cultivos de papa, poroto y tomate.	Parasitismo, antibiosis y competencia.		Aplicación en el sustrato (2 g/kg), en el tratamiento de semillas (250 g/ha) y en el suelo (2 a 10 kg/ha). El Agrotrich Plus puede ser aplicado para el tratamiento de semillas (25 g/ha), a través de pulverización o en el Riego por goteo (0,4 a 1,0 kg/ha).	Agrilife Site: www.agrilife.com.br RET no Brasil (21000.011343/2008-35). http://www.agrosafra.agr.br/site/productos/biologicos/agrotrich/index.ht
Biotrich®	Compuesto orgánico en base a un aislamiento de *Trichoderma viride* y tres de *Trichoderma harzianum*). Polvo mojable y Premium (10^{10} ufc/g).	Recomendado para el control de *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Pythium*, *Phomopsis*, *Rosellinia* y *Plasmodiophora* en varios cultivos.	Actúa por antibiosis, parasitismo, competencia, inducción de resistencia y promoción de crecimiento.	Los aislamientos producen celulasa y hemicelulasa.	Aplicación por pulverización o riego. En cultivos irrigados se debe usar el agua como vehículo de aplicación, realizando la implantación de las plántulas en el período de la tarde.	Biovale Productos Agropecuários Ltda. - Venâncio Aires - RS – Brasil. Site: http://www.biovale.com.br.
Ecotrich ES®	*Trichoderma harzianum*. Polvo mojable, con vida de estante de 12 meses. Concentración de (10^{10} ufc/g).	Controle de *Sclerotinia sclerotiorum*	Actúa por parasitismo y competencia por nutrientes y espacio.		Se recomienda aplicar de 2 a 4 kg/ha o 200 g/100 kg de semilla.	Ballagro Agro Tecnologia Ltda. Bom Jesus dos Perdões/SP. Site: http://www.ballagro.com.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=117&Itemid=21. Registrado no MAPA.
ICB Nutrisolo SC y WP	*Trichoderma viride*, *T. harzianum*, *T. koningii* y *Trichoderma* sp. Polvo mojable con 10^{12} UFC/g.	Recomendado para el control de patógenos habitantes del suelo (*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora* y *Sclerotinia*) afectando varios cultivos.	Antibiosis, competencia y parasitismo.		El producto debe ser aplicado en el suelo o sustrato en la concentración de 2 a 5 g/ha	ICB BIOAGRITEC Ltda, Porto Alegre-RS. Site: http://www.icbbioagritec.com/. RET solicitado.

Tabla 14. Principales productos biológicos en base a microrganismos para el control de enfermedades de plantas y de nematodos comercializados en Brasil.

Quality WG	*Trichoderma asperellum*. Formulado en gránulos dispersables en agua (28% de *Trichoderma asperellum* ($1,5x10^{10}ufc/g$) y 72% de inerte). Almacenar el producto en heladera o temperatura por debajo de 28 °C.	Control de patógenos del suelo en soja, poroto y algodón.	Parasitismo, competencia y promoción de crecimiento.		El producto puede ser aplicado por tratamiento de semilla, siendo 75 g/10 kg de semilla de soja o poroto y 400g/100 kg de algodón. Aplicación de 100 kg/ha en el surco de plantación o posemergencia.	Laboratório de Biocontrol Farroupilha Ltda. Patos de Minas/MG-Registrado no MAPA.
Trichodel®	*Trichoderma* spp. Formulaciones en polvo mojable y líquida (no oleosa) conteniendo 10^9células viables/mL o g de los productos.	Control del moho gris (*Botrytis*), mildiu (*Plasmopara*), podredumbre de la corona (*Fusarium*), antracnosis (*Colletotrichum*), podredumbre amarga (*Glomerella*), muerte de ramas (*Botryosphaeria*), podredumbre carpelar (*Alternaria* y *Fusarium*), moho azul (*Penicillium*), podredumbre negra (*Alternaria*) y podredumbre morena (*Monilinia*), en los cultivos de: ajo, cebolla, tomate, pepino, calabaza, papa, melón, sandía, banana, pimentón, uva, manzana, durazno, rosales, frutilla, hortalizas en general, citrus, entre otros. En cultivos hidropónicos es recomendado para el control de *Pythium* y *Fusarium*.	Participa en la descomposición natural de hojas, tallos y raíces.		Tratamiento de semilla, pulverización, aplicación en el suelo, plántulas u otros órganos de propagación.	Empresa Caxiense de Controle Biológico Ltda., Caxias do Sul, Brasil. Site: http://www.eccb.com.br/. Producto no registrado.

Tabla 14. Principales productos biológicos en base a microrganismos para el control de enfermedades de plantas y de nematodos comercializados en Brasil.

Trichodermax® EC	*Trichoderma asperellum.* Concentración de esporas viables, $1,5x10^9$/ml de producto.	Utilizada de forma preventiva contra hongos de los géneros *Rhizoctonia* y *Sclerotinia*. También contra *Fusarium*, *Botrytis*, *Monilinia*, *Verticillium*, *Pythium* entre otros.	Parasitismo, competencia, promoción de crecimiento, inducción de resistencia sistémica.	Microrganismo natural de los suelos reconocido por su acción sobre hongos causantes de enfermedades en plantas.	Tratamiento de semillas, pulverización.	Novozymes BioAg Productos para Agricultura Ltda. Quatro Barras, PR. Registrado en el MAPA.
Trichodermil®	*Trichoderma harzianum* - cepas ESALQ-1306 y ESALQ-1303. Formulaciones polvo mojable (WP) con $5x10^{11}$ conidios viables/ kg de producto y suspensión concentrada emulsionable (SC) con $2x10^{12}$ conidios viables/L. VP en temperatura ambiente (23 °C a 27 °C) y de 30 días, en ambiente refrigerado (6 °C a 8 °C), 180 días y por debajo de 0°C, 360 días.	Moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*), pudriciones causadas por *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani* en poroto y soja. Marchitez por fitoftora (*Phytophthora capsici*) en pimentón. Podredumbre de raíz y de frutos (*Phytophthora palmivora*) en mamón. Marchitamiento (*Fusarium*) y moho gris (*Botrytis cinerea*) en ricino.	Antibiosis (antibióticos, toxinas y enzimas que afectan el desarrollo de hongos), parasitismo y competencia. Descomposición de materia orgánica y en la degradación de residuos tóxicos en suelos contaminados con agrotóxicos.	Las cepas utilizadas fueron aisladas y seleccionadas en el Laboratorio de Control Biológico de la ESALQ.	El producto puede ser aplicado en pulverización con pivot central o con equipamientos terrestres (pulverizadores tractorizados) con picos dirigidos al surco, en la plantación o inicio del desarrollo del cultivo. El equipamiento debe poseer agitador para mantener la suspensión homogénea del ingrediente activo. Es importante destacar que el hongo debe ser aplicado preventivamente.	Itaforte BioProductos, Itapetininga/ São Paulo, Brasil. Site: http://www.itaforte-bioproductos.com.br. Registrado en el MAPA.

Tabla 14. Principales productos biológicos en base a microrganismos para el control de enfermedades de plantas y de nematodos comercializados en Brasil.

Trichonat EF®	*Trichoderma* spp.	Control de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium*, *Pythium*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Botrytis*, *Phytophthora*, *Verticillium*, *Colletotrichum*, *Armilaria*, *Rhizopus*, *Venturia*, *Endothia*, *Diaporte*, *Fusicladium* y *Crinipellis perniciosa*.			Aplicado por pulverización, directo al suelo, adicionado al sustrato y en el tratamiento de semillas. Dosificaciones: para pulverizador de mochila de 20 L se recomienda 50 g del producto y, en el suelo, 1 Kg/ha de Trichonat/ 200 a 600 L de agua.	Natural Rural, Brasil. Site: http://www.naturalrural.com.br http://www.naturalrural.com.br/productos/productos_especificos.asp?CodProducto=31&Caption=Natural%20Rural%20-%20Trichonat%20EF. Producto no registrado.
Trichoplus JCO	Mezcla de aislamientos de *Trichoderma* spp. y *Trichoderma harzianum* (esporas, micelio y metabolitos). Polvo mojable y granulado con validez de 45 días.	Control de *Fusarium*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Cercospora*, *Phoma*, *Rosellinia* y *Phytophthora*.	Actúa por competencia, antibiosis y parasitismo.	Presenta alta capacidad de multiplicación y producción de metabolitos. Proporciona un incremento en el desarrollo radicular.	Pulverización, tratamiento de semillas y mezclado al fertilizante en el surco de plantación.	JCO Indústria e Comércio de Fertilizantes LTDA. Barreiras – BA. Site: http://www.jcofertilizantes.com.br/index.php?id=trichoplusjco. No registrado.
Trichoteam	*Trichoderma* spp. Formulación a base de conidios de *Trichoderma* sp. VE no encontrada.	Control de *Fusarium* spp.; *Rhizoctonia* spp.; *Crinipelis perniciosa*; *Phytophthora* sp.; *Colletotrichum gloeosporioides*; *Cylindrocladium* spp.; *Alternaria helianthi*; *Sclerotinia sclerotiorum*; *Rosellinia*; *Botrytis cinerea*; *Verticillium dahliae* y *Plasmopara viticola*.	Actúa por competencia y parasitismo, además de inducir la defensa de las plantas a través de acción bioestimulante.			Bioteam Ind. e Com. Ltda. –Ribeirão Preto/SP Site: http://www.bioteam.com.br. Producto no registrado.

Tabla 14. Principales productos biológicos en base a microrganismos para el control de enfermedades de plantas y de nematodos comercializados en Brasil.

Tricovab	*Trichoderma stromaticum*, aislamiento 3550 - CEPLAC. Conidios adheridos en granos de arroz seco, contiendo 10^6 conidios/g. VE hasta 8 días a temperatura ambiente y 6 meses en refrigeración (6 ºC a 8 °C).	Control de escoba de brujas (*Moniliophthora perniciosa*) en cacao.	Actúa como hiperparasitado patógeno impidiendo la formación de basidiomas. También están involucrados mecanismos de competencia por espacio y nutrientes.	Hongo filamentoso dimórfico, con una fase sexual denominada *Hypocrea stromatica* encontrada generalmente sobre frutos de cacao y *cupuaçu* en descomposición. La fase asexual es producida por fermentación sólida.	Dirigir el pico de aplicación a las escobas y frutos acumulados sobre el suelo. Aplicar con boquillas 110/02, en el período lluvioso, de mayo a agosto, luego de la remoción de las escobas y de los frutos enfermos en días con humedad relativa superior a 80%. Número de aplicaciones: cuatro, con intervalo mensual.	CEPLAC, Itabuna, BA. Site: http://www.ceplac.gov.br. Registro para agricultura orgánica.
			Bacterias			
Serenade®	*Bacillus subtilis* aislamiento QST 713. Gránulos dispersables en agua y suspensión acuosa conteniendo de 1 a $7x10^9$ ufc/g. No requiere condiciones especiales de almacenamiento y la VP es mayor a 24 meses.	Mancha bacteriana (*Xanthomonas*), oídio (*Leveillula taurica*), Mancha negra (*Alternaria solani*) del tomate y del pimentón. Moho gris (*Botrytis cinerea*) y oídio (*Uncinula necator*) de la vid. Oídio (*Erysiphe* y *Sphaerotheca*) y podredumbre gomosa (*Dydimela bryoniae*) de las cucurbitáceas. Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) del bananero. Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) del mango. Moho blanco (*Sclerotinia*) de la lechuga. Tizón bacteriano (*Erwinia amylovora*) del manzano y del peral. Moho blanco (*Sclerotonia sclerotiorum*) del poroto.	Actúa colonizando la filósfera y compitiendo con los patógenos por nutrientes y espacio previniendo el ataque y la penetración del patógeno; por antibiosis produciendo metabolitos como iturinas, agrastatinas/plipastatinas y surfactinas que inhiben la germinación de esporas, el crecimiento del tubo germinativo y destruyen las membranas de los patógenos.	Bacteria gram positiva, aeróbica y con mobilidad, ampliamente distribuida en la natureza. Puede producir endosporas y se encuentra en el suelo, agua y aire. La producción se realiza por medio de fermentación líquida.	Se aplica por pulverización y pueden ser utilizados equipamientos convencionales. El producto es compatible en mezclas con algunos fungicidas sintéticos, como azufre, hidróxido de cobre, mancozeb, clorotalonil, azoxystrobin y myclobutanil.	AgraQuest Inc, 1540 Drew Ave, Davis, CA, 95618, EUA. Site: http://www.agraquest.com/. El producto está registrado en Brasil.

Tabla 14. Principales productos biológicos en base a microrganismos para el control de enfermedades de plantas y de nematodos comercializados en Brasil.

Sonata®	*Bacillus pumilus* aislamiento QST2808. Suspensión acuosa conteniendo 10^9 ufc/g. No requiere condiciones especiales de almacenamiento y la VP es mayor a 24 meses.	Oídio (*Oidiopsis taurica* y *Erisiphe*) del tomate y pimentón. Mancha negra (*Alternaria solani*) y tizón tardío (*Phytophthora infestans*) de la papa. Oídio (*Uncinula necator*) de la vid. Oídio (*Erysiphe* y *Sphaerotheca*) y mildiu (*Pseudoperonospora*) de las cucurbitáceas. Oídio (*Sphaerotheca macularis* y *Erysiphe*) de la frutilla. Oídio (*Erysiphe cichoracearum*) y mildiu (*Bremia lactucae* y *Peronospora*) de la lechuga. Oídio (*Podosphaera leucotrica*) del manzano y peral.	Actúa por colonización del filoplano y competencia con el patógeno, produce azúcares aminados con acción antifúngica. Esos compuestos compiten con las enzimas involucradas en la formación de la membrana celular y así inhiben la formación de nuevas células.	Bacteria gram positiva, aeróbica y con mobilidad, ampliamente distribuida en la naturaleza. Puede producir endosporas y se encuentra en diferentes nichos, como materiales en descomposición, suelo, agua y aire. La producción se realiza por medio de fermentación líquida.	Se aplica por pulverización y pueden ser utilizados equipamientos convencionales. El producto es compatible en mezclas con algunos fungicidas sintéticos en base a azufre, hidróxido de cobre, mancozeb, chlorothalonil, azoxystrobin y myclobutanil.	AgraQuest Inc, 1540 Drew Ave, Davis, CA, 95618, USA. Site: http://www.agraquest.com/. O producto está registrado en Brasil.

Fuente: Bettiol et al. (2012), AGROFIT (2013)

aumentar esta demanda es nuevamente, instrumentando las campañas educativas destinadas al gran público sobre el valor de los bioproductos. ¿A quién le corresponde coordinar tales campañas? Esperamos que este punto, más allá del resto del capítulo, induzca a la reflexión y al aumento del uso del biocontrol de enfermedades, en última instancia.

Bibliografia

AGROFIT 2011 y 2013. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Fonte: http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina-inicial/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit (Outubro, 2011, abril 2013 y Noviembre 2013).

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária - (Brasil). 2002. Resolução - RDC nº 195, de 8 de julho de 2002. Regulamentação de Produtos Semioquímicos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 11 jul. 2002. Seção 1, p. 229-230.

Barreto RW. 2008. Latin American weed biological control science at the crossroads. In: XII International Symposium on Biological Control of Weeds, La Grande Motte.

Barreto RW. 2009. Controle Biológico de Plantas Daninhas com Fitopatógenos. In: Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas, p. 101-128.

Barreto RW, Ellison CA, Seier MK, Evans H. 2012. Biological control of weeds with plant pathogens: Four decades. En: Integrated Pest Management Principles and Practice.1 ed.Wallingford : CABI p. 299-350.

Bastos CN. 1988. Resultados preliminares sobre a eficácia de *Trichoderma viride* no controle da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa*) do cacaueiro. Fitopatologia Brasileira 13:340-342.

Bastos CN. 2000. *Trichoderma stromaticum* sp.nov. na produção de basidiomas e infecções de ramos e almofadas florais do cacaueiro por *Crinipellis pernicosa*. Agrotrópica 12:59-62.

Bettiol W. 1996. Biological control of plant pathogens in Brasil: application and current research. World Journal of Microbiology & Biotecnology, 12: 505-510.

Bettiol W. 2003. Controle de doenças de plantas com agentes de controle biológico e outras tecnologias alternativas. En: Campanhola C, Bettiol W (Eds.). Métodos Alternativos de Controle Fitossanitário, Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 191-215.

Bettiol W. 2011. Biopesticide use and research in Brazil. Outlooks on Pest Management 22:280-283.

Bettiol W, Ghini R. 2003. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. En: Campanhola C, Bettiol W (Eds.) Métodos Alternativos de Controle Fitossanitário. Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente. pp. 79-95.

Bettiol W, Morandi MAB. 2009. *Trichoderma* in Brazil: history, research, commercialization and perspectives. IOBC/WPRS Bulletin 43:235-239.

Bettiol W, Ghini R, Morandi MAB, Stadnik MJ, Kraus U, Stefanova M, Prado AMC. 2008. Controle biológico de doenças de plantas na América Latina. En: Alves SB, Lopes RB (Eds.) Controle Microbiano de Pragas na América Latina – Avanços e desafios. Piracicaba. FEALQ. pp. 303-331.

Bettiol W, Morandi MAB, Pinto ZV, Paula Junior TJ, Correa EB, Moura AB, Lucon CMM, Costa JCB, Bezerra JL. 2009. Bioprotetores comerciais para o controle de doenças de plantas. Revisão Anual de Patologia de Plantas 17:111-147.

Bettiol W, Morandi MAB, Pinto ZV, Paula Junior TJ, Correa EB, Moura AB, Lucon CMM, Costa JCB, Bezerra JL. 2012. Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas. Jaguariuna: Embrapa Meio Ambiente (Documento) 113p.

Bird GW, Edens T, Drummond F, Groden E. 1990. Design of pest management systems

for sustainable agriculture. En: Francis CA, Flora CB, King LD (Eds.) Sustainable Agriculture in Temperate Zones. New York. John Willey. pp. 55-110.
Brasil. 2011. Ato CGA/SDA/MAPA nº 29, de 7 de julho de 2011. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 08 jul. 2011. Seção 1, pág. 6.
Brasil. 2010. Ato CGA/SDA/MAPA nº 7, de 12 de março de 2010. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 17 mar. 2010. Seção 1, pág. 2.
Brasil. 1934. Decreto nº 24.114, de 12 de abril de 1934. Aprova o Regulamento de Defesa Sanitária Vegetal. Diário Oficial da União – Brasília, DF, Seção 1 – 31 dez. 1934, p. 555.
Brasil. 2002. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7.802. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 8 jan. 2002. Seção 1 p.1-12.
Brasil. 2007. Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007. Dispõe sobre agricultura orgânica. Diário Oficial da União, Brasília, 28 dez. 2007. Seção 1, pág 2.
Brasil. 2009. Decreto nº 6.913, de 23 de julho de 2009. Diário Oficial da União, Brasília, 24 jul. 2009. Seção 1, pág. 8.
Brasil. 2006c. Instrução Normativa Conjunta nº 2, de 23 de janeiro de 2006. Estabelece procedimentos a serem adotados para efeito de registro de Agentes Biológicos de Controle. Diário Oficial da União, Brasília, 26 jan. 2006c. Seção 1, pág. 8.
Brasil. 2005. Instrução Normativa Conjunta nº 25, de 14 de setembro de 2005. Regulamenta o Registro Especial Temporário. Diário Oficial da União, Brasília, 15 set. 2005. Seção 1, pág 4-6.
Brasil. 2006b. Instrução Normativa Conjunta nº 3, de 10 de março de 2006. Estabelece normas específicas para fins de registro de produtos microbiológicos que se caracterizem como produtos técnicos, agrotóxicos e afins. Diário Oficial da União, Brasília, 15 mar. 2006b. Seção 1, pág. 23-25.
Brasil. 2011. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 2, de 02 de junho de 2011. Estabelece especificações de referência de produtos fitossanitários com uso aprovado na agricultura orgânica. Diário Oficial da União, Brasília, 03 jun. 2011. Seção 1, pág. 39.
Brasil. 2012ª. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 2, de 04 de abril de 2012. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 11 abr. 2012a. Seção 1, pág. 5.
Brasil. 2012b.Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 3, de 11 de maio de 2012. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 17 maio 2012b. Seção 1, pág. 4 e 5.
Brasil. 2013. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 2, de 12 de julho de 2013. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 15 julho 2013. Seção 1, pág. 6 a 8.
Brasil. 2003. Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica. Diário Oficial da União, Brasília, 24 dez. 2003. Seção 1, pág. 8-9.
Brasil. 1989. Lei nº 7.802, de 12 de julho de 1989. Dispõe sobre agrotóxicos, seus componentes e afins. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 12 jul. 1989. Seção 1, p. 11459-11460.
Brasil. 1992. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 03, de 16 de janeiro de 1992. Diretrizes e exigências referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 4 fev. 1992.
Castro MLMP, Oliveira Filho EC. 2006. Avaliação Ambiental de Produtos Biológicos. En: Oliveira-Filho EC, Monerat RG (Eds.). Fundamentos para a Regulação de Semioquímicos, Inimigos Naturais e Agentes Microbiológicos de Controle de Pragas. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF. Pág. 343-352.
Cook RJ, Baker KF. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St Paul: APS, 539p.
Costa AS, Müller GW. 1980. Tristeza control by cross protection: a U.S. – Brazil cooperative success. Plant Disease 64:538-541.
Costa JCB, Bezerra JL, Bastos CN, Cazorla IM. 1998. Ação antagonista de *Trichoderma* sp. sobre a produção de *Crinipellis perniciosa* no estado da Bahia. Anais, VI Simpósio de

Controle Biológico, Rio de Janeiro. p.89.
Costa JCB, Faleiro FG, Faleiro ASG, Bezerra JL, Bezerra KMT, Dantas Neto A, Menezes PV. 2003. Diversidade genética de isolados de *Trichoderma* spp. e *Hypocrea stromatica* da região cacaueira do Brasil. Proceedings, XIV. International Cocoa Conference, Acra-Ghana. pp.783-788.
Costa JCB, Bezerra JL, Santos Filho LP, Alves MC, Moura EM. 2009. Controle biológico da vassoura-de-bruxa do cacaueiro na Bahia, Brasil. En: Bettiol W, Morandi MAB (Eds) Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Embrapa Meio Ambiente: Jaguariúna, p. 245-266.
Cota LV, Maffia LA, Mizubuti ESG, Macedo PEF, Antunes RF. 2008. Biological control of strawberry gray mold by *Clonostachys rosea* under field conditions. Biological Control 46:515-522.
CPL Business Consultants. 2013. Agriculture. Biopesticides – Market Studies. AZ01 Volume 1 - The Worldwide Biopesticides Market Summary. 2011. Disponível em: <http://www.cplsis.com/index.php?reportid=335&category=76>. Acesso em 10 fev. 2013.
Dias PRP, Rezende JAM. 2000. Premunização da abóbora híbrida Tetsukabuto para o controle do mosaico causado pelo *Papaya ringspot vírus* – type W. Summa Phytopathologica 26:390-398.
Foster R. 1950. Inativação do vírus do mosaico comum do fumo pelo filtrado de culturas de *Trichoderma* sp. Bragantia 10:139-148.
Freire FCO, Bridge J. 1985. Parasitism of eggs, females and juveniles of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamydosporium*. Fitopatologia Brasileira 10:577-596.
Freitas LG, Dallemole-Giaretta R, Ferraz S, Zooca RJF, Podesta GS. 2009. Controle biológico de nematóides: estudo de casos. In: Laércio Zambolim; Marcelo Picanço. (Org.). Controle biológico de pragas e doenças - Exemplos Práticos. 1ed. São Carlos, SP: Suprema Ltda. v. 1, p. 41-82.
Freitas LG, Podestá GS, Ferraz S, Coutinho MM. 2009. Supressividade de solo a *Meloidogyne* por *Pasteuria penetrans* nos estados do Maranhão e Santa Catarina. En: Bettiol W, Morandi MAB (Eds) Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Embrapa Meio Ambiente: Jaguariúna, p. 153-172.
Galina E, Sudo S, Silva DJ. 1998. Biological control of tobacco seedling damping-off. Bull. Spec. CORESTA, 1998, Brighton Congress, UK p. 127.
Gowen SR, Ahmed R. 1990. *Pasteuria penetrans* for control of pathogenic nematodes. Aspects of Applied Biology 24: 25-32.
IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – (Brasil). 1997. Portaria Normativa nº 131, de 03 de novembro de 1997. Estabelece os critérios a serem adotados. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 4 nov. 1997. Seção 1, p. 24988-24991.
Junqueira NTV, Gasparotto L. 1991. Controle biológico de fungos estromáticos causadores de doenças foliares em seringueira. En: Bettiol W (Ed.). Controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, p.307-331.
Knudsen IMB. 1994. Biological control of seedborne diseases in cereals. PhD thesis. Departement of Plant Biology. The Royal Veterinary and Agricultural University. Denmark.
Lima AMC, Silva AGA. 1968. Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitos e predadores: t. 1. Insetos, hospedeiros e inimigos naturais. t. 2 Índice de insetos e índice de plantas. Parte 2, V. 1 e 2. Original digitalizado Universidade de Cornell 07/09/2009.
Lopes F. 2012. Cresce dependência de insumos importados. http://www.sindag.com.br/noticia.php?News_ID=2292 (04/12/2012).

Lopes EA, Ferraz S, Ferreira PA, Freitas LG, Dhingra OD, Gardiano CG, Carvalho SL. 2007. Potencial de isolados de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne javanica*. Nematologia Brasileira 31:78-84.

Lorito M, Woo SL, Harman GE, Monte E. 2010. Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. Annual Review of Phytopathology 48:1-23.

Loureiro ES, Batista Filho A, Almeida JEM, Mendes JM, Pessoa LGA. 2012. Eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. no controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), em condições de campo. Arquivos do Instituto Biológico 79:47-53.

Martins EMF, Beretta MJG, Roveratti DS, Moraes WBC. 1985. Comparative induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants by non-specific inducers from different fungal and bacterial origin. Fitopatologia Brasileira 10: 521-529.

Müller GW, Costa AS. 1991. Premunização de plantas cítricas En: Bettiol W (Ed.) Controle biológico de doenças de plantas, Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, p.285-293.

Peng G, Sutton JC. 1991. Evaluation of microrganisms for biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry. Canadian Journal Plant Pathology 13:247-257.

Pomella AWV. 2008. A utilização do controle biológico para grandes culturas – a experiência do grupo Sementes Farroupilha. Summa Phytopathologica 34:195-196.

Pomella AWV, Ribeiro RTS. 2009. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas – uma visão empresarial. En: Bettiol W, Morandi MAB (Eds). Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, pp. 238–244.

Rangel LEP. 2006. Eficiência e praticabilidade de produtos biológicos. En: Oliveira Filho EC, Monerat RG (Eds.). Fundamentos para a regulação de semioquímicos, inimigos naturais e agentes microbiológicos de controle de pragas. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF. Pp. 313-323.

Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas. 2008. Summa Phytopathologica 34(supl.):156-203.

Rezende JAM, Müller GW. 1995. Mecanismos de proteção entre vírus e controle de viroses de vegetais por premunização. Revisão Anual de Patologia de Plantas 3:185-226.

Rezende JAM, Pacheco DA. 1998. Control of papaya ringspot vírus-type W in zucchini squash by cross protection in Brazil. Plant Disease 82: 171-175.

Rezende JAM, Pacheco DA, Iemma AF. 1999. Efeitos da premunização da abóbora 'Menina Brasileira' com estirpes fracas do vírus do mosaico do mamoeiro-estirpe melancia. Pesquisa Agropecuária Brasileira 34:1481-1489.

Samuels GJ, Pardo-Schultheiss R, Hebbar KP, Lumsden RD, Bastos CN, Costa JCB, Bezerra JL (2000) *Trichoderma stromaticum* sp.nov., a parasite of the cacao witches' broompathogen. Mycological Research 104:760-764.

Sayre RM, Star MP. 1985. *Pasteuria penetrans* (ex Thorne, 1940) nom. rev., comb. n., sp. n., a mycelial and endospore-forming bacterium pareasitic in plant parasitic nematodes. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 52:149-165.

Schroers HJ. 2001. A monograph of *Bionectria* (Ascomycota, Hypocreales, Bionectriaceae) and its *Clonostachys* anamorphs. Studies in Mycology 46:1-214.

Schroers HJ, Samuels GJ, Seifert KA, Gams W. 1999. Classification of the mycoparasite *Gliocladium roseum* in Clonostachys as *C. rosea*, its relationship to *Bionectria ochroleuca*, and notes on other Gliocladium-like fungi. Mycologia 91:365-385.

Sindag. 2013. http://www.sindiveg.org.br/docs/MERCADO_DEF_AG_2012_2013_VERSAO_FINAL_4_3_13.pdf.

Stirling GR. 1991. Biological control of plant-parasitic nematodes: Progress, problems, and prospects. Wallingford, U.K: CAB International. 282 p.

Sudo S. 1986. Biocontrole de *Catacauma torrendiella* e *Coccostroma palmicola,* agentes causadores da lixa preta no coqueiro. En: III Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas. Anais, Brasil, Piracicaba, p. 57-59.

Sutton JC, Li DW, Peng G, Yu H, Zang P, Valdebenito-Sanhueza RM. 1997. *Gliocladium roseum*: A versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. Plant Disease 81:316-328.

Tessmann DJ. 2011. Controle biológico: Aplicações na área de ciência das plantas daninhas. En: Oliveira Jr RS, Constantin J, Inoue MH (Eds.) Biologia e manejo de plantas daninhas. Curitiba, Omnipax. pp. 79-93.

Valdebenito-Sanhueza RM. 1991. Possibilidades do controle biológico de *Phytophthora* em macieira. In: Bettiol W (Ed.) Controle biológico de doenças de plantas, Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, p.303-305.

Viggiano JR. 2011. *Pochonia chlamydosporia* no controle do nematoide das galhas e na produção de alface e pepino. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa.

Warwick DRN. 2001. Colonização de estromas de *Sphaerodothis acrocomiae* agente causal da lixa grande do coqueiro por *Acremonium persicinum*. Fitopatologia Brasileira 26:220.

Capítulo 4

Control biológico de enfermedades de plantas en el Caribe

Yelitza Colmenárez[1], Carlos Vásquez[2], Michael James[3]

[1]CABI América del Sur. UNESP, Lageado, Botucatu, SP. Brasil. [2]Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Decanato de Agronomía. Departamento de Ciencias Biológicas. Barquisimeto. Edo. Lara. Venezuela. [3]Ministerio de Agricultura. Gream Hall. Barbados. E-mail: y.colmenarez@cabi.org

Introducción

El control biológico de enfermedades persigue la reducción de la densidad de inóculo o de la actividad de un patógeno para producir enfermedad, llevada a cabo por uno o más organismos diferentes del hombre (Cook y Baker 1983). Debido a la gran biodiversidad de la región, es considerado como un método con gran potencial para el control de enfermedades de plantas, el cual debe ser evaluado para una implementación más amplia.

Mucho antes de terminar el siglo XX había una clara conciencia de la importancia de encontrar métodos de control más sostenibles ya que en base a varias estimaciones, las pérdidas de cosecha por la acción de plagas, enfermedades y malas hierbas había aumentado a pesar de haber multiplicado el empleo de productos fitosanitarios. A la par ya existía la necesidad de introducir criterios de sostenibilidad en las prácticas agrícolas, incluidos aquellos criterios con tendencia a disminuir su impacto en el ambiente. De allí se derivó una creciente actividad de investigación científica, basada fundamentalmente en criterios ecológicos, orientada a conocer mejor, por una parte, los agroecosistemas y, por otra, a aumentar la eficacia de métodos de control distintos al uso de plaguicidas, donde el control biológico ha ocupado un lugar preferencial.

A pesar del creciente interés por los gobiernos de las diferentes islas del Caribe en buscar formas más sustentables de producción agrícola e incentivar el uso de métodos alternativos de control, y la existencia de ejemplos de programas de control biológico de artrópodos exitosos, como es el caso de la cochinilla

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

rosada (*Maconellicoccus hirsutus*), muy poco se ha realizado en el área de control biológico de enfermedades de plantas. Una de las principales razones es la escasa oferta y disponibilidad de bioproductos en el mercado, y la falta de políticas que incentiven su uso y comercialización. Sin embargo existe interés en obtener una producción agrícola sustentable, y de buscar información en el uso de control biológico de enfermedades de plantas en base a las experiencias de países de la región. Trabajos realizados en otras regiones del Caribe, como Florida, para controlar enfermedades que limitan la producción de diferentes cultivos pueden tomarse como punto de partida para la apertura de programas eficientes de control biológico de enfermedades de plantas en las islas del Caribe.

Este capítulo recopila trabajos realizados en el área de control biológico de enfermedades con énfasis en Florida y en las islas del Caribe.

Agricultura en el Caribe y uso del control biológico

La agricultura ha sido durante mucho tiempo el pilar de la economía de los países de la Región del Caribe, siendo la caña de azúcar y banana los principales rubros de la región. Los organismos fitopatógenos interfieren en la producción de la mayoría de los cultivos en la región tropical causando disminución del rendimiento. El control biológico de enfermedades es un método de control usado en la actualidad en países de Latinoamérica, dentro del concepto de Manejo Integrado de Plagas, en busca de obtener una producción sustentable. El control biológico de enfermedades se establece a través de una interacción continua entre los potenciales patógenos y sus antagonistas, de forma tal que estos últimos contribuyen a que no haya enfermedad en la mayoría de los casos, es decir, causan un control biológico que funciona naturalmente (Vero y Mondino 2002).

Aunque el Control Biológico de plagas en el Caribe había sido casi completamente abandonado con la llegada de los pesticidas, el desarrollo de resistencia en algunas plagas importantes, así como los riesgos que estos suponen para la salud humana y el ambiente, han hecho que el uso de biocontroladores sea considerado como una alternativa viable. La agricultura de la región se caracteriza por basarse en pequeñas explotaciones generalmente usadas como agricultura de subsistencia, con múltiples cultivos y plagas, problemas de plaguicidas y otros problemas comunes de producción y comercialización (Cruz y Segarra 1996).

El biocontrol es un componente de la agricultura sostenible que actualmente es reconocido como un área para la investigación y los esfuerzos de los investigadores están siendo enfatizados a los métodos de manejo de las poblaciones de plaga por debajo de los umbrales económicos. Esto ya ha comenzado en el Caribe, donde los esfuerzos de las instituciones nacionales e internacionales han comenzado a destacar y poner en práctica programas de control biológico. Estos esfuerzos están dirigidos a la identificación de prioridades de investigación y posibles áreas de cooperación en la región, aunque los esfuerzos de control biológico y sus resultados siguen siendo poco conocidos incluso entre países vecinos (Cruz y Segarra 1996), debido a la falta de comunicación entre las

organizaciones de investigación y desarrollo. Existen pocos medios de difusión (congresos científicos, publicaciones, reuniones, seminarios, etc.), escasos fondos para la investigación y para la asistencia a las reuniones locales e internacionales, lo cual constituye un obstáculo para el desarrollo del control biológico en la región.

Principales rubros agrícolas en el Caribe: problemas fitopatológicos y sus perspectivas de control mediante uso de las estrategias de control biológico

Enfermedades en cacao

Moniliophyhora perniciosaes un hongo basidiomiceto reconocido como el agente causal de la escoba de bruja en cacao (*Theobroma cacao*) (Baker y Holliday 1957) y es responsable de las principales pérdidas en este cultivo en países productores de América del Sur y el Caribe (Evans 1980). Esta especie de hongo tiene un ciclo de vida hemibiotrófico, y es una especie de patógeno específica del cacao (Griffiths y Hedger 1994). La infección inicia cuando el tubo germinal de las basidiosporas penetra el tejido meristemático en las yemas apicales. La respuesta de la planta hospedera es localizada en el punto de infección y es caracterizada por abultamiento del tejido (Orchcard *et al.* 1994) y desarrollo de brotes laterales (Muse *et al.* 1996). El hongo permanece en fase primaria (biotrófico monocariota), después de 6-9 semanas los brotes verdes comienzan a mostrar necrosis, lo cual está asociado al proceso de dicariotización del hongo en una fase secundaria (saprofítico dicariótico). Subsecuentemente, en los brotes necrosados se forman los basidiocarpos (Muse *et al.* 1996).

Entre las principales estrategias de manejo de la enfermedad se incluye el mejoramiento con miras de manejo de resistencia, y la aplicación de fungicidas (Bastos y Días 1992). Sin embargo, estos últimos tienen muchos efectos indeseables, por lo que el uso de agentes de biocontrol ha adquirido mayor auge en los últimos años, entre los cuales la aplicación de aislados de *Trichoderma* ha mostrado resultados promisorios. Las especies de *Trichoderma* han probado tener control de fitopatógenos debido a su habilidad de producir enzimas que degradan la pared celular tales como quitinasa (De Marco y Felix 2002, De Marco *et al.* 2000, 2003) y β-1,3 glucanasas (Lorito *et al.* 1994, Noronha y Ulhoa 1996, Papavizas 1985). Estudios previos señalaron que una raza de *Trichoderma viride* había mostrado potencialidad para el biocontrol de *Moniliophyhora perniciosa* y posteriormente se encontró que *Trichoderma stromaticum,* aislada a partir de escobas de bruja en cacao en Brasil, podía controlar la enfermedad (Samuels *et al.* 2000). Los brotes tratados con *Trichoderma* mostraron reducción del inóculo mediante supresión de la formación de basidioma y los contenidos de celulosa y hemicelulosa eran menores que en brotes no infectados (Bastos y Días 1992, Samuels *et al.* 2000). Estos hallazgos han sido relacionados con la capacidad de *Trichoderma* de crecer más rápidamente que *C. perniciosa* cuando crecen en

cultivos mixtos y de producir enzimas extracelulares tales como celulasa, amilasa y proteasas en medios sólidos (Bastos 1996a, b). Los estudios usando *Trichoderma* han demostrado que es capaz de reducir el progreso de la enfermedad 'escoba de bruja' en cacao creciendo en condiciones de campo, lo cual abre nuevos caminos de investigación para el uso de biocontroladores para el manejo de esta enfermedad en el Caribe.

Enfermedades en tomate y pimentón en Florida e islas del Caribe

El estado de la Florida es reconocido como uno de los principales productores de hortalizas y cítricos (Nemec *et al.* 1996). Con relación al cultivo de hortalizas, la marchitez producida por diferentes formas especiales de *Fusarium oxysporum* puede causar grandes pérdidas en diferentes cultivos, incluyendo tomate (*Solanum lycopercum*) (Nemec *et al.* 1996) en el cual se han reportado dos formas sintomatológicas distintas del patógeno: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici,* causante de fusariosis, y *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* causante de la pudrición del tallo y raíz. Junto con *Fusarium*, *Ralstonia solanacearum* son los principales patógenos asociados a varios cultivos (Momol *et al.* 2008). Con relación a la pudrición de la raíz y del cuello causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* son responsables por la disminución del rendimiento de 41 y 15% en siembra directa y trasplante de tomate, respectivamente (Jones *et al.* 1991), lo que supone pérdidas económicas importantes. Dado su impacto en la producción de hortalizas, varias estrategias de control han sido evaluadas con resultados variables, siendo la fumigación con productos tales como bromuro de metilo/cloropicrina, benomyl o captafol los que mejores resultados han proporcionado. Sin embargo, el efecto contaminante y la posibilidad de que los patógenos desarrollen resistencia a estos productos han provocado su desuso en los últimos años. También se ha probado el desarrollo de variedades resistentes a la pudrición causada por *Fusarium* con resultados no tan promisorios en producciones comerciales de tomate (McGovern *et al.* 1994). En tal sentido, los estudios han sido dirigidos al uso de estrategias de control biológico para el manejo de la mancha del tomate causada por *Fusarium* usando agentes de biocontrol tales como *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma harzianum* y *Glomus intraradices,* un hongo micorrízico arbuscular (Datnoff *et al.* 1995, Nemec *et al.* 1996, Srivastavaa *et al.* 2010), los cuales, aparte del efecto directo contra el patógeno, han mostrado tener un efecto de inducción sistémica de la resistencia de la planta (Srivastavaa *et al.* 2010). Varias especies de *Trichoderma* y aislados de *Pseudomonas* han demostrado ser eficientes en el control de fusariosis en tomate. La aplicación de *Trichoderma harzianum* y *Pseudomonas fluorescens* provocó reducción significativa de la incidencia de la marchitez tanto en plantas mantenidas en potes como en ensayos de campo, logrando reducir la incidencia y severidad de la enfermedad en 74% y 67% en macetas y en campo, respectivamente. Esta combinación también incrementó el rendimiento en un 20%.

Por otra parte, en las islas del Caribe, la mancha bacteriana causada por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, propuesta como *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Vanterin *et al.* 1995) constituye una enfermedad importante en

pimentón (*Capsicum annuum*) y tomate, debido a las dificultades para el control de la enfermedad, lo cual ha limitado la producción de estos cultivos. En Barbados, desde 1989-1991 se han reportado cambios en la estructura de las razas, la virulencia y la sensibilidad a los agentes químicos de control en poblaciones de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* asociadas con pimentón y tomate (Gore y O´Garro 1999). Estos cambios observados no parecen haber sido inducidos por selección de la planta hospedera dado que los genotipos resistentes de tomate y pimentón no habían sido cultivados en Barbados. En tal sentido, se presume que esos cambios habrían sido originados por la introducción de razas exóticas a través de semillas importadas de tomate y pimentón, pues todos los genotipos cultivados en Barbados tienen diversos orígenes, incluyendo Estados Unidos, Asia, América del Sur, Países Bajos e Israel (Ward y O'Garro 1992). Esto ha traído como consecuencia que frutos de pimentón y tomate tengan que ser importados a estas islas para satisfacer la demanda local, sobre todo durante el periodo que coincide con la época de lluvias (O'Garro 1998).

La multiplicidad de razas de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* hace posible vencer las fuentes de resistencia en plantas de pimentón y tomate, lo cual junto con la resistencia de esta bacteria a la aplicación de productos químicos de uso común representan un nuevo reto para el control de la mancha bacteriana en Barbados y otros países del Caribe, así como implementar medidas de control alternativas, incluyendo la introducción de fuentes duraderas de resistencia genética.

Dentro del manejo, la aplicación de prácticas culturales, uso de variedades resistentes, control biológico y medidas sanitarias han mostrado tener un efecto negativo sobre la enfermedad (Lozano 1986). La aplicación de prácticas culturales como la rotación de cultivos es particularmente eficiente debido a que afecta la viabilidad de las esporas de la bacteria que pueden permanecer en el suelo durante dos años, adicionado al uso de material de siembra desinfectado, eliminación de plantas infestadas y el uso de variedades resistentes en países donde este tipo de material esté disponible (CARDI 2011).

Con relación al control biológico, estudios previos realizados en Colombia demostraron que las aplicaciones foliares de *Pseudomonas fluorencens* y *Pseudomonas putida* provocaron una reducción significativa de la mancha angular en clones susceptibles y en consecuencia incremento en el rendimiento cuando este agente de biocontrol fue aplicado durante la estación lluviosa (Hernández *et al.* 1986). Sin embargo, el futuro del control biológico en este cultivo está siendo estudiado con mayor intensidad y aun no existe ninguna experiencia en países de la región caribeña.

Los Geminivirus representan uno de los principales grupos de fitopatógenos de muchos cultivos de importancia económica en todo el mundo. En Trinidad, el virus del mosaico amarillo de la papa-Trinidad (PYMV-TT), ha sido señalado como el agente causal de epidemias de enfermedades en tomate desde finales de 1980. Desde su detección, se ha producido un aumento tanto en la incidencia de la enfermedad como, en la distribución geográfica de los sistemas de producción comerciales de tomate. Las estrategias actuales usadas para controlar la infección han demostrado ser insuficientes en la supresión de la enfermedad debido a que tales medidas no se coordinan, integran, o se regulan.

En la actualidad se realizan estudios identificar después de estudios diferentes factores asociados a la epidemia, que pueden estar implicados en la propagación y la persistencia de la enfermedad. Varios sistemas de manejo (control y el uso de cultivares resistentes por ejemplo, prácticas culturales, control biológico, químicos) están recomendados como parte de un sistema integrado y multi-dimensional para retrasar la infección PYMV-TT en el tomate (Rampersad 2003). En este caso, las estrategias de control biológico están basadas en el uso de enemigos naturales para el control del insecto vector.

Enfermedades de la banana

La pudrición de la corona constituye una de las enfermedades más importantes que afecta al cultivo de bananas en post-cosecha y es producida por un complejo de hongos que incluye *Colletotrichum musae*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium pallidoroseum*, *Nigrospora sphaerica* y *Botryodiplodia theobromae* en las Islas Dominica, Grenada, St. Lucia y St. Vincent (Krauss y Johanson 2000). *Colletotricum musae* es un patógeno primario y puede iniciar la infección con niveles de inóculo iniciales bajos, mientras que el resto requieren niveles mucho más altos de inóculo y generalmente se consideran invasores secundarios (Finlay y Brown 1993).

A principios de 1994, fue iniciado el Proyecto de pudrición de la corona (*The Crown Rot Project*) cuyo principal objetivo era desarrollar un sistema de manejo integrado o biológico de esta enfermedad de manera de reducir el uso de fungicidas, y así lograr un manejo más eficiente a menor costo (Krauss y Johanson 2000). Una de las estrategias de control evaluadas consistió en la inducción de resistencia mediante la "inmunización" de plantas en campo con esporas de *Colletotricum musae* muertas por calor, resultando en la inhibición de la germinación de conidias en frutos tratados con disminución de hasta 70% de la enfermedad cuando el tratamiento era aplicado 1 a 2 semanas antes de la cosecha (Krauss y Johanson 2000).

Adicionalmente, han sido identificados varios hongos micoparásitos (*Gliocladium*, *Pythium*, *Trichoderma* y *Verticillium* spp.) y una bacteria antagónica que mostraron ser promisorios como agentes de biocontrol del complejo pudrición de la corona (Krauss 1996).

Estos hallazgos mostraron potencialidad en su uso como agentes de biocontrol debido a que, por un lado, fueron encontradas varias cepas de estos hongos capaces de atacar las diferentes especies del complejo de la enfermedad, las cuales podían alcanzar estructuras tales como conidias y haustorios que son relativamente inaccesibles para fungicidas (Krauss *et al.* 1998). Por otra parte, algunos de ellos mostraron tolerancia a fungicidas por lo que pueden ser usados en combinación con concentraciones reducidas de productos fungicidas en un manejo integrado de la enfermedad (Jeger y Jeffries 1988, Krauss *et al.*1998).

Entre los hongos micoparásitos fueron encontrados cuatro géneros con amplio rango de hospederos y con diferentes mecanismos de ataque (parasitismo, antibiosis, competencia), sin embargo todos mostraron la capacidad de discriminar diferentes cepas de *Colletotricum musae*, el principal patógeno (Krauss y Matthews 1997). Este hecho sugirió que la eficiencia en el biocontrol

de esta enfermedad podría fundamentarse en el uso de combinaciones de varias cepas de los hongos micoparásitos pertenecientes a diferentes especies (en su mayoría *Gliocladium* spp. y *Paecilomyces* spp.) (Fig. 1).

El monocultivo del banano puede tener un impacto negativo sobre

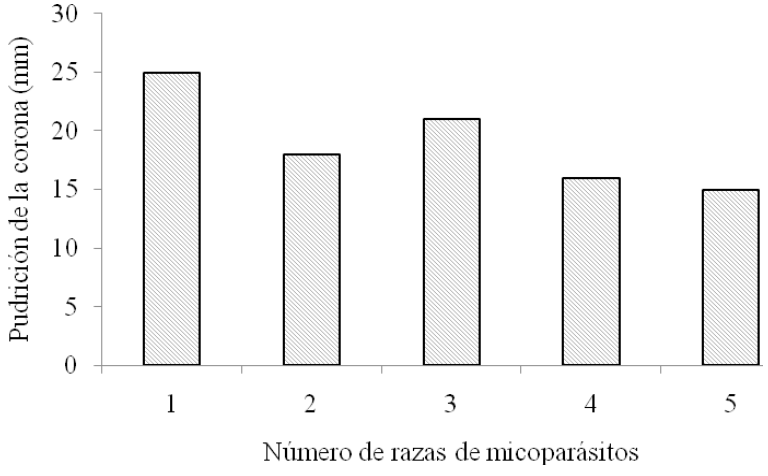

Figura 1. Efecto de la mezcla de hasta cuatro especies de micoparásitos sobre el control de la pudrición de la corona causada por una mezcla natural de patógenos (Tomado de Krauss y Johanson 2000).

el medio ambiente ya que los tratamientos con pesticidas pueden llevar a la contaminación de aguas superficiales y subterráneas. Diferentes enfoques basados en MIP (Manejo Integrado de Plagas) se han desarrollado en las Antillas francesas para reducir el uso de los pesticidas en el cultivo del banano. Estos métodos se han desarrollado utilizando las técnicas de manejo que prevengan la presencia de los patógenos del banano y también de suprimir sus poblaciones, haciendo énfasis en las técnicas no químicas, como las prácticas culturales, el control biológico y cultivares resistentes. Como resultado, los nuevos sistemas de manejo del cultivo han dado lugar a una disminución del 65% del uso de plaguicidas en los últimos 10 años (Côte *et al.* 2009).

La infestación de cultivos tropicales por patógenos transmitidos por el suelo (piña: *Rotylenchulus reniformis* y banano: *Pratylenchus coffeae*) no puede ser controlada por la aplicación de pesticidas en las Antillas Francesas bajo la nueva normativa europea. Por lo tanto, la investigación actual está siendo enfocada al estudio del efecto de la resistencia sistémica inducida (RSI) a las plagas y control biológico para desarrollar productos dentro de un sistema más sustentable (Soler *et al.* 2013). En Martinica se trabaja en una estrategia basada en el conocimiento actual de la RSI a través de la interacción entre las plantas y los microorganismos beneficiosos, basándose en cuatro hipótesis principales:

1) La introducción del inóculo de parásitos presentes en el suelo se puede reducir a través de la rotación de plantas no hospedantes. Los cultivos de

cobertura fueron seleccionados sobre la base de varias características funcionales (estado de la planta no hospedera, alta biomasa), por su contribución al equilibrio de la microfauna de la rizosfera y por su efecto positivo sobre el potencial de micorrización en el suelo.

2) La selección de variedades de piña y plátano capaces de desarrollar la RSI y adaptar su metabolismo a cambios ambientales es esencial. Se reportaron respuestas diferenciales frente a los nematodos a un inductor de la RSI (metiljasmonato) en diferentes variedades de piña y banano y actualmente se busca una relación con los marcadores de la capacidad de adaptación de plantas a los cambios ambientales (genes de cisteína-proteasas y sus inhibidores fito-cistatinas).

3) El éxito del desarrollo de las respuestas de la RSI es dependiente de la capacidad de una planta a tolerar estreses abióticos (sequía, temperatura, salinidad) además de los agentes patógenos. Como la RSI también puede ser parte de la capacidad de adaptación del metabolismo de las plantas a tolerar estreses abióticos en su hábitat, se investigan los posibles vínculos entre el nivel de estrés y la capacidad de una planta para inducir la RSI eficaz contra los parásitos transmitidos por el suelo.

4) Sistemas de raíces de piña y banano llevan bacterias diazotróficas (endofíticas) que se pueden utilizar como inductores de la RSI en el campo. Setenta y cinco (75) y noventa y un (91) cepas de bacterias diazotróficas (endofíticas), respectivamente, para la piña y el banano fueron aisladas de sus sistemas de raíces en diferentes sitios de Martinica, incluyendo los sistemas de cultivos orgánicos e intensivo. En la actualidad están siendo identificadas (MIDI - FAME y secuenciación ADNr16S) y se evaluaron como RSI inductores (Soler *et al.* 2013).

Sigatoka Negra

En el Caribe, la Sigatoka negra, enfermedad producida por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, es considerada una de las enfermedades más destructivas de los bananos y plátanos (Pannissi 2010), la cual ha afectado gravemente a varios países de la región, tales como Dominica, Santa Lucía, Granada y Guyana. En caso de infecciones severas, las hojas mueren, ocasionando la maduración mixta y prematura de los racimos de banano, lo que reduce significativamente el rendimiento de fruto. Como parte de la respuesta a los brotes de Sigatoka negra en el Caribe, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) presentó un programa de capacitación intensiva en el manejo de la enfermedad en Dominica, Santa Lucía, Granada, Guyana y San Vicente y las Granadinas. El clima tropical del Caribe, con altas precipitaciones y alta humedad es propicia para la propagación de la Sigatoka negra, por lo tanto, el programa de formación centrado en el manejo de la enfermedad incluyó el uso estratégico y cuidadoso de fungicidas haciendo énfasis en la prevención del desarrollo de resistencia a los mismos. Sin embargo, una serie de investigaciones han documentado la aparición del fenómeno de resistencia en este hongo (Sierotzki *et al*. 2000, Pérez *et al.* 2004, Martínez-Bolaños *et al*. 2012).

Debido a esta situación, ha sido propuestas una serie de prácticas

de manejo para reducir el uso de plaguicidas en bananos con un enfoque agroecológico haciendo énfasis en el uso eficiente de los recursos locales, de manera de responder a las necesidades de intensificación de la producción de pequeños agricultores y las demandas del sector exportador de bananas para mejorar la sostenibilidad del ambiente (Côte *et al.* 2007, 2010; Pérez 2013). Este enfoque se centra más en el manejo de plagas y enfermedades y la nutrición del suelo desde un punto de vista biológico, de manera de fomentar el crecimiento de las plantas y en consecuencia aumentar los rendimientos (Pérez 2013). Entre las prácticas de MIP se incluye el monitoreo de las densidades de plagas y el uso de plaguicidas menos tóxicos, uso del control biológico en el momento y tasa adecuados. Las medidas de intensificación agroecológica incluyen:

a) la rotación con otros cultivos no hospedantes de plagas y mejorar la biodiversidad y condiciones físico-químicas del suelo.

b) el uso de cultivos de cobertura para reducir las malas hierbas, erosión del suelo y aportar materia orgánica y exudados. Además de la materia orgánica mejora la estructura del suelo, la infiltración de agua en el suelo y el almacenamiento, la raíz y el crecimiento general de la planta y aumentar los nematodos de vida libre, otra fauna y el antagonismo general.

La aplicación de medidas de control biológico, junto con el uso de prácticas agronómicas cónsonas, podrían ofrecer resultados promisorios, estables y adecuados con el ambiente. De hecho, varias especies de bacterias epifitas (incluyendo *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Serratia*) han probado ser eficiente para el control de *Mycosphaerella fijiensis*, pero la investigación de control biológico se encuentra todavía en sus etapas preliminares y el alcance de la investigación sobre el desarrollo de métodos de control biológico ha sido limitado debido a, entre varias razones a que la enfermedad es policíclica (Bennett y Arneson 2003) y además exhibe alta capacidad de variación y adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales (Pérez 2013).

El cultivo de yuca en el Caribe

La yuca (*Manihot esculenta*) es nativa de Sur América y constituye uno de los principales cultivos de la zona tropical donde crece en suelos pobres y de poca retención de humedad (Ogunjobi et al. 2007). Este cultivo es importante en Haití, Cuba, República Dominicana, Jamaica y Trinidad y Tobago, en donde en conjunto representan el 99,5% de la producción en la región del Caribe (FAOstat 2011). Este cultivo es altamente susceptible a más de 30 especies de patógenos, incluyendo bacterias, hongos, virus, micoplasmas y nematodos, las cuales pueden reducir drásticamente los rendimientos (Nilmanee 1986). Sin embargo, *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* ha sido considerada como una de las principales enfermedades que limitan la producción a nivel mundial (Fig. 2), con pérdidas de rendimiento de 12-90% (CIAT 1979,Terry *et al.* 1979), sin embargo, la información sobre la disminución del rendimiento en Trinidad y Tobago es escasa. En el Caribe, la enfermedad ha sido descrita en Cuba, República Dominicana, Trinidad y Barbados (Phelps 1977, Elango 1980) (Tabla 1). Desde su reporte en Trinidad en 1977 (Phelps 1977), se ha extendido

rápidamente, con una epidemia documentada en 1985. De acuerdo con Joseph y Elango (1991) está ampliamente distribuida en Trinidad, excepto en zonas donde la yuca no se cultiva ampliamente, mientras que los síntomas más severos fueron observados donde existe la mayor superficie cultivada. Estos autores también señalaron que en general la enfermedad se presenta en plantas de cualquier edad, siendo la variedad Blue Stick la más susceptible y que la severidad podía estar influenciada por las prácticas culturales, siendo más severa en campos con suelos mal drenados y con problemas de malezas.

El control biológico a través de microorganismos que ocurren

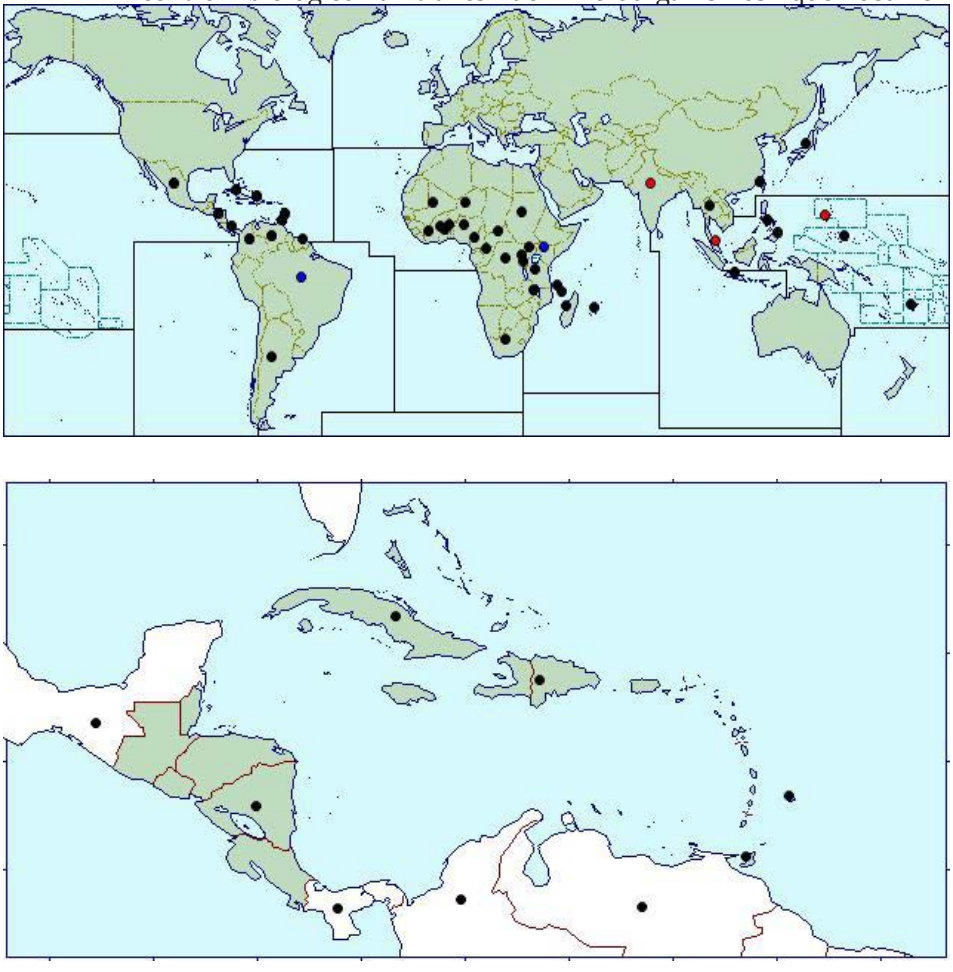

Figura 2. Distribución mundial de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* a nivel mundial y en el Caribe. ●= Presente, sin información posterior ●= Amplia distribución ●= Localizado ●= Confinado y en cuarentena ●= Ocasional o con pocos reportes.

(Fuente: CABI. Disponible en:
http://www.cabi.org/isc/?compid=5&dsid=56952&loadmodule=datasheet&page=481&site=144)

Tabla 1. Distribución de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* en la región del Caribe

Región	Distribución	Referencia
Barbados	Presente, sin información posterior	http://www.cabdirect.org/abstracts/20077002183.html
Cuba	Presente, sin información posterior	
República Dominicana	Presente, sin información posterior	www.cabdirect.org/abstracts/20077002183.htm
Trinidad y Tobago	Presente, sin información posterior	

Fuente parcial CABI

naturalmente en el campo se ha hecho una realidad a través de los antibióticos, bacteriocinas y bacteriófagos (Moore 1983). Las propiedades anti-microbianas de los microorganismos han dado lugar a la caracterización de diversas sustancias como ácidos orgánicos (ácido láctico y ácido fórmico), diacetil y peróxido de hidrógeno solo o en combinación (Piard y Desmazeaud 1992). Otras sustancias con propiedades antagonistas incluyen biocidas, esterilizantes y probióticos. La producción de proteínas o complejos de proteínas específicas, bacteriocina que inhibe algunas bacterias Gram positivas, principalmente especies homólogas, algunos esferoplastos de bacterias Gram negativas y antibióticos de acción anti fúngica también confirmaron las posibilidades de exclusión competitiva de organismos patógenos de los cultivos (Agarry *et al*. 2005).

Aunque la pudrición de la raíz causada por *Phytophthora palmivora* no representa una grave amenaza para el cultivo de la yuca en el Caribe, los estudios sobre el uso de agentes de biocontrol (*Trichoderma* spp. y *Pseudomonas fluorescens*) en conjunto con la biofertilización (*Azospirillum*, hongos micorrízicos vesiculares-arbusculares y bacterias solubilizadoras de fósforo) han reducido la enfermedad en India. Allí se observó que el uso conjunto de *Trichoderma* y micorrizas vesiculares-arbusculares resultó en mayor rendimiento cuando fue comparado con plantas tratadas con dosis comercial de NPK (Hridya *et al*. 2013), lo cual abre una ventana a la explotación comercial de este cultivo con visión agroecológica.

Las clínicas de plantas: una experiencia positiva para el manejo de enfermedades con visión ecológica

La identificación de los agentes que afectan a un cultivo es un componente esencial para el manejo de plagas y enfermedades, por lo que los servicios de identificación tienen que considerar una amplia gama de posibilidades que va desde factores abióticos (condiciones del suelo, falta de nutrientes), factores bióticos (artrópodos, nematodos, fitopatógenos o malas hierbas), hasta factores culturales y climáticos (tormentas, granizo, lluvias excesivas o sequías) (Ausher *et al.* 1996).

Se estima que por lo menos un 40% de todos los cultivos son perdidos

en las fases de pre y pos cosecha a través de plagas, enfermedades, manejo inadecuado del suelo, cosecha y prácticas de almacenamiento (Oerke y Dehne 2004). La necesidad de abordar la seguridad alimentaria global a través del desarrollo rural es la a idea central de la iniciativa Plantwise de CABI.

Ayudando a los agricultores a perder menos controlando eficientemente las plagas y enfermedades, el rendimiento de los agricultores de subsistencia puede ser elevado para que puedan atender mejor la necesidad de sus familias, mientras contribuyen significativamente con la producción de alimentos de sus países. Al inicio del 2010, CABI, una organización internacional basada en ciencia, anunció el lanzamiento de la iniciativa de Plantwise, un programa global que busca crear recursos de información de salud de plantas y de sistema de vigilancia de plantas, beneficiando a los investigadores, políticos y agricultores. Las clínicas de plantas son conducidas por personas capacitadas en la región (que son entrenadas por CABI) y que visitan las áreas rurales cada semana. Los productores van a los mercados con muestras de plantas enfermas en busca de asistencia técnica para la identificación del problema y aprender más sobre este. La iniciativa de Plantwise está siendo impulsada por una expansión significativa, trabajando a nivel mundial con organizaciones e instituciones como Universidades, Ministerios y Agricultura y Sistemas de Extensión para crear un sistema sustentable y local de salud de plantas. CABI capacita a los técnicos como "doctores de plantas" para diagnosticar, ofrecer tratamientos y recomendaciones prácticas para los productores, gratuitamente, a través de las clínicas de plantas.

La llave para el éxito ha sido coordinar un equipo de colaboradores dispuestos y capaces (especialistas de las universidades, extensionistas, responsables por los laboratorios, vendedores de agroquímicos), que trabajan en conjunto, y puedan dar respuestas eficientes y prácticas de control (Danielsen y Kelly 2010).

A través de las clínicas de plantas se transfiere tecnología MIP con base a métodos alternativos de control, donde el control biológico es promovido. Para poder hacer posible que los productos biológicos lleguen a las zonas rurales se trabaja directamente con los gobiernos e instituciones de investigación, y empresas públicas y privadas, en especial con aquellas que trabajan en la multiplicación y comercialización de agentes de control biológico. De esta forma se asegura que la oferta de bioproductos en zonas rurales no sea la limitante para la implementación de programas de MIP, incluyendo al control biológico como un componente principal. Para esto es de gran importancia contar con el establecimiento de sistemas nacionales de salud de plantas.

Sistema de plantas sanas

Un sistema de salud de las plantas representa la acción mancomunada de las organizaciones de investigación, extensionistas, casas comerciales, entes del Gobierno y los agricultores con el objeto de promover la salud de las plantas mediante la prevención de plagas y enfermedades y así reducir las pérdidas en cultivos (Figura 3). Por una parte, los investigadores y extensionistas proporcionan los conocimientos para mejorar la salud de las plantas, mientras

que los proveedores de insumos, además de proporcionar conocimientos, proveen insumos como semillas, productos biológicos y productos fitosanitarios y fertilizantes y, por último, los entes reguladores del gobierno supervisan la producción, la venta y el uso de insumos agrícolas, así como usar las clínicas de plantas como fuentes de información y vigilancia, para proteger a los países contra plagas y enfermedades nuevas y emergentes.

El enfoque de los sistemas de salud de las plantas hace énfasis en clínicas de plantas como una parte central del sistema, las cuales tienen un papel fundamental en la prestación de servicios de asesoramiento en sanidad vegetal para los agricultores, además de servir como punto de partida para el enfoque de los sistemas de salud de plantas y catalizar nuevos patrones de interacción entre las partes interesadas (Fig. 3).

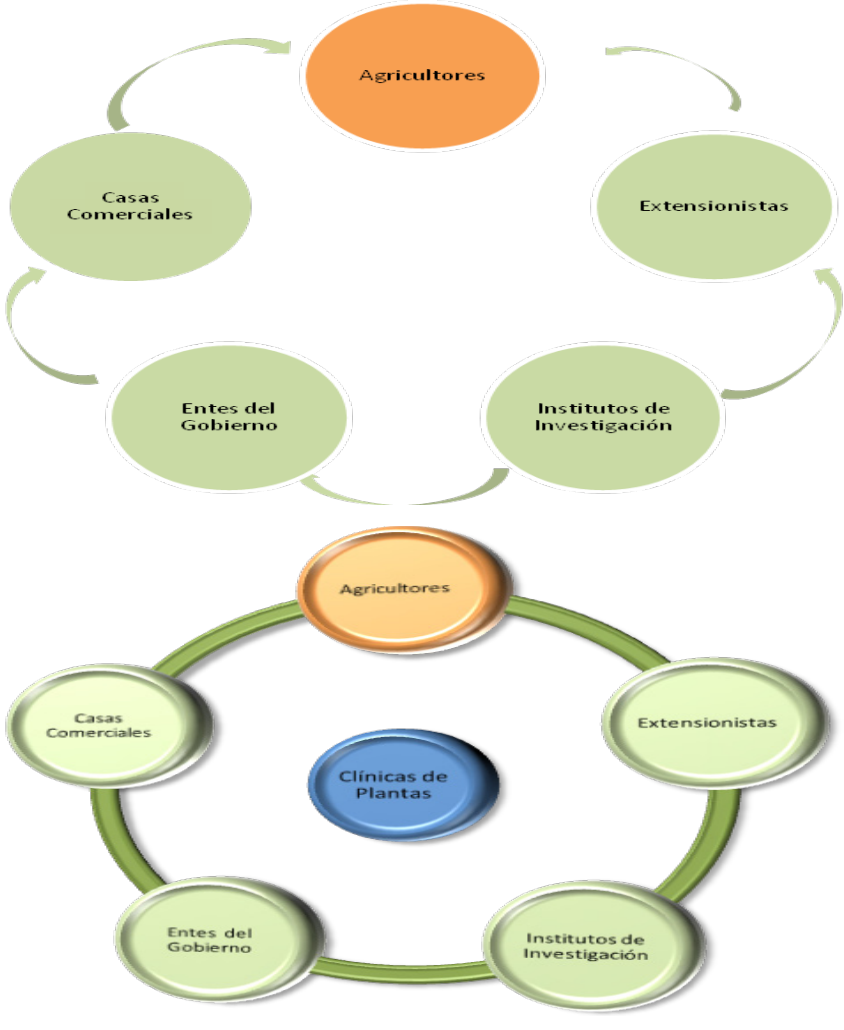

Figura 3. Interacciones entre los actores clave involucrados en la salud de las plantas en ausencia (A) y la presencia (B) de las clínicas de la planta.

Un elemento clave de los sistemas de salud de la planta es la evaluación del impacto de la vinculación de las clínicas con otros enfoques de extensión para crear sinergias y mejorar la eficacia general. Este enfoque es factible de ser utilizado en probar hipótesis, identificar las mejores prácticas y evaluar el impacto de tales prácticas, para lo cual se usarán estrategias como evaluaciones mediante entrevistas a actores clave, fuentes secundarias y pequeños grupos de discusión al inicio de las actividades. Esta información puede entonces ser utilizada como punto de partida o "línea base", que describe los roles, comportamientos e incentivo de los diferentes grupos de interés, así como la naturaleza de las interacciones entre ellos.

Consideraciones finales

Para una implementación más amplia de programas de control biológico de enfermedades en las islas del Caribe es importante establecer alianzas con países vecinos para un mayor intercambio de información y experiencias que puedan ser usadas como punto de partida, considerando las principales enfermedades que atacan a los cultivos de mayor relevancia en la región. Para esto también es importante que se establezcan políticas que incentiven el uso de control biológico dentro de los métodos alternativos de control, buscando disminuir la alta dependencia del uso de plaguicidas. El gran potencial observado en el Caribe, en base a la alta biodiversidad, debe tomarse en cuenta en estudios que ayuden a identificar agentes de control biológico que puedan ser utilizados dentro programas de manejo integrado de plagas en la región.

Bibliografía

Agarry OO, Akinyosoye FA, Adetuyi FC. 2005. Antagonistic properties of microorganisms associated with cassava *(Manihot esculenta* Crantz*)* products. African Journal of Biotechnology 4: 627-632.

Ausher R, Ben-Ze'ev I S, Black R. 1996.The role of plant clinics in plant disease diagnosis and education in developing countries. Annual Review of Phytopathology 34:51–66.

Baker RED, Holliday P. 1957. Witche's broom disease of cocoa (*Marasmius perniciosa* Stahel). Phytopathology Paper Nº 2.Kew UK. Commonwealth Micology Institut.

Bastos CN. 1996a. Potencial de *Trichoderma viride* no controle da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa*) do cacaueiro. Fitopatologia Brasileira 21: 509-512.

Bastos CN. 1996b. Mycoparasitic nature of the antagonism between *Trichoderma viride* and *Crinipellis perniciosa.* Fitopatologia Brasileira 21: 50-54.

Bastos CN, Dias CJ. 1992. Redução na produção de Basidiocarpos de *Crinipellis perniciosa* por *Trichoderma viride*. Summa Phytopatologica 18: 235-238.

Bennett RS, Arneson PA. 2003. Black sigatoka of bananas and plantains. The Plant Health Instructor.DOI:10.1094/PHI-I-2003-0905-01.

CARDI 2011.Commercial cassava production. Technical Bulletin. 16 p.

CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), 1979. Cassava Production Systems. Annual Report 1975, 1976, 1979.

Cook JR, Baker KF. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul, Minnesota. APS Press 539 p.

Côte FX, Abadie C, Achard R, Cattan P, Chabrier C, Dorel M, de Lapeyre de Bellaire L, Risède JM, Salmon F, Tixier P. 2009. Integrated pest management approaches developed in the French West Indies to reduce pesticide use in banana production systems. Acta Horticulturae 828:375-382.

Côte FX, Abadie C, Achard R, Cattan P, Chabrier C, Dorel M, de Lapeyre de Bellaire L, Risède JM, Salmon F, Tixier P. 2007. Integrated pest management approaches developed in the French West Indies to reduce pesticide use in banana production systems. ISHS Acta Horticulturae 828: International Symposium on Recent Advances in Banana Crop Protection for Sustainable Production and Improved Livelihoods.

Côte FX, Tomepke K, Staver C,Depigny S, Lescot T.,Markhan R. 2010. Agro-ecological intensification of banana and plantain (Musa spp.): an approach to develop more sustainable production systems for both small holder farmers and large scale commercial producers. En: Depigny S. (ed.) Proceeding an international Conference in Banana and Plantain in Africa. ISHS, Acta Horticulturae 879: 457-463.

Cruz C, Segarra A. 1996. Control Biológico de Plagas en la Zona del Caribe. *En:* Radcliffe EB, Hutchison WD, Cancelado RE (eds.). Radcliffe's IPM World Textbook. URL: http://ipmworld.umn.edu/chapters/cruzengl.htm, University of Minnesota, St. Paul, MN.

Danielsen S, Kelly P. 2010. A novel approach to quality assessment of plant health clinics. International Journal of Agricultural Sustainability 8: 257-269.

Datnoff LE, Nemec S, Pernezny K. 1995. Biological control of Fusarium Crown and root rot of tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. Biological Control 5:427-431.

De Marco JL, Felix CR. 2002. Characterization of a protease produced by a *Trichoderma harzianum* isolate which controls cocoa plant witches' broom disease. BMC Biochemistry. Disponible en: http://www.biomedcentral.com/1472-2091/3/3.

De Marco JL, Lima HL, Sousa MV, Felix CR. 2000. A *Trichoderma harzianum* chitinase destroys the cell wall of the pathogen *Crinipellis perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cocoa. World Journal of Microbiology and Biotechnology 16: 383-386.

De Marco JL, Valadares-Inglis MC, Felix CR. 2003. Production of hydrolytic enzymes by *Trichoderma* isolates with antagonistic activity against *Crinipellis perniciosa*, the causal agent of witches' broom of cocoa. Brazilian Journal of Microbiology34: 33-38.

Elango F. 1980. Relationship between *Xanthomonas manihotis* and *Xanthomona scassavae* and some epidemiological studies on Cassava Bacterial Blight.Ph.D. thesis, McGill Univ.301 pp.

Evans HC. 1980. Pleomorphism in *Crinipellis perniciosa*, causal agent of witches' broom disease of cocoa.Transactions of the British Mycological Society 74: 515-523.

FAOSTAT. 2011. Disponible en: http://faostat.fao.org/

Finlay AR, Brown AE. 1993. The relative importance of *Colletotrichum musae* as a crown-rot pathogen on Windward Island bananas. Plant Pathology 42: 67-74.

Gore JP, O'Garro LW. 1999. *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from bell pepper and tomato in Barbados undergoes changes in race structure, virulence and sensitivity to chemical control agents. Journal of Phytopathology 147: 286-391.

Griffiths GW, Hedger JN. 1994. The breeding biology of biotypes of the witches' broom pathogen *Crinipellisperniciosa.* Heredity 2: 278-289.

Hernandez, JMR. Laberry JC. Lozano. 1986. Observations on the Effect of inoculating cassava (*Manihot esculenta*) olantlets with fluorescent pseudomonads. Journal of Phytopathology 117: 17–25.

Hridya AC, Byju G, Misra RS. 2013.Effect of biocontrol agents and biofertilizers on root rot, yield, harvest index and nutrient uptake of cassava (*Manihot esculanta* Crantz). Archives of Agronomy and Soil Science 59: 1215-1227.

JegerMJ., Jeffries P. 1988. Alternatives to chemical usage for disease management in the post-harvest environment. Aspects of Applied Biology 17, 47-55.

Jones JB, Jones JP, Stall RE, Zitter TA. 1991. Compendium of Tomato Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

Joseph J, Elango F. 1991. The Status of Cassava Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* in Trinidad. Journal of Phytopathology 133:320-326.

Krauss U. 1996. Establishment of a bioassay for testing control measures against crown rot of banana. Crop Protection 15: 269-274.

Krauss U, Johanson A. 2000. Recent advances in the control of crown rot of in the Windward Islands. Crop Protection 19: 151-160.

Krauss U, Bidwell R, Ince J. 1998. Isolation and preliminary evaluation of mycoparasites as biocontrol agents against crown rot of banana. Biological Control-Theory and Application 13: 111-119.

Krauss U, Matthews P. 1997. Biocontrol of crown rot of banana by strain mixtures of mycoparasites.In: Iglesias J (Ed.), Primer Taller Internacional sobre Control Biológico y Producción Integrada en el Cultivo de Banano. Fundación Ambio, EARTH, Guápiles, CostaRica, 16-19:51-63.

Lorito M, Hayes CK, Di Pietro A, Woo SL, Harman GE. 1994. Purification, characterization, and synergistic activity of a glucan b-1,3-glucosidase and a N-acetyl- b-glucosaminidase from *Trichoderma harzianum*. Phytopathology 84: 398-405.

Lozano JC. 1986. Cassava bacterial blight: a manageable disease. Plant Disease 70:1089-1093.

Martínez-Bolaños L, Téliz-Ortiz D, Rodríguez-Maciel JC, Mora-Aguilera JA, Nieto-Ángel D, Cortés-Flores JI, Mejía-Sánchez D, Nava-Diaz C, Silva-Aguayo G. 2012. Resistencia a fungicidas en poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* del sureste mexicano. Agrociencia 46: 707-717

McGovern RJ, Polston JE, Danyluk GM, Hiebert E, Stansly PA. 1994. Identification of a weed host of tomato mot-tlegeminivirus in Florida. Plant Disease 78:1102-1106.

Momol T, Pernezny PJ, McGovern KR, Olson S. 2008. Three soilborne tomato diseases caused by *Ralstonia* and *Fusarium* species and their field diagnostics. Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Disponible en: http://plantpath.ifas.ufl.edu/rsol/RalstoniaPublications_PDF/IFASExtTomatoDis_PP205.pdf.

Moore LW. 1983. Recent advances in the biological plant disease. Biological control in crop production (BARC Symposium 5 – George,C. Paparizased.Allanheld, Totoiva.

Muse RB, Collin HA, Isaac S, Hardwick K. 1996. Effects of the fungus *Crinipellis perniciosa*, causal agent of witches' broom disease, on cell and tissue culture of cocoa (*Theobroma cacao* L.). Plant Pathology 45: 145-154.

Nemec S, Datnoff LE, Strandberg J. 1996. Efficacy of biocontrol agents in planting mixes to colonize plant roots and control root diseases of vegetables and citrus. Crop Protection 15:735–42.

Nilmanee S. 1986. Diseases of cassava. In: Raychaudhuri SP, Verma JP (eds.) Review of Tropical Plant Pathology. 3: 213-247.

Noronha EF, Ulhoa CJ. 1996. Purification and characterization of an endo-β-1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum.* Canadian Journal of Microbiology 42: 1039-1044.

O'Garro LW. 1998. Bacterial spot of tomato and pepper on four East Caribbean Islands: races, their abundance, distribution, aggressiveness, and prospects for control. Plant Disease 82: 864-870.

Ogunjobi AA, Fagade OE, Dixon AGO, Amusa N. 2007. Pathological variation in cassava bacterial blight (CBB) in Nigeria. World Applied Sciences Journal 2(6): 587-593.

Oerke EC., Dehne HW. 2004. Safeguarding production losses in major crops and the role

of crop protection. Crop Protection 23:275-285.
Orchcard J, Collin HA, Hardwick K, Isaac S. 1994. Changes in morphology and measurement of cytokine in levels during the development of witches' brooms of cocoa. Pant Pathology 43: 65-72.
Pannissi E. 2010. Armed and dangerous.Science 327: 804-805.
Papavizas GC.1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. Annual Review of Phytopatology 23: 23-54.
Pérez L. 2013. Estrategias para reducir el uso de agroquímicos en bananos y plátanos. XX Reunião Internacional da Associação para a Cooperação em Pesquisa e Desenvolvimento Integral das Musáceas (Bananas e Plátanos) 9 al 13 de Septiembre de 2013, Fortaleza, Brasil.
Pérez M, Rebullido R, Pérez L. 2004. Líneas base de sensibilidad de las poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. de Cuba, a los fungicidas Azoxystrobin y Trifloxystrobin. Fitosanidad 8: 41-47.
Phelps RH. 1977. Confirmation of the presence of a destructive Cassava pathogen in Trinidad.In CARDI Annual Report. UWI Campus, St. Augustine, Trinidad.
Piard JC, Desmazeaud MJ. 1992. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. Bacteriocins and other antibacterial substances. Lait72: 113-142.
Rampersad SN. 2003. Proposed strategies for begomovirus disease management in tomato in Trinidad. Plant Health Progress. October: 1-5.
Samuels GJ, Pardo-Schultheiss R, Hebbar KP, Lumsden RD,Bastos CN,Costa JC, Bezerra JL. 2000. *Trichoderma stromaticum* sp. nov., a parasite of the cacao witches broom pathogen. Mycological Research 104: 760–764.
Sierotzki H, Parisi S., SteinfeldU, Tenzer I,Poirey S, Gisi, U. 2000. Mode of resistance to respiration inhibitors at the cytochrome bc_1 enzyme complex of *Mycosphaerella fijiensis* field isolates. Pest Management Science 56: 833–841.
Soler A, Marie-Alphonsine PA, Corbion C, Fernandes P, Gonzalez NP, Gonzalez R, Repellin A, Declerck S, Quénéhervé P. 2013. A strategy towards bioprotection of tropical crops: experiences and perspectives with induced systemic resistances on pineapple and banana in Martinique.IOBC/WPRS Bulletin 89: 351-356.
Srivastavaa R, Khalidb A, Singhc US, Sharma AK. 2010. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent *Pseudomonas* and *Trichoderma harzianum* formulation against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* for the management of tomato wilt. Biological Control 53: 24–31.
Terry ER, Persley GJ, Cook SCA. (eds). 1979. Cassava Bacterial Blight in Africa: past, present and future. C.O.P.R., London.
Vanterin L, Hoste B, Kersters KF, Swings J. 1995. Reclassification of *Xanthomonas*. International Journal of Systematic Bacteriology 34: 361-378.
Vero S, Mondino P. 2002. Control biológico de enfermedades de plantas. pp. 81-97. In: Domingues A, Prieto R (Eds.) Perfil Ambiental del Uruguay. Montevideo. Nordan.
Ward HP, O'Garro LW. 1992. Bacterial spot of pepper and tomato in Barbados. Plant Disease 76: 1046-1048.

Capítulo 5

Control biológico de enfermedades de plantas en Chile

Jaime R. Montealegre A.[1], Luz M. Pérez R.[*2]

*[1] Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santa Rosa 11315, La Pintana. Santiago-Chile. E-mail: jmonteal@uchile.cl; [2]Asesorías e Inversiones Biostrategy Limitada. *Autor para correspondencia: biostrategy.perez2@gmail.com*

Situación Actual

La investigación en el uso de biocontroladores de enfermedades de las plantas en Chile se ha incrementado significativamente luego de la realización del Primer Curso de Enfermedades de Plantas efectuado en 1992 en la Universidad de Chile. Ha estado enfocada fundamentalmente al desarrollo de agentes fungosos de biocontrol, destacándose hongos del género *Trichoderma* ya sean nativos o mejorados. No obstante lo anterior, también se ha investigado sobre el uso de bacterias dentro de las cuáles destacan aquellas del género *Bacillus*. Los principales patógenos que se han considerado en las investigaciones han sido y son de tipo fungoso, entre los que se puede mencionar a *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Erwinia carotovora*, *Phytophthora* spp. y *Pyrenochaeta lycopersici* que afectan a cultivos agrícolas. También se ha investigado en enfermedades de la madera de la vid y de especies forestales. La investigación incluye tanto ensayos a nivel de laboratorio en los que se estudian los aspectos moleculares de la interacción entre planta-patógeno-biocontrolador, como ensayos de invernadero y de campo. Los proyectos de investigación y desarrollo han sido financiados fundamentalmente por Agencias del Estado de Chile (FONDECYT, FIA, Innova CORFO, entre otras) (Montealegre 2013a).

Actualmente existen 17 productos biológicos que se comercializan en Chile y que se encuentran oficialmente registrados en el Servicio Agrícola y Ganadero. Aun cuando en su mayoría no son el resultado de las investigaciones realizadas en el país, reflejan el interés nacional en la utilización de agentes de biocontrol en los programas de manejo de enfermedades. No obstante, las

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

principales limitantes y desafíos del biocontrol de enfermedades de plantas en Chile, se relacionan con la introducción y uso de productos importados con insuficiente o nula investigación en el país, dudosa calidad y efectividad de las formulaciones, propaganda engañosa sobre forma de control y nivel de efectividad de ciertos productos que se ofrecen en el mercado ya sea como biofungicidas o biobactericidas (Montealegre 2013a).

Los antecedentes que se informan a continuación, corresponden al trabajo realizado por los investigadores que se enumeran al término del capítulo chileno.

Bases moleculares para el control biológico

Los estudios realizados en Chile a partir de la década de 1980, han incluido ensayos a nivel molecular que permitieron la comprensión de los mecanismos de biocontrol de enfermedades de plantas, para su aplicación posterior en ensayos de invernadero y de campo. Se utilizaron diferentes modelos de interacción planta - patógeno, con el objeto de establecer en primer término cuales eran aquellas moléculas o metabolitos que pudieran ejercer una acción disuasiva y/o tóxica para insectos y microrganismos. Más adelante, el análisis de la respuesta de hipersensibilidad (HR) estudiada en algunos modelos Planta-Hospedero, sirvieron de base para los estudios sobre los mecanismos moleculares y moléculas específicas que participan en el biocontrol, para la selección de biocontroladores y para el mejoramiento de la capacidad antagónica, de aquellos previamente seleccionados. Adicionalmente, los estudios a nivel molecular han permitido ir comprendiendo como se desarrollan las relaciones de compatibilidad e incompatibilidad en los diferentes modelos estudiados, incluyendo las que favorecen o impiden la infección o infestación de un determinado tejido vegetal, y como algunos de los mecanismos de defensa contra patógenos que utilizan los sistemas vegetales, son análogos a los que utilizan los biocontroladores en su actividad antagónica. La secreción y número de quitinasas producidas por los biocontroladores han permitido seleccionar a diferentes especies del género *Trichoderma*, y posteriormente obtener mutantes mejoradas en su capacidad biocontroladora (Pérez 2013).

La aplicación de estos conocimientos al control biológico ha permitido avanzar en nuevas estrategias con relación a proponer una solución a problemas específicos de una especie vegetal en su interacción con determinados patógenos (Pérez 2013).

Control biológico de enfermedades en frutales

El control biológico se reconoce como una alternativa de control, amigable con el ambiente, la salud humana y animal, útil para el manejo de las enfermedades producidas por *Botrytis cinerea* en especies frutales. Existen numerosos microorganismos posibles de emplear con estos propósitos. No obstante, *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp. son los principales agentes antagónicos de *Botrytis cinerea* actualmente utilizados en Chile. La acción antagónica de

estos microorganismos se ha evaluado, tanto en Chile como en otros lugares, obteniéndose resultados consistentes bajo condiciones de laboratorio, invernadero y de campo. Sin embargo, la agresividad de *Botrytis cinerea* en uva de mesa y otros frutales, que a menudo conduce al desarrollo de severas epifitias en muy breve tiempo, ha limitado su uso. Bajo estas circunstancias, el grado de control obtenido con agentes antagónicos suele ser insuficiente para responder a las exigencias del mercado internacional (ej., prevalencia <0,5% de pudrición gris en uva de mesa). Por lo tanto, el control biológico se debe emplear conjuntamente con otras estrategias de control en el manejo de la pudrición gris. A pesar de los numerosos trabajos de investigación sobre control biológico de *Botrytis cinerea* en Chile, parece necesario continuar e intensificar estas investigaciones con el propósito de mejorar cada vez mas la eficacia del control biológico contra *Botrytis cinerea* es especies frutales (Latorre 2013).

Considerando la importancia de los hongos que producen enfermedades de la madera de la vid en Chile, se han iniciado trabajos de investigación tanto *in vitro* como a nivel de campo evaluando el nivel de control de estos con cepas de *Trichoderma harzianum* tanto nativas como mejoradas comparándolas con el producto comercial Trichonativa. Se han evaluado formulaciones sólidas y líquidas y se ha determinado el efecto residual en el suelo. Los resultados obtenidos permiten concluir que existe una mayor persistencia en el suelo de formulaciones sólidas, lo que se expresa en un mayor rendimiento en parronales que poseen antecedentes de Pie negro de la vid. También se ha evaluado *in vitro* el efecto de bacterias bioantagonistas nativas obteniéndose buenos resultados en el control de *Ilyonectria macrodidyma* entre otros hongos que producen enfermedades de la madera de la vid (Montealegre 2013b).

El control biológico de patógenos en postcosecha se encuentra aun en etapas preliminares de desarrollo en Chile, existiendo información inicial sobre el uso de levaduras y hongos extremófilos que pueden resistir las temperaturas de almacenamiento de uva y manzana (Vargas 2013).

Control biológico de enfermedades en hortalizas

Tomate y Pimiento

Las enfermedades fungosas causadas por *Rhizoctonia solani*, por *Pyrenochaeta lycopersici,* por *Fusarium solani* y por *Phytophthora nicotianae* que afectan al tomate (*Solanum lycopersicum*) han sido las más estudiadas.

La investigación realizada en Chile ha demostrado que es factible controlar *Rhizoctonia solani* en tomate utilizando cepas nativas y/o mejoradas de *Trichoderma harzianum.* También se han obtenido buenos resultados en ensayos realizados usando bacterias como *Paenibacillus lentimorbus* y *Bacillus subtilis.* Además existen en el mercado bioantagonistas comerciales recomendados para el control de este patógeno como: Harztop (*Trichoderma harzianum* Cepa 22), Binab T WP (*Trichoderma harzianum* y *Trichoderma polysporum*), Tricho D WP (Montealegre 2013c).

Los estudios realizados sobre la Raíz Corchosa causada por *Pyrenochaeta lycopersici* indican que esta enfermedad podría ser controlada en parte por las cepas nativas de *Trichoderma harzianum* Th11, Th12, Th291 y Th650. A su vez, el uso de solarización potencia el efecto inhibitorio de estas cepas nativas. Por lo mismo, el control con cepas nativas debiera enfrentarse a través de una estrategia de manejo integrado. La obtención de mutantes (UV-A, UV-C y fusión de protoplastos) con capacidad de desarrollo superior a 15 ºC con relación a las cepas parentales de *Trichoderma*, deberán ser evaluados en condiciones de invernadero y de campo. A futuro se espera explorar el uso combinado de cepas de *Trichoderma harzianum,* tanto nativas como mejoradas, con bacterias biocontroladoras (Besoain 2013a).

El uso de *Trichoderma*, como controlador biológico de *Fusarium* spp., se ha estudiado en el contexto de su aplicación dentro de un programa de control preventivo. El uso de este tipo de biocontrolador puede actuar adicionalmente sobre varios otros patógenos, e implementarse con otras estrategias de control integrado. No obstante lo anterior, se hace indispensable continuar con los estudios que permitan obtener cepas con mayor efectividad, mayor persistencia y adaptables a distintas condiciones del medio y por otro lado, realizar investigaciones detalladas de las interacciones entre los microorganismos y la planta huésped, para seguir mejorando el control biológico de las enfermedades, reduciendo así el uso de compuestos químicos (Herrera 2013).

Se han realizado estudios preliminares que incluyen el efecto de la temperatura y el pH en el desarrollo tanto de biocontroladores del género *Trichoderma* como de *Phytophthora nicotianae* y *Phytophthora capsici*, que afectan al tomate y al pimiento respectivamente. Estos estudios muestran que no existen coincidencias exactas entre las temperaturas y pH de los desarrollos óptimos de biocontroladores y patógenos, lo que se reflejó en índices de control menor a los esperados. Este hecho impulsó el desarrollo de mutantes para lograr un mejor control de estos patógenos (Besoain 2013b).

Otras hortalizas

Los resultados de investigación logrados en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad de Talca, luego de estudiar el efecto de *Trichoderma* sobre diferentes especies vegetales (Acelga (*Beta vulgaris* var. *cycla*); Achicoria (*Cichorium intybus*); Ají (*Capsicum annuum*); Albahaca (*Ocimum basilicum*); Alcachofa (*Cynara scolymus*); Apio (*Apium graveolens* var. *dulce*); Berenjena (*Solanum melongena*); Betarraga (*Beta vulgaris* var. *hortensis*); Brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*); Cebolla (*Allium cepa*); Cilantro (*Coriandrum sativum*); Col China, Coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*); Endivia (*Cichorium endivia*); Espárrago (*Asparagus officinalis*); Espinaca (*Spinacea oleracea*); Lechuga (*Lactuca sativa*); Melón (*Cucumis melo*); Pepino (*Cucumis sativus*); Perejil (*Petroselinum crispum*); Pimentón (*Capsicum annuum*); Radicchio (*Cichorium intybus* var. *foliosum*); Repollito de Bruselas (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*); Repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata*); Sandía (*Citrullus lanatus*); Tomate (*Lycopersicon esculentum*); Zapallo de Guarda (*Cucurbita maxima*) y Zapallo Italiano (*Cucurbita pepo*) permitieron: a) demostrar a los agricultores la efectividad de los biocontroladores utilizados, quienes

introdujeron su uso en sus planes normales de manejo, b) generar una demanda constante por estos microorganismos evaluados, c) desarrollar un sistema semi-continuo de producción de las distintas cepas de *Trichoderma*, para satisfacer las demandas tanto de proyectos de investigación como de los agricultores, d) establecer las bases preliminares para una producción comercial local de las cepas de *Trichoderma*.

Todo lo anterior ha permitido el desarrollo de biocontroladores para ser utilizados en la prevención de enfermedades causadas por *Fusarium solani*; *Fusarium oxysporum*; diferentes especies de *Phytophthora*, *Venturia inaequalis* y *Botrytis cinerea*, los que actualmente son comercializadas por la empresa Bio Insumos Nativa, empresa establecida a partir de los proyectos ejecutados por el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad de Talca. Los productos biocontroladores actualmente están registrados en el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), siendo Trichonativa, el producto que se recomienda para ser usado en el manejo de enfermedades que afectan las hortalizas de la Región del Maule y de Chile (Lolas y Sandoval 2013).

Control biológico de enfermedades en cereales

Los estudios y resultados obtenidos en este ámbito concluyeron con la identificación de suelos supresivos a la pudrición radical del trigo, causada por el hongo ascomycete *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, en suelos agrícolas del sur de Chile. Esta información constituye la primera referencia para el país sobre la existencia de suelos con propiedades de inhibición natural de esta enfermedad. La posterior caracterización microbiológica de suelos con propiedades supresivas y conductivas a la enfermedad, corroboró la naturaleza biológica de este fenómeno y permitió aislar, evaluar y seleccionar microorganismos fungosos y bacterianos con potencial biocontrolador del hongo patógeno. Si bien los diferentes biocontroladores de *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* evaluados bajo condiciones controladas de invernadero en suelo estéril y natural, demostraron una notable capacidad para inhibir la infección radical llegando incluso hasta un 100% de control, las posteriores evaluaciones en campo resultaron con magnitudes de control variables e inconsistentes. Al seleccionar dentro de estos mismos biocontroladores, aquellos que poseían altos niveles de tolerancia a dos fungicidas comúnmente empleados como desinfectantes de semilla de trigo, triadimenol y triticonazole, para ser empleados como tratamientos complementarios en campo, los resultados fueron de impacto relativo y baja consistencia, no logrando los antagonistas igualar o superar a los tratamientos con fungicida a la semilla, excepto cuando se empleó una mezcla de biocontroladores bacterianos complementariamente al tratamiento con triadimenol a la semilla (Andrade 2013).

Independiente de lo anterior, este extenso estudio abre nuevas líneas de investigación y expectativas sobre el control biológico de esta severa enfermedad del trigo. Aspectos como la formulación, concentración, distribución y mezcla de agentes de control biológico, deben ser abordados con mayor persistencia y profundidad. Dilucidar el fenómeno de la supresividad biológica natural de los

suelos, es otro aspecto que aparece como evidente y prioritario de investigar, para poder desarrollar una estrategia más eficaz que contribuya a disminuir el impacto de la pudrición radical del trigo (Andrade 2013).

Control biológico en especies forestales

La recopilación de información desde publicaciones científicas y congresos, indica que la investigación en control biológico en la producción forestal en Chile está recién comenzando y se ha enfocado exclusivamente a patologías que ocurren en viveros forestales. Sin embargo, los primeros resultados experimentales confirman que con la aplicación de agentes de biocontrol se puede alcanzar una eficacia similar a la obtenida con productos químicos, posicionándolos como una alternativa para incluirlos en programas de manejo integrado de enfermedades, con los consecuentes beneficios ambientales (Sanfuentes *et al*. 2013).

Las actuales restricciones a la aplicación de varios pesticidas, incluidos en las certificaciones internacionales, generan una importante oportunidad para que la investigación en control biológico sea incrementada en el corto plazo. Los pasos siguientes, una vez obtenidos los agentes de biocontrol eficaces, es profundizar en estudios de ecología microbiana y mecanismos de antagonismo, y especialmente sobre aspectos asociados a tecnología de formulación, que permitirán llegar a formular un producto de biocontrol comercial.

El control biológico entrega además una importante vía para desarrollar una nueva industria nacional, de carácter tecnológico, que proporcione soluciones eficaces a los principales problemas patológicos del sector, aprobado ambientalmente y que permitiría generar nuevos empleos a la economía. ¿Es factible pensar en esto? Las experiencias internacionales lo avalan, con un importante número de productos biológicos registrados y comercializados, como también la incipiente experiencia nacional, como el ejemplo del desarrollo de Trichonativa® y *Nacillus*® para el control de enfermedades en cultivos agrícolas (Sanfuentes *et al*. 2013).

Control de enfermedades bacterianas mediante el uso de bacterias

La investigación sobre el uso de bacterias como agentes de biocontrol en enfermedades bacterianas en Chile es incipiente. Actualmente, el único biocontrolador que se utiliza comercialmente para controlar bacterias fitopatógenas en el país, corresponde a *Rhizobium radiobater* K84 que se aplica para controlar a *Rhizobium radiobacter* que produce las Agallas del cuello en frutales (Montealegre y Pérez 2013).

Mercado, normativa, legislación y tendencias para el control biológico de las enfermedades de plantas en Chile

La tendencia a nivel mundial, impulsada principalmente por los consumidores, es exigir alimentos sanos, de alta calidad, que su producción no constituya un peligro para la salud humana, para la salud animal ni para el medio ambiente. Una de las maneras de satisfacer estos requerimientos es la utilización de insumos ecológicos en los diversos sistemas productivos, es decir, la utilización de insumos que tienen como característica bajo impacto ambiental, bajas carencias y toxicidad, cuyo uso no se limite solo a la agricultura orgánica.

Por otra parte, los costos de producir agroquímicos han ido en aumento, por lo que grandes empresas químicas están incursionando en el mercado de los biopesticidas, el cual se está expandiendo rápidamente y se estima para los próximos 10 años un aumento de 150 a 300%.

Considerando los resultados obtenidos en encuestas a productores, el 100% de los productores y asesores están optando por utilizar e incorporar a sus planes de manejo la utilización de insumos ecológicos, principalmente por motivos de certificación; tolerancias, carencias y residuos; precio, calidad de producto; disponibilidad en el mercado y formulación. Dentro de los aspectos que favorecen su utilización se encuentra su eficacia y bajo impacto sobre el medioambiente. También señalaron que el alto precio, desconocimiento, poca disponibilidad, certificación y la falta de apoyo técnico post-aplicación constituyen alguno de los problemas que enfrentan en el uso de insumos ecológicos (Donoso 2013).

En Chile existe investigación en control biológico e insumos ecológicos realizada por Centro Tecnológico de Control Biológico del INIA, Universidad Austral de Chile, Universidad de Chile, Pontificia Universidad Católica de Chile, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Universidad de Concepción, Universidad de Talca y Bioinsumos Nativa Ltda., quienes son los que cuentan con productividad científica y tecnológica comprobable. Algunas de las empresas nacionales además de realizar la investigación, distribuyen sus insumos, mientras que otras han entregado la distribución a cadenas de comercialización establecidas a través de distribuidores de insumos agrícolas, lo que permite dar a conocer estos productos (Donoso 2013).

El proceso de registro de plaguicidas en Chile está basado en directrices FAO, por lo que la normativa nacional cuenta con un respaldo reconocido internacionalmente en su elaboración. La evaluación y análisis de la normativa nacional de plaguicidas corresponde a una labor realizada en forma continua por el Servicio Agrícola y Ganadero, para contar con plaguicidas que entreguen al usuario la seguridad en su uso y manejo, y de esta manera proteger la salud de la población, de los animales y del medioambiente. Al tratarse de un tema altamente dinámico, el Servicio Agrícola y Ganadero debe necesariamente realizar esta acción, para apoyar el desarrollo de la agricultura nacional, e implementar procesos que permitan que el país se convierta en una potencia agroalimentaria. Este sistema ha colaborado en el desarrollo agrícola nacional y en el reconocimiento

internacional, como país exportador de productos silvoagropecuarios, trabajados y elaborados con los correspondientes estándares de inocuidad, que entregue la tranquilidad necesaria al consumidor final (Figueroa 2013).

Sin embargo, existen normativas contradictorias, Resolución 2229 v/s Resolución 3670, Ingreso de material biológico y Registro de productos para el control de plagas o enfermedades, respectivamente que deben ser modificadas, debido a que muchas empresas con baja capacidad técnica se acogen a la Resolución 2290, normativa que no exige estudio toxicológico, eco toxicológico ni ensayos de efectividad, lo que genera riesgos de inocuidad y riesgo de imagen por falta de respaldo técnico, además de generar competencia asimétrica con las empresas que se ajustan a la Resolución 3670 (Donoso 2013).

En cuanto a la estructuración de la agricultura chilena, se puede concluir que en Chile existen dos realidades contrastantes:

- Agricultura extensiva y para mercado interno.
  - Uso basado en mejor desempeño de los insumos ecológicos y problemas no resueltos químicamente (patógenos de suelo, bacterias, fertilizantes de entrega lenta).
  - Incremento de exigencias en retail y agroindustria.
  - Reducción de insumos disponibles.
  - Pero sin diferenciación en la venta y sin sobreprecio o mejores condiciones de comercialización.
  - Baja inversión en I+D+i en insumos específicos.
  - Inversión en tecnologías complementarias (principalmente mejoramiento genético).

- Agricultura de exportación
  - En total sintonía con tendencias mundiales.
  - Se suma complejidad por tiempos de almacenaje y post cosecha.
  - Respuesta de la cadena de comercialización y sobreprecio o mejores condiciones de comercialización
  - Inversión en I+D+i en insumos ecológicos.
  - Inversión en tecnologías complementarias (monitoreo, detección temprana, desarrollo varietal).

En primer lugar se plantean las acciones que debe realizar en forma obligatoria el estado, siendo uno de las debilidades más sentidas por la industria de insumos ecológicos el tema de legislación. En este aspecto se detectaron como puntos críticos, la existencia de normativas contradictorias, que generan confusión entre los agricultores y permite el ingreso al mercado de productos, sin la necesidad de establecer con base científica, la calidad, inocuidad y eficacia de los insumos. La complejidad de registro de insumos con capacidad de control, al parecer pasa más por un tema de capacidad técnica y financiera de las empresas, para poder generar la información necesaria y efectuar el registro. Aquí se genera una asimetría con empresas internacionales, ya que buena parte de la información que aborda los temas de toxicidad, ecotoxicidad y características físico químicas, así como la determinación de formas de acción, sirven para obtener registro

prácticamente en cualquier país, lo que genera una asimetría entre empresas nacionales y transnacionales, ya que las últimas pueden prorratear la inversión en un mercado mucho mayor que las empresas sólo presentes en Chile (Donoso 2013).

Dentro de este ámbito, se postula equiparar la legislación Chilena, con lo que se utiliza en la Comunidad Europea y EE.UU., a través de la generación de una resolución, que contenga una lista de insumos de mínimo riesgo, que facilite y acelere el registro de insumos ecológicos. Esto implica la generación de información básica en los temas de ecotoxicidad, en la generación de capacidad instalada para la realización de estos análisis y en el fortalecimiento del subdepartamento de plaguicidas y fertilizantes del Servicio Agrícola y Ganadero. Esto también debería considerar la homologación de las normativas chilenas, con las de los países vecinos, de forma que sea fácil la expansión de productos desarrollados en Chile en países como Argentina, Brasil, Perú y Ecuador (Donoso 2013).

El otro ámbito en que el estado debe intervenir, es la integración de la pequeña agricultura al uso de estos insumos, como manera de incrementar la inocuidad y sustentabilidad de esta forma de producción. Esto se plantea realizar a través de la generación de campañas de diferenciación de los alimentos producidos con el uso de estos insumos, tanto para la exportación como para el mercado interno. También se plantea incluir aspectos de inocuidad, sustentabilidad y participación de la pequeña agricultura en las compras que realice el estado, tanto en alimentos como en insumos. Por último, la pequeña agricultura requiere apoyo tanto en la adopción de estos insumos, como en soporte técnico especializado, lo que debe ir asociado a tecnologías complementarias, como son monitoreo de plagas, uso de mallas, uso de modelos climáticos, sistemas de riego y de aplicación de insumos. Y finalmente apoyar la generación de estrategias, de administración, marketing y comercialización para este tipo de agricultores, de manera de rentabilizar la adopción de las tecnologías ya mencionadas (Donoso 2013).

Dentro de las debilidades detectadas en los insumos presentes en Chile, están los aspectos de calidad y formulaciones, lo que requiere que los programas I+D+i de estos insumos deban considerar el desarrollo de líneas de producción, formulación y controles de calidad, que permitan que estos productos respondan a las exigencias del mercado y faciliten la internacionalización de estos insumos. Esto genera la necesidad de incluir estrategias de protección intelectual. Dentro del desarrollo de insumos, se ve con alto potencial de crecimiento el estudio de los problemas fitosanitarios y de fertilización, que no han sido resueltos por la industria química, de forma que facilitar la inserción de estos productos (Donoso 2013).

Por último, existen ámbitos que son de directa responsabilidad de la industria, entre los que destacan estandarización de la producción de insumos, obtención de certificaciones de calidad, generación de información de respaldo con peso científico, que aseguren la eficacia y nivel de confiabilidad en el uso de estos insumos.

Logrando superar estos desafíos, es altamente esperable lograr una industria nacional relevante a nivel mundial, en el desarrollo de insumos

ecológicos con beneficios como reducción en el costo de uso de insumos por parte de los agricultores, generación de un polo de desarrollo en investigación y tecnología e inversión empresarial semejante al desarrollo farmacéutico y químico que se generó en Suiza durante el siglo pasado, en el que estos rubros pasaron a ser una de las principales fuentes del PIB de ese país. Chile con el nivel de biodiversidad, endemismo y capacidades de recursos humanos y costos de investigación, se presenta con alta potencialidad para generar un desarrollo similar en el aspecto biotecnológico, enfocado en insumos ecológicos. En ese sentido, ya existen algunos ejemplos como los de Natural Response con extractos de Quillay y los de Bio Insumos Nativa, con su línea de productos (Donoso 2013).

Investigadores citados

Orlando Andrade V.
Escuela de Agronomía, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco. Av. Rudecindo Ortega 02950, Temuco – Chile.
E-mail: oandrade@uct.cl

Ximena A. Besoain
Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, San Francisco s/n, La Palma, Quillota – Chile.
E-mail: xbesoain@ucv.cl

Eduardo Donoso C.
Escuela de Agronomía, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Campus San Isidro Km 6 Los Niches, Curicó – Chile.
E-mail: edonoso@ucm.cl

Ignacio Figueroa Cornejo
Servicio Agrícola y Ganadero, División de Protección Agrícola y Forestal, Santiago – Chile
E-mail: plaguicidas@sag.gob.cl

Gastón González Vargas
Biocaf Ltda. Camino a Coronel, km 18, Concepción – Chile

Rodrigo A. Herrera Cid
Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santa Rosa 11315, La Pintana. Santiago – Chile.
E-mail: rherrera@uchile.cl

Bernardo A. Latorre
Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago – Chile.
E-mail: blatorre@uc.cl

Mauricio Lolas
Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca, 2 Norte 685, 3465548 Talca – Chile.
E-mail: mlolas@utalca.cl

Jaime R. Montealegre A.
Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santa Rosa 11315, La Pintana. Santiago – Chile.
E-mail: jmonteal@uchile.cl

Luz M. Pérez R.
Asesorías e Inversiones Biostrategy Limitada. Santiago – Chile.
E-mail: biostrategy.perez2@gmail.com

Claudio Sandoval
Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca, 2 Norte 685, 3465548 Talca – Chile.
E-mail: csandoval@utalca.cl

Eugenio Sanfuentes Von Stowasser
Laboratorio de Patología Forestal, Facultad de Ciencias Forestales, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción. Concepción – Chile.
E-mail: esanfuen@udec.cl

Marisol Vargas
Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Vicente Méndez 595, Chillán, Chile
E-mail: marisolvargas@udec.cl

Salomé Zaldúa Flores
Laboratorio de Patología Forestal, Facultad de Ciencias Forestales, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción. Concepción – Chile.

Bibliografía

Andrade O. 2013. Control biológico de la pudrición radical, o mal del pié del trigo, en la zona sur de Chile. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 89 – 98. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Besoaín X. 2013a. Control biológico de *Pyrenochaeta lycopersici* en tomates. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp.65 – 68. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Besoaín X. 2013b. Control biológico de *Phytophthora* en tomates y pimientos desarrollados bajo invernadero. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 69 – 72. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Donoso E. 2013. Situación del control biológico en chile: mercado, legislación y percepción de los agricultores. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 121 – 137. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Figueroa I. 2013. Marco normativo de registro de plaguicidas de uso agrícola y forestal en Chile. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 139 – 143. Disponible on

line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Herrera R. 2013. Control biológico de fusariosis en tomate en Chile. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 73 – 78. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Latorre B. 2013. Control biológico de *Botrytis cinerea* en especies frutales en Chile. En: Montealegre JR y Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 35 – 44. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Lolas M, Sandoval C. 2013. Control biológico de enfermedades fungosas en diferentes hortalizas. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 79 – 85. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Montealegre JR. 2013a. Contexto de la situacion del control biológico en Chile. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 13 – 19. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Montealegre JR. 2013b. Control biológico de enfermedades de la madera de la vid. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 45 – 47. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Montealegre JR. 2013c. Control biológico de *Rhizoctonia solani* (Kühn) en el cultivo del tomate. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 61 – 64. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Montealegre JR, Pérez LM. 2013. Biocontrol de enfermedades bacterianas mediante la utilizacion de bacterias. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 115 – 117. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Pérez LM. 2013. Bases moleculares del control biológico y su desarrollo en Chile. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 21 – 31. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Sanfuentes E, González G, Zaldúa S. 2013. Control biológico en especies forestales en Chile. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 101 – 111. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Vargas M. 2013. Control biológico de patógenos en postcosecha de frutas. En: Montealegre JR, Pérez LM (eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 49 – 57. Disponible on line en: (http://www.agren.cl/control_biologico_de_enfermedades_de_plantas_en_chile)

Capítulo 6

Control biológico de enfermedades de plantas en Colombia

Alba Marina Cotes

[1]*Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria CBB. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA. AA 240142, Bogotá. E-mail: amcotes@corpoica.org.co*

Introducción

El control biológico de enfermedades de las plantas mediante la utilización de microorganismos es considerado como una de las alternativas más deseables y factibles en el manejo de las plagas en agricultura, pues puede proveer un control adecuado de éstas, dentro de los conceptos más recientes de agricultura sostenible. En Colombia la popularidad de los bioplaguicidas para el control de fitopatógenos se ha incrementado sustancialmente en los últimos años, donde varios Centros de investigación están dirigiendo sus esfuerzos hacia el desarrollo y promoción del uso de bioplaguicidas.

Colombia, considerado como país megadiverso, posee varios tipos de ecosistemas dentro de los que se destacan los costeros, marinos y de agua dulce, ecosistemas de montaña y forestal. Teniendo en cuenta que los países megadiversos tienen un 60-70% de la diversidad biológica del planeta (Hanson *et al*. 2009) estos deberían tener una participación significativa en el aprovechamiento del potencial de la biotecnología y de la bioprospección para lograr un desarrollo económico sostenible. Estas características deberían permitir la selección de microorganismos con características especiales como la actividad biocontroladora de patógenos de plantas y la adaptación al medio ambiente. Sin embargo, muchos de los bioplaguicidas registrados en Colombia se basan en microorganismos conocidos, en su mayoría reportados en países desarrollados y obtenidos a partir de colecciones internacionales, por lo que no hay descubrimientos de nuevos microorganismos biocontroladores que hayan permitido el desarrollo de bioplaguicidas. Tampoco se ha avanzado en el desarrollo de productos que permitan ejercer un control eficiente de fitopatógenos específicos del trópico, especialmente para los cultivos propios de la región, con

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

los que se podría competir en mercados internacionales de alto valor.

Hawksworth (2006) estimó que podría haber hasta 1,5 millones de especies de hongos diferentes, de los que sólo alrededor de 69.000 han sido descritos. Dentro de estos, los usados en control biológico representan un pequeño grupo de especies de géneros conocidos. Varios de ellos han sido reportados en América Latina, pero casi siempre ha sido por grupos de investigación provenientes de países desarrollados.

El logro de un bioplaguicida implica el cumplimiento de diversas etapas se técnicas en que aseguren la obtención de un producto seguro, eficaz y confiable. Dichas etapas comprenden el aislamiento del microorganismo y conservación, la evaluación de su actividad biocontroladora, estudios para conocer la taxonomía, fisiología y ecología del potencial biocontrolador, el estudio de los mecanismos de acción implicados en dicha actividad, su producción masiva, su formulación, la determinación de dosis, formas y frecuencias de aplicación, la evaluación del producto en el campo, los estudios de impacto ambiental y la caracterización molecular del microorganismo para obtener su huella genética (Cotes *et al*. 2012). Sin embargo, pocas de las empresas que desarrollan bioplaguicidas legalmente registrados cumplen con estas etapas, por lo que el respaldo científico y tecnológico de muchos de los productos que se encuentran en el mercado es limitado. De otra parte, hay muchos productos ilegales en el mercado, que son producidos por pequeñas empresas sin ningún respaldo científico, demeritando al control biológico como método efectivo de control.

La mayor parte de la investigación sobre el desarrollo de bioplaguicidas se ha enfatizado en la selección de microorganismos y poco se ha hecho respecto al desarrollo de productos con alta calidad tecnológica, fáciles de aplicar y con prolongada vida útil. En efecto, los limitados desarrollos en materia de formulación para mejorar la estabilidad de los agentes microbianos en condiciones de almacenamiento y de campo han sido reconocidos como factores limitantes. La formulación puede mejorar la eficiencia del microorganismo, al conferirle tolerancia a las condiciones ambientales y al mejorar su estabilidad en condiciones de almacenamiento, aumentando la vida útil y facilitando su aplicación.

Los bioplaguicidas en Colombia se formulan generalmente en forma de polvos humectables, seguidos por gránulos dispersables en agua y formulaciones líquidas.

Reseña histórica

El control biológico mediante el uso de microorganismos tiene una larga historia en Colombia, aunque el principal énfasis ha sido el control biológico de insectos. Ésta se inició en los años 70 con el uso de baculovirus importados de EE.UU. para controlar *Tricoplusia ni* y *Heliothis* spp. en el algodón (Betttiol *et al*. 2008). Chet y Baker (1981) aislaron una cepa de *Trichoderma hamatum* a partir de un suelo supresivo para *Rhizoctonia solani*. En 1982 las empresas de flores inspiradas por el Profesor de la Universidad de Colorado Ralph Baker comenzaron la producción de diferentes cepas de *Trichoderma* spp. para el control de *Fusarium*

oxysporum en clavel. Más adelante, en la década de los 90, el Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé) promovió la producción de *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café (*Hipothenemus hampei*). Este importante proyecto promovió el desarrollo del control microbiano y alentó a productores e institutos de investigación para dedicar gran parte de sus esfuerzos para el desarrollo de bioplaguicidas (Cadena 2005). Tal es el caso de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), que a partir de 1994 definió una estrategia de investigación integral en control biológico que ha permitido estructurar un equipo multidisciplinario de investigadores y adecuar una infraestructura que incluye laboratorios de investigación y desarrollo y una planta piloto para el escalamiento semi-comercial de bioplaguicidas; esto ha permitido el desarrollo de tecnología avanzada y de una amplia experiencia en el desarrollo de bioplaguicidas para el control de insectos plaga y de fitopatógenos, que han conllevado al registro de productos para el mercado interno con altas especificaciones técnicas y al licenciamiento de tecnologías de producción masiva y de formulación de microorganismos biocontroladores a países de Europa y América Latina, tales como Alemania y Brasil, respectivamente. Todas esas tecnologías desarrolladas ubican a Colombia como el primer país en América del Sur por sus capacidades de desarrollo, producción y comercialización de biopesticidas.

Productos registrados en Colombia versus desarrollos internacionales

El potencial de *Trichoderma* spp. como agente de control biológico de fitopatógenos fue reconocido inicialmente en 1930 y en los años subsiguientes se reportó el control de muchas especies (Aluko y Hering 1970; Bliss 1951; Chet 1987; Elad y Kapat 1999; Harman 2001; Howell 1982; Lifshitz *et al.* 1986; Lumsden *et al*. 1992; Sharon *et al.* 2001; Wells *et al.* 1972; Yedidia *et al.* 1999, 2000; Zhang *et al.* 1996), culminando en 2011 con cinco productos registrados ante la EPA en Estados Unidos, uno formulado con base en *Trichoderma asperellum*, tres en *Trichoderma harzianum* y uno en *Trichoderma polysporum* (EPA, 2012), además de muchos otros registrados en India, Israel, Nueva Zelanda y Suecia (Howel *et al*. 2003), recomendados tanto para el control de patógenos del suelo y foliares, como para inducción del crecimiento vegetal. A nivel nacional, los desarrollos sobre este microorganismo han sido lentos, si se tiene en cuenta que los primeros estudios sobre *Trichoderma* como agente de control biológico se reportaron en 1980. En los últimos años se han registrado ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) veintiún productos, los cuales se encuentran disponibles comercialmente. En la actualidad cuentan con registro doce productos con base en *Trichoderma harzianum,* tres con base en *Trichoderma lignorum*, tres de *Trichoderma viride*, uno de *Trichoderma atroviridae*. Además existen dos productos que contienen mezclas de *Trichoderma* sin identificar aún (Tabla 1). La mayoría de los productos son recomendados para el control de enfermedades causadas por hongos del suelo y sólo unos pocos se recomiendan para el control de patógenos foliares (ICA 2012).

En relación con las bacterias, las más usadas para el control de fitopatógenos son las rizobacterias promotoras de crecimiento, representadas por la sigla en inglés PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (Kloepper *et al*. 1980). Las PGPR son un subgrupo de bacterias benéficas colonizadoras de la rizosfera que, inoculadas a las semillas, promueven el crecimiento vegetal, traduciéndose muchas veces, en incrementos de rendimientos de las cosechas. Esta bacterias además de utilizarse como agentes protectores frente a diversos patógenos (Lemanceau y Alabouvette 1993; Cook 1993), pueden actuar como fertilizadoras del suelo gracias a su capacidad para movilizar nutrientes (Zhoinska *et al*. 1992), de producir fitohormonas que modifican la fisiología de las plantas, permitiendo optimizar los procesos de floración, germinación y establecimiento de la plántula (Schippers *et al*. 1995; Probanza *et al*. 1996; Gutierrez Mañero *et al*. 1996). En la actualidad muchas bacterias de diferentes géneros y especies están siendo estudiadas como PGPRs, las más estudiadas por su efecto en el control de fitopatógenos del suelo comprenden especies de *Pseudomonas* y *Bacillus*. Ante la EPA se encuentran en la actualidad tres productos a base de *Pseudomonas* spp. (una *Pseudomonas chlororaphis*, una *Pseudomonas aureofaciens* y una *Pseudomonas fluorescens*) y siete productos a base de *Bacillus* spp. (un *Bacillus firmus*, un *Bacillus liqueniformis*, dos *Bacillus pumilus*, tres *Bacillus subtilis* y un *Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens*) (EPA 2012). En Colombia, actualmente cuentan con registro tres *Bacillus subtilis* y un *Bacillus pumilus* (Tabla 1 , ICA, 2012).

El uso de microorganismos para el tratamiento en postcosecha se ha incrementado en los últimos años, si se tiene en cuenta que las pérdidas en frutas y hortalizas durante esta etapa generadas por patógenos pueden llegar hasta un 50% de la producción y que éstas generalmente se previenen mediante la aplicación de fungicidas químicos, práctica que está prohibida en muchos países, ya que representa un riesgo para la salud del consumidor, como consecuencia de los residuos y considerando que muchos de los fungicidas utilizados presentan efectos mutagénicos y carcinogénicos. Por estas razones el control biológico en postcosecha ha surgido como una alternativa promisoria para el manejo postcosecha de diferentes fitopatógenos (El-Ghaout *et al.* 2004). A partir de la década de los 80, se produjeron dos publicaciones por año sobre biocontrol en postcosecha, recientemente en la literatura científica se encuentran mínimo cien publicaciones por año y alrededor de mil artículos en todo el período (Droby *et al*. 2009). Dentro de estas publicaciones son numerosos los reportes exitosos en el manejo de patógenos en postcosecha mediante el uso de levaduras, tal es el caso de control de los patógenos *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* en manzanas mediante el uso de las levaduras *Kloeckera apiculata* y *Candida guilliermondii* (McLaughlin *et al.* 1992), *Pichia anomala* y *Candida sake* (Jijakli y Lepoivre 1998) en el manejo de *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* en pera (Chand-Goyal y Spotts 1997), así como *Candida oleophila* (Droby *et al.* 2000) contra los patógenos *Geotrichum candidum, Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum* en cítricos. Actualmente, ante la EPA se encuentran registrados cinco productos a base de *Pseudomonas syringae*, dos a base de *Candida oleophila* y uno a base de *Muscodor albus* (EPA 2012). Sin embargo en Colombia son pocas las investigaciones de control de enfermedades en postcosecha y no existen en la actualidad productos registrados (ICA 2012). El mercado mundial de bioplaguicidas se

Tabla 1. Bioplaguicidas registrados en Colombia para el control de enfermedades

1	7384	AGROIN-T	AGROINSUMOS BIOLOGICOS	*Trichoderma harzianum*		Información no disponible	Información no disponible
2	5346	AGROGUARD	LIVE SYSTEMS TECHNOLOGY S.A. LST S.A.	*Trichoderma harzianum*	WG	*Sclerotinia sclerotiorum*	ALCACHOFA
3	4778	ANTAGON	BIOECOLOGICOS LTDA	*Trichoderma harzianum*	WP	Información no disponible	Información no disponible
4	4677	BIOREGULAX WP	ORIUS BIOTECNOLOGIA	*Trichoderma harzianum*	WP	Información no disponible	Información no disponible
5	4680	EXPORAXXX WP	ORIUS BIOTECNOLOGIA	*Trichoderma harzianum*	WP	Información no disponible	Información no disponible
6	6379	FITBAC	ORGANIZACION PAJONALES S.A	*Trichoderma harzianum*		Información no disponible	Información no disponible
7	4658	FITOTRIPEN WP	SAFER AGROBIOLÓGICOS	*Trichoderma* spp.	WP	*Fusarium* spp, *Phytophtora* spp., *Sclerotinia* spp., *Rhizopus spp., Botrytis, Mycosphaerella spp.*	FLORES, PLATANO Y BANANO
8	6014	FOLIGUARD SC	LIVE SYSTEMS TECHNOLOGY S.A LST S.A	*Trichoderma harzianum*	SC	*Botrytis cinerea*	ROSA
9	3853	MYCOBAC WP	LABORATORIOS LAVERLAM S.A.	*Trichoderma lignorum*	WP	*Rhizoctonia solani, Sclerotium cepivorum, Pythium Fusarium oxysporum, Botrytis cinerea y Phytophthora*	Información no disponible
10	6925	PROPHYTEX EC	LAVERLAM S.A	*Bacillus subtilis*	EC	Información no disponible	Información no disponible
11	5798	RHAPSODY 1.34 SC	BASF QUIMICA COLOMBIANA S.A	*Bacillus subtilis*	SC	*Rhizoctonia, Fusarium, Pythium y Phytophthora*	Información no disponible

Tabla 1. Bioplaguicidas registrados en Colombia para el control de enfermedades

12	5973	SERENADE 1.34 SC	BASF QUIMICA COLOMBIANA LTDA	*Bacillus subtilis*	SC	*Erysiphe necator* *Botrytis cinerea* *Plasmopara viticola Podosphaera xanthii* *Pseudoperonospora cubensis, Erysiphe spp.* *Alternaria* spp. *Sclerotinia sclerotiorum, Rhizoctonia solani* *Phytophthora infestans Venturia inaequalis* *Podosphaera xanthii Monilinia laxa* *Podosphaera leucotricha* *Cercospora beticola* *Mycosphaerella fijiensis*	MORA, CUCURBITACEAS, FRESA, BANANO, PAPA, REMOLACHA Y FRUTAS DE HUESO
13	6385	SONATA 1.38 SC	FLORINTEGRAL S.A	*Bacillus pumilus* RAZA QST 2808	SC	*Pseudoperonospora cubensis* (mildeo)	CALABAZA, CALABACITA, PEPINO,MELON Y SANDIA
14	4573	TRICHO D WP	ORIUS BIOTECNOLOGIA	*Trichoderma harzianum*	WP	*Rhizoctonia solani*, *Sarocladium* sp., *Sclerotinia sclerotiorum, Fusarium* sp., *Pythium* sp., *Rosellinia bunodes*	SOYA, ARROZ, FRIJOL, MAIZ, PAPA y ALGODÓN
15	5397	TRICHOBIOL	MORA JARAMILLO ARTURO ORLANDO - BIOCONTROL	*Trichoderma* sp.	WP	*Pythium, Fusarium, Rhizoctonia, Botrytis, Phytophtora , Phoma, Clamidiosporium* y Mildeo	ARROZ, ALGODÓN, SOYA, PAPA, FLORES, HORTALIZAS, CAFÉ, FRUTALES, TABACO

Tabla 1. Bioplaguicidas registrados en Colombia para el control de enfermedades

16	5315	TRICHODERMUS	BIOLÓGICOS Y ECOLÓGICOS DE COLOMBIA LTDA	*Trichoderma harzianum*	WP	*Rhizoctonia, Fusarium* y *Pythium*	
17	2764	TRICHODEX 25	PROFICOL S.A.	*Trichoderma harzianum*	WP	*Botrytis cinerea*	UVA
18	4747	TRICHOGEN WP	AGROQUIMICOS GENERICOS	*Trichoderma lignorum*	WP	*Fusarium, Rhizoctonia, Botrytis* y *Alternaria*	
19	6777	TRICHOIMPRO WP	INFOARROZ LTDA	*Trichoderma atrovirride*	WP	*Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*	ARROZ
20	5860	TRICHOLLANOS	LABORATORIO BIOLOGICO LA AVISPITA	*Trichoderma harzianum*		*Rhizoctonia, Fusarium* y *Pythium*	Información no disponible
21	4748	TRIFESOL SC	BIOCULTIVOS S.A.	*Trichoderma viride*	SC	Patógenos del suelo: *Fusarium* y *Rhizoctonia*	ARROZ
22	7147	TRIFESOL 1000 SC	BIOCULTIVOS S.A.	*Trichoderma viride*	SC	Patógenos del suelo: *Fusarium* y *Rhizoctonia*	ARROZ
23	7148	TRIFESOL 1000 WP	BIOCULTIVOS S.A	*Trichoderma viride*	WP	Patógenos del suelo: *Fusarium* y *Rhizoctonia*	ARROZ
24	7055	TROCHOFUS WP	PALMAR DEL ORIENTE S.A	*Trichoderma harzianum*	WP	*Phytophthora* sp, *Fusarium* sp, *Thielaviopsis paradoxa Rhizoctonia* sp., *Helminthosporium* sp. *Fusarium oxysporum, Alternaria* sp. *Rhizoctonia solani, Sclerotinia sclerotiorum Pythium* sp.	PALMA AFRICANA, ARROZ, CLAVEL Y GERANIOS
25	5970	TROCHOTROPICO WP	SOLUCIONES MICROBIANAS DEL TROPICO LTDA	*Trichoderma harzianum* + *Trichoderma koningii.*	IV	*Rhizoctonia solani*	ARROZ
26	4678	XIAXX WP (Bio fungo WP)	ORIUS BIOTECNOLOGIA	*Trichoderma harzianum*	WP	*Botrytis cinerea, Sphaerotheca pannosa, Ceratocystis fimbriata y Moniliophthora* sp,	VID, ROSAS, CEBOLLA, HORTALIZAS, CAFÉ Y CACAO

estimó en $ US 1.213 millones en 2010 y se espera que alcance $ 3.222 millones de dólares en 2017, creciendo a una tasa compuesta anual de 15,8% desde 2012 hasta 2017. Este mercado está representado por bioinsecticidas con una proporción de alrededor del 46% en 2011. El mercado de biofungicidas fue valorado en $ US 600,5 millones en 2011 y se espera que llegue a $ US 1445,4 millones en 2017, lo que representa una tasa compuesta anual de crecimiento del 16,1% desde 2012 hasta 2017. De este total de biofungicidas, América Latina representó un mercado de $ 62,5 millones en 2011 y se espera un crecimiento hasta $148,8 en 2017, representando un aumento de 15,9% desde 2012 hasta 2017 (Market y Markets 2012).

Estos prometedores indicadores se atribuyen a los bajos costos y reducido tiempo en la investigación y desarrollo de los principios activos, en comparación con los agroquímicos y a la creciente demanda de productos orgánicos.

Registro y regulación de bioplaguicidas en Colombia

El uso de microorganismos para el control biológico de enfermedades como un componente integral de las estrategias de manejo de plagas ha despertado mucho interés en los últimos años en Colombia. Los plaguicidas microbianos se han promovido con éxito a los agricultores, principalmente en sistemas en los que los plaguicidas químicos no están disponibles, cuando se ha presentado resistencia de los patógenos a los fungicidas utilizados, cuando para mercados internacionales se han impuesto barreras debidas a los residuos de agroquímicos o cuando su uso es costoso o no confiable. Aunque los agricultores en general muestran un alto nivel de satisfacción con los plaguicidas microbianos también reconocen deficiencias técnicas con la actual generación de bioplaguicidas. Dentro de éstas las principales limitaciones mencionadas se destacan: su acción lenta, su inconsistencia en el control cuando son aplicados en el campo, su limitada vida útil y sus dificultades de aplicación. Estas últimas están relacionadas con características tales como: limitada suspendibilidad y adherencia, baja tolerancia a condiciones medio-ambientales adversas e incompatibilidad con agroquímicos.

Sin embargo, a pesar de esto, Colombia, comparado con Brasil y Chile, tienen más bioplaguicidas microbianos registrados para el control de fitopatógenos e insectos plaga. En 2010 contaba con 48 bioplaguicidas (29 bioinsecticidas y 19 biofungicidas) registrados, en comparación con 17 y 36, respectivamente, en Brasil y Chile (Cotes 2011). En tan sólo dos años aumentó en 36% el número de biofungicidas, ya que a la fecha registra 26 bioplaguicidas para el control de enfermedades (ICA 2012). Este auge puede atribuirse al hecho de que desde 1994 Colombia cuenta con una regulación específica para el registro de bioplaguicidas, que fue actualizada en 2004 (ICA 2004).

Conclusiones

El uso de agentes de control biológico para el manejo de enfermedades representa una alternativa viable para reemplazar o reducir las aplicaciones de

los fungicidas químicos, siempre y cuando los bioplaguicidas que se pongan a disposición de los agricultores tengan alta calidad tecnológica y demostrada eficiencia. Esto sólo puede lograrse cuando el desarrollo del producto se haya hecho con el rigor y el respaldo científico y tecnológico que garanticen su calidad.

Durante los últimos años la investigación en materia de desarrollo de bioplaguicidas ha tenido avances significativos, lo que ha permitido el registro de nuevos productos con características de calidad diferenciales. Sin embargo aún hay muchos retos por enfrentar para que este campo de investigación alcance madurez, siendo uno de los principales el de aumentar la eficacia y consistencia de estos bioplaguicidas en condiciones comerciales de aplicación. Otro desafío es el de tecnificar los métodos de producción masiva y la formulación para mejorar la estabilidad de los agentes microbianos en condiciones de almacenamiento y campo para facilitar su aplicación. Así mismo, es importante aumentar la investigación y el desarrollo de productos a base de microorganismos nativos para aprovechar la biodiversidad del país en el desarrollo de productos diferenciales que tengan potencial para los mercados nacional e internacional.

Agradecimientos

El autor expresa su reconocimiento a dos revisores anónimos por sus críticas constructivas.

Bibliografía

Aluko MO, Hering TF. 1970. The mechanism associated with the antagonistic relationship between *Corticium solani* and *Gliocladium virens.* Transaction British Mycological Society 55:173–179.

Bliss DE. 1951. The destruction of *Armillaria mellea* in *Citrus solis*. Phytopathology 41:665-683.

Cadena G. 2005. Desarrollos Científicos de Cenicafé en La última Década. Revista Academia. Colombiana de Ciencias 29:89-99.

Chand-Goyal T, Spotts RA. 1997. Biological control of postharvest diseases of apple and pear under semi-commercial and commercial conditions using three saprophytic yeasts. Biological Control 10:199–206.

Chet Y, Baker R. 1981. Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 71: 286-290..

Chet I. 1987. *Trichoderma* – Application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne pathogenic fungi. En. Chet I (Ed) Innovative Approaches to plant Diseases Control. Jhon Wiley & Sons, New York, pp 137-160

Cook RJ. 1993. Making grewter use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. Annual Review of Phytopathology 31:53-80

Cotes AM. 2011. Registry and regulation of biocontrol agentes on food commodities in South America. En Wisniewski M, Droby S (Eds) Proceedings of the international symposium on biological control of postharvest diseases: Challenges and opportunities. Acta Horticulturae 905: 155-160

Cotes AM, Moreno CA, Diaz A, Gomez M, Villamizar L. 2012. Desarrollo de bioplaguicidas para el control de fitopatógenos.. En: Hoyos L. (Ed) Enfermedades de plantas: control biológico. Eco ediciones, Bogotá, Colombia, pp 143-158

Droby S, Wilson C, Wisniewski M, El Ghaouth A. 2000. Biologically based technology for the control of postharvest diseases of fruits and vegetables. En Wilson C, Droby S (Eds.), Microbial Food Contamination. CRC Press, Boca Raton, FL, pp 187–206.

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 52:137–145.

Elad Y, Kapat A. 1999. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea.* European Journal Plant Pathology 105:177-189.

EPA (Environmental Protection Agency). 2012. Alphabetical listing biopesticide active ingredients. http://www.epa.gov/opp00001/biopesticides/ingredients/index.htm

Gutierrez Mañero FJ, Acero N, Lucas JA, Probanza A. 1996. The influence of native rhizobacteria on european alder (*Almus glutinosa* (L.) Gaertn) growth II. Characterization of growth promoting and growth inhibiting strains. Plant and Soil 182: 67-74.

Hanson T, Brooks T, da Fonseca H, Hoffmann M, Lamoreux J, Machlis G, Mittermeier C, Mittermeier R, Peregrina J. 2009. La guerra y puntos críticos de biodiversidad. Biología de la Conservación. 23: 578-587.

Harman GE. 2001. Myths and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. Plant Disease 84: 377-393.

Hawksworth DL. 2006. La dimensión de la biodiversidad de hongos: magnitud, importancia y conservación. La investigación micológica 95:641-55.

Howell CR. 1982. Effect of *Gliocladium virens* on *Pythium ultinum, Rhizoctonia solani,* and damping- off of cotton seedlings. Phytopathology 72:496-498.

Howel CR. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* Species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Disease 87: 1-10.

ICA (Instituto Colombiano Agropecuario). 2004. Resolución No. 00375. www.mincomercio.gov.co/econtent/documentos/Normatividad/resoluciones/2004/Resolucion-375-2004.pdf

ICA (Instituto Colombiano Agropecuario). 2012. Productos bioinsumos www.ica.gov.co.

Jijakli H, Lepoivre P. 1998. Characterization of an Exo-β-1,3-glucanase produced by *Pichia anomala* strain K, antagonist of *Botrytis cinerea* on apples. Phytopathology 88:335-343.

Kloepper JW, Schroth MN, Miller TD. 1980. Effects of rhizosphere colonization by plant growth –promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. Phytopathology 70:1078-1082.

Lemanceau P, Alabouvette C. 1993. Suppression of Fusarium wilts by fluorescent pseudomonads: mechanisms and applications. Biocontrol Science Technology 3:219-234.

Lumsden RD, Locke JC, Adkins ST, Walter JF, Ridout CJ. 1992. Isolation and localization of the antibiotic gliotoxin produced by *Gliocladium virens* from alginate prill in soil and soilless media. Phytopathology 82: 230-235.

McLaughlin RJ, Wisniewski M, Wilson C, Chalutz E. 1992. Biological Control of Postharvest Diseases of Grape, Peach and Apple with the Yeasts *Kloeckera apiculata* and *Candida guillermondii.* Plant Disease 76: 470-473.

Market & Markets 2012. Global biopesticide market Trends & Forecast (2012-2017). sales@marketsandmarkets.com 363 pp.

Probanza A, Lucas JA, Acero N, Gutierrez Mañero FJ. 1996. The influence of native rhizobacteria on european alder (*Almus glutinosa* (L.) Gaertn) growth I. Characterization of growth promoting and growth inhibiting strains. Plant and Soil 182: 59-66.

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 harzinum.* Phytopathology 91: 687-693.

Schippers BK, Scheffer RJ, Lugtengerg BJJ, Weisbeek PJ. 1995. Biocoating of seeds with plant growth promoting rhizobacteria to improve plant establishment. Outlook in agriculture 24:179-185.

Wells HD, Bell DK, Jaworski CA. 1972. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium roilfsii*. Phytopathology 62:442-447.

Yedidia I, Benhamou N, Chet I. 1999. Induction of defense in cucumber plants *(Cucumis sativas* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum.* Applied Environmental Microbiology 65:1061-1070.

Yedidia I, Benhamou N, Kapulnik Y, Chet I. 2000. Induction and accumulation of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. Plant Physiology Biochemistry 38:863-873.

Zhang J; Howell CR, Starr JL 1996. Suppression of *Fusarium* colonization of cotton roots and Fusarium wilt by seed treatment with *Gliocladium virens* and *Bacillus subtilis*. Biocontrol Science Technology 6:175-187.

Zhoinska E, Lejczak B,Kafarsi P. 1992. Organophospate utilization by wild-type strain of *Pseudomonas fluorescens.* Applied Environmental Microbiology 58: 2993-2999.

Capítulo 7

Control biológico de enfermedades de plantas en Costa Rica

Xiomara V. Mata G.[1*], Miguel A. Obregón G.[2]

*[1]Escuela de Agronomía. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 18 km norte de Ciudad Quesada, carretera a Fortuna, San Carlos, Costa Rica. [2]Asesoramiento Fitosanitario Laboratorio Dr. Obregón. San Francisco 800 m. norte de Global Park, Heredia, Costa Rica. *Autor para correspondencia: xmata@itcr.ac.cr*

Reseña histórica

Costa Rica es un país netamente agrícola, cuenta con una extensión de 51.100 km^2, ostenta el 5% de la biodiversidad del mundo, a nivel latinoamericano es el país más variado en flora y fauna, de manera tal que el 46,8% del territorio corresponde a bosques y selva, sin embargo y aunque el 25% de éstas áreas se encuentran protegidas, se registran las tasas de deforestación más altas de toda la región, siendo la actividad agrícola en gran medida la responsable de esto último, misma que responde a políticas de carácter neoliberal que promueven una mayor productividad en virtud de ser más competitivos ante mercados externos (Rodríguez 2002, Vargas 2008)

Esa exacerbación del modo de producción capitalista, somete los recursos naturales a una lógica expropiadora, de manera tal que la actividad agropecuaria se torna intensiva y extensiva provocando la destrucción de los ecosistemas, el desequilibrio en los agroecosistemas, inducido además por la adopción en algunos casos de paquetes tecnológicos basados exclusivamente en el uso continuo de sustancias químicas, generando un alto impacto no solo ambiental y social sino también económico ya que los costos de producción se incrementan por la generación de resistencia de los patógenos hacia los ingredientes activos, la resurgencia de nuevos patógenos así como la persistencia de éstos, problemas de fitotoxicidad con repercusiones sobre la salud humana y el ambiente.

Algunos ejemplos relevantes de lo anterior lo constituyen cultivos tales como el café, el banano (Le Blac 1997). La piña, según datos del Consejo Nacional de Producción de Costa Rica (CNP 2013a), en un período de 13 años este cultivo pasó de tener 11.000 ha a 42.000 ha sembradas. Esta expansión de las fronteras

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

agrícolas ha propiciado la deforestación, limitando la capacidad regenerativa de la atmósfera para eliminar gases tales como el dióxido de carbono (CO_2). Bajo este panorama surge una nueva tendencia en la forma de producción, misma que de alguna manera responden no sólo a las políticas gubernamentales en materia social, económica y ambiental sino también a las exigencias de nuestros principales socios comerciales, los cuales promueven una producción integrada bajo el concepto de desarrollo sostenible.

De buena suerte que, tal como lo menciona Bifani (1994), el desarrollo agrícola requiere un nuevo enfoque en el cual la explotación de los recursos naturales, el progreso científico, la inversión y las instituciones, permitan compatibilizar la satisfacción de las necesidades actuales sin comprometer las futuras. Bajo este contexto, recobra importancia el uso de agentes de control biológico como una alternativa para el manejo de enfermedades causadas por fitopatógenos.

En este capítulo se presentan algunos trabajos de investigación relevantes en esta área, se mencionan experiencias de los autores desarrollados en conjunto con productores y en empresas agrícolas, los cuales se han sustentado en estudios previos realizados *in vitro*.

Agentes de control biológico una alternativa al manejo de fitopatógenos en Costa Rica

Algunos antecedentes

De acuerdo a estadísticas de la Promotora de Comercio Exterior de Costa Rica, cultivos como banano, piña, café oro representan en ese orden los principales productos agrícolas de exportación, siendo Costa Rica, el primer y tercer exportador, respectivamente, de piña fresca y de banano a nivel mundial. A esta lista se le suman plantas ornamentales, follajes y flores, que han presentado un auge interesante en las últimas décadas, mientras que por el contrario cultivos como el melón han experimentado un decrecimiento (Calderón *et al*. 2013). De acuerdo a Barquero (2009) el área de producción se redujo en un 50% para este año, teniendo apenas 6.000 ha sembradas.

Siendo el cultivo de melón junto con el banano, las flores y el tabaco los responsables de que Costa Rica se ubicara antes del 2001 en la lista de los 10 países que a nivel mundial consumían más de 500 toneladas al año de Bromuro de Metilo (BrM), este fumigante es usado para contrarrestar el efecto en estos cultivos de diversos problemas fitosanitarios tales como *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Verticillium* spp. y *Phytophthora* spp. De igual forma, en cultivos de consumo interno también se han utilizado diferentes sustancias químicas de manera frecuente e intensiva. De acuerdo a Ramírez (2011), la importación de fungicidas representa un 50% de los ingredientes activos importados al país en los últimos 26 años.

A partir de los preceptos generados en la Cumbre de Río de Janeiro en

el año 1992, donde nace una nueva concepción sobre el desarrollo sostenible, se comienzan a generar propuestas basadas en la búsqueda de alternativas que eviten el deterioro ambiental (Martínez 2009). A partir de la década de los 80 y 90s comienzan a realizarse esfuerzos por parte de diferentes entidades de educación superior entre las que destacan Universidad de Costa Rica (UCR), Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Escuela de Agricultura del Trópico Húmedo (EARTH), Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), Universidad Nacional (UNA), Universidad Estatal a Distancia (UNED). También participan instituciones autónomas como el Instituto Nacional de Aprendizaje (INA), semiautónomas como Corporación Bananera Nacional (CORBANA) las cuales mediante diferentes proyectos de investigación realizan aportes importantes. En su gran mayoría se realizan evaluaciones *in vitro* donde se determina el potencial de algunos hongos para su uso como agentes de control biológico donde destacan hongos de los géneros *Trichoderma*, *Gliocladium* (syn. *Clonostachys*) y *Lecanicillium*.

De las instituciones supramencionadas el INA en su Centro Nacional Especializado en Agricultura Orgánica, quizás es una de las instituciones que más esfuerzos ha realizado en esta área. A partir de año 1998, se establece el Laboratorio de Fitoprotección, y se inicia un proceso de bioprospección, identificación, evaluación y conservación de microorganismos con potencial biológico y se establecen protocolos de reproducción mediante la fermentación de sustratos sólidos de los microorganismos con potencial para el control de los fitopatógenos (Obregón 2007). Además como parte de la misión y visión de esta institución, se comenzó un proceso de transferencia de tecnología mediante la capacitación. Esto con el objetivo de profesionalizar a los productores y que éstos obtuvieran no solo los conocimientos relacionados con el uso y manejo de agentes de control biológico, sino también desarrollaran destrezas y habilidades para su reproducción. Como resultado muchos productores así como empresas agropecuarias establecieron sus pequeños laboratorios o centros de reproducción masiva de microorganismos benéficos, logrando día a día bajar el uso de sustancias sintéticas e implementado el uso de estos microorganismos como parte de su paquete agronómico.

Si bien es cierto que esta iniciativa marcó un cambio importante, también es cierto que ha promovido que la filosofía del control biológico se desvirtúe, ya que en algunos casos se ha dejado de lado la base científica imperando aspectos netamente comerciales que de alguna manera conllevan al fracaso en el control de los fitopatógenos y por ende la desconfianza de los agricultores.

Hoy día, la oferta de productos biológicos es amplia, algunos productos son importados de Estados Unidos, República Checa y Colombia. Ramírez (2011) indica que dentro de las formulaciones principalmente importadas para el control de fitopatógenos predominan productos a base de *Trichoderma* sp. Entre los productos biológicos importados se pueden encontrar formulaciones en base a *Trichoderma lignorum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Pythium oligandrum* y *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia*. Estos productos son registrados para el control de enfermedades causadas por *Sclerotinia seclerotiorum*, *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotium rolfsii, Botrytis cinerea*, *Verticillium* sp., *Spongospora* sp., *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp. y *Alternaria* sp.,

en una gama muy amplia de cultivos (Picado 2001, Durán 2002, Picado 2011).

A pesar de que muchos de los productos biológicos formulados con cepas nativas, han mostrado un potencial similar o superior que los importados, muchos de ellos no han sido registrados como bioplaguicidas. Esto es debido a que los análisis de laboratorio y pruebas que se deben de realizar como requisito para la obtención de un registro acarrean un alto custo, y aunado a esto, los análisis aplican únicamente para un fitopatógeno. Las dificultades encontradas para el registro comercial de plaguicidas microbiológicos de uso agrícola, han llevado a que éstos sean registrados como biofertilizantes y/o promotores de crecimiento.

Experiencias relevantes del uso de agentes de control biológico en el control de fitopatógenos

Cultivo de banano

Dentro de los trabajos que se han realizado en busca de alternativa biológicas para el control de *Mycosphaerella fijiensis,* agente causal de la Sigatoka negra, se reportan trabajos realizados por Jiménez *et al*. (1985), mismos que impulsaron investigaciones posteriores. Estos autores obtuvieron 225 aislados de bacterias en lesiones causadas por este agente en hojas de banano De éstos, 12 aislados mostraron *in vitro* un efecto antagónico directo. En pruebas en invernadero mostraron un efecto superior con respecto al tratamiento químico. Estos autores indican que tres de éstos aislados correspondieron a bacterias del género *Pseudomonas*.

González (1995) obtuvo 120 aislados de microorganismos quitinolíticos a partir de muestras de hojas de banano que correspondían a dos zonas donde predominaban condiciones ambientales diferentes. La identificación de éstos mostró un predominio de cepas de *Bacillus*, Actinomycetes y otras bacterias. De estos aislados, 13 mostraron potencial en las pruebas *in vitro.* Cuatro aislados, dos de ellos identificados como *Serratia marcescens*, un *Bacillus* sp. y una *Serratia entomophila*, mostraron un mayor efecto inhibitorio y provocaron malformación de ascoporas de *Mycosphaerella fijiensis.* En pruebas de invernadero éstos mismos aislados presentaron un control de 78%, mientras que en pruebas de campo aplicándolos semanalmente presentaron un 40,1% de control, siendo en esta línea los primeros resultados exitosos.

Ensayos realizados por Talavera (1996) reportaron resultados similares. Mientras que Carr (2009), después de haber colectado hojas de banano, caídas con lesiones maduras de la enfermedad en fincas con características diferentes, obtuvo 196 aislados de hongos. De éstos el 39,8% evidenciaban la actividad de enzimas quitinolíticas, en pruebas de invernadero. Demostró que metabolitos secundarios extraídos por filtración de aislados identificados como *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Chalara* sp. y uno no identificado, al aplicarlos en condiciones de invernadero sobre hojas de plantas de banano a las

24 y 96 horas después de inocularlas con ascosporas del agente causal, tenían la capacidad de reducir la severidad. Concluye que, posible reducir la severidad mediante la aplicación de los metabolitos secundarios 24 horas después de la inoculación. El tratamiento no e diferenció estadísticamente respecto al testigo donde se aplicó clorotalonil.

Experiencias particulares inéditas de Obregon (dados non publicados) se ha demostrado que la incidencia y severidad causada por *Mycosphaerella fijiensis* se reduce de manera importante al aplicar sobre la hojarasca (hojas caídas, residuos de campo), una mezcla de microorganismos (bacterias lácticas, microorganismos degradadores de celulosa, levaduras, urea y ácido cítrico).

Ploetz (2006) y Pocasangre (2009), mencionan que *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense,* agente causal del mal de Panamá, es una de las enfermedades más destructivas y reconocidas en la historia del cultivo de banano, la cual según Bentley *et al*. (1998) ha coevolucionado junto a las Musáceas en su centro de origen. En Costa Rica, la raza 1 de este fitopatógeno se encuentra en fincas cafetaleras donde se siembra éste asociado con bananos de la variedad Gros Michel (AAA). Estudios realizados por Silagyi y Pocasangre (2003) revelan que un 90% de fincas diagnosticadas en la región de Turrialba están afectadas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* mientras que en fincas donde se siembra cacao con banano, pertenecientes a la región de Talamanca, solo se diagnosticó un 40% .

El manejo de esta enfermedad resulta difícil. Según informes de Ploetz (2004) y Ploetz (2006), no existen medidas de control químico eficientes contra este fitopatógeno. Ante un panorama poco alentador e informes generados de diferentes investigaciones acerca del potencial de hongos endófitos, se han iniciado las primeras investigaciones en esta línea. Caballero (2011) evaluó el efecto de 50 aislados endofíticos de *Trichoderma* obtenidos de los cultivares Cavendish (AAA), provenientes de fincas comerciales de bananos de la Zona Atlántica de Costa Rica. En estas pruebas utilizó tres aislados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, identificados como *Foc* 2, *Foc* 4 y *Foc* 8 y los resultados obtenidos no sólo muestran diferencias significativas en el comportamiento de los 50 aislados endófiticos de *Trichoderma*, sino también en la interacción de ambos, ya que en presencia de los aislados *Foc* 2 y *Foc* 4 encontró un mayor crecimiento radical de los aislados endófiticos.

A partir de esta prueba Caballero (2011) reporta que seleccionó los 20 aislados que mostraron mayor potencial, preparó una suspensión de 10^6 ufc/ml y sumergió por 15 minutos la raíz de vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) de 11 semanas. Luego las colocó en potes que contenían sustrato estéril y tres semanas después inoculó alrededor del área radical a una profundidad de 2 cm una concentración de 10^6 ufc/ml de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense.* Este procedimiento lo repitió cuatro semanas después, concluyendo que en las plantas con tratamiento con endófitos en la raíz, los síntomas se manifestaron de manera tardía con que en los testigos. Además las plantas inoculadas con el aislados *Foc* 4 presentaron los mayores porcentajes de incidencia que oscilaron entre 62,5 a 100%. Sin embargo la severidad se redujo hasta un 90%. Con el aislado *Foc* 2 la incidencia osciló entre el 37,5 a 100%, y la severidad se redujo en un 92% determinando de igual forma diferencias estadísticas entre los aislados endofíticos de *Trichoderma*. Por otra parte no se reportan diferencias en ninguno

de los casos en la decoloración del cormo, además se reporta que estos aislados ejercieron un efecto promotor de crecimiento en condiciones de invernadero.

Cultivo de la piña

En Costa Rica la piña se ha cultivado desde la época de la colonia. Sin embargo, el sistema de producción tipo monocultivo promovido a finales de la década de los 70, conllevó a la introducción para entonces de un paquete tecnológico que incluía no sólo técnicas, equipos y métodos totalmente diferentes a los aplicados para esa época sino también una variedad comercial nueva conocida como Champaka F-153, proveniente de Kunia Hawai. Esta variedad fue sustituida 13 años después por el híbrido MD- 2 conocido comercialmente como piña dorada o Golden (INCAE 1989, Altenburg *et al*. 1990, Carranza y Mora 2008, CNP 2009 ab). La introducción de este nuevo hibrido impulsó el nivel de exportaciones, que trajo como consecuencia un crecimiento horizontal sin precedentes en el país expandiéndose el área de 6.000 a 45.000 ha sembradas en el 2012 con respecto a las que se tenían en el año 1991 (Quijandría *et al*. 1997, CNP 2012, Calderón *et al*. 2013). En paralelo a esta expansión, se han ido incrementando entre otros problemas los fitosanitarios, lo cual conllevó al uso exclusivo de sustancias químicas. Hoy día, como respuesta, no sólo a las regulaciones interpuestas por nuestros principales socios comerciales sino también de índole nacional, a través de una plataforma conformada por la Comisión Socioambiental de la Piña (COSAP), Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), se ha venido promoviendo un modelo de producción en el que se respete al productor, consumidor así como el ambiente.

De esta manera, este sector ha ido adoptando e implementando dentro de sus paquetes tecnológicos el uso de agentes de control biológicos, los cuales se han sustentado de resultados obtenidos en pruebas *in vitro*. Aunque no existan registros documentados su uso ha sido exitoso. Dentro de los fitopatógenos controlados de esta manera sobresalen *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia solani* y *Pectobacterium carotovorum*.

Al respecto Obregón y Arias (2008), evaluaron *in vitro* 42 aislados nativos de *Trichoderma* frente a un aislado de *Fusarium* obtenido de la base de plantas de piña, concluyen que cuatro aislados presenta potencial para el control biológico de este agente, tres de estos provienen de zonas en las que se siembra la piña.

Vásquez (2009), mediante bioensayos *in vitro*, evaluó la capacidad de colonización y potencial fungistático de 10 aislados nativos de *Trichoderma* sobre *Fusarium oxysporum*, determinando diferencias estadísticas en los porcentajes de colonización 48 horas después de establecidas las pruebas con porcentajes de colonización entre 41,96 y 63,75%. De igual forma en las mediciones realizadas a las 96 y 120 horas la tendencia se mantuvo, obteniendo en esta última medición porcentajes de colonización entre 84,10 y 100%. En las pruebas donde evaluó el efecto de metabolitos volátiles sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum*, reporta diferencias estadísticas entre los aislados evaluados, indican que el aislado que mostró el porcentaje de colonización más sobresalientes también

inhibe mediante la producción de metabolitos volátiles el crecimiento de este patógeno en un 40,6%.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Obregón (2012), quién determinó en ensayos *in vitro* que *Trichoderma asperellum* presentó un 63% de colonización inhibiendo el crecimiento de *Fusarium oxysporum*. A partir de estos resultados y mediante la fermentación líquida, obtuvo filtrados de metabolitos secundarios los cuales mezclo con conidios de *Trichoderma asperellum* a una concentración de 10^9 conidios/ml Esta mezcla la aplicó en lotes de piña con una alta incidencia de *Fusarium oxysporum*, determinó un efecto positivo en el control de la enfermedad y concluyó que los resultados obtenidos fueron consistentes en todas las áreas donde se evaluó esta mezcla.

Estas experiencias se replicaron en fincas de empresas como Agroindustrias Tres Amigos S.A, asociada a Fruta Internacional S.A. Se determinó que al incorporar en sus programas fitosanitarios esta misma mezcla (filtrados de metabolitos y conidios de *Trichoderma asperellum)* adicionándole *Bacillus subtilis*, la incidencia y severidad causada por *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* se reduce, las plantas desarrollaron un sistema radical más vigoroso, un mejor desarrollo de la planta y existe un efecto secundario sobre poblaciones de nematodos del género *Meloidogyne*.

Para el control de *Pectobacterium carotovorum*, mediante ensayos inicialmente *in vitro*, se determinó que tres aislados de *Streptomyces griseoviridis* inhibían el crecimiento de *Erwinia* y *Xanthomonas.* Este mismo efecto se encontró en ensayos de campo (Obregón 2005), por lo que se concluye que en plantaciones de piña aplicaciones de *Streptomyces griseoviridis* para el control de *Pectobacterium carotovorum* ejercen un efecto similar a los bactericidas sintéticos.

En el caso del uso de agentes para el control biológico de *Phytophthora*, se está incursionando en las investigaciones que se detallan a continuación. Mata *et al.* (2012) evaluaron el potencial de 38 aislados de *Trichoderma* sobre *Phytophthora cinnamomi* var *cinnamomi,* agente identificado por los mismos autores como el causante de la podredumbre del corazón en este cultivo (35 de estos correspondían a aislados nativos mientras que los tres restantes provenían de Minas de Gerais, Brasil e Italia). Los autores reportan que al establecer las pruebas de antagonismo, *Phytophthora cinnamomi* var *cinnamomi* mostraba un porcentaje de colonización entre un 27 y 32,2% y 48 h después este crecimiento declinó, encontrándose diferencias estadísticas entre los aislados los cuales presentaban porcentajes de colonización entre 32,2 y 91,9%. A las 96 horas las diferencias se mantienen mostrando porcentajes de colonización entre 34,7 y el 100%, esta misma tendencia mantiene en la evaluación realizada a las 144 horas presentando porcentajes de colonización entre 39,9 y 100%, determinándose que 37 de los aislados evaluados presenta potencial a nivel *in vitro*.

Estos resultados entre otros, que no se documentan en este texto, han sustentado el uso de diferentes formulaciones de *Trichoderma* a nivel de campo.

Importante mencionar que muchas empresas piñeras, cuentan con departamentos de investigación y desarrollo, por lo que van a la vanguardia estableciendo sus propios centros de reproducción. Dole Fruit Company, Banacol, son un ejemplo de lo anterior, estas empresas han establecido alianzas con laboratorios privados o laboratorios de Universidades Públicas.

Cultivo del Café

En este cultivo *Mycena citricolor,* agente causal del ojo de gallo, se reporta como uno de los problemas fitopatológicos más importantes. Como parte de las prácticas que se aplican, predomina el manejo cultural así como el uso de sustancias químicas. No obstante, desde el año 1975 se han venido desarrollado investigaciones en el área de control biológico. Al respecto, Arroyo (1975), en pruebas de campo al aplicar un aislado de *Trichoderma*, determinó una reducción significativa en la producción de cabezuelas, además encontró que su eficiencia fue afectada por las condiciones ambientales que predominaban en las zonas de estudio.

Vargas (1984), en ensayos de campo, al aplicar de manera alterna *Trichoderma harzianum* y oxicloruro de cobre, determinó una mayor efectividad al cuantificar una menor presencia de lesiones y estructuras que este agente produce en comparación cuando se realizaron únicamente aplicaciones de *Trichoderma harzianum*.

Mora (1987) obtuvo 64 aislados bacteriales de muestras de hojas de café colectadas en diferentes fincas cafetaleras del país. Mediante pruebas *in vitro* seleccionó nueve aislados con potencial antagonista y determinó que éstos promovían una desintegración de las estructuras del hongo. Dichos resultados fueron consistentes al realizar las pruebas de campo. Calvo y Vargas (1989) indican que al aplicar en el campo diferentes tratamientos con una bacteria antagonista, el tratamiento compuesto por la bacteria, turba y almidón mostró resultados sobresalientes al determinar una menor presencia de lesiones con cabezuelas, número de cabezuelas y hojas enfermas. Quesada (1996), en ensayos similares, encontró que la bacteria antagonista evaluada presentó un mejor efecto al aplicarla al inicio del período lluvioso y con niveles de inoculo bajo, desafortunadamente en ninguna de estas investigaciones se menciona al menos el género de las bacterias evaluadas.

Obregón (dados non publicados), evalúo la época de aplicación y el efecto de la mezcla de dos aislados nativos de *Trichoderma* spp. (PB 17 y TF) y *Bacillus subtilis* más aceite agrícola sobre el tejido afectado por *Mycena citricolor*. Los aislados de *Trichoderma* seleccionados se basaron en estudios previamente realizados por Ciliento *et al.* (2006). Estos estudios revelaron que dentro de los aislados evaluados, PB 17 y TF mostraron una mayor capacidad de colonización (crecimiento micelial) y el tiempo de esporulación y calidad de esporas que los de la cepa de referencia evaluada (*Trichoderma atroviride*). En análisis bioquímicos la producción de endoquitinasas y exoquitinasas en ambos aislados fue superior que el de la cepa de *Trichoderma atroviride*, mientras que en la producción de glucanasas y xylanasas fueron similares a la cepa de referencia. Así mismo en pruebas de antagonismo frente a *Rhizoctonia* y *Botrytis* ambos presentaron mejores porcentajes de colonización que *Trichoderma atroviride*. Filtrados de estos dos aislados inhibieron la germinación de esporas y elongación del tubo germinativo de estos agentes.

Al utilizar la mezcla de estos dos aislados de *Trichoderma*, *Bacillus subtilis* más aceite agrícola se determinó que estos microorganismos colonizan el tejido necrótico de las lesiones y promueven la degradación de estructuras de

patógenos presentes dentro de éste. Esto último probablemente sea inducido por las enzimas producidas por los aislados de *Trichoderma*, además se encontró un buen efecto de la mezcla durante el periodo lluvioso. Considerando lo anterior se recomienda aplicar esta mezcla sobre hojarasca con el objetivo de bajar la presión del inoculo y por ende la incidencia y severidad.

En almácigos de café, la llaga macana causada por *Ceratocystis fimbriata* es otro de los agentes que causa pérdidas importantes en esta etapa. CICAFE (2009) informa que al evaluar en esta etapa tres formulaciones comerciales de *Trichoderma*, dos de las cuales tenían como ingrediente activo a *Trichoderma lignorum* y una a *Trichoderma harzianum* a una concentración de $3x10^5$ conidios/l, se encontró que al aplicarlas ocho días después de inoculadas las plantas con el agente, las tres formulaciones ofrecen protección por un periodo de tres meses. Posteriormente a este se comenzó a cuantificar mortalidades en los tratamientos, siendo con *Trichoderma lignorum* donde se determinó la menor y mayor mortalidad, mientras que con *Trichoderma harzianum* el porcentaje de mortalidad estaba en un rango intermedio.

Cultivo de melón y flores de corte

En el año 1998, Costa Rica aprobó la ley 7808 reconociendo el Protocolo de Montreal y sus enmiendas, dando inicio un año después a un programa interinstitucional con el objetivo de validar alternativas al bromuro de metilo en cultivos donde se consumía cantidades importante de este biofumigante. Melón y flores de corte se señalan como los principales cultivos (Chaverrí 2003). Dentro de los métodos alternativos propuestos, los agentes de control biológico recobraron importancia, no obstante durante el periodo que contempla la primera fase, no se documentan resultados. Al respecto Chaverrí (2003) indica que los resultados obtenidos al evaluar varias alternativas incluyendo las biológicas mostraron eficiencia, y califica estos resultados como preliminares y específicos a condiciones particulares.

En el año 2004, el proyecto da un apoyo importante a las empresas dedicadas a la producción de cultivos tales como el melón y flores de corte. Garrón (2013), indica que en este año, se inició un proceso de capacitación en la producción y uso de microorganismos benéficos como una alternativa en el control de diferentes problemas fitosanitarios. Obregón (2006) menciona que dentro de los microorganismos valorados con mayor potencial, el género *Trichoderma* se calificó como uno de los más prometedores, no sólo por el potencial que diferentes especies de este género exhiben en el control de fitopatógenos como: *Pythium* spp., *Rizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium* spp., entre otros, sino también por el potencial que especies de este género tienen como biorremediadores, promotores de crecimiento, inductores a la resistencia sistémica y biofertilizantes (Garrón 2013).

Mediante este proceso, empresas dedicadas al cultivo de melón de primera calidad para la exportación tales como EXPORPACK S.A. y Frutas de Parrita así como grupos asociados de productores de flores para exportación como APROFLOR, mediante el financiamiento otorgado por el Programa de

las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), implementaron laboratorios dedicados a la investigación y desarrollo de productos biológicos, con miras a reducir el uso de Bromuro de Metilo. Además, empresas como Melones del Sol S.A, en su compromiso con el bienestar de vida del trabajador, consumidor y conservación al medio, por iniciativa propia estableció un laboratorio de control biológico, cada una de estas entidades incorporó dentro de sus paquetes fitosanitarios el uso principalmente de *Trichoderma.*

Básicamente, la incorporación de éste se inicia en la etapa de almácigo y después del trasplante en campo realizan aplicaciones cada 8 días hasta los 40 días. El objetivo es proveer protección contra fitopatógenos de suelos a través de sus diferentes mecanismos de acción, además de promover un mejor crecimiento e inducir la resistencia sistémica. Después de este periodo realizan aplicaciones de acuerdo a los datos que se generen en los registros de monitoreo y estudios que se realizan relacionados con condiciones que pueden darse durante la época de siembra y que eventualmente puedan favorecer el desarrollo de fitopatógenos.

Estas acciones han generado que empresas como EXPORPACK S.A, mediante un manejo integrado e implementación de agentes de control biológico han logrado reducir en un 40% el uso de sustancias químicas.

Melones del Sol S.A produce además de *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis*. Los aplica en forma de mezcla para prevenir enfermedades foliares. Al final de la cosecha aplican al suelo bacterias y levaduras que favorecen la descomposición de los restos de cultivo y la proliferación de microorganismos, mejoran las características físicas y químicas del suelo. Así, esta empresa logró eliminar en un 100% el uso del Bromuro de Metilo y otros fumigantes.

Por su parte la Asociación de Productores de Flores (APROFLOR), que reúne 80 productores y cultivan diferentes variedades de Rosas (*Rosa* sp.), Claveles (*Dianthus* sp.), Astromelias (*Alstromelia* sp.), Dragones (*Antirrhinum* sp.), Gérberas (*Gerbera* sp.) entre otro tipo de flores, logró eliminar en un 100% el uso de Bromuro de Metilo.

Enfermedades causadas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi,* en claveles, *Fusarium solani, Sclerotinia sclerotiorum, Sclerotium rolfsii* en gérberas, *Rosellinia* sp., en astromelias han sido controladas eficientemente al aplicar a la base de la planta y suelo *Trichoderma harzianum* (Obregón 2004). En rosas, *Sphaerotheca pannosa* se ha controlado eficientemente mediante aplicaciones dirigidas al follaje de bicarbonato de sodio y posteriormente una mezcla *Trichoderma asperellum* y leche cruda.

Cultivo de fresas

La producción de la fresa se comercializa principalmente en el mercado local a través de empresas como Hortifruti o cadenas de supermercados como Auto Mercados. Estas exigen a sus proveedores normas de producción sostenibles con el medio, las cuales además abogan por la salud del trabajador y consumidor. Su producción se ve limitada principalmente por fitapatógenos como *Colletotrichum* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp. y *Botrytis cinerea.* Este último constituye también un problema de importancia a nivel poscosecha de

esta fruta.

Lo anterior ha promovido en este sector el uso de agentes biológicos control, por lo que hoy día un gran porcentaje de productores se han avocado hacia el uso de éstos con el objetivo de contrarrestar la incidencia y severidad de los fitopatógenos mencionados, siendo *Trichoderma* uno de los más utilizados.

Dentro de las empresas dedicadas a la producción de fresa que merecen especial mención se encuentra Fresas de Altura S.A. (Harman *et al*. 2010). Esta cuenta con más de un millón de plantas que corresponden a diferentes variedades sembradas de manera escalonada. Esto responde a un proceso de transición en busca de proveer a sus clientes una fruta que cumpla con los estándares establecidos por los mismos, por lo que desde hace más de 10 años dentro de su paquete agronómico ha incorporado el uso de agentes de control biológico. Durante la preparación del suelo aplican una mezcla de microorganismos benéficos conformado por bacterias lácticas *Lactobacillus lactis*, *Streptococcus lactis*, levaduras *Saccharomyces cerevisieae* var *ellipsoides* y *Rhodotorula glutins*, bacterias y hongos transformadores de celulosa *Cytophaga* spp. y *Trichoderma reesei.* Esto con el objetivo de acelerar el proceso de transformación de la materia orgánica a humus, enriquecer las características microbiológicas y bajar el nivel de inóculo inicial de los diferentes fitopatógenos.

En esta misma empresa se aplica a la siembra una mezcla de *Trichoderma asperellum* y *Pseudomonas fluorescens* logrando inhibir la incidencia de *Phytophthora* spp. y *Pythium* spp., además de mejorar características químicas del suelos al ser *Pseudomonas fluorescens* una solubilizadora de fósforo. Cada semana realizan aplicaciones de *Trichoderma asperellum* durante todo el ciclo, obteniendo un control exitoso sobre fitopatógenos como *Botrytis cinerea y Colletotrichum* spp., reduciendo en más de un 80% el uso de sustancias químicas para el control de fitopatógenos (Figura 2).

Por su parte, Chavés y Wang (2004) reportan que aplicaciones semanales dirigidas al follaje y fruta con *Gliocladium roseum,* a concentraciones superiores de 10^7 conidios/ml, y aplicaciones por separado con sustancias químicas como Daconil 50SC, Antracol 70WP, Euparen, Zetaran 76WG, Tri-Miltox Forte 65,8WP, Manzate 200 75WG, Polyram Combi 80WP, Tiovit 80WG y Azuflor 90WP muestran un efecto importante. Al aplicar *Gliocladium* no solo se obtuvo un 92,07% de fruta sana sino también que la incidencia de *Botrytis, Colletotrichum* y *Phytophthora* fue de 5,24, 1,56, 1,13%, respectivamente, de igual forma al realizar aplicaciones de *Gliocladium* con las sustancias químicas se obtuvo un efecto sinergístico determinando un 94,59% de frutas sanas y un 3,43, 1,45 y 0,53% de incidencia respectivamente de los agentes mencionados.

Cultivos hortícolas

En el sector hortícola la adopción de alternativas amigables con el medio, específicamente el uso de agentes de control biológico, ha sido un poco más difícil, no sólo porque tradicionalmente se han utilizado sustancias químicas sino también porque estos productos son principalmente de consumo interno. Sin embargo, debido a las regulaciones interpuestas por diferentes cadenas

de supermercados las cuales exigen que se cumplan los límites máximos de residuos (LMR) establecidos en este tipo de productos, los productores han ido incorporando aunque con reservas el uso de agentes de control biológico. Desafortunadamente en el país no existen registros que demuestren el uso continuo de estos productos.

No obstante, dentro de los casos exitosos se pueden mencionar la aplicación de *Trichoderma viride* en plantaciones de lechuga para el control de la pudredumble blanda ocasionada por *Sclerotinia sclerotiorum*. Estudios realizados a nivel de campo demostraron que aplicaciones de *Trichoderma viride* en concentraciones entre $3x10^6$ y $6x10^6$ conidios/ml sobre plantas de lechuga infectadas con este fitopatógeno, controlaron satisfactoriamente la enfermedad obteniéndose entre un 5,53-15,95% de incidencia final frente a un 86,0% de incidencia cuando se realizó el manejo convencional (Mata y Obregón 2005).

Un aspecto trascendental a mencionar es que este hongo patógeno es considerado como un hongo omnívoro, ya que ataca 225 géneros y 361 especies de 64 familias de plantas. Esto hace que sea uno de los más importantes en este sector ya que los productores costarricenses cultivan una misma línea de productos agrícolas, entre estos lechuga, repollo, zanahoria, tomate, algunas cucurbitáceas, todos hospedantes de este fitopatógeno. De manera que estos resultados impulsaron el uso de *Trichoderma viride* en dichos cultivos con resultados igualmente exitosos. Aplicaciones de *Trichoderma viride* en suelos con alta presión de *Sclerotinia sclerotiorum* pueden inducir a un efecto acumulativo a través del tiempo, ya que a nivel experimental se demostró que este agente al cabo de 15 días micoparasitó el 95% de los esclerocios presentes en las muestras en estudio, el 5% restante al seccionarlos, desinfectarlos y colocarlos en Papa Agar Dextrosa (PDA) presentaron crecimiento y desarrollo de *Trichoderma viride* (Mata 2005).

Con lo anterior se concluye que la presión de inóculo inicial tiende a disminuir y la incidencia entre una y otra cosecha cada vez es menor, sin embargo hay que rescatar que estos resultados también son producto de todo un manejo integral.

En sistemas hortícolas menos convencionales, como los cultivos hidropónicos mediante el sistema NFT (Nutrient Film Technique) se cultiva lechuga, apio, albahaca, culantro, perejil, entre otros. Mientras que utilizando sustratos sólidos como piedra roja, se cultiva además de los anotados anteriormente tomate, chile, melón y pepino. Bajo ambas técnicas los fitopatógenos que se presentan se pueden clasificar en: radicales y base del tallo. En el sistema NFT *Rhizoctonia* spp., *Pythium* sp. y *Phytophthora* sp. son los fitopatógenos más recurrentes, mientras que bajo el sistema de sustrato sólido *Botrytis cinerea*, *Alternaria* spp. y *Colletotrichum* spp. son los que se encuentran con mayor frecuencia.

Se ha determinado que en el sistema NFT, la inoculación directa a la solución nutritiva con *Pseudomonas fluorescens, Streptomyces griseoviridis* y *Trichoderma asperellum* controlan enfermedades causados por *Rhizoctonia* spp., *Pythium* sp. y *Phytophthora* sp. Se observa además, una estimulación en el crecimiento radical de las plantas afectadas inicialmente. Aplicaciones dirigidas al follaje con una mezcla de *Trichoderma harzianum, Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* controlaron eficientemente a *Alternaria* spp. y *Colletotrichum* spp.

(Figura 3). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Shuichi *et al*. (2001), en los que encontraron que cepas de *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus* evaluadas *in vitro* inhibían el crecimiento de *Alternaria solani*, sugiriendo un uso potencial bajo condiciones de campo.

Salas (2003) indica que mediante inoculación de plantas de chile con 8 semanas de edad, con diferentes aislados de *Trichoderma* a una concentración de $1x10^6$ conidios/ml y posterior inoculación (48 horas después) con la misma concentración conidios de *Botrytis cinerea*, pudo seleccionar dos aislados con potencial para el control de este fitopatógeno. Concluye que el efecto protector de los aislados en invernadero fue de tres semanas, por lo que sugiere mantener un programa de aplicación.

Otro cultivo hortícola, como la cebolla, se cultiva en diferentes zonas del país, siendo la zona alta de la provincia de Cartago en la que no solo se produce el 85.5% de la producción total CNP (2013b) sino también la zona donde las condiciones ambientales que prevalecen favorecen el desarrollo de enfermedades que limitan su producción. Entre los fitopatógenos se destaca *Sclerotium cepivorum*, causante de la podredumbre blanda o torbo en el bulbo que se puede presentar durante todo el ciclo de desarrollo y que produce esclerocios los cuales además de representar el inóculo primario constituyen estructuras de resistencia que pueden permanecer viables entre 10 a 20 años. Crowe y Hall. (1980) mencionan que 0,001 a 0,1 esclerocio por gramo de suelos puede causar entre un 10 a 100% de incidencia, aunado a lo anterior su control mediante cualquier estrategia ha sido difícil.

Al respecto, Obregón (2001) indica que en pruebas de antagonismo *in vitro*, *Trichoderma harzianum* presentó porcentajes de colonización entre un 50 y 75% vrs *Sclerotium cepivorum*. Por su parte Granados (2004) menciona que en trampeos realizados mediante la técnica de entierro de esclerocios, muestreo en bulbos de plantas y cuantificación del nivel de inóculo en áreas donde la incidencia de *Sclerotium cepivorum* era alta, intermedia y baja, identificó entre otros microorganismo *Gliocladium* sp. y *Trichoderma* sp. parasitando esclerocios. *Trichoderma* sp. en bulbos enfermos así como *Gliocladium* sp. y *Trichoderma* sp. en los análisis microbiológicos de suelos. Granados (2004) concluye que la incidencia de la enfermedad se relaciona de forma inversa con la presencia de estos hongos.

En ensayos de invernadero, Granados y Wang (2008) evaluaron sobre plántulas inoculadas con 0,06 esclerocios/g de suelo, el efecto de aislados nativos de *Trichoderma* sp., *Clonostachys* sp. y *Beauveria bassiana* obtenidos de esclerocios de fincas productoras de cebolla. La aplicación fue realizada de manera individual y en forma de mezcla (cada mezcla contenía *Trichoderma*). La primera aplicación fue al momento de trasplante, la segunda y tercera a las 4 y 8 semanas después de la siembra. En los tratamientos donde se aplicó *Trichoderma* solo o en mezcla determinaron 0% de incidencia, mientras que el tratamiento con *Beauveria bassiana* registró 17% y en los tratamientos con *Clonostachys* sp. obtuvieron 8,3 y 7,1% de incidencia.

Estos resultados concuerdan con experiencias no documentadas de los autores, se ha demostrado que aplicaciones en el campo de *Trichoderma viride* (Tabla 1) controlan eficientemente la enfermedad, obteniendo entre un 90 y 95% de control.

Tabla 1. Plan de manejo recomendado para el control de *Sclerotium cepivorum* en el cultivo de la cebolla

Etapa	Práctica	Mecanismo	Referencia
Almácigo	Desinfección de la semilla sumergiéndola durante 5 min en una suspensión de *Trichoderma viride* a una concentración de 10^9 conidios/ml.	Estimular el desarrollo radical. Promoción del crecimiento.	Bailey y Lumsden (1998) Harman (2000a) Monte (2001). Saba *et al* (2012).
	Inoculación al sustrato o suelo donde se establece el almácigo	Colonización, liberación de compuestos volátiles y no volátiles que inhiben al fitopatógeno.	Infante *et al. (*2008). Howell (1998, 2002)
Campo	Impregnar las raíces de las plántulas con una suspensión de *Trichoderma viride* a una concentración de 10^9 conidios/ ml.	Promover la inducción a resistencia sistemática	Harman (2000b), Saba *et al.* (2012)
	Asperjar *Trichoderma viride* a una concentración de 10^9 conidios/ml al hoyo en el momento del trasplante.	Micoparasitar y degradación de esclerocios.	Harman (2000a), Howell (2002).
	Realizar aplicaciones de *Trichoderma viride* a una concentración de 10^9 conidios/ml dirigidas a la base y follaje de la planta, cada 15 días.	Inhibir y/o parasitar directamente hifas del fitopatógeno mediante la producción de enzimas	Monte (2001), Howell (2002), Infante *et al.* (2008), Saba *et al.* (2012).

Lo anterior ha sido parte de un manejo que implica prácticas culturales. En plantaciones ya establecidas, donde se ha determinado porcentajes de incidencia de la enfermedad altos, se ha recomendado inicialmente una aplicación química, algunas prácticas culturales y posteriormente la aplicación de *Trichoderma viride* a una concentración de 10^9 conidios/ml dirigidas a la base de la planta y suelo cada 8 días, conforme los resultados se empiezan a observar la frecuencia de aplicación se disminuye a 15 días.

Cultivo de frijol

La roya, causada por *Uromyces phaseoli,* en este cultivo es favorecida por las condiciones ambientales que imperan en las zonas donde se siembra. Dentro

de los pocos estudios que se han desarrollado para su control mediante el uso de agentes biológicos, destacan los realizados por Rivas (1996), quién mediante un proceso de bioprospección obtuvo 10 aislados de bacterias en hojas de frijol. Éstas bacterias fueron sometidas a ensayos *in vitro*, en este ensayo se evaluó aislados de bacterias quitinolíticas obtenidas por González (1995), las cuales fueron identificadas como *Bacillus cereus*, *Pseudomonas cepacia* y *Serratia marcescens*. Al realizar las evaluaciones a las 3 y 6 horas después de establecidas las pruebas, indica que en todos los casos las bacterias inhibían la germinación de uredosporas, obteniendo porcentajes de supresión entre un 80 y 90%, siendo *Pseudomonas cepacia* la que registro el porcentaje más alto, esta tendencia se mantuvo en evaluaciones realizadas a las 9, 12 y 24 horas.

Gonzáles (1995), en invernadero, aplicó *Bacillus cereus*, *Pseudomonas cepacia* y *Serratia marcescens* a una concentración de $6{,}8x10^6$, $2{,}28x10^7$ y $4{,}98x10^7$ ufc/ml respectivamente, sobre plantas de frijol, posterior a esta aplicación inóculo las plantas con uredosporas de *Uromyces phaseoli*. En este ensayo determinó un mejor efecto de *Bacillus cereus* y *Pseudomonas cepacia* el cual fue similar estadísticamente a un tratamiento establecido con una formulación comercial que contenía como ingrediente activo *Bacillus thuringensis.* Utilizando una metodología similar en el campo y realizando dos aplicaciones, concluyó que existe un efecto biocontrolador de estas bacterias sobre la roya el cual estadísticamente fue similar al tratamiento químico evaluado.

Cultivos no tradicionales jengibre

Este cultivo es afectado por diferentes enfermedades, entre éstas destaca el Mal seco, la cual es causada por un complejo de fitopatógenos entre éstos *Pseudomonas* sp., *Erwinia solani*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium* sp. Chavarría *et al*. (2005) evaluaron por un periodo de 9 meses con una frecuencia de aplicación cada 15 días, el efecto y persistencia en el campo de *Trichoderma viride*, *Bacillus subtilis* y *Streptomyces griseus* (aplicados en forma de mezcla). La plantación de jengibre fue establecida en una finca con un historial de incidencia del mal seco importante. La concentración de *Trichoderma viride* utilizada fue de $2{,}3x10^{10}$/g y la de las bacterias fue de $1{,}2x10^{12}$ UFC/ml, al final del ensayo se concluye que *Trichoderma viride* tiene una mayor persistencia al encontrar poblaciones de $4{,}5x10^8$ conidios/g, seguido de *Bacillus subtilis* con $6{,}1x10^{10}$ UFC/ml, mientras que *Streptomyces griseus* fue la menos persistente presentando una población de $2x10^1$/ml. También indican que durante el periodo de evaluación se identificaron los siguientes fitopatógenos: *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Pseudomonas* sp. y *Erwinia carotovora*, siendo todos controlados eficientemente por los microorganismos evaluados, obteniendo una producción de 82.000 kg/ha mientras que en el tratamiento químico la producción fue de 48000 Kg/ha.

Consideraciones finales

A pesar de que se han realizado diversos estudios en el uso de agentes de control biológico en fitopatógenos con resultados interesantes, es importante reforzar la investigación en aspectos como la identificación a nivel de especie de los microorganismos con potencial, el entendimiento de los mecanismos de acción que éstos pueden desarrollar así como la interacción específica entre la especie del antagonista, el fitopatógeno y las condiciones ambientales.

No obstante, en Costa Rica la aplicación práctica de estos agentes de control biológico supera las investigaciones que se realizan en los centro de investigación, por lo que existe una tendencia hacia su uso, los cuales han sido utilizados en la mayoría de los casos exitosamente.

Bibliografía

Altenburg T, Hein W, Weller J. 1990. El Desafío Económico de Costa Rica: Desarrollo Agroindustrial como Alternativa. Maestría en Política Económica para Centroamérica y el Caribe. Universidad Nacional-Instituto de Estudios Latinoamericanos de la Universidad de Berlín. San José. Costa Rica.

Arroyo T. 1975. Control biológico del ojo de gallo en el café causado por *Mycena citricolor* (Berk & Curt) Sacc. en época seca. Tesis Lic. Universidad de Costa Rica San José. Costa Rica.

Bailey BA, Lumsden RD. 1998. Direct effects of *Trichoderma* and *Gliocladium* on plant growth and resistance to pathogens. En: Harman GE, Kubicek CP (eds). *Trichoderma* and *Gliocladium*. Enzymes, biological control and commercial applications, Vol 2. pp 185-204

Barquero M. 2009. *Área dedicada a Melón cayó a un 50% en* tres años. Sección de Economía. Periódico La Nación (Costa Rica). Sección de economía.

Bentley S, Pegg KG, Moore NY, Davis RD, Buddenhagen IW. 1998. Genetic variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* analyzed by DNA fingerprinting. Phytopathology 88:1283-1293.

Bifani P. 1994. Competitividad, medio ambiente y empleo. En Mercado ambiental y creación de empleo. Fund. Friederich Ebert, Madrid, España.

Caballero AJ. 2011. Uso de hongos endofíticos de *Trichoderma* spp., para el biocontrol del Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) raza tropical 1 en vitroplantas del cultivar Gros Michel (AAA). Tesis de MsC. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza Turrialba. Costa Rica.

Calderón JC, Céspedes E, Chacón M, López K, Medaglia C, Mora E, Vargas F, Vargas JM, Vargas LC. 2013. Estadísticas del Comercio Exterior de Costa Rica 2012. Promotora del Comercio Exterior de Costa Rica, San José. Costa Rica. 259 pp

Calvo S, Vargas E. 1989. Efecto de diferentes adherentes y formulaciones de una bacteria parasítica en el combate del ojo de gallo (*Mycena citricolor*) en el cafeto. Revista Interamericana de Ciencias Agrícolas, Turrialba. 39:182-189

Carranza R y Mora K. 2008. Piña costarricense con futuro brillante. Piña de Costa Rica 1:13.

Carr C. 2009. Aislamiento y selección de hongos antagonistas en plantaciones de banano para el combate biológico de la Sigatoka negra. Tesis Lic. Tecnológico de Costa Rica, San Carlos. Costa Rica.

Chavarría M, Uribe L, Bolaños A. 2005. Microorganismos benéficos en el control de enfermedades en jengibre. Agronomía Costarricense 29:145-155.

Chaverrí F. 2003. Convenios internacionales y agricultura: El caso del Bromuro de Metilo en Costa Rica. V Congreso Nacional de Fitopatología, V Congreso Iberoaméricano de Agroplasticultura, IV Congreso Nacional de Suelos. San José. Costa Rica. Pp 56.

Chaves N, Wang A. 2004. Combate del moho gris (*Botrytis cinerea*) de la fresa mediante *Gliocladium roseum*. Agronomía Costarricense 28:73-85.

CICAFE (Centro de Investigaciones en Café, CR) 2009. Informe anual de Investigaciones 2009. Barva, Heredia. Costa Rica. pp 134-136.

Ciliento R, Woo S, Marinelli P, Aloj V, Navarra B, Siena M, Marra R, Vinale F, Ferraioli S, Ambrosio P, Soriente I, Ruocco M, Turra D, Lanzuise S, Gigante S, Lorito M, Obregón M. 2006. Characterization of novel *Trichoderma* strains adapted to high temperature and effectively applied in Central America for disease control. 9th International workshop *Trichoderma* and *Gliocladium*. Vienna, Austria. p 45.

CNP (Consejo Nacional de Producción, CR) 2009a. Análisis de mercado de la Piña. SIIM (Servicio de Información e Inteligencia de Mercados). Mar (1): 1:3.

CNP (Consejo Nacional de Producción, CR) 2009b. Análisis de mercado de la Piña. SIIM (Servicio de Información e Inteligencia de Mercados). Ago (2): 1:4.

CNP (Consejo Nacional de Producción, CR) 2012. Análisis de mercado de la Piña. SIIM (Servicio de Información e Inteligencia de Mercados). Jul (1): 1:6.

CNP (Consejo Nacional de Producción, CR) 2013a. Análisis de mercado de la Piña. SIA (Servicio de información agroalimentaria). Jun (1): 1:6.

CNP (Consejo Nacional de Producción, CR) 2013b. Estimaciones de la producción de Cebolla. SIA (Servicio de información agroalimentaria).Consultado 18 jun 2013. Disponible en http://www.cnp.go.cr

Crowe FJ, Hall DH. 1980. Soil temperature and moisture effects on *Sclerotium* germination and infection of onion seedlings by *Sclerotium cepivorum*. Phytopathology 70:74-78.

Durán J. 2002. Bioplaguicidas. Guía de ingredientes activos en América Central. Manual técnico (no.49). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza Turrialba. Costa Rica. 145 pp.

Garrón R. 2013. Programa Bromuro de Metilo 2004. (Entrevista) Melones del Sol (E-mail: ricardo.garron@delsol.cr)

González QR. 1995. Efecto de microorganismos quitinolíticos en el desarrollo de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en banano. Tesis de MsC. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba. Costa Rica.

Granados MM. 2004. Aislamiento, identificación y evaluación del efecto antagonista de hongos asociados a esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk. causante de la pudrición blanca de la cebolla, en la zona alta de Cartago, Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Universidad de Costa Rica San José, Costa Rica.

Granados MM, Wang A. 2008. Efecto de biocontroladores aislados en fincas productoras de cebolla sobre la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum*). Agronomía Costarricense. 32 (1):9-17

Harman GE. 2000a. What are *Trichoderma?* Consultado 16 jul. 2013. Disponible en http://www.nysaes.cornell.edu

Harman GE. 2000b. Myths and Dogmas of Biocontrol: Changes and Perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease 84:373-492

Harman GE, Obregón GM, Samuels GJ, Lorito M. 2010. Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developing and developed world. Plant Disease 94:928-939.

Howell CR. 1998. The role of antibiosis in biocontrol. En: Harman GE, Kubicek CP (eds). *Trichoderma* and *Gliocladium.* Enzymes, biological control and commercial applications, Vol 2. Pp 173-184

Howell CR. 2002. Mechanisms Employed by *Trichoderma* species in the Biological control of Plant Disease: the History and Evolution of current concepts. Plant Disease 87: 1-12

INCAE (Instituto Centroamericano de Administración de Empresas) 1989. Costa Rica´s Non-Traditional Agricultural Exports: Analysis and Recommendations. Submitted to Consejo Agropecuario Agroindustrial Privado. Alajuela. 64 pp.

Infante D, Martínez B, González N, Reyes, Y. 2008. Mecanismos de Acción de *Trichoderma* frente a hongos Fitopatógenos. Protección Vegetal 24:14-21

Jiménez JM, Galindo JJ, Ramírez C. 1985. Estudios sobre combate biológico de *Mycosphaerella fijiensis* var *difformis* mediante bacterias epífitas. 7th ACORBAT Meeting, Turrialba, Costa Rica. Pp 105-109

Le Blanc A. 1997. An emerging host country joint implementation regime: The case of Costa Rica. ECON, Incentives for Private Sector Investment in JI, ECON-report no. 16/97, ECON Centre for Economic Analysis, Olso.

Martínez R. 2009. Sistemas de producción sostenibles. Tecnología en Marcha. 22:23-39

Mata X. 2005. Combate biológico de la pudrición acuosa blanda *Sclerotinia sclerotiorum* en lechuga (*Lactuca sativa* L) mediante el uso del hongo antagonista *Trichoderma viride*. Tesis Lic. Universidad de Costa Rica Turrialba. Costa Rica.

Mata X, Obregón M. 2005. Combate biológico de la pudrición acuosa blanda *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary, en lechuga mediante el uso del hongo antagonista *Trichoderma viride* Pers ex SF Gray. XLV Congreso Anual de la Sociedad Americana de Fitopatología-División Caribe. VI Congreso Nacional de Fitopatología. I Congreso Nacional de Fitoprotección. San José, Costa Rica. Pp 74.

Mata X, Obregón M, Lorito M, Monte E. 2012. Antagonism of local isolates of *Trichoderma* spp. on pineapple heart rot disease caused by *Phytophthora cinnamomi* var. *cinnamomi* in Costa Rica. The 12th International *Trichoderma* and *Gliocladium* Workshop. Abstract. New Zealand. Pp 107.

Monte E. 2001. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and Microbial Ecology. Microbiol 4:1-4

Mora F. 1987. Combate biológico de ojo de gallo (*Mycena citricolor)* Berk. & Curt Sacc en café mediante bacterias antagonistas. Tesis Lic. Universidad de Costa Rica San José. Costa Rica.

Obregón M. 2001. Evaluación *in vitro* del poder antagónico de *Trichoderma harzianum* Rifai con respecto al hongo fitopatógeno *Sclerotium cepivorum* Berkeley causante de la enfermedad "Torbó en cebolla". XLVII Reunión Anual del PCCMCA. San José, Costa Rica. Pp 19.

Obregón M. 2004. Use of *Trichoderma* spp. on soil microbiology improvement for organic agriculture in Costa Rica. Proceedings of Eighth International Workshop on *Trichoderma* and *Gliocladium*. Journal of Zhejiang University. Hangzhou, China. Pp 409.

Obregón M. 2005. *In vitro* and *in vivo* evaluation of *Streptomyces griseoviride* strains on pathogenic bacteria of some crops in Costa Rica. 1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Diseases in Darmstadt. Germany. Pp 71.

Obregón M. 2006. Experience with *Trichoderma* for disease control and improved yield in Central America. 9th International workshop *Trichoderma* and *Gliocladium*. Vienna, Austria. Pp 45.

Obregón M. 2007. Costa Rica experiencia in crop disease biological control. IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas. São Paulo. Brasil. Pp 50.

Obregón M, Arias M. 2008. Evaluación *in vitro* de la capacidad antagonista de 42 cepas de *Trichoderma* spp. Para el combate de *Fusarium* spp., causante de la pudrición basal en plantas de Piña. In X Congreso Mundial de *Trichoderma* y *Gliocladium*, VII Congreso Nacional de Fitopatología, II Congreso Nacional de Fitoprotección. Resúmenes. San José, Costa Rica. Pp 67.

Obregón M. 2012. Application of *Trichoderma asperellum* in the control of pineapple caused by *Fusarium oxysporum* in the field in Costa Rica. 12th International *Trichoderma* and *Gliocladium* Workshop. Abstract. New Zealand. Pp 65.

Picado JL. 2001. Guía de bioplaguicidas. San José, Costa Rica. 180 pp.

Picado JL. 2011. Agroguía. Agroquímicos y Biopesticidas. San José, Costa Rica. 394 pp.

Ploetz RC. 2004. Diseases and pests: A review of their importance and management. InfoMUSA 3(2):11-16.

Ploetz RC. 2006. Fusarium wilt of bananas is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense.* Phytopathology 96:653-656.

Pocasangre LE. 2009. Estado actual y manejo del manejo de Panamá en América Latina y el Caribe. Reunión de grupo de interés sobre los riesgos de la raza Tropical 4 de *Fusarium*, BBTV y otras plagas de musaceas para para la región del OIRSA, América Latina y el Caribe. OIRSA, San Salvador, El Salvador. Pp 19.

Quesada D. 1996. Efecto del adherente y época de aplicación de una bacteria antagonista en el combate de ojo de gallo (*Mycena citricolor)* Berk. & Curt Sacc. Tesis Lic. Universidad de Costa Rica, San José. Costa Rica.

Quijandría G, Berrocal J, Pratt L. 1997. La industria de la piña en Costa Rica: Análisis de sostenibilidad. Centro Latinoamericano para la Sostenibilidad y el Desarrollo Sostenible. 27 pp.

Ramírez F. 2011. Importaciones de plaguicidas en Costa Rica: Periodo 2007-2009. Informe elaborado para el Proyecto Reduciendo el Escurrimiento de Plaguicidas al Mar Caribe (REPCar). Universidad Nacional Heredia. Costa Rica. 27 pp.

Rivas A. 1996. Evaluación en *Phaseolus vulgaris*, del antagonismo por bacterias e inducción de resistencia de un fosfato, hacia *Isariopsis griseola* y *Uromyces phaseoli*. Tesis Mag. Sc. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza Turrialba. Costa Rica.

Rodríguez BF. 2002. La naturaleza caída. Elementos para una crítica de la cosmovisión dominadora. Ediciones Perro Azul, San José. Costa Rica

Saba H, Vibhash D, Minisha M, Prashant EK, Farhan H, Tauseef A. 2012. *Trichoderma* a promising growth stimulator and biocontrol agent. Consultado 16 jun de 2013. Disponible en http://www.mycosphere.org

Salas W. 2003. Evaluación de control biológico y otras opciones de manejo de enfermedades de chile y totmate cultivadas bajo techo, con énfasis en *Botrytis cinerea*. Tesis de MsC. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza Turrialba. Costa Rica.

Silagyi AJ, Pocasangre LE. 2003. Current estatus of Fusarium wilt on Gros Michel in smallholdings in Costa Rica. 2nd International symposium on *Fusarium* wilt on banana. Programme and abstracts, Salvador de Bahia, Brasil. Pp 12.

Shuichi O, Bustamante E, Gamboa A. 2001. Actividad de cepas de bacterias quitinolíticas antagonistas a *Alternaria solani in vitro*. Manejo Integrado de Plagas. 59: 58-62

Talavera ME. 1996. Determinación de β-glucano en subproductos agrícolas y evaluación del efecto de microorganismos glucanolíticos sobre *Mycosphaerella fijiensis* en banano. Tesis de MsC. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza Turrialba. Costa Rica.

Vargas E. 1984. Interacción de tratamiento biológico y químico en el combate del ojo de gallo (*Mycena citricolor)* en el cafeto. Agronomía Costarricense 8: 91-97

Vargas S. 2008. El verdadero rostro de la globalización los amos de la globalización. Vol 1. Editorial EUNED, Sabanilla. Costa Rica. 284 pp.

Vásquez J. 2009. Evaluación de la eficacia *in vitro* de sustancias químicas y microorganismos antagonistas del género *Trichoderma* spp., como herramienta para la toma de decisiones en el control de enfermedades. "Caso muerte descendente del cultivo de piña (*Ananas comosus* (L) Merr". Tesis de Lic. Tecnológico de Costa Rica, San Carlos. Costa Rica.

Capítulo 8

Control biológico de enfermedades de plantas en Cuba

Marusia Stefanova[1], Maria Elena Díaz de Villegas[2], Jesús Mena Campos[3]

[1]Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, [2]Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, [3]Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología Habana, Cuba. E-mail: mstefanova@inisav.cu, mariaelena.diaz@icidca.edu.cu, jesus.mena@cigb.edu.cu

Introducción

El control biológico de fitopatógenos en Cuba tiene su inicio en el principio de la última década del pasado siglo, cuando enfermedades fúngicas en tabaco y hortalizas, causadas por *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora capcici*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium aphanidermatum*, entre otros, mostraron un incremento progresivo a pesar de las medidas químicas, agrotécnicas y legales aplicadas por la Sanidad Vegetal y provocaron graves pérdidas a la economía del país (Stefanova y Fernández 1995). La necesidad de una estrategia diferente motivó, a partir de 1990, investigaciones aceleradas para obtener productos a base de *Trichoderma* y métodos para su aplicación (Stefanova 2007, 2007a). Obtenidos en la red de Centros de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE) del país, bajo una tecnología artesanal, abastecen aún las demandas de los agricultores y fueron precursores para el desarrollo de nuevos productos biológicos mediante procesos biotecnológicos, a partir de microorganismos promisorios y sus metabolitos, dentro del Programa Nacional de Biotecnología Agrícola, iniciada en 1995 (CITMA 1995), para disponer hoy de tecnologías y bioproductos, fungicidas y nematicidas, para la protección de los cultivos.

Bioproductos para el control de hongos fitopatógenos del suelo, enfermedades foliares y nematodos

Tricosave A- 34 y Tricosave TS 3: productos a base de *Trichoderma*

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

***harzianum* (cepa A 34) y *Trichoderma viride* (cepa TS 3)**

Composición: Sustancias activas: 2,5 X 10^9 conidios viables/g + biomasa del hongo (conidios, micelio y clamidosporas) y metabolitos secundarios. Soporte sólido: cabecillas de arroz y paja de arroz.

Modo de acción: La cepa A 34 establece una vigorosa adherencia y enrollamiento de las hifas del patógeno y fragmentación a nivel de septo, con introducción interna posterior en el micelio de *Phytophthora capsici* y *Phytophthora nicotianae*. Los metabolitos afectan el desarrollo micelial y provocan deformaciones, desplazamiento del contenido citoplasmático, afinamiento y lisis de las paredes celulares (Stefanova *et al*. 1999). La cepa TS 3 reduce la eclosión de los huevos y la movilidad de las larvas de los nemátodos por los efectos de las toxinas y las hifas del hongo antagonista (Perez *et al*. 2006).

Se utilizan en el tratamiento directo de semillas botánicas y agámicas, de semilleros, al realizar el trasplante, en cultivos hortícolas, granos, forestales, frutales y ornamentales, así como en la preparación de sustratos para semilleros y en el tratamiento posterior de éstos. Se recomiendan para el control de *Phytophthora parasítica, Phytophthora nicotianae, Phytophthora capsici, Rhizoctonia solani, Pythium aphanidermatum, Sclerotium rolfsii*, *Fusarium* spp. y otros hongos fitopatógenos del suelo. Contra los nemátodos del género *Meloidogyne,* causantes de agallas, para disminuir las poblaciones mediante la reducción de la eclosión de los huevos y la movilidad de las larvas. Los productos se aplican bajo formas preventivas de empleo y dosis establecidas, según la naturaleza del patógeno y el tipo de cultivo

La cepa A 34 es seleccionada mediante estudios en condiciones controladas, semi controladas y en campo (Sandoval *et al*. 1995; Sandoval *et al*. 1995a, Stefanova 2007), es compatible con los plaguicidas y fertilizantes inorgánicos de mayor empleo en hortalizas y tabaco (Muiño *et al*. 2001) y también con biofertilizantes y bioestimulantes (Stefanova *et al*. 1995, Medina *et al*. 1998, Hernández *et al*. 2006). La presencia de materia orgánica potencia la acción del biorregulador, con rendimientos superiores por la estimulación de crecimiento de las plantas y protección contra los patógenos por encima de 80 - 90% (Stefanova 2007, Casanova *et al*. 1998). La colonización del suelo y sustratos para la producción de plántulas en contenedores supera el crecimiento radical de las plantas (Sandoval *et al*. 1995, Sandoval *et al*. 1995a, Espino y Stefanova 1999), el biorregulador permanece viable en materias orgánicas por más de 30 días en condiciones ambientales, sin que se altere la concentración inicial del inóculo (Saenz *et al*. 1994).

La eficacia del producto aplicado de forma preventiva alcanza niveles de control promedio contra los hongos del suelo entre un 70 y un 80% y más, en dependencia del inóculo del patógeno en el suelo. Su efecto se pudo comprobar a gran escala en 1994-95 cuando fue utilizado en alrededor de 5.208 ha de cultivos, que incluyeron tabaco, hortalizas, granos y ornamentales, entre otros (Stefanova 1997, Stefanova *et al*. 2001a).

El tratamiento de las semillas es la forma más extensiva y desde luego económica utilizada en Cuba para introducir el biocontrol en la producción. La semilla recibe una cobertura protectora cuyo efecto se muestra a partir de la siembra. La inmersión de las semillas de tomate durante 10 minutos en la suspensión del bioproducto A-34 (10% v/v) garantiza una cobertura de las semillas entre 91 - 100%. El posterior secado al sol no afecta la cobertura y la

viabilidad de los conidios de *Trichoderm*a, el bioagente se recobra de las semillas tratadas y almacenadas a 10 ºC y 30 ºC durante los 45 días del ensayo (García y Sandoval 1994). El tratamiento de las semillas reduce las contaminaciones externas por diversas especies de hongos en cucurbitáceas, col, cebolla, ajo, rábano, remolacha, zanahoria, habichuela, tomate y pimiento entre otros; además incrementa el porcentaje de germinación y estimula el crecimiento. Los resultados del tratamiento de semillas de tomate con TMTD y el producto biológico contra *Rhizoctonia solani* son comparables en su efectividad respecto a la disminución de la mortalidad (15 y 13%, respectivamente), el agente biológico supera al químico en el incremento de la germinación (García y Sandoval 1994, Heredia 1997).

La incorporación de *Trichoderma harzianum* (A-34) en el sustrato para la producción de plántulas de tabaco en bandejas integra el biorregulador a la nueva tecnología y ofrece un control eficiente de patógenos, como *Pythium aphanidermatum* y *Phytophthora nicotianae,* registrados en estas condiciones. El hongo antagónico coloniza los substratos utilizados y alcanza una profundidad de 4 cm a los 12 días, inoculado en la superficie (Espino y Stefanova 1999). Su integración también en la tecnología de producción de plántulas hortícolas enraizadas en contenedores mediante inoculación de los sustratos orgánicos locales (estiércol vacuno, humus de lombriz, turba parda de la Cienaga y compost vegetal) y tratamiento de las semillas, contribuye a la reducción de perdidas de la población de plántulas de 15 – 27%(Casanova *et al*. 1998).

La producción de hortalizas en sistemas de cultivos protegidos combina armónicamente el uso de los bioproductos con las medidas agrotécnicas, físicas y químicas. Bajo un modelo de manejo integrado, desde el 2006, validado en diferentes sitios de producción, se ha logrado una disminución importante de los niveles de infección por agentes nocivos del suelo de los géneros *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia* y los nemátodos del género *Meloidogyne* (Muiño *et al.* 2006, Méndez *et al*. 2010).

El efecto nematicida de los dos productos biológicos fue demostrado en varias provincias en cultivos organopónicos, plantaciones de café, viveros de ornamentales y muchos otros cultivos. La efectividad técnica de las aplicaciones alcanza valores elevados con dosis mayores de 10^{13} conidios/ha, con poblaciones del parásito menores de grado 3 (Pérez *et al*. 2005; Méndez y Polanco 2006). La efectividad de los tratamientos contra los nemátodos de la agalla oscila entre 52 y 82% de control según el índice de ataque en el sistema radical del cultivo, se produce también una reducción paulatina de los índices de infestación de grados 3 y 4 hasta el grado 1. En la actualidad los dos bioplaguicidas constituyen una solución en la lucha contra los nemátodos del suelo, principalmente los pertenecientes al género *Meloidogyne* en casas de cultivos protegidos y en otros sistemas de producción agraria (Cuadra *et al*. 2008).

El Manual Técnico de Organopónicos y Huertos Especiales de la Agricultura Urbana (INIFAT- MINAGRI 2000) incluye, dentro de las medidas fitosanitarias especificas para las áreas de semilleros, el uso de los bioproductos de *Trichoderma*. En condiciones de organopónicos, donde se producen hortalizas frescas, con la aplicación de *Trichoderma harzianum* (cepa A-34) se obtiene una eficacia de 42% contra la enfermedad tizón de fuego, causada por el hongo *Corynespora cassiicola* en el cultivo del pepino y un incremento en los rendimientos

en un 50% (Ferrer *et al*. 2006). Se confirman observaciones anterioriores de Rodríguez *et al*. (1998) sobre el efecto del producto biológico sobre la incidencia de hongos foliares, en este caso de los mildius velloso (*Pseudoperonospora cubensis*) y polvoriento (*Erysiphe cichoracearum)* en el cultivo del pepino en un 35% y 23,2% respectivamente , con un efecto colateral estimulante sobre las plantas.

La superficie agrícola tratada con *Trichoderma* en el año 1992 de 99,50 hectáreas ascendió rápidamente para alcanzar aproximadamente 60 mil hectáreas en los años siguientes, cifra que tiende a incrementarse debido a la gran demanda de los dos productos biológicos por los diferentes sectores agrícolas (Figura 1).

Una demostración del nivel alto de innovación realizado para adaptar su uso a los diferentes sistemas de cultivo, que se realizan en el país, resulta el 71,4% de utilización en las provincias de la región oriental, principalmente en la agricultura urbana y suburbana, según el diagnóstico participativo realizado con especialistas y técnicos de sanidad vegetal en 2010 (Figura 2) (Vázquez 2012, comunicación personal).

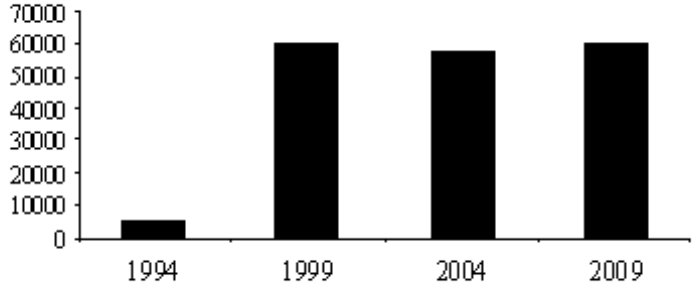

Figura 1. Comportamiento de la superficie anual (hectáreas) donde se aplica *Trichoderma*.

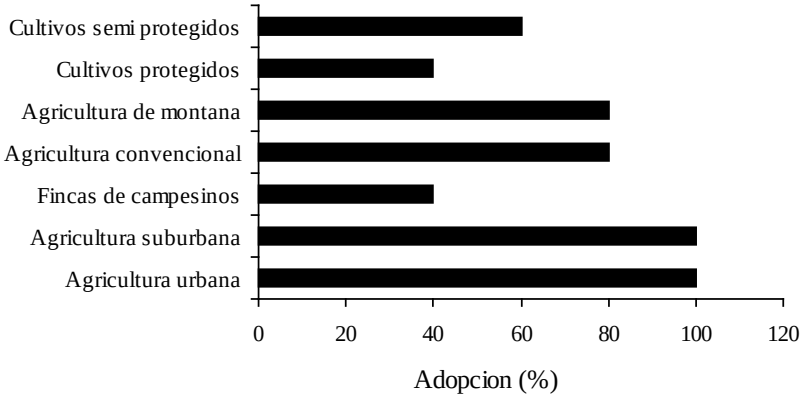

Figura 2. Nivel de adopción de los bioproductos de *Trichoderma* en las provincias orientales del país.

Gluticid: fungicida bioquímico para el control de fitopatógenos

El Gluticid es un fungicida de naturaleza bioquímica constituido por metabolitos a partir de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, cepa PSS, obtenido por vía biotecnológica mediante estudios realizados a escala de laboratorio y planta piloto, según diseño experimental y el ajuste de diferentes parámetros de fermentación. El medio de cultivo diseñado asegura la máxima expresión de los metabolitos (Villa *et al.* 2001).

Características: Polvo blanco grisáceo fino, soluble en agua, pH 7 y un peso seco entre 93-95%.

Sustancias activas: Metabolitos secundarios antimicrobianos: monoacetilfloroglucinol, sideróforos del tipo pioverdin II y ácido salicílico.

El sideróforo pioverdin II, pigmento amarillo verdoso fluorescente, actúa como agente quelante específico del ion férrico. Está constituido por el grupo cromóforo, 2,3-diamino-6,7-hydroxiquinolina, unido a un péptido de 6 a 10 aminoácidos que contiene grupos hidroxamatos . El compuesto antibiótico monoacetilfloroglucinol, caracterizado por grupos fenólicos, se identificó mediante diferentes técnicas cromatográficas y de biología molecular (Frías *et al.* 2007). Ambos metabolitos se producen durante el proceso biotecnológico, a partir de las 6 horas comienza la excreción del monoacetilfloroglucinol y alcanza su valor máximo (100%) a las 24 horas, la producción de sideróforos esta asociada al crecimiento, con concentraciones cercanas a los 130 mM/L al final del proceso (Villa *et al*. 2000a, Díaz de Villegas 2007).

La identificación taxonómica de la cepa es resultado de pruebas bioquímicas y estudios moleculares por comparación con patrones reconocidos. La cepa fue seleccionada en la fase inicial por el efecto antagónico *in vitro* frente a diferentes hongos patógenos como *Alternaria solani, Phytophthora infestans, Sclerotium rolfsii,* entre otros (Utra y Stefanova 1994), y por la elevada producción de sideróforos (Villa 1999, Díaz de Villegas 1999). El producto no es tóxico para las personas, animales y medio ambiente, según constan los resultados de las pruebas toxicológicas y ecotoxicológicas realizadas en instituciones especializadas.

La tecnología posee Certificado de Invención de la Oficina de Patentes y Marcas de Cuba: No.22805 Resolución No.1079/2002, Procedimiento de obtención de los metabolitos antifúngicos de *Pseudomonas aeruginosa* PSS por vía biotecnológica, y el producto Certificado de Marca de la Oficina de Patentes y Marcas de Cuba No. 2000-1742 Resolución: 963/2002: Gluticid.

La eficacia del producto ha sido probada y demostrada en condiciones controladas y de campo durante varios años (Villa y Díaz de Villegas 1996, Villa *et al.* 2000a, Villa *et al*. 2000b, Stefanova *et al*. 2001b), algunos de los resultados obtenidos se exponen a continuación.

En las condiciones controladas de laboratorio, con una aplicación del producto biológico a 200 ppm, la infección en las plantas de tabaco por el moho azul (*Peronospora hyoscyami* f. sp. *tabacina*) disminuyó en 50%, en comparación con el testigo, la eficacia resultó superior en la variante de 400 ppm. En pruebas de discos de hojas con la concentración de 100 ppm se redujo en un 50% la

infección por *Phytophthora nicotianae*.

En condiciones de campo aplicado cada siete días a la dosis de 3,0 Kg/ha ofrece efecto igual sobre el moho azul que el tratamiento estándar de mancozeb, con la misma periodicidad de aplicación. Los resultados obtenidos en dos provincias durante las campañas 1996 - 1998 señalan la posibilidad de utilizar el producto biológico al igual que el químico de contacto mancozeb, bajo una moderada incidencia de moho azul, dentro de la estrategia del manejo de la enfermedad.

El producto biológico reduce la incidencia del tizón temprano (*Alternaria solani*) en la papa en un 39,2% con respecto al testigo sin tratamiento y con una efectividad técnica de 48, 8 %. En la provincia de Matanzas, introducido en un área de producción con manejo orgánico en el cultivo de la papa, disminuyó el ataque de *Alternaria solani* y *Phytophthora infestans* con resultados similares obtenidos en las áreas de manejo convencional. En el cultivo del tomate se registró igualmente un buen control contra el tizón temprano (Almandóz 2001). En condiciones de cultivo protegido, en diversas variedades, la intensidad de ataque por *Alternaria solani* resultó de 60,2% bajo tratamientos con mancozeb y de 58,2% en la variante protegida con Gluticid a dosis de 3,0 kg/ha, sin diferencia significativa en la eficacia entre ambos tratamientos. El producto biológico se mostró igualmente efectivo, para el control de *Cladosporium fulvum,* De acuerdo a los resultados obtenidos, el producto se considera una alternativa biológica, con efecto similar al mancozeb, para la lucha contra *Alternaria solani* y *Cladosporium fulvum* en tomate (Castellanos *et al*. 2005).

Se registra un control alentador del mildiu velloso (*Pseudoperonospora cubensis*) del pepino con la aplicación de Gluticid, donde su efecto fue igual al de zineb (Stefanova *et al.* 2001). El producto también reduce las especies *Curvularia senegalensis* y *Curvularia gudauskasii* en la semilla botánica de la caña de azúcar entre el 90 y 100%.

El Gluticid resulta una opción promisoria para el control de hongos foliares en especies ornamentales, fundamentalmente en las cultivadas bajo condiciones protegidas. En plantas de *Hibiscus rosa-sinensis, Alpinia* sp., *Isora* sp., *Pandanus utilis, Crysalidocarpus* sp., *Gardenia* sp., *y Conotegia* sp., controla la afectación por el hongo *Capnodium* sp. entre un 70 y 100%, y en *Tithonia* sp., controla al hongo *Cercospora* sp. en un 70% (Stefanova *et al*. 2001b).

Otro campo de aplicación del biofungicida es en el cultivo de hongos comestibles. Aplicado al substrato agroindustrial de *Pleurotus ostreatus* reduce los contaminantes al 100% con un incremento del rendimiento entre 28 y 33% y una sustitución total del fundazol, siendo una práctica utilizada en las plantas de producción de esta especie en el país (Gutierrez *et al.* 2000).

Ensayado para el control de patógenos fúngicos en postcosecha en bananos el Gluticid, a 200 ppm, registró resultados comparables con los alcanzados por el producto químico tiabendazol (TBZ) y a 400 ppm, redujo el porcentaje de afectación aproximadamente en un 50 % en comparación con el testigo. Aplicado en áreas productivas dedicadas al cultivo de banano orgánico en la Península de Santa Elena en la República de Ecuador detuvo el desarrollo de la enfermedad. Las nuevas hojas, que surgieron después de la aplicación del producto, no manifestaron síntomas visibles de la enfermedad, observándose en

general un buen aspecto de las plantaciones plataneras tratadas (Piñón 2009).

Los resultados de los estudios realizados para el control de patógenos fúngicos demuestran la eficacia del producto biológico en prevenir, retardar y reducir la incidencia en diversos cultivos. Su efecto es comparable con los productos químicos de contacto y además se registra un efecto colateral estimulante sobre las plantas y su resistencia. Se recomienda a dosis de 3,0 - 3,5 kg/ha., solo o en alternancia con productos químicos, dentro del manejo integrado de los cultivos.

El biofungicida Gluticid se obtiene mediante un proceso biotecnológico desarrollado en el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), en colaboración con el Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). Su producción a gran escala y comercialización, será asumida por el Grupo Empresarial LABIOFAM.

Bioproductos para el control de nemátodos

HeberNem: bionematicida ecológico

Composición: El agente activo del producto es la bacteria *Tsukamurella paurometabola*, cepa C-924 aislada del suelo, pertenece al grupo de los *Actynomicetos.*

Modo de acción: Su acción es debida a las quitinasas y al sulfuro de hidrógeno, que se producen simultáneamente y actúan de manera combinada sobre los huevos y las larvas (juveniles) (Mena *et al*. 2002, 2003).

El bionematicida, resultado de un proceso fermentativo, se identifica con la marca HeberNem. La ejecución de once pruebas toxicológicas y ocho ecotoxicológicas muestran su inocuidad y compatibilidad con el medio ambiente. Es obtenido en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) y esta protegido por tres patentes de invención, dos de ellas relacionadas a su actividad como nematicida (Mena *et al*. 1996, Mena *et al*. 2002) y una tercera como biofertilizante (Mena *et al.* 2007a).

La cepa C-924 resultó seleccionada entre 158 aislamientos bacterianos por su actividad nematicida superior a las restantes cepas estudiadas. En la determinación de las concentraciones letales manifestó el mejor comportamiento en el control de larvas de *Meloidogyne incognita* (Mena *et al.* 2001).

El efecto nematicida de *Tsukamurella paurometabola,* cepa C-924 es producto de la acción combinada de las quitinasas y los sulfuros producidos por la bacteria. Esto se pudo saber a partir de observaciones realizadas en el estudio ultra estructural por microscopía electrónica en huevos y larvas de nematodos y experimentos *in vitro*, donde se evaluó la actividad de los gases como portadores de sulfuros, y la actividad del sobrenadante del cultivo como portador de quitinasas. El producto produce un debilitamiento de la capa externa, que contiene un 70% de quitina, con presencia de vacuolas y un desorden en el proceso de embriogénesis. En las larvas (juveniles) se observan efectos similares en cuanto a la formación de vacuolas gaseosas internas, proceso acompañado de daños en la cutícula (Pimentel *et al.* 2002, Mena *et al.* 2002, 2003).

Las evaluaciones experimentales del producto en el control de *Meloidogyne*

incognita, en tomate, bajo las condiciones de cultivo protegido, demostraron su efectividad, en relación con el grado de afectación, según la Figura 4.

Los resultados superiores se alcanzan cuando la concentración bacteriana se encuentra por encima de 10^5 ufc/g de suelo. Es requisito indispensable que los suelos a tratar contengan al menos un 3% (óptimo 4%) de materia orgánica disponible y un 12% (óptimo 18%) de materia orgánica total (Mena *et al.* 2006a, 2007ab, Mena 2007).

Este nematicida biológico supera a otros tratamientos nematicidas, incluyendo químicos altamente tóxicos, al disminuir la infestación por nematodos de grado V a grado II (Fuentes *et al.* 2011). En un intervalo entre 60 y 120 días la población de *Tsukamurella paurometabola,* cepa C-924, disminuye progresivamente en los suelos tratados para llegar a niveles no detectables (Mena *et al.* 2006b, Mena 2007).

El estudio de la compatibilidad demuestra que, con un manejo adecuado, es posible combinar los tratamientos de la bacteria con algunos de los plaguicidas químicos empleados en los cultivos protegidos. Ensayos *in vitro* evidencian las asociaciones con las bacterias *Azotobacter chroococcum*, *Pseudomonas fluorescens* y *Rhizobium phaseoli*; y con los hongos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma harzianum* y *Verticillium lecanii*. La combinación con *Trichoderma harzianum* A34 resulta favorable para el control tanto de nematodos, como de hongos fitopatógenos del suelo (Mena *et al.* 2006b, Mena 2007).

La aplicación de HeberNem en 75.42 hectáreas de cultivos de tomate, melón, pepino y pimiento en condiciones de 23 sistemas productivos diferentes, señala una efectividad técnica de 70 a 95% en el control de fitonematodos parásitos (*Meloidogyne* spp.) y la posibilidad de una sustitución total de los productos químicos (bromuro de metilo, dazomet, agrocelhone y formaldehído) en los cultivos protegidos (Mena *et al.* 2007b). Un manual técnico de procedimiento para la aplicación de HeberNem y la capacitación del personal técnico y trabajadores garantizan el manejo eficiente del producto (Mena, 2007). En el período 2004 - 2010, se aplicaron alrededor de 10705.36 L de HeberNem, que representan aproximadamente 345.33 hectáreas de cultivos protegidos en todo el país (Figura 3).

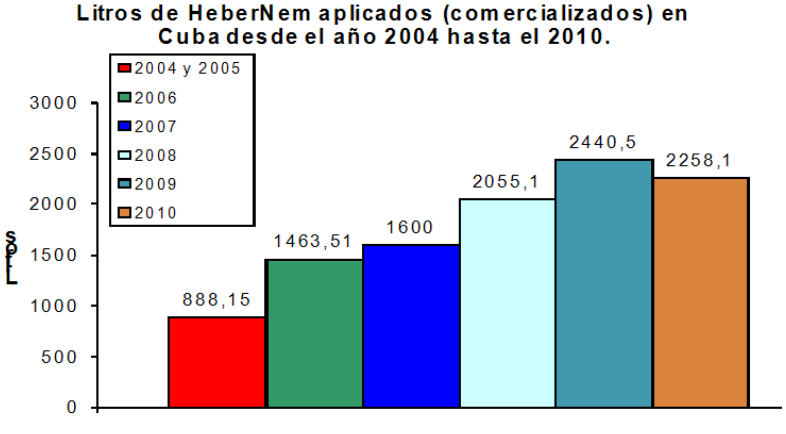

Figura 5. Litros de HeberNem aplicados en Cuba desde el año 2004 hasta el 2010.

KlamiC: bionematicida a base de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*

El producto biológico KlamiC se obtiene por el método de fermentación en estado sólido en bolsas con filtro, a partir de cepa IMI SD 187 del hongo *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*, parásito facultativo de huevos de nemátodos (Hidalgo *et al.* 2000). Un sistema de gestión de calidad, basado en las norma ISO 9001 permite la obtención de un producto consistente, con un promedio de 91% de germinación de clamidosporas, una concentración de 2,2 x 10^7 clamidosporas/g de producto y 75% de parasitismo en huevos (Montes de Oca *et al*. 2009).

El modo de acción consiste en colonización de la superficie de los huevos por medio de apresorios, desarrollados a partir de la hifa indiferenciada del hongo; la penetración es el resultado de la combinación entre la presión física y la actividad enzimática. La cepa IMI SD 187 posee clamidosporas con alto contenido de proteínas y una elevada producción de esterazas. Fue seleccionada como promisoria, al alcanzar niveles de 68% de huevos parasitados de *Meloidogyne incognita* en condiciones semicontroladas y de 70% de las masas de huevos colonizadas en la rizósfera del tomate, después de seis meses de aplicado el hongo en una sucesión de cultivos (Hidalgo *et al.* 1998; Hidalgo 2000, Hidalgo *et al.* 2000; Peteira *et al.* 2005).

El producto reduce paulatinamente las poblaciones de nemátodos por debajo del nivel crítico. Estudios realizados señalan que una concentración de inóculo de 2000 clamidosporas/g de sustrato proporciona niveles de parasitismo de huevos entre un 60 y 70%, y con 3000 - 5000 clamidosporas/g se puede obtener más de un 75% de parasitismo (Puertas *et al.* 2006a). El inóculo recomendado para la aplicación en condiciones de producción es de 5000 clamidosporas/g (Hernández e Hidalgo-Díaz 2008).

El crecimiento del hongo en la rizosfera depende de la planta hospedante, en condiciones experimentales los valores más altos del hongo, que superaron las 200 UFC/cm^2 de raíz, se obtuvieron en la col, coliflor, acelga, tomate, pepino y pimiento. La resistencia de las crucíferas al ataque de *Meloidogyne incognita* además indica, que los primeros tres cultivos podrán ser utilizados con éxito dentro de esquemas de rotación, con *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* como bioregulador, y que además las rotaciones incluyan especies susceptibles al nematodo, pero buenos hospedantes del hongo tales como pepino, tomate y pimiento (Puertas e Hidalgo-Díaz, 2007).

El hongo nematófago no produce efectos negativos sobre las plantas. Estudios realizados con maíz y frijol mostraron que la aplicación del biocontrolador no afecta la germinación y el crecimiento de las plantas, según los resultados del análisis de la concentración tisular no se acumula en las partes aéreas y solo presenta un crecimiento endófito en las raíces, sin producir toxicidad (García *et al.* 2008). Los abonos orgánicos como estiércol vacuno y humus de lombriz aseguran, a nivel experimental, la colonización alta de las raíces del cultivo del tomate por la cepa IMI SD 187 y pueden ser empleados como soporte para la aplicación del hongo en condiciones de producción. El uso de estos abonos orgánicos de forma periódica, recomendada antes del establecimiento de un nuevo ciclo de cultivo

en la agricultura urbana, esta acorde a las exigencias del hongo biorregulador para su proliferación (Puertas e Hidalgo-Díaz 2009a).

El hongo *Pochonia chlamydosporia var. catenulata* es compatible con *Rhizobium* sp., *Trichoderma harzianum* y *Glomus clarum*. Por tanto existe la posibilidad del uso combinado de estos agentes en el manejo de nematodos formadores de agallas (Puertas *et al,* 2006b).

El producto comercial KlamiC se oferta en bolsas de 500 g, que se puede conservar a temperatura ambiente, en lugares secos y frescos, por un período de hasta tres meses. Es esencial que se aplique antes de la plantación del cultivo, la colonización del sustrato y raíces del cultivo del tomate, así como la capacidad parasítica de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* sobre *Meloidogyne incognita* son superiores con la aplicación del hongo en el momento del transplante (Hernández e Hidalgo-Díaz 2008, Puertas e Hidalgo-Díaz 2009b), aunque el hongo es capaz de establecerse en suelo a partir de una aplicación simple anual, y se mantiene activo sobre un sistema de rotación apropiado. Bajo estas premisas la infección de los huevos de nematodos formadores de agallas se incrementa desde un 30% en el cultivo inicial hasta un 80% en el cultivo final, y el número de J2 en suelo se reduce en más de 90% en el suelo tratado (Hidalgo-Díaz *et al* 2006, Hidalgo y Kerry, 2008).

Las tecnologías para la producción y el uso del bionematicida agrícola KlamiC son generadas en el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), el producto posee el Registro Comercial en Cuba. Los resultados obtenidos a partir de 2008 en diferentes escenarios productivos del país, donde se ha comprobado la efectividad técnica del nematicida biológico, demuestran que, con la aplicación combinada de KlamiC con otras tácticas de manejo como biofumigación, uso de plantas trampas y de HeberNem, se logra reducir, a partir del segundo ciclo de cultivo, los niveles de infestación de *Meloidogyne incognita* y obtener rendimientos similares comparados con los tratamientos de agrocelone, pero con un menor costo económico y mayor beneficio ambiental (Hidalgo-Díaz *et al.* 2010).

Nuevos bioproductos nematicidas en fase de validación

Thurisave 25: producto biológico a partir *de Bacillus thuringiensis*

Thurisave es un nematicida biológico producido por fermentación sumergida a partir de la cepa LBT 25 de *Bacillus thuringiensis.* Se presenta en forma de fluido acuoso concentrado, estable con una durabilidad de 6 meses a temperatura no superior a 25 ^{0}C, debe conservarse en lugares frescos, secos y sombreados, en envases cerrados. La suspensión técnica concentrada, otra forma del producto, está compuesta por esporas y toxinas de *Bacillus thuringiensis* (1,6%), humectante (4%), emulsificante (3%), inerte (15%), preservantes y residuos del medio de cultivo (76,4%). Se mantiene estable por 1 año en su envase original a temperatura no superior a 20 °C ni menor de 4 °C. La tecnología es desarrollada en el Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal.

El bionematicida se aplica principalmente sobre los estadios libres

de los nemátodos en el suelo. Provoca deformación y detención del proceso embrionario de los huevos, algunos de ellos con necrosis. Los juveniles (J2), dentro de las masas de huevos muestran vacuolizaciones y deformaciones en el sistema digestivo (Márquez y Fernández 2001, 2005, 2006). El mecanismo de acción de esta cepa esta relacionado con toxinas, amilasas, lipasa, lecitinasa y proteasas, excretadas por la bacteria.

La cepa LBT 25 es seleccionada después de un estudio riguroso *in vitro* de 36 cepas de *Bacillus thuringiensis*, bajo el criterio de reducción irreversible, por encima del 80%, de la eclosión de las masas de huevos en comparación con el testigo. La caracterización desde el punto de vista morfológico, fisiológico, bioquímico y molecular, la composición de proteínas *Cry* por SDS PAGE y la prevalencia en el perfil plasmidico del plásmido de 75 Mda señalan su similitud con la cepa patrón 438 de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* (Márquez 2005).

Bajo condiciones semi controladas en suelos infestados, con niveles de inóculo bajo y medio (1050 y 2100) de juveniles de segundo estadio (J2), se registraron disminuciones del agallamiento en plantas de pepino entre 66 y 48%, respectivamente (Márquez y Fernández 2001, 2005, 2006). Los experimentos de validación en cultivos protegidos contra *Meloidogyne incognita* en tomate muestran una efectividad biológica por encima de un 80% (Rodríguez *et al*. 2008). El fluido acuoso concentrado en condiciones de organopónico y cultivo protegido en provincia de Matanzas, empleado a 30 l/ha, con tres aplicaciones, fue efectivo para el control del nematodo de la agalla, alcanzándose una reducción total del grado de infestación en las parcelas que mostraron hasta el grado 3 de infestación inicial. En las parcelas con una infestación mayor se logra reducir la contaminación del área. La mayor eficacia en condiciones de campo con la suspensión concentrada se obtiene con la dosis de 25% y se reduce el índice de agallamiento en más de 1,5 grados (Márquez 2011)

Según señalan los resultados de la aplicación en áreas de producción, el suelo del área a tratar (canteros de organopónicos, huertos o de cultivos protegidos) debe tener grados ligeros a medios de infestación (de 1 a 3 en la escala de 5). En caso de infestaciones mayores, la aplicación del producto se combina con otras medidas, como plantas trampas (lechuga), solarización o biofumigación con restos de crucíferas (col, coliflor, brócoli) (Márquez 2011). Continúan los ensayos para ajustar los parámetros y momentos óptimos da aplicación.

Nemacid: producto para el control de nematodos del género *Meloidogyne*

Nemacid es un nematicida biológico obtenido por fermentación sumergida a partir de los efluentes de la fermentación del hongo entomopatógeno *Lecanicillium* spp. cepa 3166 (Gómez *et al*. 2004a). El proceso tecnológico que consta de fermentación en batch, seguido de recuperación, concentración y secado, es desarrollado en el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA). Un medio de cultivo optimizado garantiza los requerimientos nutricionales del hongo y su propagación óptima (Gómez *et al*.

2002, Gómez *et al.* 2004b).

Características del producto: Polvo pardo claro, soluble en agua, con pH entre 6.5 a 7.0, peso seco entre 95 - 100%, humedad: 4 – 6%, es estable a temperatura ambiente durante 1 año.

Modo de acción: inhibición de la eclosión y necrosis de los huevos de *Meloidogyne incognita* y mortalidad de las larvas J2 en contacto con el producto.

Los efluentes de la fermentación con actividad enzimática constituyen el principio activo del producto. La caracterización en geles de poliacrilamida muestra que las proteínas extracelulares se encuentran en el rango de 43 a 68 kDa, y el zimograma corrobora el carácter proteolítico de las enzimas (Gómez *et al.* 2004a).

En las ootecas de *Meloidogyne incognita* tratadas *in vitro* con el bionematicida durante 24 h, se registró inhibición de la eclosión y apariencia de necrosis en los huevos. Las concentraciones del producto (5, 10 y 20%) provocaron inmovilidad y mortalidad de las larvas del estadio J2 con acción nematicida irreversible.

En condiciones de producción, en túneles de cultivo protegido en tomate, se obtuvieron resultados similares en la reducción de la infestación por *Meloidogyne incognita* con el bionematicida aplicado a 80 Kg/ha y el nematicida químico basamid a dosis de 400 Kg/ha, no hubo diferencias respecto a la altura de las plantas, el número de racismos y en la producción de frutos (Gómez *et al.* 2001).

En el cultivo de pepino, bajo las condiciones de cultivo protegido, con la aplicación del Nemacid se registraron reducciones en cuanto el grado (3,1 a 1,3) y el índice de infestación (de 51,5 a 32,5%) por *Meloidogyne incognita* (Cuadra *et al.* 2008). Estos resultados preliminares señalan al producto como promisorio para el control de los nematodos formadores de agallas y las pruebas de la eficacia se ampliarán en áreas de producción.

Consideraciones finales

Para lograr el incremento sostenible de la producción y la protección del medio ambiente, a pesar de las limitaciones económicas del país, el uso de bioplaguicidas tiene una gran importancia para Cuba. En 1991, la producción de bioplaguicidas y biofertilizantes se incluye en el Programa Alimentario, una estrategia dirigida a enfrentar las necesidades de fertilización de los suelos y la lucha contra las plagas en los cultivos.

Durante varios años, las instituciones científicas cubanas han desarrollado una amplia gama de productos bioplaguicidas, biofertilizantes y bioestimulantes de uso agrícola, por lo que existen las condiciones para lograr avances significativos en esta industria de bioproductos.

Este desarrollo científico técnico alcanzado por los distintos institutos de investigación, relacionados con el programa agroalimentario del país, ha permitido transferir las tecnologías desarrolladas, la producción y comercialización de biofertilizantes, bioestimulantes y bioplaguicidas al grupo empresarial LABIOFAM, se trabaja en conjunto en perfeccionar las tecnologías de producción para equipararlas a los estándares internacionales y obtener bioproductos

económicos, socialmente viables y de mayor calidad y competitividad.

Agradecimentos

A nuestros colegas Pilar Villa y Eulalia Gómez del Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), Ma. Elena Márquez Gutiérrez del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV) y Leopoldo Hidalgo Díaz del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) por ofrecernos sus valiosas experiencias. ¡Muchas gracias!

Bibliografía

Almandóz J. 2001. Evaluación de nuevos funguicidas de origen químico y biológico para el control del tizón temprano, causado por *Alternaria solani* Sorauer, en el cultivo del tomate. Tesis en opción al grado académico de Maestro en Protección de Plantas, Univ. Agrar. de La Habana, 60 p.

Casanova A, Gómez O, Depestre T, Ferro JL, Bravo E, González FM, Jiménez R, Cuartero J, Stefanova M, Sandoval I, Hidalgo L. 1998. Tecnología de producción de posturas de hortalizas en cepellones. Producción de cultivos en condiciones tropicales, La Habana Ed. IIH Liliana Dimitrova,: ISBN:959-7111-04-7 : 41-43.

Castellanos L, Stefanova M, Villa P, Irimia I, González M, Lorenzo ME. 2005. Ensayos con el producto biológico GLUTICID para el control de *Alternaria solani* y *Cladosporium fulvum* en tomate en casas de cultivo protegido. FITOSANIDAD, 9: 39- 43,

CITMA (1995). Programa de Biotecnología Agrícola para la "Obtención y Desarrollo de Bioplaguicidas, Biofertilizantes, Biorreguladores y Extractos Naturales". En: Programas Nacionales Científico Técnicos. Ministerio de Ciencias Tecnología y Medio ambiente. (Editorial. PUBLICEN): 13-15, Ciudad Habana.

Cuadra R, Ortega J, Morfi OL, Soto L, Zayas MA, Perera E. 2008. Efecto de los medios biológicos Trifesol y Nemacid sobre los nematodos de las agallas en la producción protegida de hortalizas. Rev. Protección Vegetal 23: 59-62.

Díaz de Villegas ME. 1999. Evaluación de la producción de sideróforos por la *Pseudomonas* spp. Tesis en opción al Título Académico de Maestro en Microbiología, Mención Fermentaciones. Facultad de Biología, Universidad de la Habana.

Díaz de Villegas ME. 2007. Biotechnological Production of Siderophores. En: Varma A, Chincholkar S (eds) Soil Biology 12:219-227.

Espino M, Stefanova M. 1999. Efectividad de *Trichoderma harzianum* contra *Phytophthora nicotianae* en tabaco a nivel de bandejas. *CUBATABACO* 1: 4 – 8.

Frías A, Villa P, Mesa J, Tacoronte E, Torres E, Montes de Oca R. 2007. Caracterización de los metabolitos antifúngicos producidos por *Pseudomonas aeruginosa,* cepa PSS contenidos en el biofungicida Gluticid. Premio Anual de Investigaciones, Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA).

Ferrer C, Fumero M, Barranco B, García, G. 2006. Manejo agroecológico del tizón de fuego causado por el hongo *Corynespora cassiicola* (Berk & Curt) Wei en el cultivo del pepino (*Cucumis sativus* l.) en sistemas de organopónicos. Fitosanidad 10: 157-158.

Fuentes PF, Concepcion E, Cristo ME. 2011. Evaluacion de nematicidas biologicos en el control del nematodo agallero (*Meloidogyne incognita* Chitwood) en el cultivo protegido del Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Revista Infociencia 15(2): http://infociencia.idict.cu/index.php/infociencia/

García D, Sandoval I. 1994. Tiempo óptimo de tratamiento de semillas de tomate con

Trichoderma harzianum (Resúmenes) 90 Aniversario INIFAT, VII Jornada Científica. La Habana, abril 5, 6 y 7, p. 74.

García L, Melchor G, Arévalos J, Hidalgo-Díaz L. 2008 Evaluación de la fitotoxicidad de la cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* sobre *Zea mays* L. y *Phaseolus vulgaris* L. Revista Protección Vegetal 23: 38-43.

Gómez E, Alvarez R M, San Juan A N, Zayas M A, Hernández ., Lemes , Croche G, Cruz X. 2001. Nematicida a partir del hongo *Verticillium lecanii*. Revista Terralia 24: 30.

Gómez E, Alvarez R M, San Juan AN, Zayas MA, Fraga,R. Cruz X, Hernández J, Lemes T, Reyes I, Croche G. 2002. Empleo de los efluentes del hongo *Verticillium lecanii* con fines biocontroladores (Cuba). VII Congreso Internacional sobre Azúcar y derivados de la Caña. Ciudad de la Habana, Junio; Tomo1: 121-123.

Gómez E, Álvarez RM, Fraga R, Reyes I, Hernández J, Lemes T, San Juan AN. 2004. Metabolitos producidos por el hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii*. Biotecnología Aplicada 2004: 92-95.

Gómez E, Alvarez R.M, Gastón C, Bermello A, San Juan AN. 2004. Caracterización química del NEMACID mediante el empleo de técnicas de avanzada. Memorias del VIII Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados de la Caña (Diversificación 2004).

Gutiérrez I, Villa P, Altuna B. 2000. Aplicación de bioproductos a partir de rhizobacterias en la producción de hongos comestibles, Una experiencia cubana. Anales Científicos XX Relar Arequipa Perú pp. 260-265

Heredia I. 1997 Biocontrol en semillas con *Trichoderma* spp. Efectividad. Resúmenes III Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, 23-27 de junio, La Habana. 99-100.

Hernández A, Genova E, Triana M, Aleman M. 2006. Uso del Rhizotrich en la proteccion de semillas de frijol. Fitosanidad 10:162-163.

Hernández MA, Hidalgo-Díaz L. 2008 KlamiC Bionematicida agrícola producido a partir del hongo *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*. Revista Protección Vegetal 23: 131-134.

Hidalgo L, Sánchez L, Gómez L. 1998. *Verticillium chlamydosporium* Goddard, parásito de huevos de *Meloidogyne incognita*. Revista Protección Vegetal 13: 29-30.

Hidalgo L. 2000. Potencialidades de cepas autóctonas de *V. chlamydosporium* (Goddard) como agente de control biológico de *Meloidogyne* spp. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. UNAH-CENSA.100 p.

Hidalgo L, Bourne JM, Kerry BR, Rodriguez MG. 2000. Nematophagous *Verticillium* spp. in soils infested with *Meloidogyne* spp in Cuba: isolated and screening. International Journal of Pest Management 46: 277-284.

Hidalgo L, Puertas, A, Peteira B, Montes de Oca N, Arevalo J, Hernández M, Rodríguez M, Brian K. 2006. KlamiC: bionematicida para el control de nematodos formadores de agallas en sistemas de producción de hortalizas. Resúmenes Taller Latinoamericano. Biocontrol de fitopatógenos con *Trichoderma* y otros antagonistas. Fitosanidad 10: 168-169.

Hidalgo-Díaz L, Kerry B. 2008. Integration of biological control with other methods of nematode management. En: Integrate management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes. Ciancio A, Mukerji KG (Eds) Integrated Pest Management of Plant Pest and Diseases, Volumen 2. Springer, pp. 28-43.

Hidalgo-Diaz L, Hernandez MA, Arevalo J, Acosta N, Montes de Oca N, Gonzales E, Gomez L, Regalado RE, Rodriguez M, Puertas A, Cerio, W, Delgado Y, Pérez J. 2010. Experiencias del uso del bionematicida KlamiC en el manejo de nematodos formadores de agallas en cultivos protegidos. Congreso Científico del INCA, XVII, San José de las Lajas, 22-26 nov. ICBN 978-959-7023-48-7

INIFAT-MINAGRI. 2000. Manual Técnico de Organopónicos y Huertos Intensivos. Grupo

Nacional de Agricultura Urbana, AGRINFOR, C. Habana, 145 p.
Márquez M.E, Fernández E. 2001 Cepas de *Bacillus thuringiensis* promisorias en control de *Meloidogyne incognita*). *Nematrópica* Vol. 31: 141.
Márquez M. 2005 Selección y evaluación tóxico-patogénica de cepas cubanas de *Bacillus thuringiensis* con actividad nematicida . Tesis para optar por el título Doctor en Ciencias Agrícolas CID-INISAV115 p.
Márquez ME, Fernández E. 2005 Evaluación del efecto nematicida de cepas de *Bacillus* spp. Fitosanidad 7: 55-59.
Márquez ME, Fernández E. 2006 Selección de cepas de *Bacillus thuringiensis* con efecto nematicida. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) 78: 63- 69.
Márquez M. 2011 Desarrollo de un producto a partir de *Bacillus thuringiensis* para el control de fitonematodos. Informe de proyecto terminado. CID-INISAV 120 p.
Medina E, Rodríguez O, Hernández A. 1998.Compatibilidad de *Azotobacter* sp. y *Trichoderma* sp. con diferentes plaguicidas. Centro Agrícola 25: 84-85.
Mena J, de la Riva G, Vázquez RP, Fernández M, Coego A, García M, Pimentel E, López A, García R, Zaldúa Z, Mencho JD. 1996. Nematicidic agent and method for the bio-control of nematodes. International Application Published Under the Patent Cooperation Treaty (PCT 0397), WO 96/04749.
Mena J, Vázquez RP, León L, Ramírez Y, Hernández AT, Pimentel E. 2001. Efectividad de *Corynebacterium paurometabolum* en el control de *Meloidogyne incognita*. Nematropica 31:144-145.
Mena J, Pimentel E, Hernández A T, Veloz L, Vázquez RP, León L, Mencho JD, Ramírez Y, Pujol M, Borroto, C. 2002. Mechanism of action of *Corynebacterium paurometabolum* strain C-924 on nematodes. Nematology 4: 287.
Mena J, Pimentel E, Veloz L, Hernández AT, León L, Ramírez Y, Sánchez I, Mencho JD, López A, Pujol M, Borroto C, Ramos E, Alvarez JM, Marín M, Jiménez G, García G, Pico VM, Expósito M, Coca Y, Gómez M, Olazabal A, Hernández A, Falcón V, De la Rosa MC, Menéndez I, Raíces M. 2003. Aislamiento y determinación de cepas bacterianas con actividad nematicida. Mecanismo de acción de *C. paurometabolum* C - 924 sobre nematodos. Biotecnología Aplicada 20: 248- 252.
Mena J, Pimentel E, Borroto C, Smith E, Mesa L, León L, Hernández M, Ramírez Y, Sosa A, García M, Raíces M, Hernández AT, Wong I, Basulto R, Oliva O, Herrera L. 2006a. Extensión Nacional del bionematicida HeberNem, para el control de fitonematodos en los cultivos protegidos. MINAG. Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova". Investigaciones Científicas al servicio de la Agricultura tropical.-La Habana. Liliana ISBN 959-7111-39-X.
Mena J, Pimentel E, Hernández AT, León L, Ramírez Y, Wong I, Marín M, Mencho JD, Hernández M, del Castillo A, Sánchez I, Expósito M, Jiménez G, Fleitas M, García G, González N, Zamora J, Zalazar E, Olivera V, Rodríguez G, Álvarez B, Dandie H, Sánchez MC, Pimentel R, Pérez C, Compte O, Sardiñas, M, Martínez L, Salinas D, García C, Borroto C. 2006b. Uso de bionematicida HeberNem en los cultivos protegidos. Resúmenes Taller Latinoamericano Biocontrol de fitopatógenos con Trichoderma y otros antagonistas. Fitosanidad 10: 168.
Mena J. 2007. Manual de Aplicación del Bionematicida HeberNem. 1er Seminario Técnico sobre Sanidad Vegetal en Cultivos Protegidos, La Habana: http://revistas.mes.edu.cu/eduniv/evento/fitosanidad/Manual-Aplicacion-Bionematicida-HeberNem.pdf.
Mena J, Pimentel E, Marín M, Hernández AT, Sánchez I, Ramírez Y, González S, García M, Borroto C. 2007a. Composición biofertilizante. Oficina Cubana de la Propiedad Intelectual, OCPI Nro. solicitud: 2007-0092.
Mena J, Pimentel E, Borroto C, Smith E, Mesa L, León L, Hernández M, Ramírez Y, Sosa A, García M, Raíces M, Hernández ET, Wong I, Basulto R, Oliva O, Herrera L. 2007b. Empleo del bionematicida HeberNem como sustituto de productos químicos en los

cultivos protegidos. CITRIFRUT, ISBN 978-959-296-001-5.
Méndez MI, Polanco A, Velásquez I 2010. Modelo de MIP como alternativa al uso del bromuro de metilo en los cultivos protegidos de la empresa cítricos Jíquima. Resúmenes del II Taller Latinoamericano de Biocontrol de Fitopatógenos. Fitosanidad 14: 54.
Méndez MR, Polanco A 2006. Métodos de control de nematodos con *Trichoderma harzianum* en casas de cultivo. Fitosanidad 10: 174.
Montes de Oca N, Arevalo J, Nuñes A, Riveron Y, Villoch A y Hidalgo-Díaz L. (2009). KlamiC: ExperienciaTécnica-Productiva. Revista de Protección Vegetal, 24: 62-65.
Muiño B, Sáenz M, Stefanova M, Porras A, Díaz I 2001. Compatibilidad de *Trichoderma* spp., con plaguicidas y fertilizantes en el cultivo del tabaco. Fitosanidad 5:3-9.
Muiño B, Botta E, Perez E, Moreno D, Fernández E 2006. Uso de *Trichoderma* como alternativa al bromuro de metilo en los cultivos protegidos. Fitosanidad 10:179-180.
Pérez, JM, Espino A, García M, Gandarilla H, Pérez A, Fernández E, Stefanova M, Olivares N, Rodríguez RC, Martínez I, Andreu CM, Méndez M 2005. Manejo Agroecológico de nematodos en la Agricultura Urbana. En: Resumenes II Simposio Internacional sobre Vigilancia Fitosanitaria y su Relación con la Protección del Ambiente, p. 86 Ciudad Habana, Cuba.
Pérez J, Pérez C, Acosta O, Gandarilla H, Pérez A,. Rodríguez R, Basterrechea M, Fernández E, Stefanova M, Robaina N, Olivares N,Santana T, Gonzále M, Lluvides J, Devesa L, Gutiérrez E, Andreu J. 2006. *Trichoderma*, alternativa para el control biológico de nematodos dentro de una agricultura sostenible. Resúmenes Taller Latinoamericano Biocontrol de fitopatógenos con Trichoderma y otros antagonistas. FITOSANIDAD , vol 10, # 2 , p. 165, junio 2006.
Peteira B., Estevez I, Atkins S, Hidalgo-Díaz L, Montes de Oca N, Kerry B. 2005. Estabilidad de la cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* (Kamyscho ex Barron y Onions) Zare y W. Gams. Parte II Indicadores Bioquímicos. *Revista de Protección Vegetal* 20:102-109.
Pimentel E, Mena J, Hernández A, De la Rosa MC, Menéndez I, Veloz, L, León L, Falcon V. 2002. Ultraestructural study by TEM of eggs and juveniles of nematodes treated with *Corynebacterium paurometabolum* strain C-924. Nematology 4 (2): 289.
Piñón D. 2009. Evaluación del bioproducto cubano GLUTICID para el control de la enfermedad Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en plátanos y bananos. Informe del trabajo realizado Proyecto Integral para el Desarrollo Agrícola de la Península de Santa Elena en la República de Ecuador (PIDAASSE).
Puertas A, Arévalos J, Montes de Oca N, Miranda I, Hidalgo-Díaz L. 2006. Efecto de diferentes concentraciones de inóculo de la cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* en el control de *Meloidogyne incognit*a Revista Protección Vegetal 21: 74-79.
Puertas A, de la Noval B, Martínez B, Miranda I, Fernández F, Hidalgo-Díaz L. 2006a. Interacción de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* con *Rhizobium* sp., *Trichoderma harzianum* y *Glomus clarum* en el control de *Meloidogyne incognita*. Revista Protección Vegetal 21: 80-89.
Puertas A. 2007. Uso de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* (Kamyscho ex Barron y Onions) Zare y Gams como agente de control biológico de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en cultivos hortícolas. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. UNAH-CENSA, 127 p.
Puertas A, Hidalgo-Díaz L. 2007. Influencia de la planta hospedante y su interacción con *Meloidogyne incognita* sobre la efectividad de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* como agente de control biológico. Revista Protección Vegetal 22: 104-109.
Puertas A, Hidalgo-Díaz L. 2009. Efecto de diferentes abonos orgánicos sobre el establecimiento de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* en el sustrato y la rizosfera

de plantas de tomate. Revista Protección Vegetal 24:162-166.
Puertas A, Hidalgo-Díaz L. 2009a Efecto del momento de aplicación de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* sobre su eficacia en el control de *Meloidogyne incognita* Revista Protección Vegetal 24: Revista de Protección Vegetal 24:177-179.
Rodríguez F, Stefanova M, Gómez U. 1998. Efecto del biopreparado de *Trichoderma harzianum* (Rifai) contra *Pseudoperonospora cubensis*(Berk Curt) Rostow y *Erisiphe cichoracearum* D.C en pepino (*Cucumis sativus* L.) Fitosanidad 2: 41- 43.
Rodríguez R, Hernández R, Escobar M, Gómez JM, Alfonso G. 2008 Obtención y efecto de un bionematicida a base de *Bacillus thuringiensis*. VI Seminario Internacional de Sanidad Vegetal, Habana, Cuba. 22- 26 de septiembre. ISBN: 978-959-282-080-7.
Saenz M, Sandoval I, Martínez ML. 1994. Uso de la materia orgánica en semillero de tabaco como vehículo de *Trichoderma* spp para el biocontrol de *Phytophthora nicotianae*. Resúmenes 90 Aniversario del INIFAT/ VII Jornada Científica, La Habana, abril 5, 6 y 7, p. 72.
Sandoval I, Stefanova M, López MO, Neyra M, García D. 1995. Utilización de un biopreparado de *Trichoderma* para el control de enfermedades en tomate y pimiento. Resúmenes Earth Conference on Biomass for Energy, Development and the Environment, La Habana Cuba, enero 10-15, p. 136-137.
Sandoval I, Lopez M, García D, Mendoza I. 1995a. *Trichoderma harzianum*(Cepa A- 34) : Un biopreparado de amplio empleo para micopatologías en tomate y pimiento. Boletín Técnico 3, CID – INISAV, 38 p.
Santana Y, Casola C, Cussy P. 2010. Uso de *Trichoderma harzianum* R. como control biológico de *Cercospora beticola* (Sacc.), en el cultivo de la remolacha (*Beta vulgaris* Lin.) en sistemas de organopónicos. Resúmenes del II Taller Latinoamericano de Biocontrol de Fitopatógenos. p 67. FITOSANIDAD 14: 66-67.
Stefanova M, Sandoval I. 1995. Efectividad de biopreparados de *Trichoderma* spp. en el control de hongos fitopatógenos del suelo. Boletín Técnico 2 CID-INISAV 22 p.
Stefanova M, Sandoval I, Fernández A. 1995. Compatibilidad entre cepas de *Trichoderma* spp. y agentes biopesticidas, biofertilizantes y bioestimulantes. En: Memorias Encuentro Nacional Científico - Técnico de Bioplaguicidas/ Expo CREE, 11-12 de octubre, INISAV, C. Habana, B – 22, p. 46.
Stefanova M, Fernández E. 1995. Principales patógenos del Suelo en las Hortalizas y su control. En: *Producción Intensiva de Hortalizas en los Trópicos Húmedos* (R. Labrada, *Ed*.), 111-120. División de Producción y Protección Vegetal, FAO, Roma.
Stefanova M. 1997. Biopreparados de *Trichoderma*: una forma de lucha efectiva contra patógenos fúngicos del suelo. Agricultura Orgánica. No. 2 y 3, p. 22-24.
Stefanova M, Leiva A, Coronado F, Larrinaga L. 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp., para el control de hongos fitopatógenos del suelo. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ) 16: 509-516.
Stefanova M, Sandoval I, Martínez M, Heredia I, Arévalo R. 2001. Control de hongos fitopatógenos del suelo en semilleros de tabaco con *Trichoderma harzianum* XV Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo, Boletín: Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo 4 ISSN 1609-1876.
Stefanova M, Rodríguez F, Almandóz J, Pérez L., Castellanos L, Muiño B, Villa P, Gutierez I, Cordovéz M. 2001a. Eficacia de un nuevo fungicida biológico para el control de enfermedades en cultivos de importancia económica. Resúmenes IV Seminario Científico de Sanidad Vegetal, OICB, Sección Regional Neotropical, Cuba. p. 150.
Stefanova M. 2007. Desarrollo, alcances y retos del biocontrol de fitopatógenos en Cuba. Summa Phytopathologica, 33:104 – 160.
Stefanova M. 2007a. Introducción y eficacia técnica del biocontrol de fitopatógenos con *Trichoderma* spp. en Cuba. FITOSANIDAD 11:75- 79.
Utra A E, Stefanova M. 1994. Evaluación de cepas de *Pseudomonas* spp para el biocontrol de

hongos fitopatógenos. Tesis en opción al título Licenciado en Microbiología, Facultad de Biología U. Habana. 30 p.

Villa P, Díaz de Villegas ME. 1996. Potencialidades de un producto biológico de *Pseudomonas* spp cepa PSS para el control de hongos y malezas. Sobre los Deriv. XXX: 6-12.

Villa P. 1999. Producción de metabolitos a partir de *Pseudomonas fluorescentes* para su uso en el control biológico de hongos fitopatógenos. Tesis en opción al Título Académico de Maestro en Microbiología, Mención Fermentaciones en la Facultad de Biología de la Universidad de la Habana.

Villa P, Díaz de Villegas ME, Michelena G, Frías A. 2000a. Antifúngico foliar a partir de *Pseudomonas* spp. Manual de los Derivados de la Caña de Azúcar 3ra Edición Cap.4, p. 421-423.

Villa P, Díaz de Villegas ME, Stefanova M. 2000b. Gluticid: producto biológico cubano para el control de fitopatógenos foliares y del suelo. Anales Científicos XX RELAR, IDEMA. Pp.293-301.

Villa P, Díaz de Villegas M, Stefanova M, Michelena G. 2001. Proceso biotecnológico para la producción de un fungicida a partir de *Pseudomonas* sp. cepa PSS. Memorias del Primer Concurso Latinoamericano en Innovación de Tecnologías Ecológicas para el Agro. p. 64 –74, 2001.

Capítulo 9

Control biológico de enfermedades de plantas en Ecuador

César E. Falconí Saá

Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE, Departamento de Ciencias de la Vida, Carrera de de Ciencias Agropecuarias, Hacienda El Prado, Sangolqui – Ecuador. cefalconi@espe.edu.ec

Introducción

El placer de selección de nuestros alimentos se basa entre otros por su color, olor, sabor, firmeza y tamaño a través de nuestros sentidos. Sin embargo, la producción, calidad y el valor nutricional pueden verse afectados en el campo, cosecha, postcosecha y comercialización. Entre otros factores, los hongos y bacterias afectan sin lugar a dudas en diferentes etapas de la cadena productiva y de la comercialización, causando grandes pérdidas.

En Ecuador, el sistema de producción se mantiene con grandes extensiones de cultivos en la costa, en contraste los cultivos se producen en lotes pequeños de 0,5-10 hectáreas en la sierra. Períodos marcados de alta pluviosidad incentivan la prevalencia de hongos y bacterias, favoreciendo el desarrollo de enfermedades epidémicas, como la moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri*) o el tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans*). La FAO (2011) estima pérdidas de 30% antes de la cosecha y 10% en postcosecha, en países desarrollados. Particularmente en Ecuador las pérdidas por agentes bióticos son muy variables, por ejemplo en la sierra el daño causado por tizón tardío (*Phytophthora infestans*) a la papa es de 30 a 100%, según la variedad y época de siembra (Morales 1994), por el nemátodo del quiste de la papa (*Globodera pallida*) es de 30% (Revelo 1997) y en la costa hasta un 50% de pérdidas de banano causado por la sigatoka negra (*Mycosphaerella figiensis*) (AEBE 2012). La situación es aún más compleja ya que a pesar de la diversidad ecológica dada por los sistemas mixtos de producción de la zona andina, la presencia de plantas susceptibles hace que éstas se conviertan en potenciales reservorios de otros patógenos. Por ejemplo, Falconi (2012) y

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

Falconi *et al.* (2013) han demostrado que la antracnosis (*Colletotrichum acutatum*) del chocho (*Lupinus mutabilis*) es también patógeno del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y viceversa.

El control de enfermedades constituye un aspecto muy importante en la producción. Las enfermedades pueden representar costos del 20% o más de la producción, dependiendo de la severidad de daño (Lewis y Papavizas 1991). Los productos químicos sintéticos han representado la alternativa más común para protección de los cultivos, pero su empleo intensivo sigue causando un efecto dañino al hombre y al medio ambiente. La acumulación de residuos tóxicos en alimentos, agua y suelo provenientes de fungicidas sintéticos es común debido al irrespeto en el intervalo de aplicaciones, dosis excesivas e incorrecto uso en un cultivo determinado. Estos hechos continúan afectando la calidad de vida de los humanos quienes estamos expuestos a consumir grandes cantidades de toxinas y otras sustancias nocivas acumuladas en productos agrícolas. A esto se suma el hecho que los químicos sintéticos afectan en los ecosistemas disminuyendo poblaciones de agentes benéficos para los cultivos. Además, se ha comprobado que el uso desmedido de productos químicos ejerce presión de selección de poblaciones resistentes de hongos y bacterias fitopatógenas.

Debido a la preocupación de la inocuidad alimentaria y la necesidad de preservar el medio ambiente, una de las herramientas del manejo integrado de enfermedades que ha adquirido particular relevancia es el control biológico. La búsqueda de agentes de biocontrol se basa en el hecho que muchos productos agrícolas no son destruidos completamente por enfermedades debido a la presencia natural de organismos capaces de reducir el efecto nocivo de la enfermedad. El control biológico de enfermedades agrícolas, su uso y la potenciación de microorganismos ha adquirido mucha importancia, a nivel mundial, principalmente debido a que se ha identificado un grupo importante de hongos y bacterias que actúan como antagonistas de patógenos vegetales (Lewis y Papavizas 1991). El control de enfermedades como damping off causada por *Rhizoctonia solani* en algodón con *Trichoderma* spp., o enfermedades de semillas causadas por *Rhizoctonia solani* y *Pythium ultimun* con *Bacillus subtilis* constituyen solo unos pocos ejemplos notables (Nysaes 2006, Lewis y Papavizas 1991). Aun cuando no es fácil determinar con precisión los mecanismos de acción de los antagonistas, ni de las interacciones con los patógenos sobre una planta, en general, éstos no tienen un único modo de acción. Dentro de los mecanismos de acción más importantes se resaltan la antibiosis, efecto de lisis, hiperparasistismo y competencia por nutrientes. Esta versatilidad ha sido tomada como una cualidad primordial en la selección y manejo de un antagonista, ya que se reduce el riesgo de resistencia por parte del patógeno y puede potenciar la acción mediante la combinación de antagonistas (Ozbay y Newman 2004). El control biológico, comprende la selección, uso y aplicación de organismos, sus metabolitos o subproductos con el objeto de reducir poblaciones de patógenos (o plagas), por debajo del nivel de daño que sería económicamente aceptable o eliminar los efectos dañinos en las plantas o sus productos causados por organismos fitopatógenos.

Con el objeto de resolver la problemática de enfermedades causadas por fitopatógenos habitantes de la filósfera y del suelo, las tendencias han apuntado

al uso del control biológico microbiano con bacterias y hongos epifitos aislados de frutos, de otras partes aéreas de las plantas, o de habitantes benéficos del suelo provenientes de localidades con alta incidencia de enfermedades y bajo manejo de agroquímicos. A continuación un análisis y discusión de una muestra de evidencias científicas conducidas a nivel de laboratorio y campo en Universidades y Centros de Investigación durante las últimas tres décadas y el desarrollo a pequeña escala y semi-industrial de biopesticidas en Ecuador.

Control biológico de la moniliasis del cacao

El cacao es una de las especies agroforestales de gran demanda en el mercado agrícola y en la industria alimentaria mundial. Según reportes de la Organización Mundial del Cacao, en el período 2011/2012 se produjo 3,9 millones de toneladas de cacao a nivel mundial, de las cuales Ecuador aportó con el 9% de cacao fino y de aroma (ICCO 2012). Para Ecuador, la producción de cacao tiene connotaciones históricas que evocan épocas de riqueza ancestral, desarrollo social, familiar y gastronómico (Montavón 1996), hechos que sustentan la denominación de especie símbolo por parte del Gobierno Nacional desde el año 2005. Desafortunadamente el rendimiento es muy variable y depende de la variedad cultivada, calidad del suelo, extensión del cultivo, entre otros. Pero fundamentalmente la diferencia en el rendimiento está dada por la eficiente lucha contra *Moniliophtora roreri*, la moniliasis (Montavón 1996). Durante los años 2000 y 2001, se recolectaron muestras de mazorcas de cacao que no mostraban infección del patógeno de 21 localidades en cuatro provincias del litoral. De mazorcas lavadas asépticamente se obtuvieron más de 250 habitantes de la filósfera. Los aislamientos fueron identificados como *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas* (*Burkholderia*) *cepacia* (Yánez *et al*. 2003). Pruebas *in vitro* demostraron que aislamientos de *Bacillus subtilis, Pseudomonas cepacia* y *Pseudomonas putida* inhibían la germinación de esporas y el crecimiento del micelio de *Moniliophtora roreri* (Falconi 2003). *Pseudomonas cepacia* se caracteriza por competir por hierro y producir antibióticos (Agrios 2005) y alcaloides quinolisídinicos de naturaleza antibiótica (Hernández 1998) que afectan a los patógenos. *Bacillus subtilis* tiene la capacidad de formar endosporas bajo condiciones adversas, especialmente altas temperaturas y radiación ultra violeta (Buchanan y Gibbons 1974). Debido a su eficiente control de enfermedades en plantas, en el mercado internacional existe una diversidad de bioproductos registrados a base de esta bacteria (Pesticides 2010, Nysaes 2006).

Suspensiones líquidas y sólidas de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia* fueron evaluadas en el control de la moniliasis. Estudios realizados en la finca Orecao, Provincia de Los Ríos, determinaron que suspensiones líquidas de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia* reducían significativamente la enfermedad entre 66 y 34%, respectivamente en el cultivar CCN-51, y entre 46 y 47%, respectivamente, en cacao Nacional Tenguel-25, comparado con el testigo no tratado (Falconi 2003). Posteriores estudios, en la hacienda Limón, Provincia de Cotopaxi, probaron el efecto de los biopesticidas Cepacide a base *Pseudomonas cepacia* formulados en turba y Basubtil a base de *Bacillus subtilis*, formulados

en vermiculita, reduciendo la incidencia de *Moniliophtora roreri* entre 76 y 78%, respectivamente en comparación con el testigo (Yánez 2004, Yánez *et al*. 2006). Estudios de validación realizados en la localidad Valencia, Provincia de Los Ríos, demostraron que Basubtil y Cepacide redujeron la enfermedad entre 82 y 81%, respectivamente, en cacao nacional Tenguel-33 (Peralvo y Saavedra 2005). El efecto de Basubtil y Cepacide también se probó en cacao CCN-51 en la comunidad de Patricia Pilar, Provincia Tsáchila, logrando reducir la moniliasis entre 69 y 71%, respectivamente (Robles 2008). Estas evidencias científicas demuestran que *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia* efectivamente controlan a *Moniliophtora roreri* previniendo el proceso de infección, quizá por una acción combinada de sustancias antimicrobianas (Falconi y Yánez 2007).

En la Estación Experimental Pichilingue del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) se orientaron estudios hacia la búsqueda de organismos antagonistas para controlar moniliasis. En el año 2001 se aislaron hongos que habitan sobre mazorcas que permanecen en el suelo, identificándose como *Trichoderma koningii* (Solis 1999). A la par se estudiaron metodologías de multiplicación masiva y comportamiento de este antagonista en el campo. Aplicaciones de 10^8 UFC/mL de *Trichoderma koningiopsis* y *Trichoderma stromaticum* mejoraron la sanidad del cultivo de manera similar a las aplicaciones de oxido cuproso (3,0 g i.a./árbol) y azoxystrobina (0,75 ml p.c/árbol). Además, la producción de mazorcas sanas aumentó entre 16 y 20% en relación con el testigo y los otros tratamientos. La incidencia de enfermedades puede reducirse e incrementar la producción de mazorcas sanas cuando se combinó el control biológico con el retiro de mazorcas enfermas de la plantación (Solís y Suárez 2003). El efecto de Bankit (Azoxistrobina) y oxido de cobre, fungicidas que usualmente se recomiendan para controlar enfermedades en cacao, fue evaluado en comparación con *Trichoderma koninguiopsis* y *Trichoderma stromaticum* a nivel de campo. El efecto de *Trichoderma koninguiopsis* y *Trichoderma stromaticum* no fue significativamente diferente comparado con los fungicidas. Sin embargo, la producción de cacao se incrementó en los tratamientos que recibieron los antagonistas. Biocontroladores y fungicidas no tuvieron efecto significativo sobre infecciones de *Crinipellis perniciosa* causa de la escoba de bruja y de *Phytophthora* spp. en mazorcas (Guerrero y Arias 2005). En otro estudio se evaluó el efecto de productos químicos, *Trichoderma koninguiopsis* y *Trichoderma stromaticum* para controlar a *Moniliophtora roreri* y *Crinipellis perniciosa*. Los hongos biocontroladores se aplicaron cada 15 días en dosis de 10^8 esporas/ml y los fungicidas oxido cuproso 3,0 g i.a/árbol y Bankit 0,75 ml i.a/árbol, con una frecuencia mensual. Las aplicaciones se realizaron con aspersores manuales, 200 mL de producto por árbol de cacao. *Trichoderma koninguiopsis* persistió en condiciones naturales de campo e inhibió la esporulación de *Moniliophtora roreri* (Díaz y Pucha 2005). Otros estudios han demostrado que dosis de 10^7, 10^8 y 10^9 UFC/mL de *Trichoderma harzianum* redujeron un 13, 14 y 17% respectivamente la incidencia de *Moniliophtora roreri*, en seis clones de cacao Nacional en el cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas. Los clones EET-19 y EET-103 presentaron la mayor producción y resistencia natural (Osorio 2010). La aplicación continua de biocontroladores es efectiva en el control preventivo de *Moniliophtora roreri* y *Crinipellis perniciosa* (Suárez y Solís 2003).

La mayoría de áreas cacaoteras del Ecuador se caracterizan por su alta temperatura y humedad relativa con lluvias intensas, especialmente entre enero y abril. Evaluaciones de Basubtil, Cepacide y Bankit sobre los promedios quincenales de severidad externa y porcentajes de incidencia de *Moniliophtora roreri* en cacao Nacional y los valores desfasados de temperatura, precipitación y humedad relativa, confirman una correlación directa entre el incremento de la precipitación entre los meses mas lluviosos (enero y abril) y el repunte de la enfermedad a finales del mes de febrero y comienzos de marzo. El efecto de la precipitación acumulada por dos meses anteriores en el incremento de la enfermedad es consistente con otros estudios realizados en la Hacienda Limón, Provincia del Cotopaxi, entre septiembre 2002 a junio 2003 (Yánez *et al.* 2003) y posteriores estudios entre abril a septiembre del 2006 en la Hda. Guantupi, Provincia de Los Ríos (Falconi y Yánez 2007). Esto explica los incrementos progresivos de infecciones causadas por *Moniliophtora roreri*, en meses posteriores. Condiciones conductivas favorecen la mayor esporulación del patógeno presente en mazorcas viejas que permanecen tanto en árboles como en el suelo dentro de la plantación.

A la precipitación y humedad relativa prevalentes durante los meses de enero y abril de cada año, en las zonas cacaoteras tropicales ecuatorianas, se suma el hecho de una mayor luminosidad durante los meses de marzo y abril. La adecuada luminosidad tiene efecto directo en la germinación de esporas de *Moniliophtora roreri* (Falconí y Yánez 2007). La acción protectante de Basubtil y Cepacide fue consistente ya que los niveles de daño de *Moniliophtora roreri* estuvieron en rangos menores, a pesar de las condiciones ambientales conductivas para la enfermedad. A lo largo de nueve meses de evaluación, el nivel de protección con biopesticidas fue similar y en algunos periodos superiores a los tratamientos que recibieron Bankit.

Otras medidas alternativas de bajo impacto ambiental como poda sanitaria, poda + con o sin remoción de mazorcas, poda con o sin remoción de mazorcas + *Trichoderma stromaticum* y *Trichoderma koningiopsis* en dosis de $1{,}0x10^{13}$ esporas/ha, poda con o sin remoción de mazorcas + azoxistrobina y poda con o sin remoción de mazorcas + fertilización se evaluaron para controlar la moniliasis, en plantaciones de cacao fino y de aroma en la Finca La Central del Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos. El mayor número de mazorcas sanas se obtuvo con los tratamientos combinados con los hongos antagonistas, no siendo significativas sus diferencias con el producto químico. Por otro lado, la producción reportada antes de la intervención fue de apenas 270 kg/ha, pero con los tratamientos poda con remoción de mazorcas + *Trichoderma stromaticum* y *Trichoderma koningiopsis* la producción incrementó a 419 kg/ha, con poda + azoxistrobina subió solo a 404 kg/ha (Saquicela 2010). Falconi y Yánez (2007) señalan que la aplicación de biopesticidas es eficiente ya que reduce el daño interno de almendras de cacao, incluso mucho mejor que cuando se usa Bankit (azoxitrobina). La interacción *Trichoderma* y remoción de mazorcas enfermas durante un año de producción mostró un efecto positivo en el control de moniliasis e incrementó la producción de cacao. La producción acumulada de grano sano es mayor que la de grano dañado por moniliasis.

Los biopesticidas Basubtil (*Bacillus subtilis*) y Cepacide (*Pseudomonas*

cepacea) en dosis de $1,0x10^{10}$ UFC/g se compararon con la remoción manual semanal y quincenal de mazorcas enfermas, la aplicación de fosfitos de calcio y zinc (2,5 l/ha y 2,0 l/ha, respectivamente) y el tradicional control químico con el fungicida Cuprofix (252 mL/ha), bajo las condiciones climáticas de Santo Domingo de los Tsáchilas, cantón Santo Domingo. En base al Área Bajo la Curva de progreso de la Enfermedad (ABCPE) se determinó que Basubtil y Cepacide controlaron eficientemente la moniliasis en época seca, disminuyendo su control cuando existió alta pluviosidad. El peso de almendra acumulada no fue estadísticamente significativo ($P<0,05$) entre los tratamientos (Estrella y Cedeño 2012). Un eficiente control de la moniliasis y buena producción de cacao se logra mediante el uso de biopesticidas.

Los valores acumulados del rendimiento neto y pérdidas de almendras dañadas, durante dos ciclos de producción, en dos áreas cacaoteras en la Provincia de los Ríos, indican que al usar los dos biopesticidas se incrementó la producción de cacao de primera (almendra sana) versus la producción de almendra dañada por *Moniliophtora roreri* (Tabla 1, Figura 1). Aplicaciones de Basubtil y Cepacide en las concentraciones, dosis y frecuencias indicadas por Falconí y Yánez (2007), contribuyen a la obtención de granos de cacao de "primera categoría", lo que

Tabla 1. Efecto de dos biopesticidas y un producto químico en el rendimiento y pérdidas acumuladas de almendras de cacao Nacional, a la cosecha, durante dos ciclos de producción. Porcentajes de daño por *Moniliophtora roreri* y eficiencia de biopesticidas (julio 2005 a marzo 2006).

Manejo	Rendimiento neto kg/ha*	Perdidas por Moniliophtora kg/ha**	% daño de almendras	% eficiencia de productos
Basubtil	31,68	3,49	11,0	89,0
Cepacide	23,52	4,08	17,3	82,7
Bankit	30,59	6,09	19,9	80,1

*Producción neta de almendras de primera **Producción de almendras dañadas por *Moniliophtora roreri* (Falconi y Yánez 2007).

redunda en mayor rentabilidad, sin residuo de productos tóxicos.

El plan de manejo de la moniliasis del cacao debe estar acorde con las condiciones medioambientales prevalentes. La tumba de mazorcas momificadas o que presenten otros síntomas característicos de la moniliasis, con su posterior entierro, debe realizarse luego de terminada la cosecha de verano ó a inicio de invierno. Los biopesticidas Basubtil y Cepacide tienen únicamente acción protectante, mas no un efecto curativo. La aplicación de biopesticidas podría intensificarse cada 2 ó 3 semanas dependiendo de la humedad relativa y luminosidad. La recomendación de Falconí y Yánez (2007) es preferentemente para época seca (abril - agosto).

Para la época húmeda, la aplicación de biopesticidas o antagonistas debe combinarse con otras estrategias como la remoción de mazorcas infectadas cada ocho días. Si existe disponibilidad, se podría incorporar el uso de fosfitos de Zn

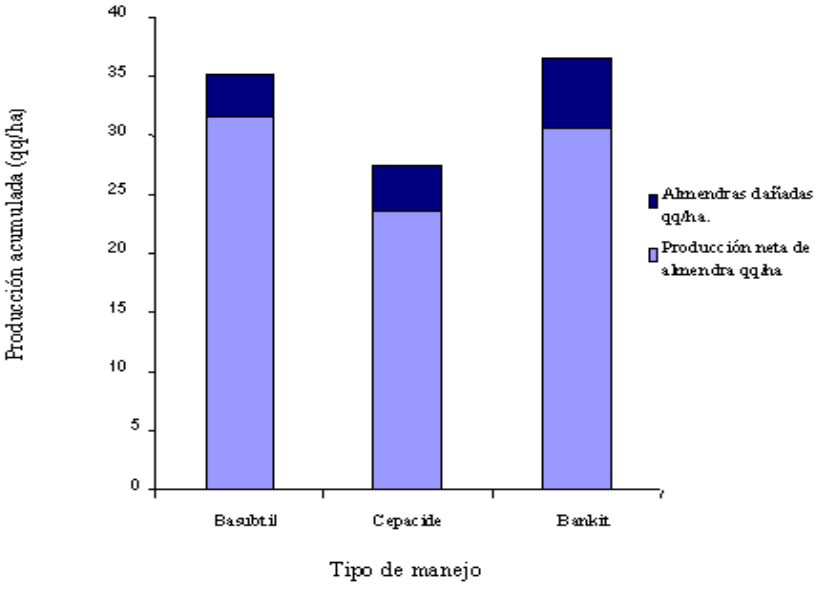

Figura 1. Efecto de dos biopesticidas y un químico en el rendimiento y pérdidas acumuladas a la cosecha de almendra de cacao Nacional Tenguel 25 en dos localidades, durante dos ciclos de producción (2005- 2006) (Falconí y Yánez 2007).

y Ca o rotar Basubtil y Cepacide con los productos químicos sintéticos que usa el productor. Sin embargo, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia*, como la mayoría de procariotes, son sensibles a productos químicos que tienen al cobre como ingrediente activo.

Control biológico de la sigatoka del banano

Ecuador es el cuarto productor de banano a nivel mundial. Existen cerca de 5.000 productores, en 20 de las 24 provincias, convirtiendo a Ecuador en el primer exportador de banano (AEBE 2012, FAO 2011) y segundo productor de banano orgánico en América Latina (AEBE 2012). La problemática fitosanitaria en banano esta dada por enfermedades y plagas. La enfermedad de mayor impacto es la sigatoka negra. El efecto de aislamientos nativos de *Trichoderma* sp. colectados de fincas productoras de banano ha sido evaluado para controlar a *Paracercospora figiensis*, forma asexual de *Mycosphaerella figiensis* que causa la sigatoka negra. Aimacaña (2007) aisló *Trichoderma* sp., de diversas localidades en la provincia de El Oro y las caracterizó como *Trichoderma pseudokoningii*. El 97% de aislamientos de *Trichoderma pseudokoningii* mostraron efecto inhibitorio de micelio del patógeno bajo condiciones *in vitro*. Con uno de los aislamientos eficientes se prepararon formulaciones líquidas y en polvo mojable. En el bioformulado líquido la población permaneció en $3{,}0x10^9$ UFC/mL luego de 15 días de almacenamiento, estabilizándose a los 24 días. La población del bioformulado en polvo mojable fue de $2{,}78x10^9$ UFC/g de formulado a los 12 días, manteniéndose constante hasta los 30 días. Al cabo de 60 días la población fue de $2{,}4x10^6$ UFC/mL y $2{,}98x10^6$ UFC/g, respectivamente. Según Aimacaña (2007)

esta población aún resultaría eficiente para controlar al patógeno debido a que los productos mantuvieron muchas esporas en estado de latencia. Otro estudio *in vitro* demostró buena actividad antagónica de *Trichoderma* sp., destacándose tres aislamientos que redujeron significativamente ($p<0,05$) el crecimiento miceliar del patógeno. Análisis molecular de secuencias internas de transcripción (ITS) caracterizaron a los aislamientos eficientes como *Trichoderma viride* y *Trichoderma asperellum* (Cobos 2010). Estas son las bases para futuros estudios en campo y la posibilidad de controlar la sigatoka del banano mediante biopesticidas.

Control biológico de enfermedades en flores

El cultivo de rosas es una actividad importante de la economía ecuatoriana, representa el 8.6% del PIB total, proporcionando empleo a casi 40000 personas, de las cuales el 60% son mujeres (Sica 2007). La progresiva demanda del mercado mundial por producir "flores limpias" sumado a la presión de grupos ecologistas, especialmente de Europa, para limitar el uso de agroquímicos, han hecho que numerosos floricultores opten por tecnologías de producción sin contaminantes, en lo posible no químicas, que permitan implementar la producción de flores de alta calidad, con buena rentabilidad. Con este concepto se evaluó la respuesta de *Trichoderma harzianum* y *Penicillium* sp., en el control de *Sphaeroteca pannosa* que causa el oidio en rosa (*Rosa* sp.). La mezcla de *Trichoderma harzianum* + *Penicillium* sp ($1,5x10^6$ UFC/mL) redujo la infección de la enfermedad en 7, 14 y 16% luego de 24, 48 y 73h, respectivamente. El tratamiento solo con *Trichoderma harzianum* ($1,5x10^6$ UFC/mL) controló un 13% comparado con el 9% del tratamiento químico, luego de 24 horas, por lo que se sugirió un efecto antagónico. Sin embargo, la rotación convencional de productos químicos de la empresa mostró el máximo control con 22% a partir de las 48 horas. La rotación de químicos sintéticos tuvo un efecto curativo luego de 48 horas, mientras que *Trichoderma harzianum* no mostró efectividad. Mezclas de *Trichoderma harzianum* + *Penicillium* sp. en dosis de $1,5x10^6$ UFC/mL dirigidos al follaje pueden utilizarse para reducir la severidad de "Oidio" del rosal (Asero y Suquilanda 2004). Nuevos estudios usando mayores dosis, bioproductos formulados dentro de programas de rotación podrían incrementar la eficiencia del control del oidio del rosal, reduciendo la residualidad de productos tóxicos en la flor.

Con el fin de incorporar al control biológico dentro de un plan de rotación con químicos sintéticos, Camacho (2002) evaluó el efecto de fungicidas de baja toxicidad para el control de oidio sobre el crecimiento de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma pseudokoningii*. Los fungicidas presentaron un efecto variable sobre el crecimiento miceliar y esporulación de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma pseudokoningii*. Los fungicidas kumulus (azufre, 200-500 g/100 L), stroby (metilo de kresoxim, 25-50 g/100 L) y saprol (triforina, 125-150 mL/100 L) fueron compatibles con *Trichoderma harzianum*. Stroby, saprol, phyton (sulfato de cobre, 100-200 mL/100 L) y nimrod (bupirimato, 100-200 mL/100 L) tuvieron compatibilidad con *Trichoderma pseudokoningii*.

El efecto protector de biopesticidas formulados en base a *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma lignorum* fue evaluado sobre *Peronospora sparsa* y

Botrytis cinerea en el cultivo de la rosa. El menor porcentaje de infección por mildiu velloso se obtuvo con el bioproducto Tri-ko-fun (Escuela Politécnica de Chimborazo) en presentación sólida al 8,5%. Tri-ko-fun en formulación líquida, en dosis de 1 mL/L, controló eficientemente *Botrytis cinerea* (Quinche, 2010). El uso de ingredientes activos de estos antagonistas, en un plan de rotación con productos químicos de baja toxicidad, sumado a un adecuado manejo cultural podría incrementar el control biológico de enfermedades de la rosa.

La aplicación de antagonistas nativos de la finca podría ser más efectiva que la introducción de antagonistas. El efecto de varias cepas nativas de *Trichoderma* spp. colectadas en la Florícola San Alfonso fue comparado con una cepa de la colección de la Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias de la Escuela Politécnica del Ejército (ESPE), en el control de *Botrytis cinerea* en rosa. Los aislamientos se liberaron en las variedades Freedom, Amelia y Dekora, durante un ciclo de producción. El nivel de incidencia y severidad en cámara húmeda, en campo y vida en florero fue significativo entre variedades. En el análisis del comportamiento de las cepas de *Trichoderma* spp., el aislamiento que mostró menor incidencia fue la cepa introducida, en las tres variedades (Yumbay 2011). Para reconfirmar si antagonistas aislados en la misma finca tienen mayor eficiencia que antagonistas introducidos se colectaron varios aislamientos de *Trichoderma* spp. de la finca Flor Machachi y se evaluaron conjuntamente con una cepa de referencia (*Trichoderma critrinoviride*) de la colección ESPE, en el control de *Botrytis cinerea* en rosa. En base al crecimiento miceliar y formación de conidias, un aislamiento nativo de la finca, identificado como *Trichoderma atroviride*, mostró mejor capacidad antagónica que el resto de aislamientos. En base al crecimiento micelial en PDA enriquecido con agroquímicos, *Trichoderma atroviride* mostró sensibilidad a Thiofin, Avance y Avance + Stroby y tolerancia a Stroby y Cantus, productos químicos usados en la finca para controlar moho gris (Arcos 2011). Antagonistas de la misma finca podría ser más eficientes que los introducidos debido a que quizá están más adaptados a su propio medio ambiente.

Con el objeto de desarrollar métodos alternativos para el manejo de patógenos causantes de enfermedades radicales en la producción de flores se recuperaron aislamientos de *Trichoderma* spp. de sitios dedicados a la producción de flores de verano. Pruebas *in vitro* demostraron que dos aislamientos de *Trichoderma* spp. significativamente inhibieron el crecimiento miceliar de *Fusarium* spp. y *Phytophthora* spp. Estos aislamientos se identificaron morfológicamente como *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma koningii* (Cholango 2009). El control biológico es una herramienta válida para controlar enfermedades radicales en flores. Al conocer el grado de tolerancia de los antagonistas a los productos químicos usados en las fincas se puede implementar un plan de rotación, minimizando el uso de químicos sintéticos. Nuevos materiales de soporte, baratos y de fácil acceso facilitarán la producción de biopesticidas.

La vaporización o pasteurización del suelo es un proceso mediante el cual se eliminan plagas o enfermedades utilizando vapor de agua caliente. Esto es factible ya que los patógenos tienen puntos letales térmicos relativamente bajos (no sobrepasan 70 °C). Con el propósito de buscar

alternativas al uso del bromuro de metilo se estudió el efecto de inoculaciones de *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma harzianum* en bulbos y al suelo destinado al cultivo de *Liatris spicata* en comparación con vaporización (20 y 40 min), Bromuro de metilo (BrMe) (720, 500 y 250 kg/ha) y compost, solos y combinados, sobre el control de patógenos habitantes del suelo en esta flor de verano. En este estudio se confirmó que *Fusarium* sp. y *Verticillium* sp. son la causa fundamental del deterioro del bulbo de *Liatris spicata*, lo vuelve infértil, lo destruye y faculta la infección de bacterias, ácaros y nematodos fitófagos. El menor número de plantas enfermas se obtuvo con los tratamientos combinados 720 kg/ha de BrMe + 2 sacos 40 Kg de compost + aplicaciones foliares de *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma harzianum* y el tratamiento 40 min de vaporización + un saco de 40 Kg de compost + aplicación foliar de *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma harzianum*. Los bulbos que recibieron estos tratamientos combinados registraron mayores alturas que los otros tratamientos. Las cepas de *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma harzianum* toleraron tratamientos de calor de 70 °C por 20 min (Moreno 2005). *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma harzianum* pueden utilizarse para restituir suelos supresivos para la producción de flores. El control biológico combinado con la termoterapia y una buena fertilización reducen poblaciones de patógenos habitantes del suelo y a la vez incrementan la producción y la calidad de flores.

El efecto de *Trichoderma* sp. para reducir poblaciones de patógenos del suelo se estudió en tres variedades de larkspur (*Delphynium consolida*). La aplicación de *Trichoderma* sp. generó un control más estable de organismos patógenos como *Pythium* sp. y *Fusarium* sp. que con aplicaciones de bromuro de metilo, el que controló eficazmente al inicio, pero la población de estos patógenos aumentó a medida que transcurrió el tiempo. La variedad Blue spike mostró la menor severidad y presentó la mayor longitud de inflorescencia en relación con las variedades White pink y Pink perfection (Alencastro 2004). El control biológico es una alternativa válida, ya que la aplicación de BrMe reduce drásticamente organismos vivos del suelo, tanto benéficos como patógenos, dejando sin control natural al suelo, facilitando la reinfestación de patógenos. Quiquintuña (2006) evaluó a Mycobac (*Trichoderma lignorum*), ESPOCH (*Trichoderma harzianum*) y THK (*Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningii* en el control de *Rhizoctonia* sp. en el cultivo de lakspur. Con aplicaciones de *Trichoderma harzianum*-ESPOCH en dosis de $1{,}9 \times 10^9$ conidias/cama de 31,5 m^2, se redujo la incidencia de la enfermedad a 16%. Se recomienda aplicar *Trichoderma harzianum* desde 15 días antes del transplante y a los 15, 30, 45 y 60 días posteriores al transplante, ya que la población de *Rhizoctonia* sp. incrementó significativamente a partir de la séptima semana. Los costos entre tratamientos no fueron significativos (Quiquintuña 2006). El control biológico de *Rhizoctonia* sp. en larkspur es eficiente y no implica costos adicionales. Liberaciones de *Trichoderma* sp y otros organismos benéficos contribuyen con la restitución de suelos supresivos. La repoblación de organismos antagonistas como *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma harzianum* baja las poblaciones de patógenos y a su vez promueven el crecimiento de tejidos y de órganos vegetales, hecho que se manifiesta en una mayor producción y calidad de flores de verano.

Control biológico de alternaria en zanahoria

En Ecuador se ha observado una disminución en la superficie cultivada de zanahoria, debido a que sus costos de producción son elevados dejando un bajo margen de ganancia, comparado con otros cultivos como el brócoli. Los problemas sanitarios en la zanahoria se deben a la falta de rotación del cultivo, pérdida de fertilidad del suelo y el inadecuado uso de agroquímicos. Esto a su vez se ve reflejado en la disminución en la producción y baja calidad de la zanahoria debido a la incidencia de enfermedades. Con el objetivo de brindar una alternativa orgánica de control de la alternaria en zanahoria se evaluaron tres dosis (5,0, 6,5 y 8,0 kg/ha) del biopesticida Rhapsody (*Bacillus subtilis*) en comparación con tres dosis (0,6, 1,0, 1,5 mL/L) del producto químico Score (Difeconazole) en las variedades Royal Chantenay y CH-29. *Bacillus subtilis* 8,0 kg/ha en la variedad CH-29 mostró significativamente ($p<0,05$) la menor incidencia de la enfermedad en relación con las otras interacciones entre dosis de biopesticida o producto químico por variedad de zanahoria, luego de 8 y 32 días posteriores a la aplicación. La severidad de la enfermedad no varió significativamente entre los tratamientos biológicos y químicos, luego de 16, 24, 40, 48 y 56 días posteriores de la aplicación. Los tratamientos que recibieron *Bacillus subtilis* tuvieron promedios de severidad parecidos a los tratamientos que recibieron Difeconazole, incluso a los 56 días posteriores de la aplicación donde la enfermedad en los testigos alcanzó el 100%. Aplicaciones de 8,0 kg/ha de *Bacillus subtilis* redujeron la incidencia de alternaria en zanahoria logrando un rendimiento de 21,3 t/ha de zanahoria orgánica, comparado con Difecnoconazole (1,4 mL/L) con el que se obtuvo 62,2 t/ha de zanahoria (Urquizo 2009). El uso y aplicación de *Bacillus subtilis* reduce la alternaria en zanahoria y contribuye con la producción orgánica de hortalizas.

Control biológico del tizón tardío de la papa

La lancha o tizón tardío de la papa, causada por *Phytophthora infestans*, constituye la enfermedad mas destructiva, ya que si no se realiza un manejo adecuado puede alcanzar el 100% de pérdidas. En un primer estudio se exploró la posibilidad de encontrar hongos filamentosos, bacterias y levaduras en la filósfera de hojas de papa con posibilidad de controlar a *Phytophthora infestans*. Al menos 53 aislamientos mostraron habilidad inhibitoria del crecimiento miceliar del patógeno, quizá dada por una mejor competencia por nutrientes existentes en el medio Rye B o quizá por la secreción de sustancias antifúngicas. En pruebas de invernadero 12 antagonistas redujeron las lesiones causadas por *Phytophthora infestans* en hojas de papa variedad Gabriela, luego de 168 horas de la inoculación, a 15 °C. No se encontraron hongos filamentos eficientes, sino *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter* sp, *Pseudomonas* sp., y levaduras *Sporobolomyces roseus* (Benalcazar 1998). Con el objeto de establecer un banco de microrganismos benéficos para controlar *Phytophthora infestans* en el cultivo de papa, se recolectaron muestras de suelo en fincas productoras de papa, en varias localidades de las provincias de Tungurahua, Carchi y Pichincha. Con aislamientos de *Trichoderma* spp. que

mostraron eficiencia inhibitoria en ensayos *in vitro* se condujeron estudios bajo invernadero, en las variedades Superchola (susceptible) y Fripapa (resistente). Luego de 15 días de la emergencia de las plantas, se aplicó en la mañana $1x10^8$ UFC/mL de *Trichoderma* spp. y en la tarde se inoculó vía aspersión $1x10^5$ UFC/mL de *Phytophthora infestans*. Las plantas testigo fueron tratadas con Mancozeb 1 g/L y otras fueron inoculadas con el patógeno. La aplicación de antagonistas y testigo químico se realizó cada 7 días en 8 ocasiones. El patógeno se re-inoculó cada 15 días en 4 ocasiones. La incidencia de la enfermedad se presentó tardíamente en los tratamientos biológicos y químico, comparado con los testigos que recibieron solo al patógeno. Los mejores resultados se obtuvieron al aplicar los diferentes tratamientos en la variedad Fripapa, demostrando un control más eficiente al bajar la presión de inóculo con *Trichoderma* spp. en combinación con la resistencia genética de la planta. Incluso, la aplicación de *Trichoderma* spp. fue significativamente ($p<0.05$) igual que el tratamiento químico, en la variedad resistente (Tabla 2) (López 2007). De la misma forma se aislaron cepas nativas de *Pseudomonas* spp y *Bacillus subtilis* de zonas productoras de papa. La eficiencia del control de *Pseudomonas* spp. frente a *Phytophthora infestans* se evaluó in vitro comprobando la reducción significativa ($p<0,05$) de micelio del patógeno. En estudios realizados en planta bajo condiciones de invernadero todos los tratamientos protegidos con suspensiones de *Pseudomonas* spp. mostraron menor severidad en comparación con el testigo. En un segundo ensayo, un aislamiento de *Pseudomonas fluorescens* y el tratamiento químico con Mancozeb disminuyeron significativamente la severidad del tizón tardío tanto en la variedad susceptible Superchola como en la resistente Fripapa (Pinto 2007). Otros estudios *in vitro* demostraron la habilidad de *Bacillus subtilis* para inhibir el crecimiento miceliar de *Phytophthora infestans*. En dos estudios llevados a cabo en invernadero, los tratamientos que recibieron a los antagonistas fueron más eficientes cuando aplicados en la variedad resistente (Fripapa) comparados con el control químico (Acurio 2007). Los hongos y bacterias habitantes de la filósfera de hojas de papa tienen potencial para controlar al tizón tardío de la papa. Las cepas de *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas* spp. se conservan en liofilización

Tabla 2. Incidencia y severidad de *Phytophthora infestans* debido al efecto de tres aislamientos de *Trichoderma* sp. y un tratamiento químico en dos variedades de papa.

Tratamientos	Incidencia*	Severidad*
Trichoderma sp.- C10R1+Fripapa	0,79±0,05 abc	7,92± 0,04 f
Trichoderma sp.- C5R1+Fripapa	0,77±0,05 ab	7,90± 0,04 f
Trichoderma sp.- C5R1+Superchola	0,84±0,04 c	7,78±0,05 ef
Trichoderma sp.- C9R1+Fripapa	0,76±0,05 a	7,77±0,06 ef
Mancozeb +Fripapa	0,77±0,05 ab	7,66±0,06 de
Trichoderma sp.- C10R1+Superchola	0,84±0,04 c	7,56±0,07 cd
Testigo absoluto+Fripapa	0,84±0,04 c	7,54±0,06 cd
Trichoderma sp.- C9R1+Superchola	0,83±0,04 bc	7,39±0,08 bc
Mancozeb +Superchola	0,84±0,04 c	7,22±0,09 b
Testigo absoluto+Superchola	0,91±0,03 d	6,57±0,11 a

*(promedio ± error estándar). Medios seguidos por mesma letra son estadisticamente iguales (Ducan P=0,5)

como parte del banco de microrganismos benéficos de la ESPE. Estos estudios en invernadero han permitido entender la interacción patógeno-hospedero-antagonista, así como identificar el papel que juegan los controladores biológicos para regular poblaciones dañinas.

Para controlar a *Phytophthora infestans* de la papa es necesario desarrollar biopesticidas o usar las sustancias tóxicas extraídas de antagonistas dentro de un plan de rotación con productos químicos. En este plan de rotación debería estudiarse la interacción de los biopesticidas con fungicidas protectantes y sistémicos para determinar dosis, frecuencia y épocas de aplicación. La interacción debería evaluarse en variedades de papa con resistencia vertical (I-Fripapa, I-Margarita, I-Rosita) o la variedad I-Santa Catalina con resistencia horizontal, determinando umbrales de infección económicos.

Control biológico del moho gris de la mora

La mora *Rubus glaucus* es una fruta que se cultiva en zonas frías, desde 1200 a 3000 m.s.n.m. En Ecuador, la mora tiene una superficie cultivada de 1.550 ha, con promedios de 2,27 t/ha. El moho gris *Botrytis cinerea* es el patógeno que causa el mayor daño y pérdidas debido a que pudre la fruta, destruye las inflorescencias y quema las hojas. Un primer estudio determinó la eficiencia de *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma koningii* para controlar *Botrytis cinerea* en flores y hojas en el cultivo de mora y determinar la concentración adecuada de antagonista para un eficiente control. Los primeros signos de *Botrytis cinerea* aparecieron a los 5 y 12 días posteriores a la inoculación en frutos y hojas, respectivamente. *Trichoderma pseudokoningii* aplicado en plantas de mora a concentraciones de 10^6 y 10^7 esporas/ml redujeron lesiones causadas por el patógeno (Yandún 1998). Posteriores estudios evaluaron la eficacia, dosis e intervalos de aplicación de dos fungicidas de línea verde Fungbacter SL y Ecofus (0,8, 1,2 y 1,6 mL/L), el biopesticida Mycobac WP *Trichoderma harzianum* ($1,0 \times 10^6$, $1,5 \times 10^6$, $2,0 \times 10^6$ conidias/g) y dos químicos convencionales (Derosal y Topsin) en el control de *Botrytis cinerea* en mora. Los tratamientos se aplicaron cada 7 o cada 15 días, protegiendo los períodos de mayor susceptibilidad (formación de brotes, floración y formación de frutos). Con aplicaciones quincenales de Mycobac se logró la menor incidencia de la muerte de inflorescencias de mora (Sánchez 2002). El empleo adecuado del control biológico no altera el equilibrio del medio ambiente previniendo el desarrollo de poblaciones patógenas, sin que alcancen niveles de daño considerables en los cultivos. La información de estas investigaciones permitirá establecer nuevas estrategias de manejo de la enfermedad.

Control biológico de patógenos del suelo

Sclerotinia sclerotiorum causa el 50% de pérdidas en la producción de lechuga (*Lactuca sativa*) en la provincia de Chimborazo. El daño usualmente se manifiesta desde la fase de semillero provocando escasa adaptación y la posterior

muerte de la planta luego del trasplante. El hongo preferentemente ataca al cuello de las plantas y produce una pudrición húmeda, desarrollando un micelio blanco con esclerocios negros de diverso tamaño. Oleas *et al*. (1987) estudiaron el efecto antagonista de *Trichoderma* spp. sobre *Sclerotinia* Las cepas de *Trichoderma* mostraron antagonismo e hiperparasitismo sobre *Sclerotinia*. Todas las cepas de *Trichoderma* paralizaron el crecimiento de micelio del patógeno e impidieron el desarrollo de esclerocios. López (1988) determinó que algunos aislamientos de *Trichoderma* sp., tenían un ritmo de crecimiento acelerado cubriendo la totalidad de las cajas Petri luego de 48 h de incubación a 25 °C. Observó que unas pocas cepas de *Trichoderma* spp. disminuyeron el crecimiento de *Sclerotinia* sp., quizá como micoparásito. *Sclerotinia* no desarrolló esclerocios en las cajas Petri donde se cultivó con el antagonista. En pruebas de invernadero *Trichoderma* spp. en concentraciones de 10^3 hasta 10^7 esporas/mL controló a *Sclerotinia* (López 1988).

El Departamento de Sanidad Vegetal de la Escuela Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) cuenta con una colección de cepas de *Trichoderma* de varias especies. Castro y Rivas (2002) dirigieron varias investigaciones para determinar el biocontrol de hongos habitantes del suelo utilizando *Trichoderma harzianum* en combinación con solarización. Se estudió el ritmo de crecimiento de 12 cepas de *Trichoderma harzianum* y su actividad inhibitoria a hongos habitantes del suelo. Las cepas de *Trichoderma harzianum* colonizaron completamente las cajas Petri con medio PDA, luego de 5 días, mientras que *Fusarium* sp., *Sclerotinia sclerotiorum* y *Pythium* sp., solo colonizaron el 67, 52 y 32%, respectivamente el análisis visual en las pruebas de antagonismo mostró posible hiperparasitismo de *Trichoderma harzianum* sobre *Fusarium* sp., las hifas del antagonista recubrieron y se entrecruzaron con las del patógeno. Para el caso de *Pythium* sp., y *Sclerotinia sclerotiorum* se formaron halos de inhibición, con intensidad intermedia. Resultados de campo indicaron que solarizando el suelo por cuatro semanas en combinación con aplicaciones de *Trichoderma harzianum* se logra la germinación del 92% de semilla de lechuga, comparado con el 71% del testigo químico (Benavides 2001). Posteriores estudios realizados por Castro y Rivas (2002) confirman que la solarización por cuatro semanas y la incorporación al suelo de 10 g de *Trichoderma harzianum*/m^2 permiten el mayor desarrollo radicular de la lechuga y reducen la incidencia de la enfermedad en un 25%. Otros estudios determinaron la dosis del antagonista y compararon su eficiencia con productos químicos. Para ello se probaron cinco dosis de *Trichoderma harzianum* (5, 10, 15, 20 y 25 g/L de agua) en comparación con Rovral + Topsin (1 g/L de agua) en el control de *Sclerotinia sclerotiorum* en lechuga. Dosis de 15 g/L de *Trichoderma harzianum* permitieron la germinación del 98% de plantas, logrando la mayor altura de plantas y el mayor diámetro del repollo, luego de 30 días del trasplante, con solo el 3% de incidencia de la enfermedad (Sánchez 2001, Rivas 2001). Con el objeto de incrementar el control de patógenos habitantes del suelo se estudiaron varios tiempos de solarización (4, 8 y 12 semanas) en combinación con *Trichoderma harzianum* en incorporaciones de 25g/m^2 al suelo. Con 8 semanas de solarización y *Trichodderma harzianum* se logró controlar *Sclerotinia sclerotiorum* en lechuga (Tuquinga 2001, Guerrero 2001). *Trichoderma* actúa como biocontrolador de patógenos ya sea como micoparásito, secretando antibióticos, compitiendo por nutrientes o espacio y a la vez colonizando la rizósfera, solubilizando

y absorbiendo nutrientes inorgánicos, induciendo resistencia en la planta o desactivando enzimas del patógeno (Esposito y Da Silva 1998, Ozbay y Newman 2004).

El potencial efecto antagonista de *Bacillus subtilis* contra la mancha café de la hoja de la lechuga *Rhizoctonia* sp. se evaluó *in vitro* e *in vivo*. Pruebas duales en medio V8 determinaron que *Bacillus subtilis* ($1x10^9$ UFC/mL) inhibe a 1/3 del crecimiento miceliar del patógeno en comparación con el testigo. Liberaciones semanales de *Bacillus subtilis* ($1x10^9$ UFC/mL) en plantas de lechuga en campo experimental controlaron la enfermedad hasta la quinta semana. Posteriormente el efecto de *Bacillus subtilis* varió. El tratamiento químico Captan (captafol) redujo la enfermedad a 5,7% mientras el tratamiento biológico redujo a 6,5%, a la 7ma semana de evaluación. Un segundo estudio en la misma localidad confirmó que *Bacillus subtilis* ($1x10^9$ UFC/mL) redujo la enfermedad 7,1% en comparación con el control químico (6.1%) luego de siete semanas (Maldonado y Vargas 2005). *Bacillus subtilis* tiene potencial como controlador de enfermedades radicales en la producción orgánica de hortalizas.

Uno de los cultivos con reconocidas propiedades alimenticias y medicinales es la cebolla blanca (*Allium fistulosum*). La producción de cebolla blanca es aceptable para los agricultores locales, pero no se logra obtener los máximos rendimientos. Esto se debe principalmente a que la cebolla de rama es susceptible a *Sclerotium cepivorum* causa de la pudrición basal (Castro y Rivas, 2002). En un primer estudio se evaluó el efecto de productos químicos, *Trichoderma* sp., y la incorporación al suelo de estiércol de gallina y estiércol de ganado bovino en el control de *Sclerotium*. Aplicaciones de Dazomet 500 g/12 m^2/12 L de agua controlaron eficientemente la enfermedad. Aplicaciones de *Trichoderma* sp. 130 g/12 m^2/12 L de agua tuvieron un rango intermedio de control, probablemente porque la dosis no fue la adecuada. El tratamiento con materia orgánica de bovino en dosis de 27 kg/12 m^2 incrementó la altura del follaje y la producción, mientras que *Trichoderma* sp. tuvo un rango intermedio, pero mucho mayor que cuando se utilizó dicloran, captafol + benomyl, thiram y trapex para desinfectar el suelo (Montesdeoca 1983). Otro estudio evaluó a *Trichoderma* sp., la incorporación de estiércol de gallina, estiércol de bovino en comparación con productos químicos para reducir poblaciones de *Sclerotium* sp en cebolla blanca en suelo infestados naturalmente por el patógeno. Tratamientos con *Trichoderma* sp. fueron significativamente iguales que aplicaciones de Thiram, Carboxin, benomyl y materia orgánica de gallina o de bovino en el prendimiento de plantas y en la emergencia a los 60 días de la siembra. La aplicación de materia orgánica de gallina influyó en la longitud de hojas y en el rendimiento, la materia orgánica de bovino incrementó el diámetro de la planta (Basantes 1983). Estas evidencias motivaron el uso de *Trichoderma* en futuros estudios. Cinco dosis de *Trichoderma harzianum* se evaluaron para controlar *Sclerotium cepivorum*. Dosis de 25 g/L de *Trichoderma harzianum* redujeron en un 50% la incidencia de la enfermedad en relación con el testigo. Los tratamientos que recibieron esta dosis de *Trichoderma harzianum* incrementaron notablemente la longitud del pseudotallo de la cebolla y el rendimiento a 16.680 kg/ha, comparado con el testigo que tuvo solo 9.211 kg/ha (Rojano 2001). Similares hallazgos han sido observados en pepino, fréjol y pimiento una vez que han sido inoculados con *Trichoderma* spp. El efecto de

mayor vigor de estas plantas es debido a que *Trichoderma* convierte nutrientes no asimilables en asimilables, produce hormonas e induce a que la plantas las produzca (Indar *et al*. 1994).

Patógenos del suelo causan grandes pérdidas en la producción de papa. La situación se agrava debido a que la siembra repetida en una misma parcela es una práctica habitual. Este hecho incrementa la población de patógenos especializados, como *Rhizoctonia solani* en tubérculos de papa (Castro y Rivas 2002). Con el objeto de obtener tubérculo-semilla de buena calidad sanitaria Castro y Rivas (2002) propusieron investigar tiempos de solarización en combinación con *Trichoderma harzianum* en dosis de 30 g/m^2. Parcelas de 16 m^2 fueron cubiertas con plástico transparente de 50 µm de espesor y se solarizaron por 4, 8 y 12 semanas en combinación con *Trichoderma harzianum*. La menor severidad de *Rhizoctonia solani* se obtuvo mediante la solarización por 4 semanas en combinación con el antagonista. Erazo (2006) evaluó tres dosis de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani* la costra negra en papa variedad Fripapa. Dosis de 0,75, 1,50 y 2,25 L de *T. Harzianum* en 200 L de agua disminuyeron la severidad de *Rhizoctonia solani* y mejoraron la sanidad de tubérculos. Las aplicaciones del antagonista incrementaron la altura de la planta. Un análisis microbiológico indicó que *Trichoderma harzianum* incrementó la población de actinomycetes en el suelo. El uso de antagonistas en variedades resistentes de papa incrementa el control de patógenos del suelo.

Los patógenos habitantes del suelo afectan en la germinación, establecimiento en semillero y posteriormente en el trasplante. *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* en dosis de 10 y 20 g/m^2 de suelo ha sido evaluado en el control del mal de semillero en café (*Coffea arabica*) variedad Caturra. Aplicaciones de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en dosis de 10 y 20 g disminuyeron la incidencia de damping off causado por *Rhizoctonia solani* en 11 y 12%, respectivamente, en relación con el testigo que mostró el 51% de plantas enfermas. Además, *Trichoderma harzianum* en dosis de 10 g incrementó significativamente el porcentaje de germinación de semilla. En general, los tratamientos que recibieron a los antagonistas incrementaron la longitud radicular, altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas a los 30, 60 y 90 días del replique, en vivero (Guilcapi 2010). Aplicaciones de *Trichoderma* tienen un efecto directo en la producción de plantas de café, a nivel de vivero. Cuatro dosis de *Trichoderma harzianum* (1,25x10^9, 2,5x10^9, 3,7x10^9 y 5,0x10^9 conidias/planta) del producto TRI-KO-FUN formulado por el laboratorio de la ESPOCH se evaluaron sobre *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp., causantes del damping off en el cultivo de fresa (*Fragaria vesca*) variedad Chandler, comparado con un testigo absoluto. El biopesticida se aplicó al cuello de la planta, al momento del trasplantare y 8 días posteriores. Los tratamientos que recibieron *Trichoderma harzianum* en las tres dosis más altas significativamente disminuyeron hasta un 20% la infección en relación con el testigo que obtuvo el 70% (Rosero 2010). *Trichoderma harzianum* eficientemente protege la rizósfera de plantas de fresa disminuyendo infecciones de patógenos radicales.

El efecto de dos biopesticidas Mycobacter (*Trichoderma lignorum*) y THK (*Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningii*) fue comparado con dos productos orgánicos ALGA 600 (alga marina) y Leili 2000 (extracto de algas) en el control

de *Pythium* sp. y *Fusarium oxysporum* durante la propagación de Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*). Los estudios se realizaron en diferentes sustratos (fibra de coco, vermiculita + perlita, turba + fibra de coco + cascajo). La menor severidad del 5% se obtuvo con aplicaciones de Mycobacter (*Trichoderma lignorum*), al momento del despacho. La menor incidencia de solo 3% de los dos patógenos se obtuvo con aplicaciones de Mycobacter en dosis de 0,75 y 1,0 g/L en el sustrato vermiculita+perlita, al momento del repique. No existieron diferencias notables entre las dosis de los bioproductos con los beneficios netos. Mycobacter (*Trichoderma lignorum*) eficientemente controló a *Pythium* sp. y *Fusarium oxysporum* obteniendo el mayor porcentaje de plantas sanas en la propagación de lisianthus (Sacoto 2010). Biopesticidas a base de *Trichoderma lignorum* controlan eficientemente hongos causantes de enfermedades radiculares en cultivos que son susceptibles a la exposición de productos químicos sintéticos, sin incrementar los costos de producción.

Control biológico de la tristeza del aguacate

Phytophthora cinnamomi es un hongo polífago que afecta gravemente al aguacate (*Persea americana*). Como medida alternativa de control, se estudió la capacidad antagónica *in vitro* de cinco aislamientos de *Trichoderma* spp., colectadas en diferentes zonas del país. En invernadero, se evaluó la potencial acción combinada de *Trichoderma* sp. ($1x10^6$ UFC/mL) en comparación con harina de alfalfa (*Medicago sativa*) al 5% y harina de sacha narajilla (*Solanum marginatum*) al 5%. Los tratamientos se aplicaron al suelo en macetas, antes de la siembra de semillas de aguacate infectadas con el patógeno. Los aislamientos de *Trichoderma* spp. inhibieron significativamente y en diferente grado el crecimiento de *Phytophthora cinnamomi, in vitro*. La harina de alfalfa y la inoculación al suelo con *Trichoderma* spp. redujeron la severidad de *Phytophthora cinnamomi* y mejoraron el porcentaje de germinación del aguacate (Gachet *et al*. 1987).

Control biológico de enfermedades causadas por nemátodos

En Ecuador, las mayores áreas sembradas con el cultivo de arroz están ubicadas en las provincias del Guayas y Los Ríos. La mayoría de estas plantaciones presentan su sistema radicular afectado por *Meloydogine graminicola*. El síntoma típico es la formación de pequeñas agallas en las puntas de las raíces. Sin embargo, los nemátodos fitoparásitos también tienen enemigos naturales que se encuentran presentes en los suelos, pero debido a que sus concentraciones naturales son muy bajas resulta difícil observar su eficiencia en la supresión natural de nemátodos. Consecuentemente, hay que aplicarlos en concentraciones adecuadas para reducir poblaciones a niveles que no causen daños económicos (Triviño y Figueroa 1993). El efecto de hongos antagonistas de nemátodos como *Paecilomyces lilacinus* y *Trichoderma harzianum* ha sido investigado. Se ha probado

Pasteuria penetrans ($1{,}0\times10^8$ esporas/m^2) un parásito obligado de *Meloidogyne* spp., *Paecilomyces lilacinus* y *Trichoderma harzianum* ($8{,}0\times10^7$esporas/m^2) solos, en mezcla de dos y los tres juntos. *Pasteuria penetrans* y *Paecilomyces lilacinus* aplicados solos y en mezcla redujeron la densidad poblacional de *Meloidogyne graminicola* en el cultivo de arroz. La bacteria *Pasteuria penetrans* fue la que causó el mayor porcentaje de parasitismo de juveniles de *Meloidogyne graminicola* en el suelo, seguido del hongo *Paecilomyces lilacinus*. El hongo *Trichoderma harzianum* y la mezcla de los tres biocontroladores no fue eficiente en el control de *Meloidogyne graminicola* en el cultivo de arroz (Triviño 2007).

En la Estación Experimental Boliche del INIAP, se han seleccionado cepas nativas de *Pasteuria penetrans* para el control de *Meloidogyne incognita* y *Meloidogyne javanica* en tomate (*Lycopersicon esculentum*), soya (*Glycine max*), papaya (*Carica papaya*) y frijol (*Phaseolus vulgaris*). En poblaciones de *Meloidogyne* extraídas de soya y papaya se encontró el mayor número de especímenes sin esporas de *Pasteuria penetrans* (Triviño y Figueroa 1993, Triviño 1996). Otros estudios determinaron la variabilidad de la patogenicidad de poblaciones de *Pasteuria penetrans* provenientes de tomate, pimiento (*Capsicum annum*), frijol, haba pallar (*Phaseolus lunatus*), soya, papaya, guayaba (*Psidium guayaba*) y badea (*Passiflora quadrangularis*) sobre *Meloidogyne* spp. Las poblaciones de *Meloidogyne* se colectaron en provincias del litoral (Guayas, Manabí, Los Ríos, El Oro) y de la serranía (Imbabura y Loja) del Ecuador, en los cultivos antes mencionados. No se infectaron con *Pasteuria penetrans* el 5% de la población del Guayas, 3% de Manabí, 3% de El Oro, 17% de Los Ríos, 4% de Loja y 10% de Imbabura (Triviño 2001). Según Triviño (2004a) el 80% de las poblaciones de *Meloidogyne* en Ecuador son *Meloidogyne incognita*, especie que es la más parasitada por *Pasteuria penetrans*. Por su parte por *Pasteuria penetrans* presenta mayor dificultad para infectar a *Meloidogyne javanica.* En los valles de la sierra ecuatoriana la introducción de *Pasteuria penetrans* ha reducido eficientemente poblaciones de *Meloidogyne* spp. En tomate a nivel comercial, por ejemplo, la aplicación de esporas de *Pasteuria penetrans* en semillero o en el sitio definitivo del cultivo fue eficiente para controlar *Meloidogyne* spp. Las aplicaciones pueden realizarse manualmente o incorporarse al suelo. En cultivos de soya en la costa, la aplicación de esporas de *Pasteuria penetrans* ya sea manualmente o incorporando al suelo antes de la siembra ha demostrado ser eficiente para controlar *Meloidogyne* spp. El efecto de *Pasteuria penetrans* disminuye cuando se aplica con sembradora en mezcla con la semilla (Triviño 2004a). Se cree que los microorganismos benéficos logran un eficiente efecto contra los nematodos cuando son aplicados en el substrato de siembra de la planta de vivero, antes de ser atacadas por los fitonematodos. En el cultivo de banano, *Pasteuria penetrans* redujo poblaciones de *Radopholus similis* incrementando el porcentaje de raíces funcionales (Triviño *et al*. 2004b). Según estos autores una buena masa radical funcional en banano compensa el daño que causan los nematodos.

El efecto de varios productos biológicos comerciales Nemater (*Myrothecium verrucaria*), Intercep (*Pseudomonas cepacia*), Biostat (*Paecilomyces lilacinus*), Micosplag (*Metarhizium anisopliae, Paecilomyces lilacinus, Beauveria bassiana*), Bioway (*Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas stutzeri, Proteus* sp., Actinomicetes), el extracto botánico Neen-X

(*Azadirachta indica*) y dos productos químicos Rugby (Cadusafos) y Furadan 10G (Carbofuran) fueron probados en el control *de Meloidogyne incognita* en tomate de mesa variedad Titán. Se realizaron seis aplicaciones de los productos biológicos Nemater, Biostat y Microsplag al momento del trasplante y posteriormente cada mes, Intercep se aplicó 11 veces, al trasplante y cada 14 días, Bioway en dos aplicaciones al trasplante y a los 3 meses. Los productos químicos a sus dosis comerciales se aplicaron al momento de la preparación del suelo (3 días antes de la siembra) y otra al momento del trasplante. En base al análisis comparativo de la población inicial versus la población final, los productos biológicos presentaron mayor o similar eficiencia que los nematicidas químicos en el control de *Meloidogyne incognita* en tomate de mesa cultivado bajo invernadero. Con el nematicida biológico Biostat se obtuvo una eficiencia en control del 96%. El costo de los productos y costo de aplicación de los productos biológicos no fue rentable como cuando se utilizó Furadan, sin embargo los productos biológicos no afectan la salud humana y el medio ambiente y se logra productos orgánicos (Ruano 2010).

El control biológico es también eficiente para controlar nematodos fitopatógenos y mejora la calidad de flores de verano. Herrera (2006) evaluó el efecto de dosis (100, 200 y 35 g/cama de 33 m^2) de *Paecilomyces lilacinus* en el control de nematodos en el cultivo de vara de oro *Solidago tara*. Aplicaciones de *Paecilomyces lilacinus* controlaron eficientemente a *Meloidogyne* sp. en el cultivo vara de oro, con valores comparativamente iguales que cuando se aplicó mocab (82,5 g/cama de 33m^2). Aplicaciones de *Paecilomyces lilacinus* incrementaron notablemente la altura, número de hojas y cantidad de tallos exportables (Herrera 2006).

Control biológico de patógenos en postcosecha

El efecto de biofungicidas ha sido evaluado en el control de patógenos en postcosecha. Bacilux es un biofungicida que contiene principios activos de naturaleza iturínica, pirrolnitrínicos y meta polisacáridos, complejos enzimáticos bacterianos aislados de *Bacillus* spp., *Pseudomonas fluorescens* y *Burkholderia cepacia*, estabilizados y homogeneizados. Se evaluaron dos dosis (1,0 y 2,0 mL/L) y dos intervalos de aplicación del bioproducto Bacilux (4 y 8 días antes de la cosecha) en el control *Botrytis cinerea* el moho gris. El efecto de Bacilux se evaluó además en los parámetros de calidad del fruto de fresa cultivar Albión almacenada en cuarto frío a 1,4 °C y 90% de humedad relativa y al ambiente a una temperatura media de 17,3 °C y 71% de humedad relativa. Los frutos almacenados en cuarto frío presentaron menor incidencia de *Botrytis cinerea*, mayor presión de pulpa, y menor pérdida de peso, luego de 15 días de almacenamiento. Los tratamientos con Bacilux a 2,0 UFC/mL presentaron significativamente la menor infección de *Botrytis cinerea* en relación con el testigo, producto del mejor control se incrementó la presión de pulpa, a los 15 días de almacenamiento. Aplicando Bacilux 8 días antes de la cosecha se logra un mejor control de *Botrytis cinerea*, obteniendo mayor presión de la pulpa (500 g) hasta los 15 días y una pérdida de peso de solo 18% significativamente menor que los otros tratamientos (Muñoz 2011).

Sobre la carpósfera de frutos de babaco (*Carica pentagona*) existen bacterias epífitas que acusan propiedades de antagonismo. Se aislaron bacterias de la carpósfera y se probó su efecto antagónico contra *Phoma* sp., causa de la pudrición negra de frutas de babaco, en condiciones *in vitro* e *in vivo*. De 54 aislados bacterianos, el 53% mostró capacidad inhibitoria de micelio *in vitro*. Las bacterias antagonistas sembradas 24 horas antes que *Phoma* sp., fue significativo, pues impidió el crecimiento del patógeno o este fue extremadamente limitado. Bacterias del género *Flavobacterium* spp. demostraron un menor desarrollo de lesiones causadas por *Phoma* sp. en frutos de babaco, almacenado por 7 días, a temperatura ambiente de 17±1 °C. Edades del micelio de 24, 48 y 72 h de *Phoma* sp. no influyeron en el diámetro de la lesión, así como concentraciones de bacterias de 10^4, 10^6 y 10^8 UFC/mL (Vintimilla 2000). Resultados de esta investigación posibilitan el uso de otros métodos de control, diferentes a los convencionales, para evitar pérdidas de frutas de babaco en postcosecha causadas por agentes bióticos.

Producción y formulación de biopesticidas

La producción de agentes microbianos de control biológico y su formulación en biopesticidas son procesos que están estrechamente ligados al concepto de biotecnología y microbiología industrial. El objetivo es utilizar microrganismos dentro de tecnologías biotecnológicas artesanales o industriales de masificación *ex situ* y posteriormente estabilizarlos en formulaciones, para obtener productos comerciales aplicables en el campo (Yánez 2003). El método de producción y formulación depende de cada microrganismo y está relacionado con sus requerimientos fisiológicos y bioquímicos, sumado a la factibilidad tecnológica y económica (Falconí y Yánez 2007). Los procesos biotecnológicos para la producción y formulación de biopesticidas locales en base de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia* (*Burkholderia cepacia*) que demostraron eficiencia contra *Moniliophthora roreri* en pruebas *in vitro* y en condiciones de campo, se han diseñado tomando em cuenta características bioquímicas de las dos especies, su multiplicación masiva en medios líquidos y sustratos sólidos, así como producto de experiencias a pequeña escala para optimizar técnicas de deshidratación, almacenamiento y acondicionamiento de soportes. Parámetros como temperatura de incubación, almacenamiento, esterilidad, control de calidad (concentración de biomasa viable y presencia de contaminantes) se consideraron dentro de cada fase del sistema (Falconí y Yánez 2007).

Formulaciones líquidas y sólidas de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia* aplicadas sobre la superficie de mazorcas de cacao demostraron hasta el 80% en la reducción de infecciones tempranas de *Moniliophthora roreri* en cacao Nacional y cacao CCN-51 (Yánez 2004, Yánez *et al*. 2006, Peralvo y Saavedra 2005, Falconí y Yánez 2007, Robles 2008, Estrella y Cedeño 2012). Los mecanismos de acción implican la multiplicación bacteriana sobre la superficie de la mazorca y la producción de enzimas que degradan micelio y esporas del patógeno, en desmedro de su potencial de infección. Bajo las condiciones medioambientales de la provincia de Los Ríos (promedio mensual de 28-34 °C) *Bacillus subtilis* (Basubtil) y *Pseudomonas cepacia* (Cepacide) mantuvieron poblaciones de $1{,}0x10^5$

UFC/g sobre mazorcas de cacao hasta 15-20 días posteriores a su aplicación, en evaluaciones realizadas durante 6 meses (Chiriboga 2003).

Para la elaboración de los biopesticidsa Basubtil y Cepacide se pueden usar como materiales de soporte diferentes tipos de turbas, vermiculita y diatomita. Rodríguez (2002) y Cevallos (2003) mencionan que la vermiculita es un soporte adecuado para la formulación de *Bacillus subtilis* y la turba para *Pseudomonas cepacia*. En las turbas se puede corregir fácilmente el pH con la adición de carbonatos, las vermiculitas generalmente ofrecen un pH neutro de forma natural (7.0±0.5). Estos portadores tienen además un alto porcentaje de materia orgánica, buena capacidad de retención de humedad, facilidad para su procesamiento y esterilización, no son tóxicos para las bacterias benéficas, son de fácil disponibilidad local y de bajo costo (Falconí y Yánez 2007). Es recomendable añadir nutrientes básicos para el mejor desarrollo y proliferación bacteriano (Yánez 2003) (Tabla 3).

Para la producción de biopesticidas a base de *Trichoderma* el soporte usualmente utilizado es arroz en mezcla con cascarilla (Yánez 2003), pero también puede utilizarse talco (Castro Rosa *Comunicación personal*). Otros materiales que faciliten la formulación de *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma koningii* como acículas de pino, arrocillo, avena, trigo, maíz, kikuyo, soya, fibra de coco han sido probados. El sustrato avena permitió el mayor crecimiento de conidias de los antagonistas y su viabilidad estuvo sobre $3{,}3x10^8$ UFC/g hasta luego de tres meses de conservación (Cholango 2009). Es importante disponer de materiales alternativos de fácil acceso y de bajo costo para la producción y formulación de biopesticidas a base de hongos antagonistas.

Tabla 3. Características de materiales de soportes seleccionados para la producción y formulación de biopesticidas a base de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia*

Soporte	Características físicas*	Características químicas*	Concentración bacteriana / concentración
Vermiculita	% C.C: 95 %TM (115 mesh): -**	% MO: 0.1 pH: 6.6 N (ppm): -** P (ppm): 14; 4 K (ppm): 108	*B. subtilis* $1x10^8$ UFC/g a $1x10^{10}$ UFC/g
Turba	% C.C: 138 %TM 115 mesh): 65.4	% MO: 49.9 pH: 6.4 N (ppm): 47.1 P (ppm): 23; 5 K (ppm): 15	*P. cepacia* $1x10^8$ UFC/g a $1x10^{10}$ UFC/g

*Análisis físico-químico de 100 g de muestra procesada. Simbología: % C.C. = capacidad de campo; % MO = porcentaje de material orgánica; %TM = Tamizado a 115 mesh (malla No. 120); pH = potencial ácido/base; N, P, K = nitrógeno, fósforo y potasio asimilables en partes por millón. *Parámetro no cuantificado (Falconí y Yánez 2007).

Disponibilidad de biopesticidas formulados

Existe quizá un centenar de biopesticidas en el mercado internacional. Un 70% están dirigidos a patógenos del suelo y un 30% a enfermedades de la filósfera (Pesticides 2010). Esto se debe a que quizá la parte aérea constituye un ecosistema con graves limitaciones ambientales para el desarrollo de microrganismos. En Ecuador, la ley regulatoria para registro, uso y aplicación de biopesticidas esta aún en discusión. Instituciones de educación superior y centros de investigación han realizado esfuerzos aislados para desarrollar biopesticidas en base de microrganismos. Un ejemplo son los formulados líquidos (TRI-KO-FUN) y sólidos (CEPACIDE) desarrollados por la ESPOCH y la ESPE.

En las indicaciones de las formulaciones líquidas o en polvo mojable se detalla la concentración del producto formulado, al menos $2x10^7$ UFC/L o UFC/g. El ingrediente activo, su modo de acción y sobre que patógenos ha sido probado experimentalmente. Si se conoce efectos adversos para el hombre, aves, peces, microrganismos benéficos o plantas de follaje sensible.

Precauciones generales deben ser consideradas durante el manejo, mezcla y aplicación tales como mantener fuera del alcance de los niños, no fumar o consumir. Cuidados y buenas prácticas para la conservación del bioproducto, también deben ser considerados como almacenamiento a 4 ^oC para garantizar su eficiencia por períodos prolongados, no exposición a la luz o excesivo calor ya que puede afectar la población viable.

Recomendaciones para su uso como forma de aplicación (aspersión al follaje o incorporación al suelo), dosis, época y frecuencia de aplicación deben ser tomadas en consideración. También la preparación de la mezcla, cuidados en el tipo de agua, disolución del biopesticida y uso de coadyuvantes. Es importante considerar la compatibilidad de los biopesticidas con productos químicos sintéticos como insecticidas, fungicidas y desinfectantes del suelo en base a cultivos en los que ha sido probado el bioproducto.

Consideraciones finales

Hoy en día, existe un creciente mercado preferencial hacia los productos agrícolas orgánicos respecto a los productos convencionales. El control biológico constituye una de las alternativas válidas al uso desmedido de agroquímicos. En Ecuador la producción, uso y empleo de antagonistas benéficos continúa contribuyendo con la producción agrícola sustentable de cacao, hortalizas y legumbres, así como es la producción intensiva de flores.

Producto de investigaciones realizadas en Ecuador, se conoce el comportamiento de *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas cepacia* en diversos medios de cultivo, su temperatura óptima de crecimiento, luz y pH. Se han desarrollado técnicas para la caracterización morfológica y actualmente se usa marcadores moleculares hecho que brindará mayor certeza en la identificación.

Se han probado concentraciones de inóculo de varias especies de antagonistas frente a diversos patógenos logrando reducir la incidencia de

patógenos habitantes del suelo, la filósfera y en postcosecha. Incorporaciones al suelo de *Trichoderma harzianum* como parte de las labores culturales han reducido de forma consistente a *Sclerotinia sclerotiourum* en lechuga, mejorado los rendimientos de los productores. Con aplicaciones de *Trichoderma harzianum* se ha logrado garantizar plántulas sanas y vigorosas de lechuga, incrementado los ingresos de los semilleristas. Mediante métodos combinados de solarización con *Trichoderma* spp. se ha logrado reducir propágulos de suelos infestados haciéndolos mas aptos para cultivar papa y hortalizas. Con el uso de vaporización y *Trichoderma* spp. se ha conseguido controlar varios patógenos causantes de enfermedades en flores. Aplicaciones de *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas cepacia*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* han controlado eficientemente la moniliasis del cacao, el tizón tardío de la papa, patógenos habitantes del suelo y patógenos en postcosecha. El control biológico constituye una alternativa válida al uso de productos químicos para prevenir y reducir infecciones de agentes patógenos, hecho que sumado al uso de variedades resistentes y buenas prácticas agrícolas forman parte del manejo integrado de enfermedades.

Producto de investigaciones locales, se conocen nuevos materiales de soporte para la formulación y producción a pequeña y mediana escala de biopesticidas. Es necesario impartir cursos de capacitación sobre uso, manipulación y aplicación de productos biológicos dirigidos a los agricultores, pero sobre todo empoderar a los agricultores sobre las ventajas de los biopesticidas como una alternativa eficiente en el control de enfermedades de los cultivos.

El control biológico puede ejercer un control indirecto de hongos fitopatógenos compitiendo por espacio, y nutrientes, antibiosis, modificando las condiciones ambientales, incluso estimulando el crecimiento de plantas e induciendo la resistencia en la planta. Estos mecanismos pueden actuar de forma coordinada dependiendo de la cepa utilizada, del patógeno al que antagoniza, del tipo de cultivo, y de condiciones ambientales como disponibilidad de nutrientes, pH del suelo, y temperatura. La producción de factores de crecimiento de plantas, enzimas hidrolíticas, sideróforos, antibióticos, permeasas de carbono y nitrógeno pueden sobre expresarse o combinarse con cepas apropiadas de biocontrol a fin de incrementar la eficacia en el control de enfermedades en el campo y en postcosecha.

Los estudios realizados han permitido entender la interacción patógeno-hospedero-antagonista e identificar el potencial del antagonista para regular poblaciones de patógenos. Hacen falta otros componentes tecnológicos que permitan reducir aún más el uso de pesticidas. Para ello es necesario desarrollar controladores biológicos a nivel semi-industrial o industrial o usar las sustancias tóxicas extraídas de antagonistas dentro de planes de rotación con productos químicos. Este plan de rotación incluiría la interacción de biopesticidas con fungicidas protectantes y sistémicos para determinar dosis, frecuencia y épocas de aplicación. Para una mayor interacción debería evaluarse en variedades con resistencia vertical o resistencia horizontal, determinando umbrales de daños económicos. Falta evidencia científica a nivel nacional sobre el rol de *Trichoderma* spp. o *Bacillus subtilis* y otros, como agentes que favorecen la absorción de nutrientes, estimuladores de el crecimiento vegetativo o inductores de resistencia en la planta. Además, es poca la evidencia científica o experiencias

a nivel nacional sobre el mecanismo de acción, dosis comprobadas y tolerancia a productos químicos para cada cultivo. Estas evidencias son requeridas para la certificación del biopesticida y su posterior comercialización, uso y aplicación.

Agradecimiento

A la Dra. Viviana Yánez Mendizábal por sus sugerencias y comentarios

Bibliografía

Aimacaña DF. 2007. Preparación de bioformulados a base de *Trichoderma harzianum* Rifai para el control biológico de sigatoka negra (*Micosphaerella figiensis* var. *difformis* Morelet) en banano (*Musa acuminata* Colla). Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo. 124p.

Acurio RD. 2007. Aislamiento, caracterización y pruebas de eficiencia *in vitro* y bajo invernadero de cepas de *Bacillus subtilis* para el control de *Phytophthora infestans* con el fin de establecer un banco de microrganismos. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 83p.

AEBE - Asociación de Exportadores de Banano del Ecuador 2012. Estadísticas. Disponible en http://www.aebe.com.ec/Desktop.aspx?Id=142 [consultado el 1 de octubre de 2012]

Alencastro MJ. 2004. Determinación de la efectividad de antagonistas para el control de agentes fitopatógenos del suelo en el cultivo de larkspur (*Delphynium consolida*) como alternativa al uso del bromuro de metilo en la hacienda "La Herradura". Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 130p.

Agrios GN. 2005. Plant pathology. 5th Ed. Academic of Phytopathological Society Press, San Diego, CA. USA. 819p.

Arcos MD. 2011. Obtención y evaluación de cepas nativas de *Trichoderma* spp. en el biocontrol de *Botrytis cinerea* en el cultivo de rosas. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 147p.

Asero J, Suquilanda M. 2007. Evaluación de *Trichoderma harzianum* y *Penicillium* sp. en el control de "Oidio" (*Sphaeroteca pannosa*) en rosas (*Rosa* sp.) variedad Aalsmer Gold. Ascázubi, Pichincha, Ecuador. Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Central del Ecuador. 13p.

Basantes CV. 1983. Combate químico, biológico y cultural de la pudrición blanda (*Sclerotium* sp.) en cebolla blanca (*Allium fistulosum* L.). Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo. 80p.

Benalcazar LG. 1998. Utilización de bacterias y hongos de la filósfera como control biológico de la papa (*Phytophthora infestans*). Tesis de Ingeniero Agropecuario, Escuela Politécnica del Ejército. 59p.

Benavides EG. 2001. Evaluación de solarización y de *Trichoderma harzianum* Rifai para el control de *Sclerotina sclerotiorum* (Lib) De Bary y del complejo damping-off *Fusarium* spp., *Pythium* spp, en lechuga (*Lactuca sativa* L.) *in vitro* y en semillero, en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo. Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo. 96p.

Buchanan RE, Gibbons NE. 1974. Endospore forming rods and cocci. Part 15. Eight Edition. The Williams and Wilkins Company. Baltimore. 529 - 549p.

Camacho CR. 2002. Efecto de funguicidas de baja toxicidad para el control de oidio, sobre la supervivencia y eficiencia de *Trichoderma* sp. Tesis de Ingeniero Agrónomo,

Escuela Politécnica de Chimborazo. 58p.
Castro RP, Rivas F. 2002. Proyecto: Empleo de solarización y *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Informe final, Escuela Politécnica de Chimborazo. 63p.
Cevallos JC. 2003. Evaluación de materiales de soporte para la formulación de la bacteria antagonista *Pseudomonas cepacia* para el control de moniliasis *Moniliophthora roreri* en cacao *Theobroma cacao*. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 87p.
Chiriboga J. 2003. Determinación del tiempo de sobrevivencia de tres bacterias antagonistas de *Moniliophthora roreri* sobre mazorcas de cacao mediante técnicas serológicas. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 62p.
Cholango LP. 2009. Selección de cepas de *Trichoderma* sp. *in vitro*, para el control de problemas radiculares en flores de verano. Checa – Ecuador. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 130p.
Cobos GM. 2010. Evaluación de cepas nativas de *Trichoderma* spp. para el control de sigatoka negra (*Paracercospora fijiensis* M.) en el cultivo del banano (*Musa paradisiaca*) en fase de laboratorio. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 83p.
Díaz MO, Pucha RG. 2005. Red de Control Biológico. Estación Experimental Tropical Pichilingue, INIAP. Disponible en http://www.iniap.gob.ec/nsite/index.php?option=com_content&view=category&id=93&Itemid=12 [consultado el 15 de octubre de 2012].
Erazo AE. 2006. Evaluación de tres dosis de *Trichoderma harzianum*, para el control de tizón tardío (*Phytophthora infestans*) y costra negra (*Rhizoctonia solani*) en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*). Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo. 108p.
Esposito E, Da Silva M. 1998. Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. Critical review in microbiology 24: 89-98.
Estrella EE, Cedeño JG. 2012. Medidas de control de bajo impacto ambiental para mitigar la moniliasis *Moniliophthora roreri* Cif y Par. Evans *et al*.) en cacao híbrido Nacional x Trinitario en Santo Domingo de los Tsachilas. Tesis de Ingeniero Agropecuario, Escuela Politécnica del Ejército. 139p.
Falconi CE. 2012. *Lupinus mutabilis* in Ecuador with special emphasis on anthracnose resistance. PhD Thesis, Wageningen University, 150 pp.
Falconí CE. 2003. Estrategias biológicas para el control de la moniliasis del cacao. In: INIAP, GTZ, PROCIANDINO. Agricultura orgánica. Quevedo, EC. 1 disco compacto, 8mm.
Falconí CE, Yánez VR. 2007. Validación de biopesticidas para el control de la Moniliasis y manejo sustentable del cacao fino de aroma en el Ecuador. ESPE / Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología. Sangolqui, EC. 69p.
Falconí CE, Visser RGF, van Heusden AW. 2013. Phenotypic, molecular, and pathological characterization of Colletotrichum acutatum associated with Andean lupine and tamarillo in the Ecuadorian Andes. Plant Disease. 97:819-827.
FAO 2011. Países exportadores de banano. Disponible en http://www.fao.org/docrep/meeting/022/AM480T.pdf [consultado el 15 de octubre de 2012].
Gachet M, Proaño V, Barba C. 1987. Control biológico de la tristeza del aguacate. In: Rumipamba, Universidad Central del Ecuador. Volumen IV: 93-102.
Guerrero VC. 2001. Evaluación de solarización y *Trichoderma harzianum* Rifai para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) De Bary agente causal de la pudrición basal de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo. Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo. 78p.
Guerrero RV, Arias LD. 2005. Red de Control Biológico. Estación Experimental Tropical Pichilingue, INIAP. Disponible en http://www.iniap.gob.ec/nsite/index.

php?option=com_content&view=category&id=93&Itemid=12 [Consultado el 17 de octubre del 2012].

Guilcapi ED. 2010. Efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en la producción de plantas de café (*Coffea arabica*) variedad Caturra a nivel de vivero. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Recursos Naturales. Escuela Politécnica de Chimborazo. 73p.

Hernández A. 1998. Selección de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal. Informe Final Proyecto 0300098. PNCT Biotecnología Agrícola. 32p.

Herrera JH. 2006. Evaluación de tres dosis del hongo (*Paecilomyces lilacinus*), para el control de nematodos en el cultivo de *Solidago tara*. Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo. 59p.

ICCO 2012. Organización Internacional del Cacao (ICCO). Informe anual 2011/2012. En línea www.icco.org/pdf/An_report/anrep0506spanish.pdf [Consultado el 30 de octubre de 2012].

Indar J, Abramsky M, Cohen D, Chet I. 1994. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedling grown under commercial conditions. European Journal of Plant Pathology 100: 337-346.

Lewiz JA, Papavizas CG. 1991. Biocontrol of plant disease: the approach for tomorrow. Crop protection 10:95-105.

López AA. 2007. Pruebas de eficiencia *in vitro* y bajo invernadero de cepas de *Trichoderma* spp. para control de *Phytophthora infestans* en el cultivo de papa *Solanum tuberosum* para establecer un banco de microrganismos. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 90p.

López F. 1988. Combate biológico de (*Sclerotinia* sp.) agente causal de la pudrición del cuello de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) con (*Trichoderma* sp.) en condiciones de laboratorio e invernáculo. Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo. 86p.

Maldonado SE, Vargas VH. 2005. Control de *Rhizoctonia* sp. en plantas de lechuga (*Lactuca sativa*) con *Bacillus subtilis* proveniente de biol de papa prehidrolizada. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 98p.

Montavón R. 1996. Bravario básico de la cultura, la producción y la comercialización del cacao. En: Nestlé y el Cacao, Nestec S.A., Departamento B-Com-Cl, Le Mont-sur-Lausanne, 20p.

Montesdeoca CI. 1983. Combate químico, biológico y cultural de la pudrición blanda (*Sclerotium* sp.) en cebolla blanca (*Allium fistulosum* L.). Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo. 67p.

Morales H. 1994. Relación entre la epidemia de *Phytophthora infestans* y la producción en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.). Tesis de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Central del Ecuador. 68p.

Moreno DG. 2005. Vaporización como alternativa al uso de bromuro de metilo en la desinfección de suelos en el cultivo de liatris (*Liatris spicata*). Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 208p.

Muñoz CJ. 2011. Combate biológico del moho gris (*Botrytis cinerea*) bajo dos condiciones de almacenamiento del fruto de fresa (*Fragaria x ananassa*) c.v. Albión. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Universidad Técnica de Ambato. 114p.

Nysaes 2006. Material fact. Sheet. *Bacillus subtilis* (en línea). Disponible en http://www.nysaes.cornell.edu/pp/resourceguide/mfs/01bacillus_subtilis.php [Consultado el 17 de octubre del 2012].

Oleas AR, Barba C, Villacís M. 1987. Efecto antagónico *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre *Sclerotinia* sp. Sanidad Vegetal 2: 30-36.

Osorio RA. 2010. Estudio del efecto de *Trichoderma harzianum* en el control de *Moniliophthora roreri* en plantas de *Theobroma cacao* en la provincial de Esmeraldas. Tesis de Ingeniero Agroindustrial. Escuela Politécnica Nacional. 103p.

Ozbay N, Newman SE. 2004. Biological control with *Trichoderma* spp. with emphasis on *T. harzianum*. Pakistan Journal of Biological Sciences 7 (4): 478-484.

Peralvo D, Saavedra L. 2005. Validación de biopreparados en base a bacterias epífitas para el control de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) en el cultivo de cacao fino de aroma. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 112p.

Pesticides: registration review. 2010. New biopesticide active ingredients (en línea). Disponible en http://www.epa.gov/oppsrrd1/registration_review/bacillus_subtilis/index.htm [consultado 18 de octubre de 2012].

Pinto CM. 2007. Aislamiento y conservación ex situ de cepas de *Pseudomonas* spp. a partir de la flora epifítica nativa de *Solanum tuberosum* para el biocontrol de *Phytophthora infestans*. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 101p.

Quinche GO. 2010. Control de Botrytis (*Botrytis cinerea*) y Mildiu velloso (*Peronospora sparsa*) en el cultivo de Rosa (rosa sp variedad Forever young) mediante el uso de *Trichoderma harzianum* Rifai. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Recursos Naturales. Escuela Politécnica de Chimborazo. 78p.

Quinquituña LG. 2006. Evalucion de tres formulacion de *Trichoderma* sp. em el control de *Rhizoctonia* sp em el cultivo d Larkspur (consolida ambigua white). Faculdad de Recursos Naturales , Escuela Politécnica de Chimborazo. 63p.

Rivas WG. 2001. Evaluación de solarización y tres dosis de *Trichoderma harzianum* Rifai para el control del complejo Damping-off *Fusarium* spp., *Pythium* spp., en lechuga (*Lactuca sativa* L.) en fase de semillero, en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo. Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo.

Revelo J. 1997. El nematodo del quiste de la papa *Globodera pallida*: problemática, estudios realizados y sistema de manejo integrado de la población. In: memorias del curso: Manejo integrado de las principales plagas y enfermedades del cultivo de la papa. E.E. Santa Catalina. Proyecto INIAP-CIP-BID. 14p.

Robles B. 2008. Validación de biopesticidas en base a bacterias epífitas para el control de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* cif y par. Evans *et al*.) en el cultivo de cacao híbrido CCN 51. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 118 p.

Rodriguez R. 2002. Evaluación de materiales de soporte para la formulación de la bacteria antagonista *Bacillus subtilis* para control de moniliasis *Moniliophthora roreri* en cacao *Theobroma cacao*. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. 87p.

Rojano MJ. 2001. Control biológico de la pudrición basal (*Sclerotium cepivorum)* en el cultivo de cebolla blanca (*Allium fistulosum* L.) con cinco dosis y tres aplicaciones de *Trichoderma harzianum* en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo. Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo. 75p.

Rosero NG. 2010 Evaluación de dosis de *Trichoderma harzianum* en el control de Damping off en fresa (Fragaria vesca L). Tesis de Ingeniero Agrónomo, Universidad Técnica de Babahoyo. 65p.

Ruano P. 2010. Eficiencia de nematicidas biológicos en el control de *Meloidogyne incognita* en tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bajo invernadero en Socapamba, Imbabura. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Universidad Técnica del Norte. 67p.

Sacoto HH. 2010. Control biológico de *Pythium* sp. y *Fusarium oxysporum* en el cultivo de lisianthus (*Eustonia grandifolium*), utilizando cuatro productos en tres tipos de sustratos. Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo. 190p.

Sánchez ME. 2002. Evaluación de un producto biológico, dos ecológicos y dos químicos para el control de *Botrytis cinerea* en mora de castilla *Rubus glaucus*. Tesis de Ingeniero Agropecuario, Escuela Politécnica del Ejército. 87p.

Sánchez CA. 2001. Control biológico de la pudrición basal (*Sclerotinia sclerotiorum*) (Lib) De Bary en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) con cinco dosis y tres aplicaciones de *Trichoderma harzianum* en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo. Tesis de

Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo. 76p.
Saquicela DF. 2010. Evaluación económica de los componentes del manejo integrado para el control de enfermedades de cacao tipo Nacional. Estación Experimental Tropical Pichilingue, INIAP. Tesis de Ingeniero Agropecuario, Escuela Politécnica del Ejército. 84p.
Sica 2007. Censo Nacional Agropecuario – AgroEcuador. 2007 www.agroecuador.com/HTML/Censo/Censo.htm [Consultado el 17 de octubre del 2012].
Solís K. 1999. Determinación de organismos antagónicos a *Moniliophthora roreri* a partir de mazorcas de cacao dejadas en el suelo. Tesis de Ingeniera Agrónoma. Universidad de Guayaquil. 55p.
Solís K, Suarez C. 2003. Uso de *Trichoderma* spp para control del complejo Moniliasis-Escoba de Bruja del cacao en Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Tropical Pichilingue, Departamento Nacional de Protección Vegetal. 8p.
Suarez C, Solís K. 2003. Tácticas de manejo integrado de enfermedades disponibles para producción de cacao orgánico en el Ecuador. In: INIAP, GTZ, PROCIANDINO. Agricultura orgánica. Quevedo, Ecuador. 1 disco compacto, 8 mm.
Triviño C, Gowen S, Crump D, Farias E, Chevez K, Navia D, Mestanza S, Velasco L, Alvarez A, Mosquera T, Matamoros J. 2004. Desarrollo de las poblaciones de *Radopholus similis* en plantas inicialmente tratadas con antagonistas seleccionados y posteriormente inoculadas con el nematodo (invernadero). Informe Proyecto INIAP-PROMSA. 21 p.
Triviño C. 1996. *Pasteuria penetrans* el enemigo más promisorio del nematodo agallador en raíces de *Meloidogyne* spp. INIAP Boliche, Ecuador. Boletín Divulgativo Nº 290 p 5.
Triviño C. 2001. Evaluación de la sensibilidad de varias poblaciones de *Meloidogyne* spp frente a diez poblaciones de *Pasteura penetrans* nativas del Ecuador. Nematrópica 31:160.
Triviño C. 2007. Manejo de los principales nemátodos fitoparásitos en el cultivo de arroz. En Manual del cultivo de arroz. INIAP, Ecuador. 151-122.
Triviño C. 2004a. Control biológico de *Meloidogyne* spp. con la bacteria *Pasteuria penetrans* en campos de producción. INIAP. Boletin Técnico No. 98.
Triviño C. 2004b. Manejo de nematodos en musáceas del Ecuador. In: Rivas, G y Rosales, F. eds. Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka Negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de musáceas en los trópicos. INIBAP. Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y el Plátano, Montpellier, Francia. p. 120.
Triviño C, Figueroa M. 1993. Los nematodos del arroz y su control. Boletín Divulgativo No. 241. E. E. Boliche. INIAP, Ecuador. 10p.
Tuquinga JH. 2001. Evaluación de solarización y de *Trichoderma harzianum* Rifai para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) De Bary agente causal de la pudrición basal de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo. Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo. 82p.
Urquizo DL. 2009. Evaluación de la eficiencia de los productos *Bacillus subtilis* (Rhapsody) y Difenoconazole (Score 250) para el control de Alternaria (*Alternaria dauci*) en dos cultivares de zanahoria (*Daucus carota* L). Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela Politécnica de Chimborazo. 84p.
Vintimilla RI. 2001. Control biológico de *Phoma* sp. en frutos de babaco *Carica pentagona* H. en postcosecha mediante bacterias antagonistas. Tesis de Ingeniero Agropecuario, Escuela Politécnica del Ejército. 125p.
Yandún V. 1998. Uso de *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma koningii* para el control de *Botrytis cinerea*, agente causal del moho gris en el cultivo de la mora (*Rubus* sp.). Tesis de Ingeniero Agropecuario, Escuela Politécnica del Ejército. 88p.
Yánez VR. 2003. Producción y formulación de biopreparados a base de *Pseudomonas*

cepacia, *Bacillus subtilis* y *Trichoderma* sp. para el control biológico de la Moniliasis del cacao. Maestría en Ciencias del Control Biológico. Departamento de Investigaciones. Carrera de Ingeniería Agropecuaria. Boletín Técnico N° 2. Sangolquí, EC. 36 p.

Yánez VR. 2004; Control biológico de *Moniliophthora roreri* en el campo mediante el uso de biopreparados a base de *Pseudomonas cepacia*, *Bacillus subtilis* en cacao Tenguel 25 (EET 103). Tesis Magíster en Ciencias del Control biológico. Escuela Politécnica del Ejército. 83p.

Yánez VR, Oleas AR, Falconí CE. 2003. Identificación de bacterias epífitas de mazorcas de cacao eficientes para el control de *Moniliophthora roreri*. In: Reporte Técnico-Científico del Proyecto "Estrategias biológicas para el control de la Moniliasis del cacao". Convenio ESPE – PROMSA, MAG, ORECAO, IQ – CV – 025. EdiEspe. Sangolquí, Ecuador.14-20p.

Yánez VR, Falconí CE, Oleas AR. 2006. Efecto de los biopesticidas para el control de la moniliasis em cacao fino y aroma em la Hda. Limón, Provincia de Los Rios, Ecuador. Ciencia. 9(1):18-24.

Yumbay MR. 2011. Evaluación de cepas de *Trichoderma* spp. en el control de *Botrytis cinerea* en el cultivo de rosas. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Carrera de Ciencias Agropecuarias. Escuela Politécnica del Ejército. 89p.

Capítulo 10

Control biológico de enfermedades de plantas en Honduras

Rogelio Trabanino, Abelino Pitty

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. rtrabanino@zamorano.edu; apitty@zamorano.edu

Introducción

La Escuela Agrícola Panamericana, más conocida como Zamorano, es una institución dedicada a la educación de jóvenes provenientes de toda Latino América. El estudio implica el sistema de Aprender Haciendo, el cual les da la oportunidad de realizar todas las actividades relacionadas con la agricultura y al regresar a sus países poner en práctica lo aprendido. Zamorano es la institución pionera en Honduras y Centro América en la enseñanza, uso y desarrollo del control biológico para el control de plagas y enfermedades en diversos cultivos. El uso del control biológico ha sido muy exitoso en la región y ha ayudado a reducir el uso de fungicidas y sus consecuencias económicas y ambientales negativas. Además, las investigaciones y la producción comercial de bioplaguicidas por Zamorano han servido a que la técnica sedisemine a otros países del área.

Zamorano incursionó en el control biológico de plagas en 1989 cuando creó el Centro para el Control Biológico en Centro América (CCBCA) como parte del programa de Manejo Integrado de Plagas en Honduras (MIPH) del Departamento de Protección Vegetal de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. El programa MIPH se había creado para promover el desarrollo de la enseñanza, la investigación y la implementación del control biológico en Centro América y fue financiado por la United States Agency for International Development (USAID) en Honduras. El propósito era satisfacer la necesidad de infraestructura e información técnica para brindar alternativas biológicas para el manejo de plagas en Centro América. Para contribuir a lograr este propósito, el CCBCA colaboró con muchas instituciones internacionales que incluyeron el International Institute of Biological Control (ahora CAB International), University of Florida, Purdue University, Iowa State University, Cornell University, Universidad de Costa Rica, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza (CATIE) y el

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

International Institute of Tropical Agriculture. El trabajo del CCBCA con estas organizaciones ayudó a mantener o incrementar los rendimientos de los cultivos y reducir los problemas agronómicos, económicos, ambientales y de salud pública asociados con el uso indiscriminado de plaguicidas para el control de plagas.

El CCBCA fue usado por estudiantes graduados de universidades latinoamericanas, norteamericanas y europeas para investigaciones en control biológico, además de los profesores y alumnos de Zamorano. Se utilizó para para dictar cursos en Zamorano y entrenar profesionales y agricultores en cursos cortos. El CCBCA también se usó como base de investigación para científicos extranjeros que buscaban organismos nativos con potencial de ser agentes de control biológico en otras regiones.

Gran parte del énfasis del control biológico en el CCBCA fue desarrollado y orientado al control de insectos, sin embargo, al inicio de los años 2000 se le da más énfasis a la investigación orientada al control biológico de enfermedades, con mucho énfasis en la utilización del hongo *Trichoderma harzianum* y de la micorriza vesículo arbuscular. Además, se dedica a la búsqueda, investigación y desarrollo de hongos y bacteriaspara el control de insectos. Durante los últimos 13 años le da un aporte importante a la agricultura hondureña y centro americana.

Los inicios en el laboratorio de control biológico

Se dedicaron 11 años de investigación y enseñanza del control biológico utilizando insectos como enemigos naturales para controlar insectos plagas. Sin embargo, a partir del 2000, el enfoque del CCBCA cambió principalmente porquelos estudiantes y agricultores de Honduras y Centro América buscaban a Zamorano para obtener información sobre los insecticidas y fungicidas a base de microrganismos, algo en lo que no se había incursionado.

Para comenzar se trabajó en la investigación con hongos antagonistas,se tuvo la gran tarea de buscarlos en varias regiones de Honduras, pero con más énfasis en la zona central y sur ya que es la mayor área de producción de hortalizas. Se dedicócasi todo el año 2000 a la recolección de muestras de suelo y al aislamiento de los microorganismos. Durante este año se aislaron los hongos *Trichoderma harzianum*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus* y *Verticillium lecanii*. Estos materiales fueron enviados a Cuba, Estados Unidos y Costa Rica para su caracterización.

Luego se evaluó su eficacia y la mayor parte fueron realizadas por técnicos del Laboratorio de Control Biológico de Zamorano con apoyo de estudiantes de Zamorano. También se investigó la producción artesanal y se tuvo que conocer lo que se estaba realizando en Latino America sobre la producción comercial, por lo que realizamos giras para verificar el estado de la producción y comercialización.

La historia exitosa con *Trichoderma harzianum*

En el Laboratorio de Control Biológico se decidió reproducir el hongo antagonista *Trichoderma harzianum* para combatir hongos del suelo. La

investigación inicial se enfocó en determinar la eficacia, rapidez de crecimiento y rendimiento de las cepas aisladas para poder seleccionar las más adecuadas. Estas evaluaciones fueron realizadas con el Dr. Phil Arneson (Cornell University y profesor adjunto de Zamorano) y un grupo de estudiantes de Zamorano. Después de las pruebas de efectividad en el laboratorio, se evaluó en el campo con cultivos hortícolas; los resultados demostraron la efectividad del producto, lo que contribuyó a la difusión y comercialización de este biofungicida. Tres años después (2003), se registró en Honduras el primer biofungicida producido por Zamorano con el nombre comercial de Trichozam™. Los datos para el registro inicial y los siguientes registros fueron obtenidos de las tesis de estudiantes Méndez Martinez y Raudes Reyes (Méndez Martinez 2003 y Raudes Reyes 2006).

Durante el desarrollo de Trichozam™ se estableció una alianza de cooperación con el proyecto FINTRAC, que tenía el propósito de incrementar los ingresos de los productores enseñándoles a producir hortalizas. Pero un gran problema eran las enfermedades del suelo porque el proyecto era financiado por USAID yno tenían autorización de usar unos agroquímicos muy populares, pero muy dañinos para el hombre y el ambiente. FINTRAC solicitó que Zamorano produjeran plaguicidas biológicos para reducir la mortalidad en el campo de las plántulas de chile jalapeño (40-50%) ocasionada por el problema del mal del talluelo causado especialmente por *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Pythium* spp. Esta alianza permitió dedicar esfuerzos a la enseñanza, a la investigación aplicada y a la producción de *Trichoderma harzianum* para los productores de hortalizas, además, a la divulgación de la tecnología en evaluaciones en los campos de los agricultores. Al final, FINTRAC distribuyó ampliamente Trichozam™ entre sus productores. Inmediatamente los productores de hortalizas reconocieron que el control biológico es definitivamente una alternativa al control químico, lo que permitió desarrollar más el programa de bioplaguicidas. Seis meses después de usar Trichozam™ en chile jalapeño, la mortalidad causada por el mal del talluelose redujo a 5%. Este éxito permitió a que el biofungicidaTrichozam™ fuera adoptado por la mayoría de los exportadores de chile jalapeño. En el 2003, unas 300 ha de chile jalapeño, 1.300 ha de tomate y 1.800 ha de chile dulce se aplicaban con Trichozam™.

Después de esta historia exitosa, pasamos a trabajar con los productores de melón que tenían que reducir el uso del bromuro de metilo para la desinfección del suelo. Esta circunstancia nos permitió dedicar tiempo y esfuerzo hacia el estudio deTrichozam™ como una opción para el control de los hongos del suelo. Después de casi 2 años de trabajos intensos en evaluaciones en los campos de producción de melón en el sur de Honduras, logramos convencer al mayor productor de melón de Honduras, la empresa Agrolibano, que el Trichozam™ realizaba una función muy similar al bromuro de metilo en el control de hongos en el suelo, por lo cual la empresa decidió reemplazarlo. La empresa reemplazó el uso del bromuro de metilo con cuatro aplicaciones de Trichozam™ para el control de enfermades en el suelo entre ellas la más importante *Monosporascus cannonbalus* y el complejo del mal del talluelo producido por *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Phytophtora*. Lo interesante de esta actividad es que después de 2 años de uso de los bioplaguicidas a base de *Trichoderma harzianum*, la empresa decidió instalar su propio laboratorio de control biológico, comenzó con la producción

de *Trichoderma harzianum* y hoy produce unos cinco bioplaguicidas que aplica continuamente. La empresa reporta que en un ciclo de melón realizan unas 17 aplicaciones y están libre de problemas de hongos en el suelo.

Zamorano, a través de sus estudiantes, ha sido la incubadora para otras empresas de control biológico. En Nicaragua, un graduado del 2005, y luego en Ecuador,dos graduados que realizaron sus estudios de tesis en el laboratorio incursionaron en esta actividad con mucho éxito.

Investigaciones realizadas con *Trichoderma harzianum*

En Zamorano, los trabajos de investigación con *Trichoderma harzianum* son varios y a continuación detallamos un resumen de los principales trabajos que se han desarrollado utilizando este hongo antagonista, involucran investigaciones en varios cultivos y para diferentes enfermedades en el suelo. Se ha trabajado muchoen transferencia de tecnología con los técnicos de FINTRAC, quienes juegan un papel muy importante para que el agricultor pueda montar parcelas demostrativas en la cuales determinan los beneficios de usar hongos antagonitas en sus cultivos como una práctica diaria.

Bravo M. 2003. Evaluación técnica económica de aplicaciones de azufre sublimado y *Trichoderma harzianum* en melón en invernadero, en Zamorano, Honduras. El experimento evaluó el efecto del azufre sublimado para el control de oidium (*Sphaerotheca fuliginea*) y *Trichodenna harzianum* en el control de nematodos (*Meloidogyne* sp.) en melón (variedad Hy-Mark) producido en bolsas plásticas negras de 19 L, bajo invernadero en un sistema semi-hidropónico. El ensayo se realizó entre agosto y noviembre de 2002, en Zamorano, Honduras. El diseño fue un factorial 2 × 2 en parcelas divididas cuya parcela principal era sublimación de azufre y la subparcela *Trichoderma harzianum*. Debido a que no se presentó oidium en ninguno de los tratamientos, pero se presentaron nematodos del género *Meloidogyne* sp. en uno de los invernaderos, se analizó el efecto de *Trichoderma harzianum* sobre las variables medidas por separado en cada invernadero utilizando una prueba t con la hipótesis que *Trichoderma harzianum* es mejor que el testigo. La inoculación con *Trichoderma harzianum* en sustrato con nematodos redujo el daño de raíces en 64%; aumentó la producción de melones comerciales en 2.773 kg/ha (4%); aumentó el número de frutos por planta en 4,7% y aumentó los grados brix en 0,7. *Trichoderma harzianum* en sustratos sin nematodos aumentó el número de frutos por planta en 4,7%, aumentó la producción de melones comerciales en 2.426 kg/ha (5%), aumentó los grados brix en 0,6 y aumentó el peso por frutos comercial en 4,8%. Esto se puede deber a que *Trichoderma harzianum* crece con las raíces formando una especie de guante que protege a las raíces de infecciones secundarias, y no permitió que los hongos patógenos, ni nematodos tuvieran aceeso a las raíces. La aplicación de *Trichoderma harzianum* en sustrato sin nematodos alcanzó la máxima utilidad por ciclo (2.264 US$/ha), una rentabilidad de 44% y una tasa de retomo marginal de 999%. La utilización de esta nueva tecnología aumenta la productividad y ganancias del productor melonero.

Salvador G. 2004. Evaluación de tres productos de control biológico comerciales a base de *Trichoderma* spp. y un aislamiento de *Trichoderma* sp. *in vitro* con énfasis en pruebas de control de calidad. Los objetivos del estudio fueron comparar la viabilidad de Trichozam™ con dos productos comerciales utilizados en Honduras (Mycobac® y Pro-selective®) y comparar su habilidad en la inhibición de los patógenos *Pythium* sp., *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani in vitro*. Se realizaron tres experimentos: 1) determinar la viabilidad de las conidias de los productos evaluados; 2) evaluar la eficiencia de los productos y aislamiento en el control de patógenos; 3) y analizar el mecanismo de acción de *Trichoderma harzianum*. En el primer experimento se determinó la concentración de cada producto y se verificaron los datos del fabricante; establecida la concentración de conidias de cada producto comercial, se evaluó la viabilidad de las conidias. La variable medida fue el número de colonias producidas a las 48 horas. Se usó un diseño completamente al azar. En el segundo experimento se realizaron dos ensayos, se sembró el micelio de *Trichoderma* spp. individualmente y con cada uno de los tres patógenos. Los aislamientos se evaluaron con una regresión del crecimiento micelial (mm/día), que demuestra la inhibición de *Trichoderma* spp. sobre los patógenos. El estudio microscópico determinó el mecanismo de acción de *Trichoderma harzianum*. El primer experimento determinó que los productos biológicos Trichozam™ y Mycobac® tuvieron una alta viabilidad, al contrario Pro-selective® no la tuvo. El segundo experimento indicó que los tres productos y el aislamientos de *Trichoderma* spp. presentaron gran capacidad de antagonismo; por su rápida velocidad de crecimiento y habilidad de inhibir el crecimiento de patógenos. Sin embargo, dentro de las cepas y aislamientos evaluados existió una variabilidad antagónica que diferenció las cepas en su habilidad de inhibir los patógenos. En el tercer experimento, los mecanismos de acción observados por *Trichoderma harzianum* fueron competencia por espacio, nutrientes y microparasitismo. De acuerdo con los experimentos realizados se determinaron tres metodologías para realizar el control de calidad para la evaluación de cepas de *Trichoderma* spp.

Torres L. 2005. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani* en la variedad arroz INTA N1 bajo inundación en Sébaco, Nicaragua. Entre las enfermedades fungosas que afecta al arroz, el añublo de la vaina es de suma importancia y el agente causal es *Rhizoctonia solani*. En algunas localidades constituye una amenaza muy seria para emprender con éxito la siembra de arroz. Una respuesta positiva a la limpieza del planeta son las especies del género *Trichoderma* que han merecido la atención máxima como agente de biocontrol. Los objetivos fueron determinar el control de *Rhizoctonia solani* con *Trichoderma harzianum* en arroz bajo inundación, determinar la eficiencia en el control del añublo de la vaina (*Rhizoctonia solani*) con el uso de *Trichoderma harzianum* y determinar la diferencia de control mediante fraccionamiento de dosis, a la semilla, a la planta a los 30 y 60 días después de la siembra. El experimento se realizó de marzo a julio de 2005 en la finca Río Viejo, localizada en el km 112 de la carretera Panamericana, departamento de Matagalpa, Sébaco, Nicaragua. Se utilizó la variedad de arroz INTA N1. Se usó un diseño completamente al azar con ocho repeticiones. Se aplicaron cinco tratamientos: Trichozam™ a la semilla,

Trichozam™ a la semilla + 30 días foliar, Trichozam™ a la semilla + 30 días + 60 días foliar, Silvacur + Stratego y un testigo sin aplicaciones. La incidencia de *Rhizoctonia solani* a los 65 días, 90 días después de la siembra y a la cosecha fue significativamente menor en las plantas tratadas con Trichozam™ a la semilla + foliar 30 días y 60 días. La severidad a los 65 días y 90 días después de la siembra fue significativamente menor en las plantas tratadas con Trichozam™ a la semilla + foliar 30 días y 60 días y a la cosecha fue menor la severidad en el tratamiento Triademenol (Silvacur 30 EC)+ Propiconazole (Stratego 25 EC). No existieron diferencias estadísticas en rendimiento ya que que surgió un problema de manchado de grano posiblemente causado por especies de *Sarocladium*, *Alternaria* y *Pseudomonas*, provocando una pérdida en rendimiento y escondiendo el efecto real de *Trichoderma harzianum* sobre los rendimientos.

Castillo Samudio R. R. 2007. Efecto de la aplicación de Trichozam™ (*Trichoderma harzianum)* en la producción de maíz dulce (*Zea mays)* variedad Golden Baby. El estudio se llevó acabo en los predios de la finca de la empresa Hortifresh S.A. a 32 km de Tegucigalpa vía Danlí, Departamento de Francisco Morazán, Honduras. La finalidad del estudio fue evaluar el efecto Trichozam™ (*Trichoderma harzianum*) en el cultivo de maíz dulce (*Zea mays*) variedad Golden Baby. Se hicieron cinco tratamientos (0, 1, 2, 3 y 4 aplicaciones). Las aplicaciones se realizaron con el riego por goteo usando 240 g/ha/ aplicación de Trichozam™. Los tratamientos con tres y cuatro aplicaciones con Trichozam™ se obtuvieron mazorcas de mayor longitud y diámetro. Las raíces de maíz dulce aumentaron de peso alaumentar la dosis de *Trichoderma harzianum*.

Mantilla Comte J. 2007. Movimiento de *Trichoderma harzianum* en un suelo de textura media cultivado con pepino (*Cucumis sativa*), suministrado a una y dos horas en el sistema de riego por goteo. Para monitorear el movimiento de *Trichoderma harzianum* en un suelo franco arcillo arenoso con pepino (*Cucumis sativum*) se realizó un estudio factorial 2 × 2 × 2 con parcelas divididas en el tiempo. Se evaluó *Trichoderma harzianum* con y sin adherente y un testigo sin *Trichoderma harzianum* bajo dos regimenes de riego por goteo (una y dos horas por aplicación) en Zamorano, Honduras. Se tomaron muestras de suelo a 10, 20 y 30 cm de profundidad a los 5, 10, 15 y 20 días después de las aplicaciones. Se encontró presencia de *Trichoderma harzianum* en todas las profundidades muestreadas. No se encontró diferencia en las horas de riego ni el uso de adherente. Los testigos se mantuvieron sin presencia de *Trichoderma harzianum.*

Morán Ruiz F. 2007. Efectividad del fraccionamiento de la dosis comercial 3 × 10^{11} UFC/ha de Trichozam™ **(*Trichoderma harzianum*) en el crecimiento de las plántulas de siete cultivos hortícolas.** El propósito fundamental de esta investigación fue el efecto del fraccionamiento de *Trichoderma harzianum* utilizado (3 × 10^{11}UFC/ha) en semillero y determinar el impacto en el desarrollo y calidad, en plántulas de chile, lechuga, repollo, brócoli, pepino,

tomate y maíz. El ensayo constó de cuatro tratamientos: *Trichoderma harzianum* a la siembra, dosis fraccionada dos veces a la siembra y edad media de la plántula; tres veces, a la siembra, emergencia y cuatro días antes del transplante y testigo absoluto sin *Trichoderma harzianum*. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones cada una de 30 plántulas. Se fraccionó las dosis de acuerdo a cada tratamiento, que se disolvió en 120 ml de agua. Con una micropipeta se aplicó 1 ml en cada celda de las bandejas a diferentes edades fisiológicas de la plántula. Se muestrearon 10 plántulas por repetición, se analizaron: área superficial, volumen, largo y diámetro de raíces con el programa WinRhizo. Todos los tratamientos con aplicación de *Trichoderma harzianum* tuvieron más raíces que los testigos. Se recomienda Trichozam™al momento de siembra para obtener productos de mejor calidad.

Guerra Burgos J. O. y WelchezArita J. A. 2013. Evaluación de la efectividad de cuatro fungicidas biológicos en el control del hongo de la roya *Hemileia vastatrix*. El cultivo del café (*Coffea arabica)* juega un papel muy importante en la economía hondureña debido a que genera más de 1 millón de empleos directos y más de 400 millones de dólares en divisas. Dada la importancia que tiene el café en nuestros países y el gran daño económico causado en Latino América por el ataque del hongo *Hemileia vastatrix* causante de roya, se han buscado alternativas para su control. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de cuatro biopesticidas para el control de la roya. Se evaluaron extracto de *Mimosa tenuiflora*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Trichoderma harzianum* y sulfato de cobre que se utilizó como el testigo en el campo. El estudio se desarrolló en una plantación comercial en la Finca Santa Isabel, Departamento de Copan, y en el vivero de la unidad de ornamentales en la Escuela Agrícola Panamericana en Honduras. En la plantación comercial con la variedad catuai amarillo se identificó el lote con la incidencia alta de roya donde se ubicó el ensayoen un área de 0,288 ha. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones. Se fumigó con bomba de mochila cada 15 días por dos meses. En el vivero con la variedad catuai también se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con 72 plántulas de café las cuales fueron divididas en seis lotes de 12 plantas donde se distribuyeron dos plantas por tratamiento dentro de cada bloque. Estas fueron inoculadas con el hongo y luego aplicadas con cada tratamiento con una secuencia de cada siete días por seis semanas consecutivas. Las variables medidas en ambos lugaresfueron el porcentaje de daño foliar que causa la roya en el follaje, el grado de daño y la cantidad de pústulas vivas en cada hoja muestreada. Cada dos plantas por tratamiento en el bloque fue considerada una unidad experimental en vivero y en campo se muestrearon seis plantas del medio de la plantación. En la fase de campo no se encontraron diferencias significativas para ninguna variable para los cinco tratamientos. En la fase de vivero se determinó que el extracto de la *Mimosa tenuiflora* tuvo diferencias significativas para el porcentaje de daño foliar yel grado de daño mostrando el porcentaje más bajo de infestación, 8,69%, de roya por hoja infestada. Fue distinto en cuanto a la cantidad de pústulas vivas ya que el único tratamiento que tuvo diferencia significativa fue el sulfato de cobre con una media de 6.47 pústulas.

Uso de micorrizas para el control de enfermedades

El Dr. Erich Raddatz, un científico alemán radicado en Colombia, llegó en 1999 a Zamorano como invitado. Raddatz trabajó muchos años en el aislamiento de cepas seleccionadas de micorrizas y en su producción. Su enfoque era mejorar la producción vegetal y el aprovechamiento del uso del agua con el uso de ls micorrizas. Pero después se ha investigado en su uso para reducir las enfermedades en los cultivos.

Menéndez Tejeda M. R. 2004. Efecto de la micorriza vesículo-arbuscular (VAM) en el daño de la sigatoka negra en banano y plátano. En banano y plátano, el principal problema agronómico es el manejo de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*), que reduce el rendimiento y la calidad de la fruta. Una alternativa para reducir el daño de la sigatoka negra es la aplicación de micorrizas, que poseen un efecto beneficioso en la absorción de agua, nutriente y control fitosanitario. Se evaluó el efecto de la inoculación con Mycoral® (inoculante VAM), en la incidencia de sigatoka negra en plátano y banano en vivero. Se realizaron tres ensayos independientes con cormos de la variedad Curaré Enano, meristemos y cormos de la variedad Gran Enano. Se evaluaron dos tratamientos con y sin Mycoral®, en un diseño de bloques completamente al azar, con cinco repeticiones. Las variables medidas fueron: incidencia y severidad de la enfermedad a los 30, 45 y 75 días después de inoculadas (DDI); altura y diámetro del pseudotallo al inicio y al final del estudio; porcentaje de mortalidad de plantas; y porcentaje de infección de micorrizas en la raíz. En meristemos de banano Gran Enano, a los 45 DDI, en las plantas con Mycoral® se redujo 17% la incidencia de la enfermedad y en un grado de severidad del daño, y aumentó 8% el crecimiento, comparado con plantas sin Mycoral®. En cormos de plátano Gran Enano con Mycoral® se redujo 8% la incidencia y en un grado la severidad del daño e incrementó 7% el crecimiento comparado con plantas sin Mycoral®. Los mayores efectos benéficos del Mycoral® en la reducción de incidencia de *Mycosphaerella fijiensis*, fueron en meristemos de Gran Enano y el incremento en plantas en cormos y meristemos de Gran Enano, presentándose el Mycoral® como una alternativa en la reducción del daño de *Mycosphaerella fijiensis*.

Mora J. R. 2001. Control biológico de la pudrición radicular por *Fusarium oxysporium* en semilleros de café usando endomicorriza y *Trichoderma harzianum*. Las plantas de café (*Coffea arabica*) en semilleros pueden presentar problemas con hongos patogénicos y *Fusarium oxysporum* uno de los principales. Este hongo puede reducir el sistema radicular de las plantas más del 90% y tradicionalmente su control se basa en el uso de fungicidas sistémicos. El objetivo del estudio fue evaluar los agentes de control biológico: Rootshield y Mycobac (*Trichoderma harzianum*); y Mycoral (endomicorrizas), para el control del hongo. Se aisló y aumentó una cepa del patógeno de raíces de café con síntomas de la pudrición radicular y se inoculó en el suelo en la mitad de los tratamientos siete días antes de la siembra. Los productos biológicos se aplicaron a la siembra del café en suelo infestado y no infestado por el patógeno, utilizando las dosis recomendadas por los fabricantes: Mycoral, 5 g/semilla; Rootshield y

Mycobac, 890 g/m^3 y 100 g/100 L, respectivamente, Benlate 50WP, 1 lb/380 L (testigo químico) y un testigo absoluto. A los 120 días de la siembra la incidencia y severidad de *Fusarium oxysporum* en las plantas inoculadas con el patógeno fue mayor que en las plantas sin el inóculo. Mycoral y Rootshield redujeron la incidencia y severidad de la enfermedad, igual que el Benlate 50WP. La longitud y peso seco de la raíz fueron mayores en plantas tratadas con Mycoral que en Rootshield y Mycobac expuestos o no al patógeno. Los resultados indicaron que Mycoral y Rootshield fueron los productos que mejor protegieron a las raíces contra *Fusarium oxysporum* en café, resultando en una alternativa orgánica al control químico de esta enfermedad.

Córdova Zapata M. I. 2003. Biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* por Trichozam™ (*Trichoderma harzianum*) y Mycoral® (micorriza vesículo arbuscular) en el cultivo de tomate. La marchitez vascular del tomate es producida por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. El hongo sobrevive en restos de cultivo de una temporada a otra, es favorecido por temperaturas cálidas y alta humedad relativa. Una respuesta positiva a este problema es la utilización de organismos biocontroladores de enfermedades como *Trichoderma harzianum* y micorriza (VAM). El objetivo de este estudio fue determinar si la marchitez vascular del tomate puede ser manejada biologicamente con Trichozam™ y Mycoral®. Se realizaron análisis *in vitro* y en casa malla. Se utilizó un diseño factorial 2 × 4 distribuido en parcelas divididas con siete repeticiones por tratamiento. Las variables evaluadas fueron: severidad, número de hojas por planta, porcentaje de hojas cloróticas, hojas muertas, hojas marchitas y colonización de micorriza en las raíces tratadas. En el ensayo *in vitro* se realizaron observaciones microscópicas a cultivos conjuntos en cámara húmeda de *T. harzianum* y *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. El porcentaje de doblez de las hojas presentó diferencias entre el testigo enfermo y los demás tratamientos, comprobándose así que Trichozam™, Mycoral® y la combinación de los dos ejercieron control. Se determinó que la velocidad de crecimiento de *Trichoderma harzianum* es mayor a la de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, además se observó que las esporas de *Trichoderma harzianum* tienen cierto tipo de energía kinética que les permite movilizarse, se adhieren a las hifas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y producen hifas que se enrollan en las hifas del patógeno, ofreciendo así un control mecánico.

Usos de extractos de compost para el control de enfermedades

Ramos B. 2002. Uso de extractos de compost como una alternativa biológica para el control de *Mycosphaerella fijiensis* en la producción de banano orgánico. Uno de los usos innovativos del compost es la supresión de enfermedades del suelo y el combate de enfermedades foliares. Se investigó el uso del compost como una alternativa de control de *Mycosphaerella fijiensis*, hongo causante de la Sigatoka Negra del banano. Se evaluó un extracto líquido de compost y compost mejorado con cal dolomita, con el objetivo de determinar la supresión sobre la Sigatoka Negra. La investigación se realizó en dos fases.

La primera fue una evaluación *in vitro* en el laboratorio del Departamento de Investigaciones Tropicales de la Standard Fuit de Honduras S.A. en La Ceiba, Atlántida, Honduras. En el estudio se compararon extractos líquidos de compost a concentraciones (compost/agua destilada, v/v) de 1:2, 1:4 y 1:6 con un testigo comercial Bravo® (Clorotalonil) a 1, 10 y 100 ppm y un testigo absoluto en un diseño completamente al azar. La dilución de compost simple (compost/agua destilada, v/v) 1:2 fue igual de efectiva que el Bravo® para inhibir la germinación de esporas y reducir la longitud del tubo germinativo. La segunda fase se realizó durante 8 semanas en el campo en microparcelas de banano en la finca Mabuhay, Yoro, perteneciente a la Standard Fruit de Honduras S.A. Se compararon los dos mejores extractos acuosos de compost (1:2 (v/v)) establecidos por el estudio *in vitro*, estos fueron aplicados al follaje a 24 L/ha. El diseño usado fue bloques completamente al azar con cinco repeticiones. El efecto de los tratamientos fue medido en función de los parámetros utilizados por la Standard Fruit de Honduras S.A. para la evaluación de Sigatoka Negra. Se evaluó la comparación de dos épocas marcadas por el clima durante las 8 semanas, la época seca en las primeras 3 semanas y la época lluviosa en las últimas 5 semanas. Aunque la diferencia entre tratamientos no fue estadísticamente significativa, se observó una tendencia de mayor protección del área foliar y crecimiento del banano cuando se aplicaron extractos líquidos de compost, comparado con el testigo absoluto. En el parámetro de hojas libres de estrías existió diferencias significativas entre las medias de los tratamientos cuando se comparó el área/día en las dos épocas del experimento.

Francescangeli Moscoso, O. 2013. Té de Compost como Control de Mildiu Lanoso (*Peronospora belbahrii*) y Suplemento Nutricional en Albahaca Dulce (*Ocimum basilicum*). Existe una fuerte tendencia hacia las alternativas agroecológicas de los fertilizantes y plaguicidas sintéticos debido al impacto que tienen en el medio ambiente y en la sociedad. El té de compost ha probado ser muy efectiva para controlar algunos patógenos y ha tomado fuerza durante los últimos años. El objetivo fue evaluar su efectividad para suprimir la incidencia de *Peronospora belbahrii*, un oomiceto causante de la principal enfermedad en albahaca orgánica en Zamorano, Honduras. Se fabricó una máquina para elaborar el té y se evaluaron aplicaciones foliares de este y foliares y al suelo junto con *Bacillus subtilis*, ácido salicílico y ácido peracético en un experimento de ocho semanas. Se inocularon las plantas con el patógeno, se aplicaron los tratamientos y se midió la incidencia semanal de la enfermedad y el rendimiento. El té de compost aplicado foliar solo difirió significativamente en una de los ocho semanas con el testigo, el té aplicado foliar y al suelo fue significativo en dos de las ocho semanas con el testigo y el resto de tratamientos no fueron significativos en ninguna semana. En rendimiento, el té de compost foliar + al suelo fue significativamente mayor (48,2 ± 6,2 g/planta) en las primeras cuatro semanas y mayor en las semanas 5-8, aunque sin diferencias estadísticas. Se atribuye la falta de efectividad del té de compost a los niveles altos de aditivos que causaron excesos de microorganismos lo que causó condiciones anaeróbicas que afectaron la calidad final y su habilidad supresora.

Uso de proteobacterias para el control de hongos en el suelo y promotor de crecimiento

Telenchana Telenchana M. E. 2013. Comparación de efectos de seis cepas *Lysobacteren zymogenes* y su actividad antagónica para el control de *Bipolaris sorokiniana*. El estudio se realizó en el departamento de fitopatología de la Universidad de Nebraska, Lincoln, Estados Unidos. Los objetivos fueron determinar los efectos de seis cepas de *Lysobacteren zymogenes* durante la germinación *in vitro* de las semillas de soya y trigo y evaluar la efectividad de las cepas *Lysobacteren zymogenes* para el control de la pudrición de la raíz en trigo causada por el hongo *Bipolaris sorokiniana*. El ensayo tuvo dos fases, la primera se realizó en el laboratorio donde se evaluaron los efectos producidos por las cepas *Lysobacter* spp. durante la germinación *in vitro* de las semillas de soya y trigo. La siguiente fase se realizó en el invernadero donde se evaluó la actividad antagónica de las cepas bacterianas sobre el hongo *Bipolaris sorokiniana* en las semillas de trigo. Se usó un diseño completamente al azar, cuatro réplicas y 25 semillas por cada réplica. Las medias se separaron con la prueba Duncan ($P \leq 0.05$). Las semillas de soya inoculadas en el laboratorio con las seis cepas de *Lysobacter* spp. presentaron diferencias significativas al producir una disminución en la velocidad de germinación a diferencia de las cepas OH11, U4 y 64A que tuvieron igual velocidad que las semillas sin inocular. En la germinación total se observó diferencias significativas, en especial de la cepa 48B3 que tuvo 89% de germinación en comparación a las cepas OH11 y 64A que tuvieron 98 y 99%, respectivamente. Todas las semillas de soya inoculadas con las cepas *Lysobacte*r spp. presentaron necrosis sobre las raíces y cotiledones, pero con mayor severidad las semillas inoculadas con las cepas N4-7 y 48B2. En el ensayo de germinación *in vitro* de las semillas de trigo inoculadas con las cepas bacterianas se observó una reducción en la velocidad y porcentaje de germinación a diferencia de la cepa 64A que tuvo igual velocidad a las semillas sin inocular. Las cepas bacterianas produjeron la inhibición de las raíces de trigo mayormente en las semillas inoculadas con las cepas C3R5, OH11, N4-7 y 48B3. Para el ensayo bajo invernadero no se observó ningún efecto de las cepas *Lysobacteren zymogenes* sobre el hongo *Bipolaris sorokiniana* debido a que la incidencia de la pudrición de la raíz de trigo causada por el hongo no fue significativa.

Zamorano registra bioplaguicidas en Centro América y el Caribe

Zamorano se ha enfocado en la investigación del control biológico de enfermedades causadas por hongos, pero desde el punto de vista práctico. Las investigaciones se han enfocado en la selección de las mejores cepas efectivas en el control de las enfermedades, su facilidad de propagación en el laboratorio y la factibilidad de poder producir una formulación del bioplaguicida que pueda usar el agricultor.

En el 2004, se registró el bioplaguicida Bazam™ (*Beauveria bassiana*), y Verzam™ (*Lecanicillium lecanii*). Bazam™ controla lepidópteros, coleópteros

adultos, larvas del suelo y la broca del café. Los estudios para su desarrollo y registros fueron las tesis de Romero Villagra (2004), Rivera Jerez (2004), Toapanta Valencia (2005) y Méndez (2008). Bazam™ se usa en cebolla contra trips y garrapatas. El Verzam™ se registró para el control de áfidos y mosca blanca, pero no tuvo éxito porque el uso de fungicidas en los cultivos hortícolas es muy frecuentes y la cepa no era muy agresiva.

En el 2004 se buscaron cepas de *Metarhizium anisopliae* en el Sur de Honduras y *Purpureocillium lilacinum* en Zamorano; los microorganismos fueron registrados en Honduras ante la Secretaria de Agricultura y Ganadería (SAG) en 2006 con los nombres de Metazam™ y Pazam™, respectivamente. El Metazam™ controla el salivazo en caña de azúcar. Unas 8.000 ha se fumigan con Metazam™ en tres ingenios azucareros en Honduras, lo que ha reducido el uso de agroquímicos. Metazam™ se usa contra gallina ciega (*Phyllophaga* spp.) en camote, ya que no se deben aplicar insecticidas sintéticos 30 días después de la siembra. Pazam™ es un hongo que controla nematodos y se puede utilizar en cultivos hortícolas, granos básicos y frutales. Las tesis de Vaquedano Gámez (2006) y Juárez Figueroa (2007) ayudaron al desarrollo de Pazam™.

En el 2005, se registró Trichozam™ en Jamaica y desde entonces se hacen envíos anuales a Jamaica. Se registró Trichozam™ y Bazam™ en el 2008 y en el 2009 Metazam™ y Pazam™ en El Salvador. En el 2010, los cuatro productos fueron registrados en Nicaragua. Hay gestiones de registro en República Dominicana, Guatemala y Panamá. Las tesis de Morán Quintero (2007), Moran Ruiz (2007), Parada López (2007), Mantilla Compte (2007) y Rosero Asqui (2008) han servido en esta nueva estrategia de mercado.

Zamorano también a incursionado con enemigos naturales, en el 2008, se obtuvo con el Dr. Alfredo Rueda una donación de la Cuenta del Milenio para criar, liberar y usar tres enemigos naturales para reducir el uso de agroquímicos en hortalizas. Se seleccionaron la chinche depredador *Orius insidiosus* para el control de trips, áfidos y mosca blanca; el ácaro depredador *Neoseiulus longispinosus* (Evans) para el control de la arañita roja *Tetranychus* spp.; y el nematodo entomófago *Heterorhabditis bacteriophora* para controlar insectos del suelo, especialmente *Phyllophaga* spp., *Cosmopolitus sordidus*, larvas de lepidóptera, picudo del camote (*Cylas formicarius*) y termitas en el suelo.

Este proyecto convenció a los agricultores que la agricultura sostenible es la mejor estrategia para permanecer en el mercado. Se contrataron cinco graduados de Zamoranos: Miguel Cocom (trabajó en el Laboratorio de Control Biológico); Carlos Montufar y Alicia Joya, (desarrollaron las crías de los organismos); Jorge Chavarría y Karla Andino (trasladaron a los agricultores los conocimientos sobre el uso del control biológico en fincas). Se construyó un laboratorio para producir *Heterorhabditis bacteriophora* y *Orius. insidiosus*, dos cuartos fríos de almacenamiento y seis invernaderos computarizados para criar *Neoseiulus longispinosus*. Se capacitaron 800 agricultores, 150 técnicos y personas interesadas en la producción de estos organismos para hacer pública las estrategias de cría desarrolladas y que pudieran usarlas o iniciar algún negocio. Además, 600 estudiantes aprendieron tecnologías de punta y la biología, ecología y cría de otros enemigos naturales. Hubo 15 investigaciones con los alumnos y personal técnico. Los resultados reforzaron las enseñanzas en Zamorano a los

agricultores y los técnicos. Los estudios con fondos de este proyecto fueron los de Suazo López (2008), Pantoja Guaman (2009), Perrera Viamill (2009), Turcios Rivas (2009), Turcios Rivera (2009), Villaroel Basantes (2009), Ávila Sosa (2010) y Dieguez Gonzáles (2010).

Un caso exitoso dejó grandes lecciones sobre el control de plagas, se dio asistencia técnica a dos exportadores de chile de colores cuyo problema principal era la arañita roja *Tetranychus urticae* Koch. El único control en 140 ha, entre ambas exportadoras era aplicar, sin éxito, acaricidas 1,5 veces por semana a un costo de US$ 6.200/ha. A fin del 2009 se liberó *Neoseiulus longispinosus* y se logró reducir a dos aplicaciones de acaricidas en todo el ciclo en el primer año y ninguna en el segundo año. En el 2012 no se liberó ningún depredador ya que *Neoseiulus longispinosus* está establecido en los alrededores de los invernaderos, lo que impide la reproducción de la plaga y su introducción a los invernaderos. Los productores ya no gastan más en el control de la arañita roja. Otro éxito fue con el cultivo de camote en la empresa MontyFarm, una de las mayores exportadoras de Honduras. En el 2010 se reportaron daños del picudo del camote que perfora los tubérculos y reduce su calidad y comercialización. Las prácticas de control químico no son efectivas ya que el picudo está en el suelo y es muy móvil, por lo cual se evaluó el efecto de *Heterorhabditis bacteriophora* sobre larvas y adultos y después de un ciclo de aplicaciones, la efectividad fue 95%.

El laboratorio de Control Biológico evalúa la producción de hongos que puedan aumentar la cartera de productos para la enseñanza. Ha comenzado a producir algunas bacterias para que los estudiantes aprendan y puedan producir organismos que controlan plagas, incluyendo *Bacillus subtilis*. También investiga los extractos botánicos, ha empezado a cultivar *Tagetes* spp. para extraer los ésteres de xantofilas y aplicarlos para el control de nematodos. El laboratorio está orientado a evaluar formulaciones de hongos entomopatógenos, también en la producción de las bacterias que utilizan los nematodos a través de la fermentación y en la eficacia del nematodo para controlar plagas.

Bibliografía

Ávila Sosa, O.A. 2010. Control de Broca del Café (*Hypothenemus hampei*) utilizando once cepas de *Beauveria bassiana* y el nematodo *Heterorhabditis bacteriophora*. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras

Bravo M. 2003. Evaluación técnica económica de aplicaciones de azufre sublimado y *Trichoderma harzianum* en melón en invernadero, en Zamorano, Honduras. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Castillo Samudio, R.R. 2007. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* en la producción de maíz dulce (*Zea mays*) variedad Golden Baby. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Córdova Zapata, M.I. 2003. Biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* por Trichozam™ (*Trichoderma harzianum*) y Mycoral® (micorriza vesículo arbuscular) en el cultivo de tomate. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Dieguez Gonzales, V.H. 2010. Susceptibilidad del nematodo entomopatógeno (*Heterorhabditis bacteriophora*) a nueve plaguicidas. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola

Panamericana, Zamorano, Honduras.
Francescangeli Moscoso, O. 2013. Té de compost como control de Mildiu Lanoso (*Peronospora belbahrii*) y suplemento nutricional en albahaca dulce (*Ocimum basilicum*). Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
Juárez Figueroa, R. H. 2007. Control del escarabajo del estiércol *Alphitobius diaperinus* con *Heterorhabditis bacteriophora*, *Beauberia bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
Guerra Burgos, J.O. y WelchezArita, J.A. 2013. Evaluación de la efectividad de cuatro fungicidas biológicos en el control del hongo de la roya *Hemileia vastatrix*. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
Mantilla Compte, J. 2007. Movimiento de *Trichoderma harzianum* en un suelo de textura media cultivado con pepino (*Cucumis sativa*), suministrado a una y dos horas en el sistema de riego por goteo en el Zamorano, Honduras. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
Méndez, N.A. 2008. Evaluación de ocho cepas de *Beauveria bassiana* para control de broca del café *Hypothenemus hampei*. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras
Méndez Martinez, J.A. 2003. Efectos de aplicación de *Trichoderma harzianum* y *Paecilomyces lilacinus* en el rendimiento de lechuga orgánica en Zamorano. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
Menéndez Tejeda, M.R. 2004. Efecto de la micorriza vesículo-arbuscular (VAM) en el daño de la sigatoka negra en banano y plátano. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
Mora J.R. 2001. Control biológico de la pudrición radicular por *Fusarium oxysporum* en semilleros de café usando endomicorriza y *Trichoderma harzianum*. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
Morán Quintero, N.R. 2007. Evaluación de cuatro cepas de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani* en plántulas de pepino (*Cucumis sativa*). Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
Morán Ruiz, F.S. 2007. Efectividad del fraccionamiento de la dosis comercial 3×10^{11} UFC/ha de Trichozam® (*Trichoderma harzianum*) en el crecimiento de las plántulas de siete cultivos hortícolas. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
Pantoja Guamán, D.O. 2009. Capacidad depredadora de *Oriusinsidiosus* (Say) sobre *Thripstabaci* (Lindeman) en laboratorio y en cultivo de pepino. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras
Parada López, J.E. 2007. Estudio de factibilidad para la comercialización a través de E-commerce de bioplaguicidas marca Zamorano en Honduras. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
Perrera Villamil, A.A.2009. Efectividad del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* para el control de larvas de *Phyllophaga* spp. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
Raudes Reyes, M.G. 2006. Efecto de la aplicación de Trichozam (*Trichoderma harzianum*) en la promoción del rendimiento de tomate, chile dulce y pepino en invernaderos de Zamorano. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras
Ramos, B. 2002. Uso de extractos de compost como una alternativa biológica para el control de *Mycosphaerella fiji*ensis en la producción de banano orgánico. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
Rivera Jerez, C.G. 2004. Evaluación de sensibilidad *in vitro* de Trichozam (*Trichoderma harzianum*) a nueve fungicidas. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
Romero Villagra, D.C. 2004. Efectos de la aplicación de *Paecilomyces lilacinus* en el control

de *Meloidogyne* spp. en pepino. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras

Rosero Asqui, A. 2008. Evaluación de cuatro cepas de *Trichoderma* sp. y sus combinaciones para el control de *Fusarium* sp. en sandía. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Salvador, G. 2004. Evaluación de tres productos de control biológico comerciales a base de *Trichoderma* spp. y un aislamiento de *Trichoderma* sp. *in vitro* con énfasis en pruebas de control de calidad. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Suazo López, O.O. 2008. Optimización de los parámetros de aplicación de *Heterorhabditis bacteriophora* para el control de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz en condiciones de campo, Zamorano, Honduras. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Telenchana Telenchana, M.E. 2013. Comparación de efectos de seis cepas *Lysobacter enzymogene*s y su actividad antagónica para el control de *Bipolaris sorokiniana.* Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Toapanta Valencia, L.D. 2005. Efecto de la aplicación de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control de *Phyllophaga*spp. y *Aeolus* spp. en cultivo de camote (*Ipomoea batatas*). Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras

Torres L. 2005. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani* en la variedad arroz INTA N1 bajo inundación en Sébaco, Nicaragua. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Turcios Rivas, E.E. 2009. Evaluación del movimiento del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* y su capacidad infectiva bajo condiciones controladas de humedad y tres texturas de suelo. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Vaquedano Gámez, L.C. 2006. Efecto de la aplicación de hongos entomopatógenos para el control de plagas en el cultivo de pepino, en el valle de Comayagua, Honduras. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Villarroel Basantes, R.I. 2009. Respuesta funcional, respuesta numérica e interferencia de *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) sobre *Tetranychus ludeni* (Zacher) y *Tetranychus gloveri* (Banks) (Acari: Tetranychidae) en Zamorano, Honduras. Tesis Ing. Agr., Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Capítulo 11

Control biológico de enfermedades de plantas en México

Leticia Bravo-Luna[1*], César Guigón-López[2]

[1]*Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-Instituto Politécnico Nacional. Yautepec, Morelos. 62731.*
[2]*Centro de Investigación en Recursos Naturales Agropecuarios. Antigua Normal Rural. Salaices, Chihuahua.*
**Autor para correspondencia: lbravol@ipn.mx*

Introducción

A nivel mundial el interés por el control o manejo biológico de enfermedades de las plantas, se incrementó a partir de la década de 1960 al reconocerse los problemas de contaminación ambiental del planeta, en parte resultante del uso excesivo y a veces indiscriminado de los plaguicidas sintéticos. En México uno de los primeros trabajos relacionados con el control biológico de enfermedades fue el de San Martín y Bailey (1978), quienes aislaron de hojas y frutos con roña del manzano a *Penicillium janthinellum*, *Aspergillus foetidus* var. *pallidus*, *Trichoderma lignorum, Trichothecium roseum* y un actinomiceto (no identificado), los cuales mostraron acción efectiva contra *Venturia inaequalis* tanto *in vitro* como en campo (Peña *et al.* 1980) y contra otros 15 hongos fitopatógenos (*Rhizoctonia* sp., *Colletotrichum* sp., *Sphaceloma* sp., *Helminthosporium* sp., *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium rigidiuscula*, *Botryodiplodia* sp., *Diplodia* sp., *Glomerella* sp., *Macrophomina* sp., *Sclerotium* sp., *Phytophthora capsici*, *Pythium mamillatum* y *Pythium ultimum* (Froto y Bailey 1983).

A partir del trabajo de Froto y Bailey (1983) se iniciaron las publicaciones relacionadas con control biológico de enfermedades, siendo en su mayoría en la búsqueda de antagonistas y su evaluación *in vitro;* entre los primeros antagonistas aislados fueron en su mayoría hongos: *Alveophoma* sp., *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavipes*, *Aspergillus flavus oryzae*, *Aspergillus foetidus* var. *pallidus*, *Aspergillus* sp., *Curvularia* sp., *Macrophomina* sp., *Micrococcus luteus*, *Minimedusa* sp., *Penicillium janthinellum*, *Scytalidium lignicola*, *Sporidesmium sclerotivorum*, *Tuberculina persicina*, *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma lignorum*, *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichothecium roseum*, mientras que de bacterias solo se identificaron cuatro: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis, Escherichia coli* y *Serratia marcescens*.

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

En la década de los noventa, contrario a lo que se esperaba los trabajos relacionados con control biológico de enfermedades disminuyeron en un 80%; sin embargo, estos trabajos estuvieron enfocados a la evaluación en invernadero de los antagonistas *Glomus* sp., *Trichoderma* sp., *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas aeruginosa* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3, *Phymatotrichum omnivorum* y *Phytophthora capsici.*

En la última década se ha incrementado significativamente el número de publicaciones sobre el empleo de organismos antagonistas para el control biológico de fitopatógenos. Sobresalen en esta década el uso de diferentes especies de *Trichoderma* y *Bacillus* contra hongos fitopatógenos de los géneros *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Phytophthora*, así como los primeros trabajos de control biológico de nematodos con *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia.* A pesar de los avances, siguen predominando los estudios bajo condiciones controladas de laboratorio e invernadero. Aunque en los últimos años se han presentado casos interesantes de estudios en campo como se indica en el Tabla 1.

Regulación para el registro de bioplaguicidas en México

En México se requiere que cada plaguicida, incluidos los bioplaguicidas, cuenten con un registro emitido por la Secretaría de Salubridad y Asistencia (SSA) en coordinación con la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), sin el cual un plaguicida no puede ser formulado, comercializado o usado de forma legal. El Catálogo Oficial de Plaguicidas, contiene información relevante al manejo seguro y ambientalmente adecuado de los productos que cuentan con registro.

Para el registro de un plaguicida existe a) un marco institucional y b) una regulación que a continuación se describen brevemente:

Marco institucional

La gestión de los plaguicidas involucra a diferentes dependencias del gobierno mexicano que se distribuyen de distintas formas las competencias en la materia.

Comisión intersecretarial para el control de proceso y uso de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas (CICOPLAFEST).

Coordina las Secretarías de Economía, de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, de Medio Ambiente y Recursos Naturales y de Salud, en relación con los plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas, conforme a las atribuciones que sus propias leyes les confieren.

La instrumentación de la CICOPLAFEST, incluye en sus estrategias la participación de la iniciativa privada; facilita el cumplimiento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, en relación con la emisión de Normas Oficiales Mexicanas que integren los contenidos básicos de las Normas Técnicas

en materia de sustancias químicas. Sus acciones se apoyan en la Ley General de Salud como un instrumento básico en la materia, enfocado a la protección de la salud, Ley Federal de Sanidad Vegetal para el manejo adecuado de plaguicidas y fertilizantes en la agricultura y medidas fitosanitarias, e incorpora criterios contenidos en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA)

Es la entidad facultada para la formulación, conducción y evaluación de la política general de desarrollo rural, incluyendo los programas de sanidad vegetal y animal. En relación a los plaguicidas, tiene las siguientes atribuciones: Dictaminar los límites máximos de residuos y la efectividad biológica. Normar, en coordinación con las dependencias competentes, la expedición de documentos para el registro e importación de plaguicidas de uso agrícola, así como normar y supervisar su uso. Normar y regular la importación y movilización de productos químicos agropecuarios. Elaborar la regulación aplicable a los plaguicidas.

La SAGARPA cuenta con un Servicio Nacional de Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) que desarrolla actividades de regulación, inspección, vigilancia y certificación de la sanidad, inocuidad y calidad agrícola, acuícola y pecuaria en beneficio del valor de las cadenas agroalimentarias que determine dicha Secretaría.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT)

Entre sus atribuciones tiene la de regular y llevar a cabo la gestión de materiales y residuos peligrosos, incluidos los plaguicidas. Promueve medidas para evitar que residuos, materiales y sustancias tóxicas producto de las actividades humanas causen un desequilibrio ambiental. La SEMARNAT cuenta con un órgano desconcentrado constituido por delegaciones en cada una de las entidades del país, el cual es la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA), que tiene a su cargo la verificación del cumplimiento de lo dispuesto en la legislación ambiental.

Secretaría de Salubridad y Asistencia (SSA)

A través de su órgano desconcentrado, la Comisión Federal de Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), tiene como una de sus principales responsabilidades, proponer al Secretario de Salud la política nacional de protección contra riesgos sanitarios, así como su instrumentación, en materia de plaguicidas, nutrientes vegetales y sustancias tóxicas o peligrosas para la salud, entre otros. Entre sus atribuciones se encuentra la regulación y fomento sanitario de la producción, comercialización, importación, publicidad o exposición involuntaria de sustancias tóxicas y peligrosas: como plaguicidas, precursores químicos y químicos esenciales. Adicionalmente cuenta con la atribución de regular la exportación de plaguicidas. También participa en los procesos de inocuidad alimentaria, lo que hace que tenga un papel preponderante en el establecimiento de Límites Máximos de Residuos (LMR) en alimentos. En el trámite de registro de plaguicidas y nutrientes vegetales, COFEPRIS requerirá la opinión técnica de SEMARNAT. Cuando se trate de plaguicidas de uso agrícola

y pecuario y de nutrientes vegetales, requerirá también la opinión técnica de SAGARPA.

Otras Secretarías de estado involucradas en la regulación de los plaguicidas son:

Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS), Secretaría de Comunicaciones y Transporte (SCT), Secretaría de Economía, Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL), Secretaría de Hacienda y Crédito Público (SHCP), Secretaría de Gobernación (SEGOB), Procuraduría General de la República (PGR).

Regulación

La Ley Federal de Sanidad Vegetal (LFSV), publicada el 5 de enero de 1994, tiene como finalidad regular y promover la sanidad vegetal, la cual tiene por objeto vigilar las disposiciones fitosanitarias; diagnosticar y prevenir la diseminación e introducción de plagas de los vegetales, sus productos y subproductos; establecer medidas fitosanitarias; y regular la efectividad biológica, uso y manejo de insumos, así como el desarrollo y prestación de actividades y servicios fitosanitarios.

La LFSV tiene injerencia en la regulación de plaguicidas agrícolas en cuanto a su uso, efectividad y comercialización. Define los requisitos fitosanitarios, especificaciones y procedimientos para los estudios de su efectividad biológica, los cuales son un requisito importante para su registro en el país. También establece la responsabilidad en dictaminar sobre los aspectos fitosanitarios de los límites máximos de residuos de plaguicidas que se establezcan y da la atribución a la SAGARPA para establecer a través de normas oficiales mexicanas y otros mecanismos las disposiciones legales y las especificaciones aplicables para certificar, dictaminar y evaluar la efectividad biológica de los plaguicidas; para su aplicación, uso y manejo en el campo; para realizar los estudios de campo para el establecimiento de límites máximos de sus residuos; y las especificaciones fitosanitarias y de buen uso que deberán observarse en apego a lo establecido en el dictamen técnico de efectividad biológica. La Ley le otorga a la SAGARPA la capacidad para colaborar con la SSA, SEMARNAT y SEDESOL en la vigilancia y cumplimiento de las normas oficiales aplicables a los plaguicidas.

Los interesados en registrar algún insumo fitosanitario deben presentar para su dictamen los estudios de efectividad biológica que la SAGARPA determine (Figura 1). Dicho dictamen se remitirá a la dependencia encargada del registro del insumo de que se trate, así como los cultivos, plagas, dosis, métodos de aplicación, intervalo de seguridad que se recomiendan para su aplicación previa a la cosecha. La obtención del dictamen técnico de efectividad biológica de plaguicidas, requiere de un estudio para la combinación cultivo/plaga que pretenda registrar conforme a lo establecido en la NOM-032-FITO-1995. Asimismo, existe un listado de investigadores y verificadores autorizados por el Gobierno Federal. El protocolo del estudio y el informe correspondiente deben realizarse conforme a los lineamientos especificados en la norma anterior y deberán adaptarse a la estructura de un artículo científico y presentarse impreso

en papel membretado de la Institución responsable del estudio.

La SAGARPA podrá solicitar a la persona física o jurídica que haya obtenido el registro del insumo fitosanitario ante la autoridad competente, que reevalúe su efectividad biológica, aplicación, uso y manejo, de conformidad con lo establecido en la norma oficial mexicana aplicable. Asimismo, las personas físicas o jurídicas que desarrollen o presten actividades fitosanitarias relacionadas con insumos fitosanitarios deberán contar con programas de capacitación y promoción sobre el buen uso de insumos, así como participar en los programas que la Secretaría determine en esta materia.

La SAGARPA también podrá solicitar a los propietarios de los registros de los insumos fitosanitarios, información sobre su uso tal como los volúmenes de aplicación, cultivos, regiones, plagas por cada producto registrado.

La SAGARPA proporcionará a la SSA, la información sobre los niveles de residuos obtenidos en los estudios de campo que contribuyan al establecimiento de los límites máximos de residuos de plaguicidas. De igual forma, establecerá y desarrollará el Programa Nacional de Monitoreo de Residuos de Plaguicidas en vegetales para determinar que los insumos fitosanitarios, son utilizados conforme a lo establecido en los dictámenes técnicos de efectividad biológica otorgados.

Posterior al registro, y en caso de que el plaguicida se importe, se deben tramitar las autorizaciones de COFEPRIS, quienes solicitan, copia del aviso de funcionamiento o número de licencia sanitaria, número del registro sanitario actualizado del producto a importar. Y autorización de SEMARNAT, quienes solicitan, el permiso de importación expedido por COFEPRIS.

Reglamento en materia de registros, autorizaciones de importación y exportación y certificados de exportación de plaguicidas, nutrientes vegetales y sustancias y materiales tóxicos o peligrosos

Este Reglamento establece las bases para reglamentar las atribuciones que sus respectivas leyes les confieren a las tres secretarías de estado (SSA, la SEMARNAT y SAGARPA) que tienen mayor injerencia en la gestión de los plaguicidas (Anónimo 2004). Es un instrumento a través del cual se regula el ingreso al comercio de estos productos y sienta las bases para la aplicación de las disposiciones del Convenio de Rotterdam.

El Reglamento se fundamenta en lo dispuesto por cinco leyes diferentes: Ley Orgánica de la Administración Pública Federal, Ley General de Salud, Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, Ley Federal de Sanidad Vegetal, Ley Federal de Sanidad Animal.

Reglamenta los requisitos y procedimientos conforme a los cuales la SSA, a través de la COFEPRIS, la SEMARNAT y la SAGARPA, ejercerán las atribuciones que les confieren sus respectivos ordenamientos legales en materia de registros, autorizaciones de importación y exportación y

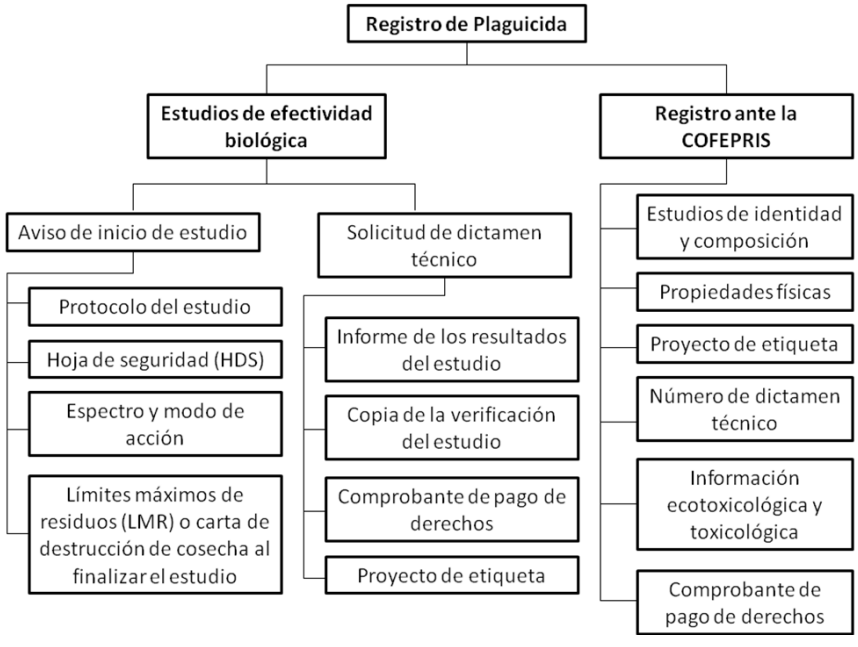

Figura 1. Pasos a seguir para el registro de plaguicidas formulados en México.

certificados de exportación de plaguicidas, nutrientes vegetales y sustancias y materiales tóxicos o peligrosos.

El registro es considerado como un instrumento de carácter preventivo al regular el ingreso de productos químicos peligrosos al comercio. En su expedición tanto la SEMARNAT y como la SSA tienen competencia en materia de autorización de la importación y exportación de plaguicidas y demás sustancias reglamentadas y la SAGARPA sólo tiene la atribución de emitir su opinión sobre la efectividad biológica y los límites máximos de residuos.

La exportación de las sustancias reglamentadas y sujetas a disposiciones de convenios internacionales de los que México es parte, como el de Rotterdam, requiere de la presentación de la información y tipo de etiquetado exigidos en dichos convenios, aunado a lo cual se prevé el cumplimiento de los procedimientos de notificación aplicables.

En este Reglamento se encuentran además las disposiciones oficiales para el registro y uso de agentes de control biológico. En lo que respecta a la importación, se establecen consideraciones de información general del agente de control biológico, pruebas de especificidad para agentes exóticos y nativos que quieran ser movilizados en el interior del país y metodologías de saneamiento de los enemigos naturales.

La legislación en la importación o movilización de agentes de control biológico en México se enmarca en diferentes acuerdos y tratados internacionales. Una norma que ha sido publicada por el Secretariado de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria de la Organización de las Naciones Unidas de FAO (FAO 1996), es el Código de Conducta para

la Importación y Liberación de Agentes de Control Biológico. El propósito general de este código es que se facilite la introducción y liberación de estos agentes mediante procedimientos internacionalmente aceptados. Este Código de Conducta es una norma de referencia que plantea las responsabilidades de tres grupos que están involucrados en la importación y liberación de agentes de control biológico, y describe a su vez tres etapas de responsabilidad; antes de la importación, en el momento de la importación y los que participan después de la importación.

Otro organismo involucrado con el establecimiento de normas es la Organización Norteamericana de Protección a la Plantas (NAPPO). Esta organización está constituida por los gobiernos de México, Estados Unidos y Canadá, y está suscrita a la Convención Internacional de Protección de Plantas de FAO. Uno de los objetivos principales de esta organización es el desarrollo de procedimientos sobre las actividades de protección y cuarentena vegetal en los países de América del Norte. Algunos lineamientos que han sido generados incluyen los requisitos para la liberación de fitófagos exóticos para el control biológico de malezas y los lineamientos para la solicitud y liberación de entomófagos exóticos (insectos y ácaros) como agentes de control biológico de plagas. Los lineamientos están encaminados a involucrar a los tres países miembros como una sola entidad geográfica, por lo que dentro de la región, cada país tiene que establecer requisitos y procedimientos propios que regulen las actividades entre uno y otro.

Normas oficiales mexicanas (NOM´s) relacionadas con el control y gestión de los plaguicidas

Existen diferentes NOM's (que son publicadas en el Diario Oficial de la Federación) que distintas dependencias han emitido en torno a la gestión y control de los plaguicidas en sus respectivos ámbitos de competencia. Existen pocas referencias respecto a normas que regulen las actividades del control biológico. Es por eso que la gran mayoría de las normas son para insecticidas químicos. Por ejemplo la NOM-070-FITO-1995, establece los requisitos y especificaciones para los agentes de control biológico de plagas agrícolas (excepto maleza), que se deseen importar o movilizar. Aplica exclusivamente para parasitoides, depredadores y microorganismos patógenos de plagas, entendiéndose como plaga cualquier forma de vida vegetal o animal o agente patogénico, dañino o potencialmente dañino a los vegetales. En las especificaciones se señalan los requisitos que deben cumplir el importador o movilizador. La NOM-032-FITO-1995 establece las condiciones y disposiciones para llevar a cabo los estudios de efectividad biológica. La NOM-232-SSA1-2009 establece las condiciones y disposiciones para la elaboración de envase, embalaje y etiquetado.

El Código de Conducta para la importación y liberación de agentes exóticos de control biológico, se ocupa de la importación de agentes exóticos de control biológico que pueden reproducirse con fines de investigación o de liberación en el medio ambiente, incluso los envasados o formulados como productos comerciales.

Principales logros del control biológico de enfermedades en México

El control biológico de fitopatógenos mediante organismos antagonistas es una de las líneas de investigación y desarrollo de mayor expansión en México durante los últimos años. Su impulso obedece en buena medida a la importancia que tiene la agricultura dedicada a productos de exportación, la cual ha demandado tecnologías para la producción, formulación y aplicación de agentes de control biológico de fitopatógenos (Ibarra *et al*. 2006, Rodríguez-Del Bosque 2007).

Se han probado diferentes microorganismos dentro de los cuales destacan los hongos, ya que de los artículos publicados, alrededor del 63% corresponden a este grupo y el 31% a bacterias. Otros agentes de control biológico, como levaduras y actinomicetos, han sido menos estudiados.

Dos géneros de microorganismos han centrado la mayor parte de los esfuerzos tanto en investigación como comercialmente: el hongo *Trichoderma* y la bacteria *Bacillus* (Tabla 1). Del primero, se han evaluado alrededor de 11 especies de las cuales destaca *Trichoderma harzianum* como el de mayor número de reportes. De la bacteria se han estudiado seis especies, siendo *Bacillus subtilis* la más conocida. Otros hongos y bacterias que se han utilizado menos frecuentemente son *Aspergillus, Penicillium*, *Pochonia, Gliocladium y Conyothirium;* así como *Pseudomonas, Burkholderia y Serratia*, respectivamente.

Los esfuerzos se han enfocado a enfermedades con origen en el suelo, principalmente las causadas por hongos como *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani, Phytophthora capsici* y *Sclerotium* spp. También se ha dedicado atención importante a enfermedades causadas por *Colletotrichum* spp. El biocontrol de otros microorganismos fitopatógenos muestra esfuerzos aislados y se ha dirigido a nueve especies de bacterias y dos especies de nematodos.

En la última década se ha incrementado significativamente el número de publicaciones sobre el empleo de organismos antagonistas para el control biológico de fitopatógenos. Sin embargo siguen predominando los estudios bajo condiciones controladas de laboratorio e invernadero, aunque en los últimos años se han presentado casos interesantes de estudios a nivel de campo (Tabla 2).

Algunos ejemplos que pueden ilustrar los avances en materia de control biológico de organismos fitopatógenos en México:

Antagonistas de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal de la antracnosis en mango

Este proyecto representa un esfuerzo conjunto entre instituciones como el Instituto de Biotecnología-Universidad Nacional Autónoma de México (IBT-

Tabla 1. Microorganismos estudiados en México en programas de control biológico de enfermedades.

Antagonistas		Fitopatógenos		
Hongo	**Bacteria**	**Hongo**	**Bacteria**	**Nematodos**
Trichoderma harzianum (12)	*Bacillus subtilis* (7)	*Fusarium oxysporum* (9)	*Agrobacterium tumefaciens* (1)	*Nacobbus aberrans* (3)
Trichoderma lignorum (4)	*Bacillus* spp. (4)	*Fusarium* spp. (5)	*Erwinia carotovora* (1)	*Meloidogyne incognita* (1)
Trichoderma longibrachiatum (4)	*Bacillus firmus* (3)	*Fusarium subglutinans* (4)	*Erwinia amylovora* (1)	
Trichoderma virens (3)	*Bacillus licheniformis* (2)	*Fusarium stilboides* (1)	*Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* (1)	
Trichoderma viride (3)	*Bacillus cereus* (1)	*Rhizoctonia solani* (7)	*Pantoea aglomerans* (1)	
Trichoderma koningii (2)	*Bacillus megaterium* (1)	*Phytophthora capsici* (5)	*Pectobacterium carotovorum* (1)	
Trichoderma minutisporum (2)	*Pseudomonas fluorescens* (5)	*Colletotrichum gloeosporioides* (4)	*Pseudomonas syringae* (1)	
Trichoderma asperellum (2)	*Klebsiella* sp. (1)	*Colletotrichum lindemuthianum* (1)	*Pseudomonas chrysanthemi* (1)	
Trichoderma pseudokoningii (1)	*Micrococcus luteus* (1)	*Colletotrichum* sp. (1)	*Xanthomonas axonopodis* (1)	
Trichoderma reesei (1)	*Escherichia coli* (1)	*Sclerotium cepivorum* (3)		
Trichoderma spp. (7)	*Pseudomonas aeruginosa* (1)	*Sclerotium rolfsii (2)*		
Aspergillus niger (1)	*Burkholderia cepacia* (1)	*Sclerotinia sclerotiorum* (2)		
Aspergillus wentii (1)		*Sclerotinia minor* (1)		
Aspergillus nidulans (1)		*Sclerotinia* sp. (1)		
Aspergillus ochraceus (1)		*Aspergillus flavus* (2)		
Idriella sp. (2)		*Phymatotrichopsis omnivora* (2)		
Penicillium sp. (1)		*Alternaria brassicicola* (1)		
Fusarium spp. (2)		*Alternaria* sp.(1)		
Coniothirium minitans (2)		*Botrytis cinerea* (2)		
Gliocladium catenulatum (1)		*Penicillium* sp. (1)		
Gliocladium spp. (1)		*Thielaviopsis paradoxa* (1)		
Cladosporium sp. (1)		*Rhizopus* sp. (1)		
Pochonia chlamydosporia (2)		*Rhizopus stolonifer* (1)		
Glomus intraradices y otros hongos micorrízicos (2)		*Pestalotiopsis* spp.		
		Puccinia horiana (1)		
Puccinia pampeana (1)		*Mycosphaerella fijiensis* (1)		
Paecillomyces farinosus (1)		*Capnodium* sp. (1)		
Xylaria poitei (1)		*Coleosporium plumierae* (1)		
Otros hongos Ascomicetos (1)		*Hemileia vastatrix* (1)		
		Macrophomina phaseolina (1)		

Otros microorganismos que también se han evaluado son *Rhodotorula glutinis, Rodotorula minuta, Rodotorula mucilaginosa, Candida incommunis, Candida oleophila,* otras levaduras y actinomicetos.
Entre paréntesis se señala número de casos.

Tabla 2. Microorganismos antagonistas empleados a nivel de campo para el control biológico de microorganismos fitopatógenos en México.

Organismo antagonista	Organismo fitopatógeno	Cultivo	Referencia
Coniothirium minitans	*Sclerotium cepivorum*	Ajo	Pérez-Moreno *et al.* (2004)
Trichoderma harzianum, Trichoderma lignorum	*Sclerotinia* spp.	Lechuga	Osorio-Nila *et al.* (2005)
Bacterias y levaduras	*Colletotrichum gloeosporioides*	Mango	Galindo *et al.* (2005)
Trichoderma asperellum	*Phytophthora capsici*	Chile	Luján-Favela *et al.* (2006)
Pseudomonas fluorescens	*Aspergillus flavus*	Maíz	Luna-Romero *et al.* (2007)
Trichoderma harzianum, Trichoderma lignorum, Bacillus subtilis, Pseudomonas fluorescens, Glomus intraradices	*Fusarium oxysporum, Sclerotium rolfsii, Rhizoctonia solani*	Garbanzo	Paredes-Escalante *et al.* (2009)
Varios en Vermicomposta	*Nacobbus aberrans*	Jitomate	Villa-Briones *et al.* (2008)

UNAM) y el Centro De Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Culiacán (CIAD-Culiacán). Se aislaron, seleccionaron e identificaron diferentes microorganismos (bacterias y levaduras) siendo *Bacillus subtillis* (Fungifree AB®, formulado en polvo) y *Rhodotorula minuta* los de mayor actividad antagónica contra *Colletotrichum gloeosporioides* en mango (Galindo *et al*. 2005). Mediante el diseño de medios de cultivo con componentes de bajo costo, se lograron cultivos de alto rendimiento, viabilidad y productividad. Se desarrollaron procesos de fermentación sumergida para la producción de células viables de cada una de las cepas en fermentadores de hasta 100 L de capacidad. El producto mantiene su viabilidad dentro de los niveles de efectividad hasta por 12 meses. En pruebas de campo se demostró que los antagonistas utilizados disminuyen la incidencia de la antracnosis tanto en pre- como en post-cosecha. En algunos casos esta protección fue mayor que la obtenida utilizando un fungicida químico. También es importante mencionar que los formulados biológicos retrasan la maduración del fruto, alargando su vida de almacén hasta en un 25% sin afectar su calidad. Estos resultados ofrecen al productor la posibilidad de exportar sus frutos a mercados más lejanos y con mayor precio de comercialización.

Control biológico de la rabia del garbanzo (*Cicer arietinum*)

La rabia del garbanzo es causada por un complejo de fitopatógenos (*Fusarium, Rhizoctonia, Sclerotium*) y es considerada la principal limitante de la producción en la mayoría de áreas dedicadas a este cultivo en el mundo (Paredes-Escalante *et al*. 2009). Se aislaron y seleccionaron cepas del género *Trichoderma* con potencial para controlar a *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Posteriormente se estudiaron aspectos relacionados con el medio de cultivo, condiciones de incubación, así como de formulación y secado para la obtención de un producto en polvo con alta viabilidad (Ibarra *et al.* 2006). Asimismo, se estableció un proceso estándar de cultivo sumergido en fermentadores de hasta 30 L de capacidad. Por otra parte, se estandarizó un proceso de recuperación, formulación y secado de las esporas que permite la obtención de un producto con un alto porcentaje de recuperación y una vida de anaquel de por menos 12 meses en refrigeración. El uso del formulado producido en la Planta Piloto del IBT-UNAM permitió recuperar la rentabilidad del cultivo en áreas donde la enfermedad no permitía recuperar la inversión realizada.

Control biológico de la marchitez del chile

La productividad del cultivo del chile jalapeño en el estado de Chihuahua se ha visto limitada durante décadas por las pudriciones radicales, causadas por hongos fitopatógenos como *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium* spp., principalmente. A partir del año 2001 se aislaron, caracterizaron y seleccionaron cepas nativas del hongo *Trichoderma* (Guigón-López y González-González

2004, Guigón-López *et al*. 2010). La cepa TC74 de *Trichoderma asperellum* ha destacado por ejercer un control eficiente. Con esta cepa se lograron incrementos del crecimiento radical (38%) y aéreo (60%) de la planta, bajo condiciones de invernadero y campo (Guigón-López y González-González 2004). En años recientes se ha avanzado de forma importante en el conocimiento de la biología de TC74 y se conocen diferentes enzimas, genes (Guigón-López 2011) y metabolitos secundarios producidos por el hongo (Ruiz-Rosales 2011). La cepa nativa TC74 ofrece una alternativa efectiva de control biológico de la marchitez, además de promover condiciones que favorecen un mejor crecimiento y desarrollo de las plantas. En terrenos de agricultores cooperantes la incidencia de la marchitez se redujo de una forma importante. Aplicar TC74 representó una reducción del 72% en la incidencia de plantas marchitas (Luján-Favela *et al*. 2006). Las plantas tratadas mostraron incrementos de 23 y 36% en follaje y raíz respectivamente. El mejor crecimiento de las plantas se reflejó en un aumento en el número y en el peso de los frutos producidos por planta.

Uso de *Trichoderma asperellum* TC74 para el control de la Marchitez de tomate *(Lycopersicum esculentum)* ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Raza 2 y Raza 3.

En el estado de Morelos, a partir de 1986, se dejaron de sembrar a cielo abierto 2 mil 500 ha de tomate de riego por la incidencia de enfermedades virales transmitidas por mosca blanca. Esto motivó a los productores a invertir en la producción de tomate bajo invernadero lo que generó un aumento en el rendimiento del cultivo de hasta 33 ton/ha en el 2009. Sin embargo, en los últimos años, tanto la producción como la superficie sembrada bajo invernadero disminuyeron por el aumento de *Fusarium oxysporum* en el 40% de los invernaderos muestreados (Ortega-García 2010). Con el antecedente del potencial de control y efectos benéficos en las plantas de la cepa TC74 de *Trichoderma asperellum*, se evaluó para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) Raza 2 y Raza 3. TC74 incrementó la longitud y peso del tallo y raíz. Cuando estuvo en interacción con el patógeno, el desarrollo de las plantas superó a las que tenían sólo al patógeno. Asimismo disminuyó la incidencia y severidad de la marchitez generada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Raza 2 y *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Raza 3.

Productos comerciales para el control biológico de fitopatógenos

Actualmente en México están disponibles alrededor de 31 productos comerciales de control biológico elaborados por 27 empresas mexicanas. De la mayoría de ellos, se desconoce si son formulados con microorganismos

antagonistas con origen en México o si estos provienen de otros países. De los productos disponibles, cuatro de ellos presentan registro de COFEPRIS, dos en trámite y el resto sin iniciar el trámite correspondiente. Los organismos que se comercializan son principalmente *Trichoderma harzianum* (Bioben, Bioderma, Biothork, TRICHO SIN, Natucontrol, Bioinsectum, Miya Fungi TH) y *Bacillus subtilis* (Prosoil, Bioboster, Agrobacilo, Bacifol). Estos productos son comúnmente usados para el biocontrol de enfermedades en hortalizas (ajo, lechuga, tomate, chile, cebolla, crucíferas, cucurbitáceas) y frutales (vid, cítricos, manzano, guayabo, plátano, peral, fresa, zarzamora, arándano) (Tabla 3).

Consideraciones finales

El control biológico de fitopatógenos en México se ha incrementado significativamente en la última década. Sin embargo, el crecimiento ha sido lento, desordenado y carente de trabajo sistemático. La investigación que se realiza sigue viéndose como un ejercicio académico sin continuidad para llegar a establecer control biológico a nivel comercial y distanciado del entorno productivo y del sector industrial, lo cual ha limitado seriamente el desarrollo tecnológico en la materia. A pesar de que en las instituciones se han realizado investigaciones en más de 42 antagonistas contra más de 41 fitopatógenos, éstas se han enfocado a la realización de pruebas de antagonismo *in vitro* y a la identificación del microorganismo. No obstante, es alentador que en los últimos años se van integrando grupos y redes de trabajo que involucran diferentes perfiles profesionales e instituciones de diversas zonas agrícolas del país. Estos grupos de trabajo pueden darle un nuevo impulso al biocontrol de enfermedades, que permita lograr las asignaturas pendientes en cuanto a: (1) la selección de microorganismos realmente eficientes y adaptados a las diferentes zonas agroecológicas del país y (2) la generación de tecnología de aplicación bajo las variadas condiciones de producción agrícola. Los estudios en campo, aunque pocos e insuficientes aún, deberán multiplicarse para demostrar en condiciones reales la eficacia de un agente de biocontrol.

Un tema también pendiente es la regularización de la producción, distribución y comercialización de bioplaguicidas. Existen en el mercado un número creciente de productos que carecen de los requisitos mínimos para lograr un registro oficial como plaguicidas biológicos. Alrededor de 23 empresas mexicanas productoras de antagonistas para el control de fitopatógenos, son pequeñas y medianas empresas cuya producción abastece solamente pequeños mercados regionales. En este sentido, juegan un papel determinante las instancias gubernamentales responsables de la regulación de plaguicidas, quienes deben asumir su responsabilidad con mayor atingencia y apoyarse en la investigación científica para la toma de decisiones. El esfuerzo unificado y continuo entre investigadores de diferentes disciplinas y la vinculación con la industria y las agencias gubernamentales permitirán desarrollar mejores estrategias de manejo biológico en plazos relativamente más cortos.

Tabla 3. Algunos productos biológicos elaborados por empresas mexicanas disponibles comercialmente en México.

Estado	Compañía	Producto Comercial: Antagonista	Patógeno (s)	Cultivo
Distrito Federal	Agrícola Innovación	Bioben (RSCO-FUNG--0301B-305-003-020) a base de: *Trichoderma harzianum*	*Phytophthora, Rhizoctonia, Pythium, Sclerotinia, Sclerotium, Fusarium, Verticillium*	Una amplia variedad de cultivos
		Enerbac (RSCO-0032/II/00) a base de: *Actinomadura viridis, Microbispora aerata, Streptomyces atratus, Streptomyces aurantiogriseus, Streptomyces chromofuscus, Streptomyces cinerochromogenes, Streptomyces janthinus, Streptomyces rimosus, Streptomyces venezuelae, Streptomyces violaceus, Streptomyces violascens, Streptomyces viridodiastaticus, Streptoverticillium rectiverticillatum*	*Rhizoctonia, Fusarium, Verticillium, Sclerotinia, Sclerotium, Phytophthora, Pythium*	No indicado
Sinaloa	Agrobiosol de México S.A. de C.V. ABS promotora de México.	Prosoil a base de: *Bacillus subtilis*	*Rhizoctonia solani, Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp., *Phytophthora* spp., *Phymatotrichum omnivorum*, *Verticillium* spp., *Spongospora* spp.	Hortalizas, tubérculos y cultivos en general
		Bioderma a base de: *Trichoderma harzianum*	*Rhizoctonia solani, Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp., *Phymatotrichum omnivorum*, *Verticillium* spp., *Spongospora* spp.	No indicado

Sinaloa	Agrorgánicos nacionales	Bioboster (Registro en trámite) a base de: *Bacillus subtilis*	*Rhizoctonia solani, Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp., *Phytophthora* spp., *Phymatotrichum omnivorum, Verticillium* spp., *Spongospora* spp.	Hortalizas, frutales, ornamentales
		Biothork (Registro en trámite) a base de: *Trichoderma harzianum*	*Rhizoctonia solani, Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotium* spp., *Phytophthora* spp., *Phymatotrichum omnivorum, Verticillium* spp., *Spongospora* spp.	No indicado
Sinaloa	Agrobiológica S. A. de C. V.	Agrobacilo a base de: *Bacillus subtilis*	*Sclerotium rolfsii, Rhizoctonia solani, Fusarium* spp., *Verticillium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum, Phytophthora capsici, Pythium* spp., *Meloidogyne* spp.	No indicado
		Bacifol a base de: *Bacillus subtilis*	*Alternaria solani*	No indicado
Sinaloa	Agrobiosa. Agrobiológicos del Noroeste S. A. de C. V.	TRICHO SIN a base de: *Trichoderma harzianum*	*Fusarium* spp., *Pythium* sp., *Verticillium* sp., *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* spp., *Colletrotrichum, Rhizoctonia* sp.	Chile, tomate, berenjena, tomatillo, papa
Puebla	Agroindustria Fungi-Agrícola de Oriente S.P.R. de R.I.	TRICOFUNGI a base de: *Trichoderma* spp.	*Phytophthora capsici, Fusarium, Rhizoctonia, Phymatotrichopsis omnivora, Erwinia amylovora, Phoma terrestris*	Chile, tomate, nogal, cebolla, manzano
Michoacán	Agroproductos y Servicios Orgánicos de Uruapan, S. de R.L. de C. V. (Agroserou)	Spectrum bio a base de: *Bacillus subtilis, Trichoderma harzianum*	*Fusarium, Rhizoctonia, Phytophthora, Pythium y Verticillium.*	No indicado

Chihuahua	AGROTEAM S.A. de C.V.	No indicado *Trichoderma harzianum*	No indicado	No indicado
		Alibio Bioban Plus a base de: Bacterias, hongos, levaduras, aminoácidos, azúcares, vitaminas e inductores de la síntesis de fitoalexinas	*Mycosphaerella fijiensis*	No indicado
Jalisco	Alta Tecnológica Agrotécnica S.P.R. de R.L. de C.V.	No indicado *Trichoderma harzianum*	No indicado	Tomate y chile
Michoacán	Asesoria Integral Ambiental (AIA)	No indicado *Trichoderma harzianum, Trichoderma viride*	*Fusarium, Phytophthora, Rhizoctonia, Alternaria, Phytophthora cinnamomi.*	Zarzamora, aguacate, guayaba, hortalizas, nogal pecanero
Chihuahua	BioFormuladora Agricola SAYTA S. de R.L. M.I.	No indicado *Trichoderma asperellum*	*Phymatotrichopsis omnivora, Verticillium* spp., *Rhizoctonia solani, Fusarium, Botrytis cinerea, Phytophthora, Pythium*	No indicado
Guanajuato	Biokrone S. A. de C. V.	Natucontrol (RSCO-FUNG--0301B-307-002-001) a base de: *Trichoderma harzianum*	*Colletotrichum, Botryotinia, Fusarium, Phoma, Phytophthora, Pythium, Rhizoctonia, Sclerotinia, Sclerotium, Thanatephorus, Verticillium, Botrytis*	Fresa

		Baktillis a base de: *Bacillus subtilis, Actinomadura viridis, Microbispora aerata, Streptomyces atratus, Streptomyces aurantiogriseus, Streptomyces chromofuscus, Streptomyces cinerochromogenes, Streptomyces janthinus, Streptomyces rimosus, Streptomyces venezuelae, Streptomyces violaceus, Streptomyces violascens, Streptomyces virido, Streptomyces diastaticus, Streptoverticillium rectiverticillatum*	*Rhizoctonia solani, Phytophthora capsici, Fusarium oxysporum, Sclerotium cepivorum, Leveillula taurica, Botrytis cinerea*	Alfalfa, pastizales, trébol, arándano, fresa, frambuesa, zarzamora, arroz, avena, caña de azúcar, cebada, maíz, sorgo, trigo, pastos, aguacate, cítricos, durazno, guayabo, manzano, peral, plátano, vid, ajo, brócoli, berenjena, calabaza, cebolla, chile, col, coliflor, lechuga, melón, pepino, rábano, sandía, tomate, cacahuate, chícharo, frijol, garbanzo, haba, soya, papa, ornamentales
Veracruz	Biotecnología Andreb S.A. de C.V.	No indicado *Trichoderma harzianum*	No indicado	No indicado
Jalisco	Biotropic, S. A. de C. V.	Biotrol a base de: *Trichoderma lignorum*	No indicado	No indicado
Morelos	CESAVEMOR	No indicado *Trichoderma* spp.	No indicado	No indicado
Chihuahua	Control Biológico A.C.	No indicado *Trichoderma harzianum* TC74	No indicado	No indicado

Durango	Desarrollo Lácteo, S.P.R. de R.L. (DESLAC)	Bioinsectum a base de: *Trichoderma harzianum*	*Phytophthora* spp., *Stereum purpureum, Botrytis* spp., *Botryosphaeria ribis, Nectria galligena, Verticillium alboatrum, Armillaria mellea, Phomopsis, Fusarium* (raza 3), *Pythium* spp., *Phymatotrichum omnivorum, Sclerotium rolfsii, Rhizoctonia solani, Pirenochaeta*	Manzano, durazno, aguacate, cítricos, pimiento, azalea, tomate, papa, caña de azúcar, tabaco, cocotero, fresa, berenjena, ciruelo, alcachofa, col, betabel, zanahoria, pepino, cebolla, vid, nogal, clavel, plátano, chile, espárrago, calabaza, lirio, frijol, alfalfa, algodón, ajo, frutos almacenados, árboles forestales, árboles de ornato, frutales en general
Coahuila	Fagro de México	Fusyvert a base de: *Bacillus subtilis, e*xtractos de *Trichoderma harzianum* y otros componentes orgánicos	*Fusarium* spp., *Verticillium* spp.	Tomate, tomate de cáscara, espárrago, agave, ornamentales (flores de corte), cereales.
		Biorgan-SF a base de: *Bacillus subtilis*, enzimas y filtrados de *Trichoderma harzianum* y otros componentes orgánicos	*Rhizoctonia solani, Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotinia* sp., *Botrytis* sp.	Papa, tomate, sandía, espárrago, ajo, chile, cítricos, melón, pepino, fresa.
Estado de México	GAURILAB Microorganismos benéficos	JUQ (RSCO-MEZC--1301J-301-012-003) a base de: *Trichoderma harzianum, Trichoderma viride, Trichoderma fasciculatum*	*Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum, Pythium* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Verticillium* spp., *Meloidogyne*	Tomate, chile, berenjena, calabaza, brócoli, col, coliflor, sandía, pepino, flores de corte, papa, cebolla, gladiola, aguacate, durazno, manzana, guayaba, zarzamora, frambuesa.
Puebla	ISLAVEL S.A. DE C.V.	TRICOVEL a base de: *Trichoderma* spp.	*Rhizoctonia, Fusarium, Botrytis, Sclerotium, Sclerotinia, Pythium, Alternaria, Armillaria, Rosellinia,*	No indicado

Coahuila	Miyamonte Mex. S. A. DE C. V.	Miya Fungi TH a base de: *Trichoderma harzianum*	*Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Fusarium* spp., *Verticillium* spp., *Sclerotium* sp., *Phoma* sp., *Pyrenochaeta* sp., *Colletotrichum* sp., *Phytophthora* sp.	Tabaco, tomate, ajo, cebolla, zanahoria, brócoli, coliflor, col de bruselas, fresa, frambuesa, zarzamora, flores, banano, plátano
Estado de México	Nafex. Laboratorio reproductor de organismos benéficos	Fithan a base de: *Trichoderma harzianum, Trichoderma viride, Trichoderma fasciculatum*	*Rhizoctonia solani, Fusarium* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Verticillium* sp., *Phytophthora* sp., *Armillaria* sp., *Pseudoperonospora cubensis, Sclerotium* sp.	Aguacate, papa, tomate, chile, cebolla, ajo, col, brócoli, tomate de cáscara, melón, pepino, sandia, calabaza, tabaco, rosas, lilas, clavel, crisantemo y margaritas, durazno, guayaba, cítricos, césped de golf.
	NOCON, S. A. de C.V.	TRICON a base de: *Trichoderma harzianum, Trichoderma viride*	*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Armillaria*	No indicado
Morelos	Promotora Técnica Industrial S. A. de C. V.	Spectrum Trico H a base de: *Trichoderma* spp.	*Rhizoctonia solani, Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Botrytis* spp., *Phytophthora* spp., *Sclerotium* spp., *Sclerotinia* spp., *Alternaria* spp., *Colletotrichum* spp., *Thielaviopsis* sp., *Armillaria* sp., *Rosellinia* sp.	Semilla, raíz, tubérculos y bulbos.
Jalisco	Sehusa S. A. de C. V.	Biocop a base de: *Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae, Bacillus subtilis, Azospirillium, Trichoderma harzianum*	No indicado	No indicado

Bibliografía

Anónimo 2004. Reglamento en Materia de Registros, Autorizaciones de Importación y Exportación y Certificados de Exportación de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales y Sustancias y Materiales Tóxicos o Peligrosos. Publicado en el Diario Oficial de la Federación de México el 28 de diciembre de 2004.

FAO 1996. Secretariat of the International Plant Protection Convention Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. Publication No. 3.

Froto UB, Bailey De IAM. 1983. Mecanismos de acción de algunos organismos antagonistas probados contra quince fitopatógenos. Revista Mexicana de Fitopatología 2:35-39.

Galindo E, Carrillo A, García R, Patiño M. 2005. Tecnologías para el control de la principal enfermedad del mango (Antracnosis) y el efecto en su calidad postcosecha. Claridades Agropecuarias 148:50-59.

Guigón-López C. 2011. Caracterización fisiológica, bioquímica y génica de cepas de *Trichoderma* spp. antagónicas a *Phymatotrichopsis omnivora*. Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora. México 175 pp.

Guigón-López C, González-González PA. 2004. Selección de cepas nativas de *Trichoderma* spp. con actividad antagónica sobre *Phytophthora capsici* Leonian y promotoras de crecimiento en el cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 22:117-124.

Guigón-López C, Guerrero-Prieto V, Vargas-Albores F, Carvajal-Millán E, Bravo-Luna L. 2010. Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento *in vitro* y antagonismo contra hongos fitopatógenos. Revista Mexicana de Fitopatología 28:87-96.

Ibarra JE, Del Rincón-Castro MaC, Galindo E, Patiño M, Serrano L, García R, Carrillo JA, Pereyra-Alférez B, Alcázar-Pizaña A, Luna-Olvera H, Galán-Wong L, Pardo L, Muñoz-Garay C, Gómez I, Soberón M, Bravo A. 2006. Los microorganismos en el control biológico de insectos y fitopatógenos. Revista Latinoamericana de Microbiología 48:113-120.

Luján-Favela M, Quiñones-Pando F, Chávez-Sánchez N, Guigón-López C, Ávila-Quezada G, Macías-López BC, Berzoza-Martínez M, Acosta-Rodríguez G. 2006. Manejo integral de chile jalapeño enfocado a incrementar su rentabilidad y sostenibilidad. Publicación Especial No. 12. INIFAP. CIRNC. CEDEL 52 pp.

Luna-Romero I, Carvajal M, Carrillo-Castañeda G, Flores C. 2007. Inhibitory compound of the soil bacteria *Pseudomonas fluorescens* against the fungus *Aspergillus flavus* L. Revista Mexicana de Micología 24:19-31.

Ortega-García JG. 2010. Diagnóstico de hongos fitopatógenos de jitomate y efecto de *Trichoderma asperellum* Tc74 sobre *Fusarium* spp. Tesis de Maestría. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del Instituto Politécnico Nacional. Morelos, México 82 pp.

Osorio-Nila MA, Vázquez-García LM, Salgado-Siclán ML, González-Esquivel CE. 2005. Efecto de dos enmiendas orgánicas y *Trichoderma* spp. para controlar *Sclerotinia* spp. en lechuga. Revista Chapingo Serie Hortícola 11:203-208.

Paredes-Escalante JE, Carrillo-Fasio JA, García-Estrada RS, Allende-Molar R, Sañudo-Barajas JA, Valdez-Torres JB. 2009. Microorganismos antagonistas para el control del complejo de hongos causantes de la rabia del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en el Estado de Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 27:27-35.

Peña B, Bailey A, Ibarra J. 1980. Eficiencia de algunos organismos antagonistas a *Venturia inaequalis* (Cke) Wint. bajo condiciones de campo en la región manzanera de Laguna de Sánchez, Santiago, Nuevo León, México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Pérez-Moreno L, Rodríguez-Aguilera A, Sánchez-Pelé JR. 2004. Efecto de *Coniothyrium minitans* Campbell en esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk. Revista Mexicana de Fitopatología 22:429-434.

Rodríguez-Del Bosque LA. 2007. Control biológico de organismos nocivos en la agricultura mexicana. En: Lira-Saldivar HR (eds.). Bioplaguicidas y Control Biológico. Monterrey, México Pp. 194-202.

Ruiz-Rosales A. 2011. Captura, actividad biológica e identificación de volátiles en la interacción *Trichoderma asperellum-Sclerotium rolfsii*. Tesis de Maestría. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional 67 pp.

San Martín F, Bailey AM. 1978. Detección de microorganismos antagónicos a *Venturia inaequalis* (Cke) Wint. en la región manzanera de Laguna de Sánchez, Santiago, Nuevo León, México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Villa-Briones A, Zavaleta-Mejía E, Vargas-Hernández M, Gómez-Rodríguez O, Ramírez-Alarcón S. 2008. Incorporación de vermicomposta para el manejo de *Nacobbus aberrans* en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Revista Chapingo. Serie horticultura 14:249-255.

Capítulo 12

Control biológico de enfermedades de plantas en Nicaragua

Wilber Salazar-Antón*, Erling Tórrez Narváez y Álvaro Caballero Hernández

Laboratorio de Fitopatología. Facultad de Ciencias y Tecnología. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León. Nicaragua. Campus Agropecuario. Entrada a la Ceiba 1,5 km al este. León, Nicaragua.
**Autor para correspondencia: wilber.salazar@ct.unanleon.edu.ni*

Introducción

En Nicaragua, los problemas fitosanitarios han sido históricamente manejados utilizando agroquímicos, los cuales han demostrado ser costosos, poco eficientes y altamente contaminantes, teniendo un alto efecto sobre el ambiente y la salud humana.

Un ejemplo de este enfoque de uso indiscriminado de agroquímicos, es evidente en la aplicación de un producto nematicida llamado Nemagón o Fumazone (Di-bromo cloruro propano, DBCP) en las bananeras del occidente del país en las décadas de 1970 y 1980. Se calcula que este producto afectó a 26 mil campesinos, de los cuales cerca de 2500 han muerto.

Como consecuencia de estos eventos, Montenegro y Jiménez (2006) realizaron estudios que detectaron presencia y concentración de residuos agro tóxicos y contaminantes biológicos en las aguas de pozos para consumo humano en localidades de antiguas plantaciones bananeras en el occidente de Nicaragua. Este estudio evaluó la calidad físico-química, microbiológica y toxicológica del agua, tratándose de detectar agroquímicos de tipo organoclorado en pozos que abastecen a campesinos de la zona de Chinandega. Los resultados mostraron presencia de residuos de agro tóxicos empleados en el cultivo de algodón, caña de azúcar y banano. Destacándose el DBCP, Hexaclorobenceno (BHC), Dieldrin, Toxafeno y metabolitos del DDT.

Estos antecedentes de la producción agrícola en Nicaragua, demuestran la necesidad de cambiar el enfoque unilateral que se ha utilizado para el control de problemas fitosanitarios. El control biológico surge entonces, como una alternativa para el control de plagas con la ventaja de ser eficiente, barata y amigable con el ambiente.

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

En Nicaragua, esta forma de control de enfermedades ha venido tomando auge en los últimos años. Las universidades nicaragüenses han sido las que lideran las iniciativas sobre el uso del control biológico de enfermedades en diferentes cultivos, entre estas destacan la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León y la Universidad Nacional Agraria en Managua.

Los agentes de control biológico que se han estudiado con mayor frecuencia en la agricultura nicaragüense son: *Trichoderma* sp., micorriza vesículo arbusculares y *Paecilomyces* sp. Estos hongos han demostrado ser efectivos contra diversos patógenos, que pertenecen principalmente a los hongos y nematodos fitoparásitos. Estos organismos han sido estudiados en cultivos pertenecientes a las familias de las solanáceas (tomate, chiltomo), cucurbitáceas (sandía), musáceas (plátano, banano) y café.

A pesar de lo antes señalado, en Nicaragua el uso de agentes de biocontrol es aún muy reducido y poco adoptado por los agricultores. Esto se puede deber a la historia de uso de agroquímicos que impera en el país, y las debilidades existentes en relación a la transferencia de la tecnología de biocontroladores.

Experiencias en control biológico de enfermedades de plantas

Uso de hongos micorrízicos arbusculares

Los hongos micorrízicos arbusculares han sido estudiados por varios años en Nicaragua, especialmente evaluando su utilidad como simbiontes en las raíces de plantas forestales. En el año 2003, Martínez y Tórrez validaron el efecto de inoculantes micorrizógenos en cuatro especies forestales; Caoba del Pacífico (*Swetenia humulis*), Cedro real (*Cedrella odorata*), Laurel negro (*Cordia alliodora*) y Pochote (*Pachira quinata*). En el estudio de campo se pudo comprobar que tres de las especies inoculadas presentaban mejor desarrollo radical, así como mayor altura y diámetro (Caoba del Pacífico, Laurel negro y Cedro real). Durante el presente estudio, se pudo observar que las plantas forestales inoculadas con micorrizas fueron más tolerantes al daño causado por enfermedades del suelo ocasionadas por hongos como: *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora* y *Rhizoctonia* (Martínez y Tórrez 2003). Esta tolerancia podría deberse a que las plantas tratadas con micorrizas tenían un mayor crecimiento y desarrollo debido a una mayor absorción de nutrientes minerales de N, P y K, que se encontraban disponibles naturalmente en el suelo, lo que les permite tolerar mejor el ataque de los patógenos.

En el año 2005, López *et al*. condujeron estudios y determinaron los efectos de la aplicación combinada y separada de micorrizas y bacterias fijadoras de nitrógeno (*Azotobacter*) sobre la fenología, productividad y susceptibilidad a patógenos del suelo en el cultivo de chiltomo (*Capsicum annum*). En este estudio los autores concluyeron que las plantas inoculadas con hongos micorrizógenos y bacterias fijadoras de nitrógeno, presentaron una mayor tolerancia a las enfermedades del suelo presentes, siendo por lo tanto considerados como una alternativa de manejo para enfermedades. De igual manera, se pudo observar que la aplicación de micorrizas aplicadas al suelo en el cultivo del chiltomo promovió el crecimiento de la planta y la producción de frutos. Esto último coincide con lo reportado por Esquivel y Altamirano (2009), los cuales al evaluar la respuesta

de plántulas de tomate infestadas con micorrizas presentaron una mayor altura, mayor número de flores y frutos.

Posteriormente, Amaya y López (2006), durante el periodo de 2004-2006, desarrollaron un estudio para determinar el efecto de usar micorrizas sobre la incidencia de la Sigatoka negra *(Mycosphaerella fijiensis*). Este estudio realizado en el Campus Agropecuario de la UNAN-León, indica que la aplicación de micorrizas mantuvo la incidencia de la enfermedad en menos del 30%. Los autores indican que se pudo observar que la incidencia de esta enfermedad fue más baja en los tratamientos con micorrizas en comparación con el resto de los tratamientos evaluados. Se puede por lo tanto afirmar, que el uso de estos agentes de control mejora la nutrición de la planta y de esta manera incrementa la tolerancia de las plantas a Sigatoka negra.

En 2008, Medina y Salmerón, evaluaron la utilización de micorrizas sobre el desarrollo fenológico y densidades poblacionales de nematodos en el cultivo de sandía *(Citrullus lanatus).* Los resultados indican que las poblaciones de nematodos en los tratamientos con micorrizas presentaron poblaciones de nematodos inferiores al tratamiento testigo sin aplicación. Las densidades poblacionales máximas de nematodos fitoparásitos fueron de 99 individuos y 106 para nematodos de vida libre en 100 g de suelo. Estos promedios fueron inferiores a los presentados por el testigo sin aplicación, el cual presentó promedios de 206 y 129 nematodos fitoparásitos y de vida libre respectivamente en 100 g de suelo (Medina y Salmerón 2008). Estos resultados representan una reducción de 48% en la población de nematodos fitoparásitos. Estos resultados coinciden con los reportados por Medrano y Meléndez (2008), quienes encontraron que la adición de micorrizas reduce las poblaciones de nematodos fitoparásitos asociados al cultivo de la sandía.

Uso del hongo *Trichoderma*

En Nicaragua, los aislamientos de *Trichoderma* spp., seleccionados para el combate biológico de las enfermedades, son distribuidos en presentaciones comerciales en polvo o suspensiones liquidas, para ser aplicadas de forma inmediata a los sistemas de producción hortícolas, frutícolas y agroindustriales en el país. Este hongo ha demostrado excelentes atributos de biocontrol de enfermedades fungosas y bacterianas, estimulando mecanismos de defensa inducida y sistémica en la planta, y ejerciendo efectos positivos de biofertilización incrementando los rendimientos de los cultivos tratados con el hongo. Esto puede ser atribuido a la mejora del crecimiento vegetativo que promueven los aislamientos de *Trichoderma* spp., al momento de establecer una estrecha relación mutualista-simbionte.

Pocasangre (2000) indica que la utilización de microorganismos antagonistas constituye una alternativa para disminuir los porcentajes de incidencia y severidad de las enfermedades en las bananeras y plataneras en Nicaragua, mientras mejoran la nutrición y la resistencia de las plantas a las enfermedades. Debido a su desempeño en el combate biológico de enfermedades, *Trichoderma* spp., muestra efectividad en la reducción de pérdidas atribuidas a un número de patógenos transmitidos por el suelo, incluyendo la marchitez por *Fusarium, Rhizoctonia, Phytophthora, Verticillium, Sclerotium rolfsii, Ralstonia solanacearum* (Yamaguchi *et al*. 1992). Además, la aplicación de *Trichoderma* spp., en plántulas

ha permitido evitar infecciones tempranas en los diferentes cultivos (Rutherford y Kangire 1998).

En Nicaragua la enfermedad denominada Mal Seco (*Pythium myriotylum*) redujo entre 91-100% el rendimiento de 15 accesiones de quequisque (*Xanthosoma sagittifolium*) establecidas durante el periodo de mayo a junio en Nueva Guinea, ubicada en la Región Autónoma del Atlántico Sur de Nicaragua, en suelos con antecedentes de la enfermedad (Acevedo 2010). Por esta razón, se realizaron estudios utilizando *Trichoderma* como alternativa para el control biológico del mal seco en vitroplántulas (plántulas producidas *in vitro*) de quequisque cultivar Blanco. Los resultados obtenidos demuestran un incremento de entre 84-94% en la sobrevivencia de las plantas tratadas en comparación con las vitroplantas no tratadas y que presentaron entre 63-67% de sobrevivencia (Sequeira y Silva 2010). En este mismo estudio se evaluaron parámetros de crecimiento y de rendimiento de vitroplántulas de quequisque; sobresaliendo los rendimientos y los parámetros de crecimiento de las vitroplantas tratadas con *Trichoderma* las cuales superaron al testigo sin aplicación de *Trichoderma* (Sequeira y Silva 2010).

Otro rubro de mucha importancia en el país es el banano, el cual ha sido estudiado con el propósito de determinar la posibilidad de usar control biológico en una de las enfermedades más importantes, como es la Marchitez por Fusarium raza 1. Los resultados de estudios realizados demostraron que los aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp., redujeron entre un 90% y un 92% la severidad de los síntomas externos de la enfermedad, en comparación a los testigos referenciales, donde la enfermedad causó la muerte total de las plántulas de banano en condiciones de invernadero durante 12 semanas de evaluación (Caballero 2011). Este mismo autor reportó que la severidad de los síntomas internos de los aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp., redujeron la decoloración del cormo hasta en un 74%, en comparación con los tratamientos testigos que presentaron decoloración total en vitroplántulas. Además los aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp., incrementaron el peso de la raíz, el peso del follaje y de la planta en comparación al testigo absoluto (Caballero 2011).

En el año 2012, se continuaron realizando estudios sobre el combate biológico de la Marchitez por *Fusarium* en banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) utilizando *Trichoderma* sp. En condiciones de invernadero y durante 14 semanas de exposición al patógeno, se observaron resultados satisfactorios al proteger las plántulas con aislamientos de *Trichoderma* (Caballero *et al*. 2012). Los resultados mostraron bajos porcentajes de incidencia de 22,22% en las vitroplantas de banano de Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) protegidas con *Trichoderma* a diferencia de las vitroplantas de banano de Gros Michel (AAA) sin protección de *Trichoderma* que presentaron porcentajes de incidencia entre un 33,3% y un 66,6%, y en el caso de la variedad FHIA 17 (AAAA), que es un cultivar resistente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 presentó un 22,2% de incidencia sin la protección de *Trichoderma*.

En relación al índice de síntomas externos de la Marchitez por *Fusarium* en vitroplántulas de Gros Michel y FHIA 17 protegidas con *Trichoderma*, se registraron los datos más bajos con un 16,6% a 22,2% en amarillamiento y marchitamiento a diferencia de las plantas sin protección que registraron porcentajes entre un 33,3% y un 44,4%. Al comparar el índice de síntomas internos, las vitroplantas protegidas con *Trichoderma* spp., presentaron los porcentajes de síntomas más bajos con 16,67%, a diferencia de las vitroplántulas no protegidas las cuales tuvieron un porcentaje de 44,44% (Caballero *et al*. 2012). Estos resultados demuestran que, bajo las condiciones de Nicaragua, la utilización del hongo *Trichoderma* spp.

puede ser utilizada con altos niveles de eficiencia como un agente biológico de control para enfermedades como Marchitez por Fusarium.

En el cultivo del café, Méndez y Reyes (2010) evaluaron la incidencia del Mal del talluelo causada por *Rhizoctonia* sp. en plántulas de café tratadas con *Trichoderma* y con benomilo. Los resultados demuestran que la incidencia del Mal del talluelo en el tratamiento con *Trichoderma* fue de 0,4 plantas enfermas en promedio en comparación con 1 planta enferma en el tratamiento con benomilo. Respecto a la mortalidad de plántulas de café, se pudo observar que las plántulas protegidas con Trichoderma presentaron un promedio de mortalidad de 2 plántulas y un promedio de 4 plántulas muertas en el tratamiento con benomilo. El análisis estadístico realizado demuestra que ambos tratamientos fueron significativamente similares entre sí; sin embargo, se pudo observar una tendencia consistente que demuestra que los tratamientos con *Trichoderma* presentaron menor incidencia de Mal del talluelo y menor mortalidad de plántulas que las tratadas con benomil (Méndez y Reyes 2010).

En el caso de las hortalizas en Nicaragua, los nematodos *Meloidogyne* y *Pratylenchus* han sido identificados como los géneros que mayormente limitan la producción de estos cultivos, causando altos niveles de pérdidas económicas (Salazar-Antón y Guzmán-Hernández 2013). El control biológico de nematodos fitoparásitos en hortalizas, es por lo tanto, una necesidad imperiosa. Por esta razón se realizaron estudios en el occidente de Nicaragua, para determinar la utilidad de *Trichoderma* sp. en asociación con *Paecilomyces* sp. para el control de nematodos asociados a tomate. Los resultados obtenidos demostraron que dicha asociación reduce significativamente las poblaciones de nematodos como *Meloidogyne* sp., *Rotylenchulus* sp., *Tylenchorhynchus* sp. y *Pratylenchus* sp., al compararse con los tratamientos testigos sin tratamiento. Asimismo, se pudo evidenciar que este mismo tratamiento fue también el que presentó mayores niveles productivos y mejores rendimientos en todo el estudio (Sirias 2007).

Montiel y Reyes (2009) evaluaron *Trichoderma* para determinar su efecto en nematodos fitoparásitos asociados a tomate en el Campus Agropecuario de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua – León (UNAN-León). En este estudio se aplicó *Trichoderma* al momento del establecimiento del cultivo, y se monitoreó la dinámica poblacional de los nematodos fitoparásitos cuatro veces durante el ciclo del cultivo. Los resultados obtenidos muestran que *Trichoderma,* posee actividad en contra de nematodos fitoparásitos ya que se evidenció una reducción de un 55% en las poblaciones de estos nematodos, en comparación con las poblaciones de nematodos obtenidos en el testigo sin aplicación. Entre los nematodos cuyas poblaciones fueron reducidas de acuerdo a este estudio se destacaron *Meloidogyne* sp. y *Pratylenchus* sp.

Uso del hongo *Paecilomyces* sp.

En Nicaragua el control biológico de enfermedades utilizando *Paecilomyces lilacinus* ha sido pobremente documentado. Sin embargo se han realizado estudios que demuestran la utilidad de este hongo como parte del control biológico de nematodos fitoparásitos.

Uso de *Paecilomyces lilacinus* en el cultivo del café

Trabajos reportados por Pantoja (1988) indican que en condiciones de laboratorio el hongo *Paecilomyces lilacinus* es capaz de dañar embriones de *Meloidogyne exigua* por acción de los micelios de este hongo. El nivel de daño se incrementó en el estudio en la medida que se aumentó la concentración de esporas del hongo y el tiempo de exposición a la acción del hongo. El nivel de daño obtenido fue medido hasta en un 88,95% de embriones dañados.

A nivel de campo se pudo observar que el uso de este hongo redujo el número de agallas producidas por *Meloidogyne* sp. a 1,15 agallas por planta, superando significativamente al 3,31 que presento el tratamiento testigo. Al comparar el promedio de agallas encontradas en el tratamiento con *Paecilomyces lilacinus* con el tratamiento químico con Furadan se pudo observar que no hubo diferencias significativas entre dichos tratamientos. Por lo anterior se puede inferir que *Paecilomyces lilacinus* presentó el mismo nivel de control sobre *Meloidogyne exigua* que el nematicida químico Furadan.

En relación al nivel de control poblacional de *Meloidogyne exigua* en raíces de café, se pudo observar que el tratamiento con *Paecilomyces lilacinus* obtuvo un promedio de individuos de 1,24 en comparación con 8,31 nematodos encontrados en el tratamiento testigo. Esto demuestra la eficacia de este hongo reduciendo las poblaciones de *Meloidogyne exigua*. Por otro lado, Castillo y Hernández (2005) al evaluar la efectividad de varios tratamientos combinados, incluyendo en uno de ellos *Paecilomyces lilacinus*, encontró resultados variables en términos de eficacia para el control de *Meloidogyne* sp. en café. Sus resultados demostraron que solamente en una de cinco fincas estudiadas, *Paecilomyces lilacinus* presentó altos niveles de control de nematodos.

Uso de *Paecilomyces lilacinus* en cultivos hortícolas

En el caso de los cultivos hortícolas, se han realizado estudios que demuestran que este hongo tiene un amplio potencial para su utilización en las plantaciones hortícolas en Nicaragua. Sirias (2007) evaluó el uso de *Paecilomyces lilacinus* en el cultivo del tomate en suelos infestados con nematodos fitoparásitos, donde prevalecían *Meloidogyne* sp., *Rotylenchulus* sp., *Tylenchorhynchus* sp. y *Pratylenchus* sp. En este estudio se evaluó el efecto de inocular *Paecilomyces lilacinus* en etapa de plántulas y al momento del trasplante. Los resultados de este estudio demostraron que los tratamientos inoculados con *Paecilomyces lilacinus* presentaron rendimientos más altos, mayor longitud de raíces y menor número de nematodos al compararse con plantas sin *Paecilomyces lilacinus*. El hecho de que plantas sin *Paecilomyces lilacinus* muestren mayor desarrollo que plantas inoculadas con el hongo, podría deberse a que este hongo produce metabolitos tóxicos que podrían afectar adversamente la movilidad y capacidad de penetración de los nematodos en su hospedero (Ashraf y Khan 2005).

El nivel de control logrado por las aplicaciones de *Paecilomyces lilacinus* a plantas de tomate fue alta lográndose una reducción de cerca del 70% de nematodos al compararlo con las plantas testigos sin inocular (Sirias 2007). Estos resultado coinciden con los resultados obtenidos por otros autores como Qureshi *et al*. (2012) que han encontrado niveles de control de hasta un 77% de mortalidad en *Meloidogyne javanica* utilizando filtrados del hongo *Paecilomyces lilacinus* en

condiciones *in vitro* después de 48 horas de incubación.

Igualmente, se pudo observar el uso combinado de *Paecilomyces lilacinus* y *Trichoderma harzianum* juntos parecían mostrar ciertos niveles de antagonismo lo que reducía la efectividad de ambos organismos. Ya que las poblaciones de nematodos fitoparásitos no fueron significativamente diferentes al comparar plantas donde se inoculó combinaciones de ambos controladores biológicos con plantas testigos sin controladores biológicos.

Posteriormente, Montiel y Reyes (2009) evaluaron en el Campus Agropecuario de la UNAN- León, la susceptibilidad a nematodos fitoparásitos asociados al cultivo del tomate a *Paecilomyces lilacinus*. Los resultados de estos investigadores demostraron que las poblaciones de estos nematodos fueron significativamente reducidas al utilizar este hongo como agente de control, consiguiendo una disminución de un 40,70% en comparación con el testigo sin tratamiento de control.

En relación al rendimiento del cultivo, se pudo observar que al calcularse el beneficio neto de los tratamientos evaluados, nuevamente el tratamiento con *Paecilomyces lilacinus* presentó la mayor relación utilidad/costos totales ya que por cada US$ 1 invertido se obtuvieron US$ 3,94 , superando los 3,48 dólares que se obtuvieron en el tratamiento testigo.

Consideraciones finales

Nicaragua es un país donde el uso del control biológico de enfermedades es aún incipiente. A pesar que se han hecho diversos estudios sobre el impacto de agentes de biocontrol sobre algunas enfermedades de plantas cultivadas, hay mucho por investigar en el futuro.

Es evidente que en Nicaragua el control biológico de enfermedades de plantas está definitivamente menos desarrollado que el control biológico de insectos plagas. Por lo que se requiere profundizar en la investigación sobre la biología y ecología de estos organismos y en segundo lugar encontrar mecanismos para mejorar la difusión y adopción de esta tecnología.

Actualmente se proyecta trabajar principalmente en el aislamiento de cepas nativas de estos hongos, con el propósito de reproducirlas y evaluar la capacidad de control que puedan ejercer. Igualmente, se prevé trabajar en la elaboración de diferentes formulaciones de estos productos biológicos con el propósito de hacerlos más accesibles a los agricultores.

Bibliografía

Acevedo, C. 2010. Comportamiento de dos cultivares clonales de quequisque (*X. sagittifolium* (L.) Schott), obtenidas a través de dos técnicas de propagación, establecidas en condiciones de Yolaina, municipio de Nueva Guinea. Tesis Ing. Agrónomo. Managua, NI. UNA. 46 pp.

Amaya W, López W. 2006. Comportamiento de la Sigatoka negra (*M. fijiensis*) bajo efectos de diferentes fuentes nutricionales en el cultivo de plátano en el Campus Agropecuario de la UNAN-León 2004-2006. Tesis de Ingeniería en Agroecología Tropical. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León.

Ashraf S, Khan TA. 2005. Effect of opportunistic fungi on the life cycle of the root-knot

nematode (*Meloidogyne javanica*) on brinjal. Archives of Phytopathology and Plant Protection 38:227-233.

Caballero AJ. 2011. Uso de aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp., para el biocontrol del Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) raza tropical 1 en vitroplantas del cultivar Gros Michel (AAA). Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR. CATIE. 91 p.

Caballero AJ, Castellón J, Blanco W, Darce A. 2012. Estrategias Agroecológicas para el manejo de la enfermedad Mal de Panamá agente causal *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1. Taller de Evaluación "Mejorando la producción y mercadeo de bananos en cafetales con árboles de pequeños productores". UNAN-León. 13 al 20 de enero, León, NI. 34 diapositivas.

Castillo C, Hernández M. 2005. Evaluación de opciones alternativas al uso de agroquímicos para el manejo de nematodos fitoparásitos en el cultivo del café (*Coffea arabica*) en fincas de Masaya, Granada y Carazo. Tesis Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional Agraria. 61. P.

Esquivel G, Altamirano M. 2009. Estudio exploratorio de la infección de micorrizas arbusculares en la raíz de tomate (UC-82B) 56. p.

Khan A, Williams KL, Nevalainen HK. 2006. Infection of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. BioControl 51:659-678.

Kiewnick S, Sikora RA. 2006. Evaluation of Paecilomyces lilacinus strain 251 for the biological control of the northern root-knot nematode *Meloidogyne hapla* Chitwood. Nematology 8:69–78.

López C, Espinoza Y, Caballero A. 2005. Efectos de la aplicación combinada y separada de Micorrizas Vesículo Arbusculares (MVA) y bacterias fijadoras de Nitrógeno (*Azotobacter*) sobre la fenología, productividad y susceptibilidad a patógenos en el cultivo de chiltomo (*Capsicum annum*). Tesis de Ingeniería en Agroecología Tropical. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León. 88 p.

López-Llorca LV, Olivares-Bernabeu C, Salinas J, Jansson HB, Kolattukudy PE. 2002. Prepenetration events in fungal parasitism of nematode eggs. Mycological Research 106: 499-506.

Martínez A, Tórrez E. 2003. Validación de los efectos inoculantes micorrizógenos en cuatro especies forestales. Tesis de Ingeniería en Agroecología Tropical. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León. 79 p.

Medina W, Salmerón N. 2008. Efecto de Micorrizas Vesículo Arbusculares (MVA) sobre el desarrollo fenológico en el cultivo de sandía (*Citrullus lanatus*) y densidades poblacionales de nematodos de suelo en el Campos Agropecuario de la UNAN-León, durante el ciclo agrícola 2008. Tesis de Ingeniería en Agroecología Tropical. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León. 77 p.

Medrano I, Meléndez M. 2008. Efecto de diferentes dosis de Micorrizas Vesículo Arbusculares sobre enfermedades de suelos y desarrollo fenológico del sandia (*Citrullus lanatus*) en el Campus Agropecuario de la UNAN-León, durante el ciclo agrícola 2008. Tesis de Ingeniería en Agroecología Tropical. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León. 91 p.

Méndez RJ, Reyes RM. 2010. Evaluación de *Trichoderma harzianum* como agente de control biológico de enfermedades fungosas de suelo en el vivero de aclimatación de café clonado en la Finca la Cumplida, San

Ramón, Matagalpa. Tesis de Ingeniería en Agroecología. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León. 54 p.

Montenegro G, Jiménez M. 2006. Presencia y concentración de residuos de plaguicidas y contaminantes biológicos en el agua de pozos para consumo humano en localidades de antiguas plantaciones bananeras en el occidente de Nicaragua. Informe Técnico. Managua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Centro para la Investigación en Recursos Acuáticos de Nicaragua.

Montiel M, Reyes A. 2009. Identificación y cuantificación de nematodos asociados a dos cultivos de la familia Solanaceae y validación de alternativas agroecológicas para el manejo de nematodos fitopatógenos en tomate ciclo Agrícola 2008-2009. Tesis Ing. en Agroecología Tropical. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León. 44 p.

Pantoja N. 1988. Evaluación de *Paecilomyces lilacinus* como controlador biológico de *Meloidogyne exigua* en el cultivo del café en la IV región. Tesis. ISCA. Escuela de Sanidad Vegetal. Managua. Nicaragua. 43 p.

Pocasangre LE. 2000. Biological enhancement of banana tissue culture plantlets with endophytic fungi for the control of the burrowing nematode *Radopholus similis* and the Panama disease (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*). Ph.D. Thesis. University Bonn, DE. 95 p.

Qureshi SA, Ruqqia V, Sultana J, Ehteshamul-Haque AS. 2012. Nematicidal potential of culture filtrates of soil fungi associated with rhizosphere and rhizoplane of cultivated and wild plants. Pak. J. Bot. 44: 1041-1046.

Rutherford MA, Kangire A. 1998. Prospects for the management of Fusarium wilt of banana (Panama disease) in Africa. En: Frison EA, Gold CS, Karamura EB, Sikora RA. (eds.) Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa. Proceeding of a worskhop on banana IPM hek. 179-188 p.

Salazar-Antón, W; Guzmán-Hernández, TJ. 2013. Nematodos fitoparásitos asociados al tomate en la zona occidental de Nicaragua. Agronomía Mesoamericana 24(1):27-36.

Sequeira MI; Silva ZT. 2010. Manejo de mal seco (*Pythium myriotylum*) en quequisque (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott) mediante la siembra tardía, control de arvenses, enmiendas orgánicas y *Trichoderma* spp., Nueva Guinea Nicaragua. Tesis Ing. en sistemas de protección agrícola y forestal. Managua, NI. UNA. 46 pp.

Yamaguchi K, Sano T, Arita M, Takahashi M. 1992. Biocontrol of Fusarium wilt of tomato and Verticillium wilt of eggplant by non-pathogenic *F. oxysporum*. Annals of the Phytopathological Society of Japan 58:188-194.

Capítulo 13

Control biológico de enfermedades de plantas en Panamá

Rodrigo Morales[1*], Anovel A. Barba[2]

*[1]Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), Ciudad del Saber, Clayton, Edif. 161-162, Panamá. [2]Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), Centro de Investigación Agropecuaria Central (CIAC). Laboratorio de Protección Vegetal. Ubicación Carretera Interamericana - Los Canelos Divisa, Panamá. Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Centro Regional Universitario de Azuero, Chitré, Panamá. *Autor para correspondencia: fmoralco@cwpanama.net*

Reseña histórica del control biológico de enfermedades

La República de Panamá cuenta con una extensión territorial de 75.517 km^2, de los cuales la región metropolitana abarca unos 16,777.5 km^2 y el resto del país (que corresponde al área rural y ciudades sub urbanas) comprende los 58.739.5 km^2 restantes. Por otra parte, Panamá tiene una población estimada de 3.283.959 personas, con una densidad de 43,5 habitantes por km^2, donde tan sólo el 64% de panameños habita las zonas urbanas; dependiendo por ello de la producción de alimentos que se origina en el sector rural (CGR 2010).

La base de la economía rural panameña es el sector agroalimentario, debido a que genera empleo para el 14% de la población económicamente activa. Este sector está constituido por 232.000 explotaciones agropecuarias, en las cuales se siembran 390.000 hectáreas de cultivos anuales y permanentes (CGR 2007).

En Panamá, al igual que los países en vías de desarrollo, el éxito del agronegocio se ha dificultado por la tendencia de adopción de modelos tecnológicos caracterizados por una alta dependencia de insumos externos, que si bien es cierto representa un papel estratégico en la reducción de los daños económicos en los cultivos, su toxicidad y persistencia en el medio conllevan la destrucción paulatina de los recursos naturales locales disponibles y dejando en evidencia sucesivas explosiones de epidemias de enfermedades, así como una reducción significativa de la diversidad biológica (Morales 2010d).

A lo descrito en el párrafo anterior, se incorporan reportes médicos científicos que revelan que de todos los pesticidas usados en los alimentos,

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

los fungicidas constituyen el 60% del riesgo de contraer cáncer (Wilson y Wisniewski 1989). Adicionalmente existen fuertes restricciones y presión por parte de los consumidores de disponer de alimentos más sanos. Ahora bien, surge entonces el cuestionamiento del modelo convencional de producción agrícola por ser económica y ambientalmente insostenible, lo que ha conducido, en forma paulatina, a la búsqueda de nuevas concepciones y prácticas para enfrentar los problemas de enfermedades en las plantas cultivadas. Por ello, se contempla la búsqueda y utilización de principios activos naturales para el control de enfermedades bióticas, lo que reviste de gran importancia para los países tropicales, debido a la rica y abundante agrobiodiversidad que los mismos poseen (Hilje 2002, Pérez Consuegra 2004).

Cabe destacar que en 1975, el Dr. Alberto Perdomo del Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), reportó la presencia del hongo benéfico *Nomuraea rileyi* en la Corporación para el Desarrollo Integral Bayano (CB). El conocimiento sobre *Nomuraea rileyi* y otros agentes de controles naturales trajo beneficios directos para la Empresa Agrícola de la Corporación Bayano, señalando que en 1974, fueron fumigadas con insecticidas el 100% de las áreas arroceras, con la utilización del *Nomuraea rileyi* para el año 1975 se redujeron estas fumigaciones a un 75%, en 1976, tan sólo fue necesario fumigar el 10% de las plantaciones. Ya en 1977 el control químico utilizado fue casi nulo. En esta investigación colaboró el IDIAP, los directivos y técnicos de la corporación Bayano, así como la Universidad de Panamá a través de la Facultad de Ciencias Naturales y Farmacia (UNIPAN). Este caso probablemente constituye el primero reportado en Panamá, en donde se evaluó el efecto biocontrolador de un microorganismo en condiciones de campo. Posteriormente, en 1977, los doctores Alberto Perdomo y Alejandro Ferrer en la Universidad de Panamá, iniciaron la multiplicación artificial de *Nomuraea rileyi*, para ser utilizado en el control de plagas arroceras del país (Perdomo y Ferrer 1977).

En 1985, se iniciaron estudios de biocontrol con el hongo *Paecilomyces lilacinus*, con evaluaciones en campos infestados de Cerro Punta, Chiriquí, con la variedad tolerante (Alpha), susceptibles (Chieftain e Ilona) y resistente (Granola) ((Rodríguez *et al.* 1985, Rodríguez 1986).

Al final de la década del 80 y principios de los 90, no se reportan casos, ni estudios de uso de controladores biológicos de enfermedades de Plantas en Panamá. Pero en el año de 1998 el Grupo Internacional de Cooperación para la Biodiversidad (ICBG), inició un proyecto enfocado al descubrimiento de productos naturales con potencial farmacéutico y agrícola, encaminado a vencer enfermedades y mejorar la salud humana. Desde entonces el ICBG – Panamá, ha estado involucrado en el descubrimiento de hongos endófitos. Estos hongos son microorganismos que invaden tallos, hojas y otros órganos de las plantas y forman asociaciones simbióticas y asintomáticas con ellas (Martínez *et al.* 2008). Actualmente estos hongos endófitos asociados a plantas tropicales de áreas protegidas: monumento de Isla de Barro Colorado, Parque Nacional Altos de Cerro Campana, Parque Nacional Chagres, Parque Nacional Coiba y Cerro Jefe (Parque Nacional Chagres), están siendo extraídos y purificados en la Universidad de Panamá (UP) y el Instituto de Investigaciones Científicas y Servicios de Alta Tecnología (INDICASAT) y son evaluados en bioensayos para encontrar compuestos activos (Segundo *et al.* 2008).

En tanto que el IDIAP y la UP, trabajan en la bioprospección de biocontroladores en cultivos de importancia económica. Actualmente estas cepas de hongos son evaluadas y caracterizadas molecularmente con la finalidad de conocer con exactitud a que genero y especie pertenece.

En el mercado internacional existen varias formulaciones comerciales para control biológico de patógenos en campo y post cosecha. Se pueden encontrar formulaciones comerciales basadas en bacterias, levaduras y en hongos filamentosos, destinados a controlar distintos patógenos de plantas (Fravel 1998).

La realidad oficial nacional es que el Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA 2007) a través de la Dirección Nacional de Sanidad Vegetal (DNSV), Departamento de Agroquímicos, listó 3.246 agroquímicos comerciales de uso recomendado para los cultivos de tierras altas y la región de Azuero, principalmente. De estos productos químicos 1.152 (35,49%) son insecticidas, 1.315 herbicidas (40,51%) y 779 fungicidas (24%).

Entre los pocos productos importados y catalogados como biofungicidas se destacan *Trichoderma lignorum, Entomophthora virulenta*, *Trichoderma harzianum*, *Paecilomyces lilacinus*, *Bacillus subtilis*, Ácido ascórbico + N, Ácido orgánico natural, extractos botánicos de ají picante y de semillas de cítricos.

De acuerdo a registros del departamento de Agroquímicos del MIDA, en Panamá, aproximadamente el 16% de los bioplaguicidas que se comercializan, son utilizados para el manejo de enfermedades de plantas, de estos productos sólo el 4.16% son producidos localmente (Barba 2009).

Actualmente el Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), la Universidad de Panamá, el Instituto Smithsonians de Investigaciones Tropicales (STRI) y empresas privadas, están llevando a cabo investigaciones conducentes al estudio de la biodiversidad, caracterización y evaluación de microorganismos existente en diferentes regiones del país. De tal forma que conduzcan al descubrimiento de microorganismos potenciales que puedan ser utilizados en control biológico de enfermedades de plantas que afectan cultivos de importancia económica como el arroz, maíz, caña de azúcar, plátano, banano, melón, sandía, zapallo, calabacín y café, entre otros. Estas enfermedades causan alteración en la normal apariencia, forma o funcionamiento de una planta o de sus hojas y frutos, debido a infecciones bióticas. Las alteraciones bióticas están causadas por diferentes agentes vivos, tales como bacterias, hongos, nematodos y virus (Whiteside *et al*. 1996).

A continuación se describen en forma cronológica las experiencias en el control biológico de enfermedades en cultivos de importancia económica en Panamá.

Control biológico de enfermedades en la parte aérea

Mycosphaerella fijiensis (sigatoka negra del plátano y banano)

En Panamá la producción comercial exitosa de plátano y banano es limitada por la explosión de epidemias de sigatoka negra, causada por el hongo

Ascomycete *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (fase sexual) y *Paracercospora fijiensis* Morelet (fase asexual). Las pérdidas en rendimientos están estimadas entre 50% y 100% (Morales *et al*. 2008). Esta enfermedad produce un rápido deterioro del área foliar, afectando el crecimiento y productividad de las plantas al disminuir la capacidad de fotosíntesis, por consiguiente se reduce la calidad de la fruta. Este hongo infecta a las plantas de cualquier edad, pero su daño es más acentuado cuando se aproximan a la floración, durante ella o a lo largo del periodo productivo (Douglas y Ronald 1992). En 2005, se evaluaron los extractos hidroalcóholicos crudos de *Momordica charantia* y *Senna reticulata* para el biocontrol de la sigatoka negra en plantaciones de plátano, variedad Curaré Enano, a partir de semillas provenientes de cormos y vitroplántulas (Morales *et al*. 2006, 2007a). Los extractos se prepararon y se estimaron los sólidos totales en las instalaciones del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) en Turrialba, Costa Rica, de acuerdo a la metodología descrita por Osorio (2006).

Con aplicaciones semanales de los extractos botánicos, se registraron excelentes resultados fenológicos en las plantas de banano (total de hojas a la cosecha) y en componentes de producción (longitud y grosor de la segunda mano), con certificación internacional por la calidad de fruta exportable (Morales *et al*. 2007c, 2008).

Phytophthora sp. (cáncer de ramas y hojas del árbol de cacao)

Actualmente la superficie total sembrada con cacao es de 5.100 ha que están en manos de unos 3.500 productores (as) indígenas o mestizos que se encuentran en zonas pobres del país. La producción nacional es de 648 t de cacao seco por año, con un rendimiento promedio de 113 kg de cacao seco por hectárea. Cabe señalar que alrededor de un 90% de los cacaotales y de la producción se encuentran en la provincia de Bocas del Toro, el 10% restante distribuido en otras zonas de Panamá (Cerda y Orozco 2009).

La especie con mayor incidencia y más ampliamente diseminada en el mundo es *Phytophthora palmivora* responsable del 20% al 30% de las pérdidas anuales de la producción mundial de grano y aproximadamente del 10% de muerte de árboles de cacao (Guest 2007), citado Suárez y Hernández (2010). Los síntomas se observan tanto en hojas muertas endurecidas como en tejidos de tallos verdes jóvenes. A menudo *Phytophthora* sp. también afecta hojas maduras, aunque esto no se suele considerar como un problema serio. Las infecciones de las hojas y tallos puede conducir a la muerte del punto de crecimiento o de toda la planta en el caso de plántulas, ocasionando cánceres en la corteza cuando el patógeno se dispersa hacia un chupón. Dado que las plántulas de cacao crecen muy rápido durante los primeros meses, las hojas jóvenes son muy susceptibles al ataque del patógeno (Suárez y Hernández 2010).

Investigaciones realizadas por científicos del Departamento de Ecología y Evolución, Universidad de Arizona y el Instituto Smithsonians de Investigaciones Tropicales (Panamá) (STRI), en tierras bajas de Panamá han podido caracterizar la diversidad, la estructura espacial, y la afinidad natural de gran cantidad de infecciones de endófitos en el árbol de cacao en sitios de bosque lluvioso. Se

ha demostrado que la inoculación de la hoja con hongos endófitos aislados de infección natural, reduce significativamente el daño ocasionado por el patógeno foliar (*Phytophthora* sp.). La investigación realizada a campo y *in vitro* demuestra la capacidad de la comunidad de endófitos asociados al cacao en la defensa de la planta hospedante (Arnold *et al*. 2003). Los hongos endófitos han sido colectados de los siguientes sitios: tierras bajas, cubierta forestal mixta a través del istmo de Panamá (Instituto Nacional de Agricultura, Herrera, Panamá (INA), Nombre de Dios, Colón, Panamá (ND), cerca de Almirante, Bocas del Toro, Panamá (BT), Parque Nacional Soberanía, Panamá (PNS) y de la Isla de Barro Colorado (BCI).

Control biológico de enfermedades que afectan las raíces

Globodera spp. (nematodo de quiste de la papa)

Esta especie se caracteriza por la supervivencia prolongada de huevos y larvas dentro del cuerpo de la hembra muerta y esclerotizada (quiste protector de pared gruesa, considerado estructura de conservación). Cada quiste es capaz de contener en su interior hasta 600 huevos viables en el suelo por un largo periodo, en estado de reducida actividad metabólica y es uno de los parásitos de mayor importancia económica del cultivo de papa. En 1967 fue descubierto en Panamá e identificado como *Heterodera rostochiensis* patotipo A, posteriormente fue reubicado en el género *Globodera*, patotipo R_1A; registrándose en Panamá como *Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida* (Rodríguez 1986, Candanedo *et al*. 1988).

En 1985, se iniciaron los estudios de biocontrol con el hongo *Paecilomyces lilacinus*, con evaluaciones en campos infestados de Cerro Punta, Chiriquí, con la variedad tolerante (Alpha), susceptibles (Chieftain e Ilona) y resistente (Granola). Con dichos estudios se evidenció el potencial biocontrolador de *Paecilomyces lilacinus*, que actúa sobre la tasa de multiplicación del nematodo *Globodera rostochiensis*. En ese mismo año, se detectó, microscópicamente, el crecimiento del micelio de un hongo que colonizaba y afectaba el normal desarrollo de huevos obtenidos de quistes, procedentes de campos comerciales de papa en Cerro Punta. Por la coloración de los huevos afectados, a este hongo se le denominó *hongo amarillo* (Rodríguez *et al*. 1985, Rodríguez 1986).

En 1988, fitopatólogos del Centro Internacional de la Papa (CIP), identificaron al hongo nativo como *Penicillium anatolicum.* Las evaluaciones realizadas dentro del invernadero y del laboratorio, determinaron la capacidad de reducir la viabilidad de huevos de *Globodera* spp. (Candanedo *et al.* 1988).

Radopholus similis (nemátodo barrenador de las musáceas)

Este fitonemátodo, por su comportamiento alimenticio y movilidad se clasifica como endoparásito migratorio ya que habita en el suelo y dentro de los tejidos de las raíces de plantas de plátano y banano y es considerado el principal patógeno radical (Tarté *et al*. 1981). Los síntomas producidos en las

plantas hospedantes son evidentes en la fase de floración, caracterizándose por alteraciones fisiológicas, por la lesión oscura, café y parda rojiza en la epidermis, alcanzando el cilindro vascular y finalmente por la pudrición de raíces y cormos. Por consiguiente, se afecta significativamente la absorción y transporte de nutrientes y agua (Tarté y Pinochet 1981). Las plantas infectadas son susceptibles al volcamiento por un mal anclaje en el suelo, debido a la destrucción del sistema radical (Morales *et al*. 2007b).

Esta plaga se constituye en un factor de importancia biológica y económica en la mayoría de las áreas donde se cultiva plátano y banano, reportándose mundialmente pérdidas en los rendimientos que alcanzan hasta el 80% (Sasser y Freckman 1987, Candanedo 1997).

En plantaciones de plátano (variedad Curaré Enano), se evaluó el efecto biocontrolador del hongo endofítico *Trichoderma atroviride*, cepa1 (proveniente de suelos supresivos de Guatemala) y cepa 2 (proveniente de Sixaola, Costa Rica), sobre las poblaciones de *Radopholus similis*. Se inocularon las raíces de vitroplántulas y cormos, en una suspensión de 10^7 conidios/ml de agua por inmersión por 10 min. Con el uso de *Trichoderma atroviride*, se destacó la producción de plátanos con alta calidad exportable (longitud y grosor de dedos), en parámetros de producción (número de dedos y manos por racimo), inocuos a la salud humana y ambiental (Morales *et al*. 2006, 2007a, 2010a, 2010b, 2011).

Para el control biológico de *Radopholus similis* y promoción de crecimiento de plantas de banano, variedad Gran Enano, en primera y segunda generación, las plantas fueron protegidas con los hongos endofíticos mutualistas *Trichoderma atroviride* 1 y 2, el aislado nativo *Trichoderma* spp. 3 (proveniente de plantas sanas de banano de la finca bananera independiente Margarita, Panamá), *Glomus* spp. y *Trichoderma* spp. (Empresa Bioprotección, Colombia) y el extracto botánico comercial de *Tagetes patula.* El efecto supresor de fitonemátodos, promotor de crecimiento y producción se constató en los microorganismos mutualistas evaluados (Santamaría 2008a, 2008b, Morales *et al*. 2009a, 2010c).

Entre los años 2009 a 2011, se colectaron muestras de raíces y rizomas de plantas sanas de plátano de las variedades Cuerno Alto Rosado y Curaré Enano en el distrito de Barú, provincia de Chiriquí, con el objetivo de aislar e identificar hongos endofíticos y estimar su capacidad biocontroladora de poblaciones de *Radopholus similis* y promoción de crecimiento. De dichas muestras, se identificaron nueve aislamientos de hongos del género *Trichoderma*, 10 de *Penicillium,* 1 de *Acremonium* y 1 de *Fusarium* (no fitopatógeno). Con vitroplántulas de plátano, variedad Curaré Enano, en casa de vegetación se constató el potencial de los aislados *Trichoderma* TP1, *Trichoderma* TP2, *Trichoderma* TP3, *Trichoderma* TP5 y *Trichoderma* TP8; como promotores de crecimiento vegetal, biocontroladores de *Radopholus similis* y colonizadores de raíces (Morales *et al*. 2009b, 2011).

Control biológico de enfermedades que afectan raíces, tallos y hojas de plantas

Marchitez de la planta por *Fusarium oxysporum*

En la República de Panamá, el 70% de las agroexportaciones corresponden a melón, sandía y zapallo, que son exportadas a Europa, mientras que el 30% restante tiene como destino los Estados Unidos. La superficie sembrada de estos tres cultivos abarca aproximadamente 2000 hectáreas, localizadas en el Arco Seco de Panamá, que comprenden las provincias de Herrera, Los Santos, Veraguas y región pacifica de la provincia de Coclé.

En los cultivos de melón, los riesgos de pérdidas de cosechas pueden ser muy variados, tanto si se trata de cultivos al aire libre, o cultivos protegidos en casas de vegetación.

La Fusariosis es una de las enfermedades más graves y extendidas de las enfermedades del melón, capaz de acabar totalmente el cultivo en pocas semanas sin que se pueda hacer prácticamente nada efectivo para combatirla una vez que se ha presentado, dada la dificultad que representa el llegar hasta el parásito el cual se sitúa en el suelo, por lo que el empleo de fungicidas sólo produce un ligero efecto en beneficio de la planta (Zapata *et al.* 1989). La enfermedad es causada por el hongo *Fusarium oxysporum*. El síntoma de marchitez se observa en las hojas, pero comenzando por la punta del brote y continúa hacia la base hasta que la planta muere. Las hojas no tardan en secarse y el tallo adquiere un color parduzco por lo que los vasos de savia han sido atacados por el patógeno. En tanto que, el hongo permanece en el suelo por muchos años y las altas temperaturas y humedad del suelo favorecen su desarrollo (Ríos y Osorio 1996).

En la parte atacada por el hongo suelen aparecer gotitas de una exudación gomosa parda y, debido a esto, se le suele llamar *gomosis* a esta enfermedad. Por otra parte, cerca de tallo al principio de la sintomatología, se pueden observar unas manchas parduzcas y hundidas que constituyen indicios de esta enfermedad. Las plantas de melón atacadas por el fitopatógeno del género *Fusarium* suelen presentar unas raíces de color violáceo y necrosis de la zona de las raíces que ha sufrido el ataque. El hongo penetra a las raíces por heridas, se desarrolla por el interior del tallo y puede llegar hasta el pedúnculo de los frutos ocasionando una podredumbre a partir del punto de inserción a la planta. Los terrenos arcillosos y de difícil drenaje, las lesiones producidas en la raicilla en el caso de que se realice el trasplante, la escasa aireación del cuello, los excesivos riegos y humedades altas favorecen el desarrollo de la enfermedad (Blancard *et al*. 1996).

Cuando se realizan cultivos de melón con plantas producidas de semilleros y posterior trasplante aumenta el riesgo de infección por el género *Fusarium,* dado que cualquier estrés que sufre la planta favorece el desarrollo de la enfermedad. Por lo tanto, unas de las prácticas que se recomiendan es realizar el trasplante con el cepellón completo para evitar la penetración del hongo a través de las raíces rotas. La desinfección del terreno suele hacerse en cultivos de melón dentro del invernadero, que es donde se producen mayores infecciones por el uso continuo del mismo. El empleo de variedades resistentes a la infección

producida puede ayudar a evitar en parte el problema aunque hasta el momento los híbridos que existen en el mercado, sólo son resistentes a las dos razas de *Fusarium oxysporum* (Zapata *et al*. 1989).

Entre las alternativas que se han sido evaluadas por el Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá, se destaca el uso de plantas resistentes evaluadas como patrones portainjertos, para posteriormente ser injertadas con la variedad que se desea cosechar, obteniéndose así rendimientos mayores, hasta un 25% más que el que produce un cultivo normal (IDIAP 2010).

Para el control biológico de *Fusarium oxysporum,* el Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá ha evaluado la eficacia del hongo antagonista *Trichoderma harzianum,* aplicado al momento de la siembra y 30 días después de la misma, en cultivos de melón, dando como resultado una incidencia 12% menor (Aguilera *et al.* 2008).

En los semilleros ocurre que las plantas mueren a consecuencia de la marchitez o podredumbre del cuello, ocasionadas por un complejo de hongos como *Pythium* sp., *Phytophthora* sp.*; Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani.*

Una de las estrategias de control biológico utilizadas es la que se hace a través de la inoculación de hongo antagonista *Trichoderma harzianum* aplicado al sustrato previo a la elaboración del semillero o posterior al trasplante en el cultivo de cucurbitáceas.

Consideraciones finales

Es oportuno señalar que el desarrollo comercial de microorganismos biocontroladores de enfermedades no resulta muy alentador. Los requerimientos para el registro de éstos son similares al de productos químicos sintéticos, lo que dificulta avanzar en éste tipo de control.

En Panamá, el mal uso de los pesticidas ha llevado a un replanteamiento de las tácticas de control de organismos considerados plagas. Son incipientes y prometedores los estudios desarrollados en el manejo de fitopatógenos causantes de enfermedades foliares y de suelo en plantaciones comerciales en campo y post cosecha.

En el ámbito nacional, los escasos estudios multidisciplinarios no han permitido potenciar la investigación e innovación en el control biológico, ni integrar el desarrollo y uso de bioproductos o bioinsumos dirigidos a la producción agrícola, con miras a brindar respuestas aplicables a diversos problemas fitosanitarios de este importante sector de la economía nacional.

En años recientes, iniciativas particulares han incursionado en la formulación y distribución de diversos microorganismos nativos e importados, para el control de plagas y enfermedades en diversos cultivos. Prevalece la inconsistencia de la efectividad de los mismos, lo que trae consigo incredulidad y con ello, la oposición por parte de los productores al uso a gran escala de este importante tipo de control.

Le corresponde al Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá ejecutar el protagónico e histórico papel de implementar intensivamente estudios dirigidos a la generación de alternativas de biocontrol de enfermedades en los

cultivos que conforman la canasta básica del panameño, la cual se conforma principalmente por granos básicos, plátano y banano, raíces tropicales, papa y hortalizas.

Asimismo, como ente regente de la investigación agropecuaria en el país, el IDIAP deberá promover ante la Direción Nacional de Sanidad Vegetal (DNSV) del MIDA, la implementación de las normas de calidad de microorganismos benéficos (nativos e introducidos), verificando la pureza *in vitro*, la viabilidad de unidades infectivas y la capacidad patogénica sobre el organismo a controlar.

Concomitante con la colecta de microorganismos biológicos nativos, su caracterización morfométrica y molecular y la estimación de su capacidad biocontroladora sobre unidades infectivas de fitopatógenos (*in vitro* e *in vivo*), y la debida confirmación de resultados experimentales, se debe incursionar en la creación de unidades especializadas para su reproducción masiva con calidad. Todo con la finalidad de proporcionar, a través de los protocolos fitopatológicos debidamente certificados, la cantidad suficiente de las formulaciones con concentraciones adecuadas de los microorganismos biocontroladores.

Agradecimiento

Al Centro de Información y Documentación Agropecuaria (CIDAGRO), al Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá y a la Universidad de Panamá por el apoyo brindado.

Bibliografía

Aguilera V, Osorio N, Guerra J, Villarreal Y, Castillo G. 2008. Efecto del acolchado y *Trichoderma harzianum* en el control de hongos de suelo en el cultivo de melón. III Congreso Científico de Investigación e Innovación, "Ciencia Tecnología para la Innovación de la Agricultura". IDIAP, Rio Hato, Panamá. pp 3.

Arnold AE, Mejía LC, Kyllo D, Rojas EI. 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. PNAS. 100:15649-15654. Disponible en: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.2533483100.

Barba A. 2009. Proyecto Investigación e innovación para el manejo integrado de plagas que afectan el cultivo de cucurbitáceas. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), Divisa, Panamá. 21 p.

Blancard D, Lecog H, Pitrat M, Javoy M. 1996. Enfermedades de las Cucurbitáceas: Observar, Identificar, Luchar. Editorial Mundi–Prensa, Madrid. 74 p.

Candanedo EM, Rodríguez R, Lara J, Muñoz JA, Espinoza L, Atencio F. 1988. Informe técnico del Proyecto Nemátodos Fitoparásitos de la Papa de Panamá (1982-87). Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá – Programa Regional Cooperativo de Papa (IDIAP-PRECODEPA). Cerro Punta, Chiriquí, Panamá. 27 p.

Candanedo EM. 1997. Quimioterapia de la endonematofauna radical del banano (*Musa sapientum*) con ALDICARB aplicado al pseudotallo de plantas recién cosechadas y su efecto en la producción de futuras plantas madre. Informe Técnico de investigación contratada a nivel privado presentado a RhonePoulenc de Costa Rica (Dr. Juan Bocanegra, Representante). 32 p.

Cerda R, Orozco S. 2009. Foro Genética del cacao en Panamá. ¿Qué estamos haciendo

y hacia dónde vamos? Universidad Tecnológica del Panamá. Proyecto de Cacao Centroamérica. Memoria. CATIE. USAID. COCABO. PDSBT. Disponible en: http://www.catie.ac.cr/BancoMedios/Documentos%20PDF/pcc_memoria_%20foro_geneticapa.pdf. 52 pg.

CGR (CONTRALORÍA GENERAL DE LA REPÚBLICA, PANAMÁ). 2007. Resultados del Censo agropecuario 2001 y consumo de alimentos por persona (1990 a 2007). Panamá. 23 p.

CGR (CONTRALORÍA GENERAL DE LA REPÚBLICA, PANAMÁ). 2010. Resultados Finales Básicos. XI Censo de Población y VII de Vivienda. Panamá. Formato digital (Excel y PDF). Disponible en http://www.contraloria.gob.pa/inec/publicaciones/publicaciones.aspx?id_subcategoria=60&id_publicacion=364&id_idioma=1&id_categoria=15.

Douglas M, Ronald R. 1992. El combate de la sigatoka negra. Departamento de investigaciones. Costa Rica. CORBANA. Boletín No 4. 22 p.

Fravel D. 1998. Commercial biocontrol products for use against soilborne Crop Diseases. Disponible en: www.barc.usda.gov/psi/bpdl/prod/bioprod.html

Hilje L. 2002. Extractos vegetales como repelentes para manejar plagas: Estudios de caso con *Bemisia tabaci* y *Hypsipyla grandella*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Pp: 77-86.

IDIAP (Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá). 2010. Informe a la Nación 2009 – 2010. Disponible en: www.presidencia.gob.pa/docs/IALN/Instituciones/IDIAP.pdf.

Martínez L Iturrado L, Gwen S, Coley P, Kursar T. 2008. El ICBG – Panamá: Descubriendo la Diversidad de Hongos Endófitos en Plantas Tropicales. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología. Centro de Convenciones Ciudad del Saber Panamá, República de Panamá. 264 p.

MIDA (MINISTERIO DE DESARROLLO AGROPECUARIO, PANAMÁ). 2007. Listado de productos comerciales y uso recomendado en Panamá. Dirección Nacional de Sanidad Vegetal, Departamento de Agroquímicos. Formato digital.

Morales RA, Candanedo E, Espinosa L, Muñoz JA, González F, Ríos D, Arosemena JT. 2009b. Manejo biológico de la nematofauna del banano cv. Gran Enano y su efecto en las variables biométricas del cultivo. Resúmenes de Memoria de 55 Reunión Anual del PCCMCA, San Francisco de Campeche, México. pp: 143.

Morales RA, Candanedo EM, Muñóz JA, Ríos D. 2010b. Indicadores químicos y microbiológicos de la calidad y salud de suelos bananeros en el Pacífico Occidental de Panamá. Resúmenes del XXIII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de la Asociación Panameña para el avance de la Ciencia (APANAC). Ciudad del Saber, Panamá, Panamá. pp: 215.

Morales RA, Candanedo EM, Muñóz, JA, Ríos D, Arosemena JT. 2010c. Alternativas biológicas para el manejo de fitonemátodos en plantaciones de banano en segunda generación. Panamá. Resúmenes del XXIII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de la Asociación Panameña para el avance de la Ciencia (APANAC). Ciudad del Saber, Panamá, Panamá. pp: 255.

Morales RA, Muñóz JA, Ríos D, Candanedo LA, Castillo M, Ríos N. 2011. Aislamiento, identificación e interacciones de hongos endofíticos nativos y *Radopholus similis* en plantas de plátano, Barú, Panamá. IV Congreso Científico Agropecuario, Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá. Ciudad del Saber, Panamá. pp: 91.

Morales RA, Muñóz JA, Ríos D 2007c. Uso del hongo endofítico *Trichoderma atroviride*, como alternativa biológica para el manejo de fitonemátodos en plantaciones comerciales de plátano, cv. Curaré Enano (AAB), Divalá, Chiriquí, Panamá. Resúmenes de la XLIII Reunión Anual del PCCMCA. Instituto de Ciencia y tecnologías Agrícolas. Antigua Guatemala, Guatemala. pp: 37.

Morales RA, Ríos D, Muñóz JA, Concepción R. 2007a. Desarrollo y uso de bioproductos para el control de nemátodos y sigatoka negra en plantaciones de plátano y banano. Reporte final Proyecto IDIAP – FONTAGRO- INIBAP. Divalá, Chiriquí, Panamá. 20 p.

Morales RA, Ríos D, Muñóz JA, Concepción R. 2007b. Alternativas biológicas para el manejo de sigatoka negra y fitonemátodos en plantaciones de plátano, var. Curaré Enano. Panamá I Congreso Internacional de Banano y Plátano. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá, Panamá. pp: 11-14.

Morales RA, Ríos D, Muñoz JA, Concepción R. 2008. Bioproductos para el manejo de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en plantaciones de plátano, var. Curaré Enano. IDIAP, en publicación. 17 pp.

Morales RA, Ríos D, Muñóz JA, Concepción R. 2009a. Uso del hongo endofítico*Trichoderma atroviride*, para el biocontrol de los fitonemátodos en los cultivos de plátano y banano. Cartel divulgativo, IDIAP - FONTAGRO, Panamá.

Morales RA, Ríos D, Muñóz JA, Concepción R. 2010a. *Trichoderma atroviride*, hongo endofítico para el manejo de fitonemátodos asociados al cultivo de plátano y banano. Folleto técnico, IDIAP, Panamá. 4 p.

Morales RA, Ríos D, Muñóz JA. 2006. Alternativas biológicas integradas en el manejo de fitonemátodos y sigatoka negra en plátano. Variedad Curaré Enano. Cartel divulgativo, IDIAP - FONTAGRO, Panamá.

Morales RA. 2010d. Proyecto Investigación - Innovación Desarrollo e implementación de alternativas biológicas para el manejo de enfermedades de campo y post cosecha. 2010 – 2014. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP). 41 p.

Osorio GP. 2006. Evaluación de hongos endofíticos y extractos botánicos para el control de la sigatoka negra (*Mycosphaerellafijiensis*Morelet) en banano. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza CATIE. Turrialba, Costa Rica. 90 p.

Perdomo A, Ferrer Z. 1977. Epizootias de *Nomuraea rileyi* en el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* y con otras plagas del cultivo de arroz en Panamá. Memoria de 23 Reunión Anual del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos Alimenticios (PCCMCA), Panamá (Panamá). 21 a 24 marzo.

Pérez Consuegra N. 2004. Manejo Ecológico de Plagas. Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural-CEDAR. Universidad Agraria de la Habana, San José de Las Lajas. Cuba. 296 p.

Ríos J, Osorio C. 1996. Cultivo de Sandía de Exportación. Ministerio de Desarrollo Agropecuario, Dirección Nacional de Desarrollo Agrícola, Departamento de Tecnología Hidro – Agrícola. Panamá. 56 p.

Rodríguez R, Espinoza L, Atencio F, Lara J. 1985. Investigación realizada en nematodos que atacan el cultivo de papa en Panamá. In Franco J, Rincón H. (eds.). Investigaciones Nematológicas en Programas Latinoamericanos de Papa. Taller impresión del Centro Internacional de la Papa (CIP), Volumen I: Informes. Lima, Perú. pp:105-112.

Rodríguez R. 1986. El nemátodo de quiste de la papa en Panamá. Seminario Taller de Fitopatología. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP) - Centro de Investigación Agrícola Tropical (CIAT). Panamá, Panamá. pp:135-141.

Santamaría MA. 2008a. "Guerra" contra enemigos de las plantaciones bananeras. Diario Crítica, La voz del interior, Panamá. www.critica.com.pa/archivo/02172008/lav05.html.

Santamaría MA. 2008b. Hongos nativos controlan daños a planta de banano. Diario Panamá América, Panamá. Disponible en: www.panamaamerica.com.pa/periodico/.../resultado.php?story_id..

Sasser JN, Freckman DW. 1987. A world perspective on nematology: the role of the Society. In*:* Veech JA, Dickson DW (eds.). Vistas on Nematology (Society of Nematologist,

Inc.).Hyattsville, USA. pp 7-14
Martínez L, , Coley P, Krusar 2008. El ICBG – Panamá: Cultivos y Extractos de Hongos Endófitos para Bioensayos. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología. Centro de Convenciones Ciudad del Saber Panamá, República de Panamá. 263 pg
Suárez YJ, Hernández FA. 2010. Manejo de las enfermedades del cacao (*Theobroma cacao*) en Colombia con énfasis en Monilia (*Moniliophora roreri*). Copoica. Colombia Disponible en: http://www.fedecacao.com.co/cw/ca/doctecnicos/fedecacao-dt-manejo-enfermedades-enfasis-cacao-monilia.pdf 85 pp.
Tarté R, Pinochet JG, Ventura O. 1981. Differences in population increase, host preferences and frecuency of morphological variants among isolates of the banana race of *Radopholus similis*. Nematropica 10: 42-52.
Tarté R, Pinochet JG. 1981. Problemas nematológicos del banano. Contribuciones recientes a su conocimiento y combate. Publicación de la UPEB. Panamá, Panamá. 32 pp.
Whiteside JO, Garnsey SM, Timmer LW. 1996. Plagas y Enfermedades de Los Cítricos. The American Phytopathological Society. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid. 213 p.
Wilson CHL, Wisniewski ME. 1989. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: an emerging technology. Annual Review of Phytopathology 27:425 –441.
Zapata NM, Cabrera FM, Bañon AS, Roth MP. 1989. El Melón. Ediciones Mundi - Prensa, Madrid. 174 p..

Capítulo 14

Control biológico de enfermedades de plantas en Paraguay

Cristhian Grabowski*, Aida Orrego, Laura Soilán

*Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, Campus Universitario. Avenida Eusebio Ayala Km 10.5, Ciudad de San Lorenzo - Paraguay. *Autor para correspondencia: cgrabowski@agr.una.py*

Introducción

Son pocas las situaciones en la naturaleza en las cuales sean más evidentes las consecuencias de la reducción de la biodiversidad que en el área de control de plagas y enfermedades agrícolas. Esto se pone de manifiesto a través de la mayor presión que ejercen los patógenos sobre los cultivos, donde se hace necesaria la búsqueda de alternativas viables, eficientes y técnicamente comprobadas para el manejo integrado y que al mismo tiempo permitan reducir el uso de productos fitosanitarios.

Una de las posibilidades más atractivas para atender este objetivo es la implementación del control biológico que según Baker y Cook (1974) es la reducción de la densidad del inóculo o actividades determinantes de la enfermedad causada por un patógeno, por uno o más organismos, realizado naturalmente o por la manipulación del ambiente, hospedero, antagonista, o por la introducción masiva de uno o más antagonistas. Según Bettiol y Morandi (2009) y Paulitz y Bélanger (2001) se trata de una modalidad de control que proporciona una alternativa para el desarrollo de una agricultura más sustentable y menos dependiente de los productos químicos utilizados en agricultura.

En varios países ha mostrado ser una opción para el manejo de fitopatógenos debido a la preocupación pública creciente sobre los efectos potencialmente peligrosos de los productos fitosanitarios y porque algunas enfermedades de plantas actualmente no son controladas eficientemente por otros métodos convencionales. Esta serie de eventos, propició que actualmente sean registrados bioproductos comerciales con diferentes formulaciones en todo el mundo.

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

Por décadas los agricultores han tratado de combatir los organismos nocivos con un enfoque unidireccional basado en el uso intensivo de agroquímicos, pero hasta ahora las pérdidas de producción siguen manteniéndose en un 30% sin diferencia con respecto a hace treinta o cuarenta años (Altieri y Nichols 2000). Actualmente la presión de la sociedad a los sectores productivos para aumentar el interés por la producción de alimentos libres de residuos químicos, de conservar el ambiente libre de contaminantes y de preservar la diversidad de especies que sufren el impacto negativo debido al uso indiscriminado de plaguicidas.

En los tiempos que corren la biotecnología es una herramienta empleada en la generación de nuevos procesos y productos sustentables para el sistema de producción agrícola actual. Siendo el Paraguay productor y exportador neto de alimentos, cuyo avance en los últimos años en buscar alternativas a los sistemas convencionales ha sido apostando fuertemente a la biotecnología, potenciando varias ciencias y prácticas incluyendo al control biológico mediante la creación de instituciones que incentiven la producción científica y la capacitación de profesionales en aéreas prioritarias.

Entre los principales nichos consumidores de productos biológicos está la producción orgánica a nivel comercial que se registra a partir del periodo agrícola 1988/1989 y que tiene como rubro principal la caña de azúcar orgánica seguida de otros rubros como el sésamo orgánico (*Sesamun indicum*), naranjo agrio (*Citrus aurantium* var. *amara L.*) y el cedrón (*Lippia citriodora*) (INBIO/UGP 2011).

Con el paradigma de la agricultura que busca eficiencia - competitividad de la actividad y el uso racional de los recursos naturales se presentan prioridades como la inversión en tecnología apropiada y su aplicación - la seguridad alimentaria y nutricional, todo para iniciar la sustitución de los modelos de producción predominantes que, paradójicamente impactan negativamente en el ambiente y las condiciones para la producción agrícola.

En el Paraguay al igual que en América Latina, el uso de productos fitosanitarios "pesticidas" aumentó considerablemente en los últimos años a excepción de los productos biológicos. En contraste, debemos resaltar el incentivo a la investigación que busca responder a las necesidades de la sociedad en todos los ámbitos y en especial una producción agrícola sustentable en armonía con la naturaleza utilizando herramientas como el control biológico de enfermedades mediante el fortalecimiento de instituciones y el apoyo a la investigación.

Reseña histórica

El control biológico en Paraguay empezó con la utilización experimental del *Baculovirus anticarsia* para el control de la oruga de la soja *Anticarsia gemmatalis*, en cultivos extensivos como la soja (Kliewer y Candia 1998). Las investigaciones contra enfermedades de plantas son realizadas por instituciones académicas estatales y no gubernamentales que buscan dilucidar cuestiones básicas fundamentales como la selección de antagonistas, pruebas de metabolítos secundarios de microorganismos benéficos y determinaciones experimentales de eficiencia de algunos productos biológicos formulados para el control de varios fitopatógenos.

Por citar algunas instituciones pioneras que contribuyen a la promoción del control biológico en todas sus aristas, se destaca el Centro de Educación, Capacitación y Tecnología Campesina (CECTEC) que hace 26 años impulsa el desarrollo rural sostenible basado en la propuesta agroecológica, y sustentada en tecnologías campesinas. Así también Alter Vida, una organización no gubernamental (ONG), sin fines de lucro con propósito de promover la investigación, educación, formación y capacitación en la temática ambiental, el desarrollo sustentable, posicionando la necesidad de considerar tanto al ambiente como a la participación ciudadana, como factores y precondiciones para el desarrollo sustentable del país.

Destacamos también la labor de las unidades académicas de la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA) de la Universidad Nacional de Asunción (UNA) que junto con el apoyo de otras instituciones ha propiciado y generado información/ conocimiento significativo sobre la aplicación del control biológico en el manejo de enfermedades en varios patosistemas y particularmente aquellos producidos por patógenos del suelo. En su estructura se encuentran instalados Laboratorios como la de Fitopatología y Entomología donde son administrados y guiados cursos de graduación y post graduación que buscan interpretar y validar las virtudes de esta ciencia aun poco explorada. Con el avance de la ciencia y sobre todo por la encrucijada en la que se encuentra la agricultura por encontrar nuevas formas de producción en respuesta a los cambios climáticos y al mismo tiempo amigables con el ambiente se hace cada vez más necesaria que todos encaminemos esfuerzos para colaborar con este propósito mediante el desarrollo de esta ciencia - 'El control biológico de enfermedades'

En los últimos cinco años fueron aprobados proyectos de investigación que incluyen un alto porcentaje de temas referentes al control biológico. Así, el Instituto de Biotecnología Agrícola (INBIO) siendo una asociación civil sin fines de lucro, que tiene el propósito de impulsar el desarrollo de la investigación en la República de Paraguay ha posibilitado la ejecución de varios proyectos por investigadores de la FCA, como la de selección de cepas de *Trichoderma* sp. para el control de *Macrophomina phaseolina* causante de la pudrición carbonosa de la soja entre otras en curso.

Experiencia en control biológico de enfermedades de plantas en Paraguay

Al hablar de control biológico se presentan algunas interrogantes para todos los investigadores. Cómo encontrar un buen antagonista, como seleccionar y sobre todo como multiplicarlo? Entonces, para que un biocontrolador sea utilizado necesita estar disponible en grandes cantidades, para posteriormente buscar el establecimiento del mismo y pueda contribuir con otros métodos para mantener las plagas a nivel de daño no económico, dentro de los conceptos actuales de manejo integrado (Alves 1986). Atendiendo estas premisas se han desarrollado investigaciones experimentales *in vitro* e *in vivo* como la obtención de sustratos adecuados, que presenten bajo costo, de fácil preparado y eficientes

en permitir la esporulación de hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces* sp. (Grabowski *et al.* 2005), así también la utilización de metabolitos secundarios de bacterias como *Bacillus* spp. en el control de patógenos trasmitidos por semillas y pos cosecha de frutas (Portillo 2004) y otras bacterias del grupo de los Actinomycetes para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* causante del moho blanco del tomate (Chih – Pin Lin 2002).

El agente de control biológico – *Trichoderma* spp. es una de las mas estudiadas a nivel regional y mundial (Bettiol *et al.* 2008) por sus varios e interesantes mecanismos de acción ya identificados (Howell 2003) sobre patógenos de vegetales y su interacción con otros microorganismos de su entorno (Druzhinina *et al.* 2011). Son géneros de Hyphomycetes omnipresentes en el ambiente, sobre todo en el suelo, utilizados en actividades humanas para la producción de enzimas y en el control biológico de enfermedades de plantas (Samuels 1996). Este antagonista ha sido ampliamente investigado por su capacidad en proteger las plantas y controlar patógenos en diferentes condiciones del suelo, por producir numerosos compuestos biológicamente activos como las enzimas que degradan la pared celular y metabolitos secundarios lo que ha propiciado su comercialización como bioplaguicidas y biofertilizantes (Vinale *et al*. 2008).

En este sentido, en Paraguay se ha estudiado la posibilidad de utilizarla para el control de patógenos de suelo de difícil control y manejo, donde los fungicidas no tienen efecto debido a la complejidad del sistema suelo. En consulta para dilucidar la disponibilidad de productos formulados a base de este biocontrolador, se ha verificado en el Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas (SENAVE) que dos productos comerciales poseen registro pero actualmente cancelados para su libre venta en el territorio nacional. No obstante a nivel experimental son importados cantidades mínimas de otros productos formulados para pruebas de eficacia e investigaciones básicas en unidades técnicas y académicas competentes.

En un ámbito más práctico del control biológico de enfermedades se han estudiado cepas nativas de *Trichoderma* spp. aisladas del suelo como alternativa para el manejo de *Sclerotium* sp. en el cultivo de Ka´a he´e (*Stevia rebaudiana* Bertoni) donde se demostró que este antagonista reduce el desarrollo de hifas e inhibe en un 97% la formación de esclerocios del patógeno (Orrego 1999). Así también Colman (2011), evaluando la eficiencia de productos químicos y el producto comercial Trichonat (en polvo y suspensión oleosa) a base *Trichoderma* spp. para el control de *Macrophomina phaseolina* en semillas de sésamo no pudo obtener buen control de la enfermedad en plantas inoculadas pero constató que presentaron mayor altura y longitud radicular propiciado por la promoción de crecimiento, típica interacción del antagonista con las raíces de las plantas (Harman *et al*. 2004, Kleifeld y Chet 1992).

Garcete Gómez (2011) investigando sobre pudrición carbonosa en sésamo (*Sesamum indicum* L.) determinó que, después de una selección de cepas nativas de *Trichoderma* spp., cinco redujeron la incidencia de la enfermedad y en otro trabajo Manzur Gamarra (2011) demostró que el mismo antagonista es capaz de inhibir la germinación de esclerocios de *Sclerotium rolfsii* en un 90%. El patosistema Macrophomina phaseolina-soja, en los últimos años ha sido, la más

importante para el Paraguay, debido a la amplia distribución del patógeno, la inexistencia de variedades resistentes o tolerante y la falta de productos eficientes para el control del patógeno (Orrego *et al.* 2013).

Utilizando como patógeno al hongo *Sclerotinia sclerotiorum*, agente causal del moho blanco del tomate, se verifico *in vitro* el efecto inhibitorio de hongos y bacterias antagónicas comprobando la eficiencia de aislados de *Penicillium* sp., y dos cepas de *Trichoderma* spp. A1 y A2 (Chih – Pin Lin 2002).

Experimentaciones con productos biológicos aplicados a la parte foliar de las plantas no han concluido con resultados satisfactorios. Así, se han evaluado productos como Trichonat (producto formulado a base de *Trichoderma* sp.) y Biorrent para el control del complejo de enfermedades foliares de la Menta (*Mentha arvensis* L) donde los resultados fueron poco consistentes para una indicación de alternativa a la producción sin fitosanitarios (Orrego *et al.* 2010).

En uno de los escasos estudios de control de nematodos en invernadero, buscando alternativas al uso de nematicidas, el producto Bio-Bac y el hongo antagonista *Paecilomyces* sp. resultaron ofrecer el mismo nivel de control del nematodo de las agallas *Meloidogyne* sp., *Helicotylenchus* sp., *Tylenchorhynchus* sp. y *Tylenchus* sp. comparado con otras formas de control (Orrego 2001).

A pesar de que la mayoría de los trabajos sean experimentales, la tendencia es que con la incorporación de nuevas técnicas se pase a investigaciones firmes que consoliden el control biológico de enfermedades en Paraguay. La experiencia acumulada junto con la gran cantidad de información y conocimiento disponible actualmente sobre la utilización de biocontroladores hace que su aplicación sea opción válida en la mayoría de los patosistemas de interés en nuestro país. Así, para el patosistema ka´a he´e y patógenos del suelo se han evaluado la eficiencia de control de aislados seleccionados de *Trichoderma* sp. como agente de control biológico, donde fueron seleccionados los aislados A6, A8, A10 cuya eficiencia de control del mix fue de 80% para el complejo de hongos fitopatógenos de suelo formados por *Sclerotium rolfsii, Macrophomina phaseolina* y *Fusarium* sp. (Gamarra 2013). La exigencia de una producción limpia minimizando el uso de productos fitosanitario es cada vez más necesaria por nuevos mercados conquistados, como el de los EEUU cuya FDA (Food and Drug Administration) otorgó el estatus de GRAS (Generally Recognized as Safe) a los derivados del Ka´a he´e reconociéndolo como alimento seguro, por lo que actualmente su producción es una actividad segura y rentable (Escobar *et al.* 2009). Actualmente, el Paraguay es el segundo mayor productor en el mundo después de China con un área de 1500 ha cultivadas, siendo las principales zonas de producción se encuentran en los Departamentos de Alto Paraná, Cordillera, Concepción, San Pedro, Central y Caaguazú donde se estima que existen un total de 40 empresas que ocupan de 15000 a 20000 personas en las distintas etapas de la cadena de producción, comercialización, viveros, industrias, exportación (Galeano *et al.* 2010).

El antagonista *Trichoderma* spp. presenta un gran potencial para controlar varios patógenos donde se incluyen principalmente: *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Botrytis* (Bettiol y Morandi 2009; Gorgen *et al*. 2009) y que son consideradas perjudiciales también en Paraguay.

Estos biocontroladores tienen un mercado seguro en los tiempos que corren en todo el mundo debido a los problemas que se plantean en la agricultura

y patosistemas específicos sobre todo por los beneficios múltiples que ofrecen. Acompañando la tendencia de la comunidad científica interesada en la utilización de antagonistas en el manejo de fitopatógenos, el Departamento de Protección Vegetal de la FCA-UNA ejecutó el proyecto "Control Biológico de *Macrophomina phaseolina* con cepas nativas y comerciales de *Trichoderma* spp". co-financiado por el Instituto de Biotecnología Agrícola (INBIO), donde se realizaron diferentes ensayos de investigación para determinar la eficiencia y viabilidad del control de la enfermedad pudrición carbonosa de la soja causada por *Macrophomina phaseolina*. Se obtuvieron inicialmente aislados seleccionados del antagonista de todas las regiones productoras de soja del Paraguay para seguidamente comprobar la eficiencia *in vitro* e *in vivo* del potencial de control contra el patógeno, así como la compatibilidad de aislados eficientes con fungicidas para tratamiento de semillas de soja (Orrego 2013).

No menos importante, otro grupo son las bacterias benéficas empleadas como agentes de control biológico de enfermedades de plantas, siendo una de las últimas novedades. Experiencias de investigadores nacionales hacen referencia de lo promisor que es la utilización de estos antagonistas. En una selección de bacterias del filoplano de couve (*Brassica oleracea* var. acephala) Grabowski *et al.* (2011a) seleccionaron e identificaron dos aislados como las más eficientes en el control de la pudrición negra (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) y la alternariosis (*Alternaria brassicicola*) de las crucíferas. Estas fueron identificadas y caracterizadas a posteriori como *Bacillus liqueniformis* y *Pseudomonas fluorescens* (Grabowski et al. 2011b).

Evaluando el mismo grupo de antagonistas, Arrua (2013) verificó la eficiencia de control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causante de la marchitez del tomate constatando que las bacterias *Bacillus* sp. y *Pseudomonas flourescens* producen compuestos hidrosolubles y gases volátiles inespecíficos reduciendo el crecimiento del patógeno y la intensidad de la enfermedad en 75%, siendo la mezcla de ambos aun más eficiente. Bogado (2013) confirmó la eficiencia de las mismas bacterias benéficas en la reducción de la severidad de la mancha parda (*Bipolaris oryzae*) del arroz.

El actual estado del arte en el control biológico de enfermedades considera como fundamental al trinomio patógeno-planta-antagonista la más acertada, debido que al mismo tiempo de ocurrir antagonismo puede estar sucediendo en la planta algunas modificaciones internas y externas que pueden inducir respuestas de defensa contra patógenos. Estas respuestas pueden ser inducidas por diferentes tipos de microorganismos y productos bióticos o abióticos. Así, Álvarez y Grabowski (2013) validaron el extracto de Ka´a he´e como inductor de resistencia de plantas a patógenos por no ejercer acción antimicrobiana directa sobre *Xanthomonas campestris* pv. *sesami* y reducir significativamente la intensidad de la mancha bacteriana en plantas de sésamo (*Sesamum indicum* L.). Utilizando rizobacterias aisladas y seleccionadas del rizoplano del arroz, Santiago *et al.* (2010) confirmo que bacterias benéficas además de ejercer antagonismo clásico también inducen resistencia contra la mancha parda.

En esta era de la biotecnología y la biología molecular la elaboración-obtención de productos formulados mediante plantas piloto son metas estratégicas. Este optimismo se hace posible debido al acompañamiento de

varios nuevos aliados que tienen las universidades para la investigación que apuntan a estas aéreas de conocimiento oportunas y actuales. Recientemente, el Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria – IPTA en cooperación con el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura – IICA) ha fortalecido con infraestructura y equipo técnico el Laboratorio de control biológico para la producción a gran escala del antagonista *Trichoderma* spp. con el objetivo de distribuirla entre productores hortícolas y en patosistemas específicos donde este tipo de control sea significativo.

El SENAVE junto con otras instituciones contribuye en garantizar la calidad y la inocuidad de productos vegetales, que tengan un riesgo mínimo para la salud humana, animal, las plantas y el ambiente. Para ello se establecen y mantienen relaciones de colaboración y transferencia de tecnologías y conocimientos con otras entidades vinculadas directa o indirectamente al campo de la calidad e inocuidad de productos vegetales. Así también es de su competencia el registro de empresas, responsables técnicos, productos biológicos o microbiológicos, equipos y materiales de aplicación. Sobre todo la de autorizar la realización de ensayos de eficacia para los productos biológicos o microbiológicos, a ser utilizados en sistemas de producción orgánica, ecológica o biológica.

En un levantamiento de datos se verificó que existen pocos productos indicados para el control biológico de enfermedades de plantas con registro vigente, pese a que varios estaban en proceso de evaluación. Así también, se constato la disponibilidad de productos biológicos para el control de insectos y otros compatibles con la producción biológica con habilitación para el comercio local (Cuadro 1). En este sentido llamamos a la interacción de autoridades fitosanitarias e importadores a trabajar en conjunto para disponibilizar estos bioproductos y encaminar su utilización de manera más abierta, sencilla y sobre todo validado para garantizar la aceptación por parte del productor.

Perspectivas futuras de control biológico

Ante la capacitación de técnicos en áreas poco exploradas y estudiadas en nuestros laboratorios se abre un gran abanico de oportunidades para encarar nuevas investigaciones direccionadas a validar y dar consistencia a los resultados en control biológico de enfermedades y poder ir más allá de una placa de Petri lo que fue siempre objetado a esta disciplina.

Continuar estudiando antagonistas como *Trichoderma* spp., no solamente como controlador biológico, también explorando sus otras cualidades como la de promoción de crecimiento, inducción de resistencia y la capacidad de tolerancia al estrés hídrico que proporciona a plantas, son líneas de investigación prometedoras. Así también, y no menos, la investigación enfocada a antagonistas como bacterias benéficas del filoplano y rizoplano siguen en destaque mundial por la significancia de sus mecanismos de acción para el control biológico de enfermedades en muchos cultivos y en diferentes ambientes, como también la posibilidad de promover el crecimiento vegetal y sobre todo la de inducir resistencia en plantas, hacen de estos biocontroladores claves para el desarrollo

Cuadro 1. Productos biológicos para el control de insectos y otras compatibles con la producción biológica que se encuentran habilitadas para el comercio en Paraguay.

Registro	Producto	Registrante	Principio Activo	Formulación*	Toxicidad	Origen	Clase
1001	BT - 2 X	BIO AGRO S.R.L.	*Bacillus thuringiensis* 6,4%	WP	IV	PERU	INSECTICIDA BIOLOGICO
2801	BIO-CURE- F	POINT PARAGUAY S.R.L	*Trichoderma.viridae* 1,15%	WP	IV	INDIA	BIOLOGICO
917	TRICHODEX 25 WP	MAKHTESHIM AGAM PARAGUAY S.R.L	*Trichoderma. harzianum* T-39-25%	WP	IV	ISRAEL	BIOLOGICO
2964	COOPERVIRUS PM	SOCIEDAD AGRICOLA GOLONDRINA S.A.	*Baculovirus anticarsia* 0,60%	WP	IV	BRASIL	INSECTICIDA
2755	TRACER	DOW AGROSCIENCES PARAGUAY S.A.	(SPINOSYN A + SPINOSYN D) 48%	SC	IV	ESTADOS UNIDOS	INSECTICIDA
3264	ABAMEC	TECNOMYL S.A.	ABAMECTINA 1,8%	EC	II	PARAGUAY	INSECTICIDA
3851	LI 700	GLYMAX PARAGUAY S.A	LECITINA DE SOJA 35% + ACIDO PROPIONICO 35%	EC	IV	ESTADOS UNIDOS	COADYUVANTE

Fuente: SENAVE

de bioproductos.

Queda de sobre manera entendido que debemos propiciar el interés de los agricultores por este tipo de control, que son de gran utilidad, quizás no para erradicar enfermedades pero si, para el manejo integrado y eficiente en sistemas sensibles a la degradación o para conquistar mercados exigentes con el uso de productos fitosanitarios.

Como solamente generar conocimiento no basta, la transferencia de tecnología basada en la selección y formulación de un biocontrolador a partir del trabajo de todos los estamentos técnicos del estado y privados, será prioritario para la mayor relevancia de esta alternativa y de esta forma llegar al productor con la seguridad, calidad e inocuidad que deben caracterizar a este tipo de productos.

Por último, apuntar a la caracterización molecular de todos los antagonistas seleccionados que hayan demostrado eficiencia en cualquiera de las fases o mecanismos y especialmente en la función de agente de control biológico de enfermedades. Pretendemos con el incentivo institucional y el apoyo de aliados del conocimiento proyectar programas para priorizar y fortalecer la selección de agentes de control biológico buscando su formulación de forma experimental para el fortalecimiento de control biológico de enfermedades en Paraguay y toda la región.

Bibliografía

Altieri MA, Nicholls CI. 2000. Diseños agroecológicos para incrementar la biodiversidad de entomofauna benéfica en agroecosistemas. SOCLA. 82p.

Alvarez F, Grabowski C. 2013. Inducción de resistencia en plantas de sésamo (*Sesamum indicum* L.) a la mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *sesami*) Investigación Agraria FCA – UNA (Py) 15: 97-105.

Alves S. 1986. Controle microbiano de insectos. São Paulo Brasil: Editora Manole Ltda. 407 p.

Arrua Alvarenga PD. 2013. Control biológico de la marchitez del tomate (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) con las bacterias *Bacillus* sp. y *Pseudomonas flourescens* Tesis Ing. Agr. San Lorenzo, PY, Carrera de Ingeniería Agronómica, FCA, UNA. 56 p.

Baker KF, Cook RJ. 1974. Biological control of plant pathogens. WH Freeman, San Francisco.

Bettiol W, Ghini R, Morandi MAB, Stadnik MJ, Kraus U, Stefanova M, Prado AMC. 2008. Controle biológico de doenças de plantas na América Latina. En: Alves SB, Lopes RB (eds.) Controle microbiano de pragas na América Latina – avanços e desafios. Piracicaba. FEALQ. 2008. pp. 303-331.

Bettiol W, Morandi MAB. (eds.). 2009. Biocontrole de doenças no Brasil: uso e perspectivas. Embrapa, Sao Paulo- Brasil. 341pp.

Bogado ME. 2013. Control biológico de la mancha parda del arroz (*Bipolaris oryzae*) con cepas de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas fluorescens* Tesis Ing. Agr. San Lorenzo, PY, Carrera de Ingeniería Agronómica, FCA, UNA. 51 p.

Chih–Pin Lin E. 2002. Control in vitro de *Sclerotinia sclerotium* (Lib) de Bary, agente causal del moho blanco del tomate. Tesis Master. San Lorenzo, PY, Carrera de Ingeniería Agronómica, FCA, UNA. 64 p.

Colman AA. 2011. Tratamiento Químico y Biológico en semillas de sésamo (*Sesamum indicum* L.) para el control de *Macrophomina phaseolina*. Tesis Ing. Agr. San Lorenzo,

PY, Carrera de Ingeniería Agronómica, FCA, UNA. 50 p.
Druzhinina IS, Seidl-Seiboth V, Herrera-Estrella A., Horwitz BA, Kenerley CM, Monte E, Mukherjee PK, Zeilinger S, Grigoriev IV, Kubicek CP. 2011. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. Nature Rev Micro 9: 749-759.
Escobar A, Schneider C, Eikelenboom P, Ortiz C, Farfán O, Lauschus AM. 2009. Aumento de la competitividad de la cadena de la stevia. Asunción, PY. Banco Interamericano de Desarrollo. 28 p.
Galeano V, Gonzales S, Velázquez G. 2010. Análisis de la situación del clúster de stevia en el Paraguay actualidad, perspectivas y desafíos para su desarrollo. Revista Iberoamericana de Ingeniería Industrial.1: 2-25.
Gamarra Sosa G. 2013. Control biológico de hongos fitopaógenos del suelo con aislados de Trichoderma spp. en el cultivo de ka´a he´e (*Stevia rebaudiana* [Bertoni] Bertoni) Tesis Ing. Agr. San Lorenzo, PY, Carrera de Ingeniería Agronómica, FCA, UNA. 51 p.
Garcete Gómez JM. 2011. Efecto de aislados nativos de *Trichoderma* spp. en la incidencia de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid en sésamo (*Sesamun indicum* L.) Tesis Ing. Agr. San Lorenzo, PY, Carrera de Ingeniería Agronómica, FCA, UNA. 46 p.
Gorgen CA, da Silveira AN, Carneiro LC, Ragagnin V, Lobo Junior M. 2009. White mold control with mulch and *Trichoderma harzianum* 1306 on soybean. Pesquisa Agropecuária Brasileira 44: 1583-1590.
Grabowski C, Orrego A, Stauffer A. 2005. Incidencia de sustratos sobre la esporulación de hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces* sp. Investigación Agraria FCA – UNA (Py) 7: 42-48.
Grabowski C, Santiago TR, Moreira NF, Milagres E A, Oliveira JR. 2011. Bactérias isoladas do filoplano no biocontrole da alternariose e da podridão negra da couve. In: Tropical Plant Pathology , 2011 Bento Gonçalves-RS .
Grabowski, C, Santiago TR, Moreira NF, Milagres E A, Oliveira JR. 2011. Caracterização da potencialidade antagônica dos isolados bacterianos UFV-215 e UFV-247 selecionadas do filoplano da couve contra a alternariose e podridão negra. In: Tropical Plant Pathology, 2011 Bento Gonçalves-RS.
Harman GE, Howell CR, Viterbo A, Chet I, Lorito M. 2004. Trichoderma species - Opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology 2:43-56.
Howell CR. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Disease 87:4-10.
INBIO, UGP (Instituto de biotecnología agrícola & Unión de Gremios de la Producción) 2011. Tierra y Conocimiento: Un recorrido por la agricultura y su gente en Paraguay. 159 p
Kleifeld O, Chet I. 1992. *Trichoderma harzianum* - Interaction with Plants and Effect on Growth-Response. Plant and Soil 144:267-272.
Kliewer I, Candia S. 1998. Control Biológico de plagas con *Baculovirus anticarsia* San Lorenzo, Py
Manzur Gamarra MA. 2011. Control de *Sclerotium rolfsii* con aislados nativos y comerciales de *Trichoderma* sp. in vitro.Tesis Ing. Agr. San Lorenzo, PY, Carrera de Ingeniería Agronómica, FCA, UNA. 40 p.
Orrego A. 2013.Trichoderma spp. hongobiocontrolador de fitopatógenos. FCA-UNA/ INBIO Asunción 127p.
Orrego AL. 1999. Estudio de supervivenciaenelsuelo y controldelhongoSclerotiumsp. enel cultivo de Ka´ahe´e (SteviarebaudianaBertoni). Informe final. FCA, UNA. San Lorenzo, PY
Orrego AL. 2001. Estudio de nematodos, por diferentes métodos, en el cultivo del pepino bajo invernadero. Informe final. FCA, UNA. San Lorenzo, PY.
Orrego AL, Pino CD, Rodríguez HN. 2010. Evaluación de productos para control del

complejo de enfermedades foliares de la *Mentha arvensis* l. en Mayor Otaño (Itapúa-Paraguay). Informe final. FCA, UNA. San Lorenzo, PY. 194-202.

Orrego AL, Grabowski C, Rodriguez Soilán L. 2009. Distribución geográfica de *Macrophomina phaseolina* en semillas de soja, sésamo y maní. In: Orrego, A. (ed) *Macrophomina phaseolina*, hongo causante de la pudrición carbonosa del tallo. San Lorenzo p. 27-34

Paulitz TC, Bélanger RR. 2001. Biological control in greenhouse systems. Annual Review of Phytopathology 39:103-133.

Portillo C. 2004. Control de patógenos en tres variedades de semillas de maíz (*Zea mays* L), a través de metabolitos termoestables no volátiles de *Bacillus* spp.; extracto de *Bacillus* spp. y Thiram + Carbendazim en condiciones in vitro. Tesis Ing. Agr. San Lorenzo, PY, Carrera de Ingeniería Agronómica, FCA, UNA. 31 p.

Samuels GJ. 1996. *Trichoderma*: A review of biology and systematics of the genus. Mycological Research 100:923-935.

Santiago TR, Grabowski C, Romeiro RS. 2010. Indução de resistência e biocontrole da mancha parda do arroz (*Bipolaris oryzae*) pelo uso de rizobactérias. In: Tropical Plant Pathology, 2010 Cuiabá – MT.

Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Woo SL, Lorito M. 2008. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. Soil Biology & Biochemistry 40: 1-10.

Capítulo 15

Control biológico de enfermedades de plantas en Perú

Gustavo A. Guerrero Paretto[1],Diana I. Moreno Baca[2], Katya I. Barrionuevo Albújar[2]

[1]Empresa Beggie Perú SAC. Ciudad de Trujillo- Perú. [2]Empresa Soluciones Agrosostenibles (SOLAGRO SAC) Avenida Metropolitana F1- 5 Ciudad de Trujillo –Perú

Introducción

El control biológico en Perú, dentro del marco del manejo integrado de cultivo, tiene más de 100 años, pero toma un mayor impulso a partir del año 1995 con el incremento de las exportaciones de productos hortícolas, en especial del espárrago. Las restricciones en el uso de pesticidas y el control de residuos en el producto terminado, han llevado a las empresas agrícolas a buscar alternativas a los problemas fitosanitarios.

La mayor parte de los cultivos de exportación se producen en la costa peruana, debido a que las condiciones climáticas favorecen el crecimiento de casi cualquier cultivo durante todo el año. Debido a esto, diversos insectos plaga y enfermedades encuentran condiciones propicias para incrementar sus poblaciones.

Durante todo este tiempo los grandes cambios han sido consecuencias de grandes crisis. Debemos llegar al límite para aceptar que estos pequeños individuos llámense insectos o microorganismos tienen la respuesta y que por algún motivo han sobrevivido sobre la faz de la tierra desde hace millones de años antes que nosotros. El trabajo no es fácil, se debe ser muy perseverantes y estar seguros, en base a la observación e investigación, que contamos con el agente de control biológico indicado. Así también, las soluciones son más complejas e involucran además del manejo sanitario, mejoras en la nutrición de las plantas, un manejo eficiente del riego, labores culturales oportunas, conocer la fisiología de nuestro cultivo, que producto queremos obtener. La labor no es sencilla pero sí apasionante.

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

Esperamos que esta breve reseña permita conocer un poco más de la labor realizada en nuestro país en el área agrícola y en control biológico.

Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria (SENASA)

Es una organización reguladora del control biológico en Perú. Cuenta con un Programa Nacional de Control Biológico, organismo no estructurado cuyo objetivo fue intensificar el uso del control biológico en cultivos de importancia económica, mediante la capacitación, promoción y venta de agentes de biocontrol a los agricultores; con lo cual se logró incrementar el empleo del control biológico de 10.000 ha/año a 253.000 ha/año en un período de seis años.

Dentro de los logros importantes del SENASA podemos mencionar la introducción e implantación de especies benéficas exóticas entre los años 1995 y 2004: 1- tratamiento de 253.000 ha anuales con un ahorro del 50% comparado con el uso de pesticidas en 17 cultivos de importancia económica en el país, y desarrollo de más de 50 empresas productoras de controladores biológicos. 2 - promoción del desarrollo y empleo de entomopatógenos, en cultivos como algodón, café, plátano y caña de azúcar. 3- experimentación en el área de hongos antagonistas para el control de moniliasis en cacao, *Fusarium* en flores y *Botrytis* en tomate, mediante el empleo de *Trichoderma viride, Trichoderma harzianum* y *Trichoderma virens*, con buenos resultados. 4- capacitación de profesionales, técnicos, alumnos de institutos, universidades y agricultores en evaluación de plagas y el empleo del control biológico.

Servicio Nacional de Sanidad Agraria en el departamento de La Libertad

La Libertad es el único departamento del Perú que abarca las tres regiones naturales: Costa, Sierra y Selva, con Latitud sur 6° 56´ 38" y Longitud oeste entre meridianos 79° 27´ 9» y 79° 41´ 18». Su temperatura promedio oscila entre los 20 ºC y 21 ºC, en verano (enero a marzo) supera los 30 ºC y en invierno (junio a agosto) las pequeñas garúas humedecen la campiña de la costa. La altitud varía entre 0 y 4.696 m.s.n.m. Está constituido por cuatro valles: Santa Catalina, Chao–Viru, Chicama y Jequetepeque. Los cultivos de importancia son: caña de azúcar: 43.000 ha, arroz: 31.000 ha, maíz amarillo: 30.000 ha, papa: 22.000 ha, espárrago: 15.000 ha y palto: 3.597 ha.

En el departamento de La Libertad, existe una Asociación de Propietarios de Terrenos de Chavimochic (APTCH), que cuentan con personal calificado para realizar un manejo integrado de plagas de sus cultivos. Además cuentan con un laboratorio que se encarga de verificar que los controladores biológicos que se venden (insectos, hongos entomopatógenos y antagonistas) en esta zona cumplan los parámetros de calidad establecidos.

Control biológico de enfermedades en el cultivo del palto

Existen diversas enfermedades que afectan el cultivo de palto, entre las que se mencionan: Pudrición radicular (*Phytophthora cinnamomi*) Oidiosis (*Oidium* spp.), Mildiu negro (*Asperidella* perseae) y Moho gris (*Botrytis cinerea*). Para el control de esas enfermedades se utilizan enmiendas orgánicas, microorganismos como: *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., Actinomycetes, *Trichoderma viride, Trichoderma harzianum* y empleo de mulch (Apaza Tapia 2012).

En el 2006, en la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) se realizó un trabajo de investigación evaluando un producto comercial a base de *Trichoderma* (Custom GP) para control de *Lasiodiplodia theobromae.* Se inocularon plantones de palto a las 12 semanas de edad, con diferentes concentraciones de Custom GP: T1 y T4 0,05 %; T2 y T5 0,1%; T3 y T6 0,15%, para producir la enfermedad inocularon los T1, T2, T3 y T7 con una suspensión del patógeno de 1 x 10^7 esporas/ml a las 22 semanas de edad; se mantuvo como testigo absoluto al T8. Se observó que *Trichoderma* (Custom-GP) en los tratamientos T2 y T3 ejerció un efecto inhibitorio contra *Lasiodiplodia theomobrae* en raíces de palto e incrementó el desarrollo radicular, peso seco y altura de planta (Jarecca Rivera y Mattos Calderón 2006).

En la zona norte del país, se han desarrollado ensayos con *Trichoderma* para el control de *Phythopthora cinnamomi* en palto. Solagro SAC en convenio con la Empresa Hass Perú, determinaron el efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma* sp. aislamiento Solagro, en el desarrollo de plantones de palto en campo. Se utilizó sustrato colonizado con las cepas anteriormente mencionadas en una concentración de 1x10^9 conidias/g, y se probaron dos dosis: 15 y 30 g/planta. Se inocularon los tratamientos de hongo mezclado con 4 kg de humus en cada plantón al momento del trasplante. El humus se colocó en anillo alrededor de cada plantón. Se consideraron 3 surcos de 29 plantas cada uno por cada tratamiento, haciendo un total de 12 surcos en el ensayo. Se demostró un efecto supresor sobre el hongo *Phytophthora cinnamomi* y especialmente la cepa *Trichoderma harzianum* (TM) manifestó el incremento del desarrollo radicular y foliar de las plantas inoculadas. En la prueba de campo, dosis de 30 g de sustrato colonizado con este hongo por planta, aplicados al momento de trasplante, aumentaron en 8% el grosor del tallo y en 4% la altura de la planta respecto a las plantas no tratadas en un período de 8 meses. Aplicaciones a nivel de vivero, colocando dosis de 20 a 40 g por bolsa acortaron los tiempos de envío a trasplante al campo definitivo. Árboles afectados por *Phytophthora cinnamomi* en niveles de infección iniciales fueron recuperados con dosis de 50 g por planta más adiciones de materia orgánica (Apaza Tapia 2012).

Se realizó una evaluación con compost supresivos como alternativa para la reducción de chupaderas fungosas. Los objetivos fueron: determinar el momento óptimo de inoculación de *Trichoderma harzianum* durante el proceso de compostaje; evaluar tres tipos de rastrojos vegetales en función al efecto de *Trichoderma harzianum* en el porcentaje de descomposición de rastrojo y la población final del controlador; evaluar el comportamiento de patógenos causantes de chupaderas fungosas ante la adición de compost supresivo. El aislamiento FITO-UNALM de

Trichoderma harzianum fue inoculado en las pilas del material que conformaba el precompost por tratamiento de tipo de rastrojo y momento de inoculación. Posteriormente se realizaron las pruebas de control de *Phytophthora*, en páprika y *Fusarium* en espárrago con el compost supresivo. El nivel de temperatura alcanzado en la pila de compost en los tratamientos que recibieron la inoculación de *Trichoderma harzianum* llegó a 80 °C. El hongo *Trichoderma harzianum* aceleró el proceso de compostaje con los tres tipos de rastrojo. La mayor concentración de *Trichoderma harzianum* se obtuvo cuando la inoculación se realizó al segundo volteo en los rastrojos de algodón y maíz y al primer volteo en el rastrojo de cebada. Se observó un efecto supresivo a *Phytophthora* y *Fusarium* al utilizar los compost inoculados con *Trichoderma harzianum*.

Debemos indicar que a raíz de estas y otras investigaciones tanto a nivel académico como privado, en el cultivo de Palto, se incluye en el manejo sanitario la inoculación de *Trichoderma*. El riesgo de infección por *Phytophthora* es elevado debido a la fuente de agua de las irrigaciones. Todas provienen de zonas alto andinas donde este patógeno crece de forma natural (Tabori *et al.* 2006).

Efecto de la remoción de tejidos enfermos y la aplicación de *Trichoderma* para el control de enfermedades de los frutos de cacao

El efecto de *Trichoderma* (TR6), procedente de Tingo María, Huánuco, y la remoción quincenal de tejidos enfermos para controlar moniliasis, escoba de bruja y pudrición parda fue verificada en Cachiyacu - Tarapoto. Los tratamientos T_0 = sin remoción de frutos y sin TR6, T_1 = con remoción y con TR6, T_2 = con remoción y sin TR6; T_3 = sin remoción y con TR6, distribuidos en diseño BCR con tres repeticiones y parcelas con 15 plantas. TR6 se aplicó mensualmente en total cuatro veces. Del registro anual de frutos con moniliasis, escoba de bruja y pudrición parda y peso de almendra, se obtuvo la incidencia de frutos enfermos, tasa de incremento de la enfermedad, área debajo de la curva de progreso de la enfermedad y rendimiento. El análisis del progreso de la enfermedad se realizó bajo el modelo de regresión monomolecular. La incidencia de frutos enfermos fue menor en T_1 (15,2%) y mayor en T_0 (66,5%). La moniliasis fue más frecuente en T_0, mientras que en los demás tratamientos predominó la escoba de bruja; no se observaron frutos con pudrición parda. La reducción de la incidencia de frutos enfermos por TR6 fue 3,1%, y mayor en combinación con remoción (14,4%); ésta sola la redujo a 36,9%. La incidencia de escobas totales en brotes tuvo efecto similar, sin efecto significativo con TR6 (0,9%), y aumentando en combinación con remoción (5,7%); esta última disminuyó en 30,7% la incidencia de escobas vegetativas. La tasa de incremento de la enfermedad y área debajo de la curva de progreso de la enfermedad fueron directamente proporcionales a las incidencias y los rendimientos inversamente proporcionales a la incidencia de enfermedades en todos los tratamientos (Bernales *et al*. 2000).

Efecto de *Trichoderma harzianum* sobre la moniliasis *(Moniliophthora rorei)*

La moniliasis es el principal problema fitosanitario del cacao y se encuentra diseminada en todas las áreas productoras del país. El experimento se instaló en plantaciones del INIEA-Pucallpa, para determinar el efecto de *Trichoderma harzianum* (T_1) y *Trichoderma viride* (T_2) en el control de esta enfermedad. Los hongos antagónicos se inocularon cada 14 días con una dosis de 0,5 kg/15 litros de agua. Los parámetros evaluados fueron incidencia de frutos enfermos por moniliasis, severidad de frutos con síntomas, la tasa de incremento de la enfermedad y el área debajo de curva de progreso de la enfermedad. El análisis de la tasa de incremento de la enfermedad se realizó bajo el modelo de regresión logit. La incidencia de frutos enfermos y el severidad de frutos fue mayor en el testigo (51,5% y 37,2%) y menor para T_1 (25,54% y 26,4%), T_2 (27,89%) y 27%). T_1 y el T_2, bajo un nivel de significación p=0,05, se comportaron diferente al testigo. Estos resultados demuestran el efecto antagónico sobre *Moniliophthora roreri,* que además se corroboraron *in vitro*, concluyendo que *Trichoderma harzianum* es capaz de inhibir el crecimiento del patógeno y de parasitarlo, mientras que *Trichoderma viride* solamente logró inhibir su crecimiento. La tasa de incremento de la enfermedad y área debajo de curva de progreso de la enfermedad fueron directamente proporcionales a las incidencias en todos los tratamientos (Verde Bedoya y Sánchez 2004).

Biocontrol de chupadera fungosa con *Trichoderma viride* en algodonero

Se probó el efecto de *Trichoderma viride* sobre *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani*, agentes causales de chupadera fungosa en algodonero, en condiciones de invernadero en Lambayeque utilizando suelo infestado con los fitopatógenos. El tratamiento con el biocontrolador se aplicó al suelo y a la semilla. Cuando se aplicó al suelo se utilizaron cultivos de *Trichoderma viride* en arena: harina de maíz al 20% (D_1:5% y D_2: 10%) y cuando fue a la semilla se utilizó una suspensión de esporas (D_1: 10.000 x 10^4 conidias/cm^3 y D_2: 15.000 x 10^4 conidias/cm^3). Los resultados indican que *Trichoderma viride* tiene un buen efecto controlador sobre *Rhizoctonia solani* registrando una germinación de 93,33% (D_2) a 100% (D_1) cuando fue aplicado al suelo y de 73,33% (D_1) a 80,33% (D_2) al tratar la semilla. El índice de daño fue de 25,00 (D_1) a 35,00% (D_2) en el tratamiento al suelo y a la semilla fue de 38,33 (D_1) a 40,00% (D_2). Mientras que en los testigos la germinación fue nula y con un índice de daño del 100% (Vásquez y Vallejos 1994).

Control de *Sclerotium rolfsii* con enmiendas orgánicas y microorganismos antagónicos

Sclerotium rolfsii es un patógeno destructivo en muchos cultivos de importancia económica en los cuales ocasiona severos daños y pérdidas cuantiosas. Se mantiene viable por muchos años en forma de esclerotes lo cual dificulta su control. Este patógeno se ha registrado en zonas de Costa norte y Costa central del país afectando en forma severa cultivos de algodón, cebada, frijol y papa. En el presente trabajo se reporta la posibilidad de utilizar compost, aserrín y biocontroladores como *Bacillus*, *Gliocladium roseum*, *Streptomyces rimosus* y *Trichoderma viride* como alternativas de control químico de seis aislamientos provenientes de diferentes áreas ecológicas del país. La materia orgánica fue incorporada en macetas con suelo-arena mezclada con 100 esclerotes de cada aislamiento del hongo. Los biocontroladores fueron sembrados simultáneamente en los medios papa dextrosa agar y avena agar incubados a 30 °C observándose zonas de inhibición y desintegración de *Sclerotium rolfsii*. Semillas de cebada variedad UNA-80 y Zapata fueron inmersas en suspensiones de esporas y células bacterianas por 5 minutos y mezclada con 50 esclerotes, luego colocadas en macetas con suelo-arena a profundidad de 5 cm. Sus interacciones se evaluaron bajo condiciones de invernadero. La materia orgánica no impidió que los esclerotes pierdan viabilidad pero se obtuvo un incremento de materia seca en las plántulas de cebada con compost. *Trichoderma viride* ejerció mayor biocontrol que el resto de los microorganismos, caracterizándose por su fácil cultivo *in vitro*, alta densidad reproductiva, por parasitar internamente micelio y esclerotes mediante estaquillas o clavijas de las hifas que matan al patógeno. *Bacillus* y *Streptomyces rimosus* actuaron a distancia ocasionando reducción en la formación micelial y esclerocial por medio de sustancias antibióticas. *Gliocladium roseum* fue menos efectivo en el biocontrol de *Sclerotium rolfsii* (Olivos y Mont 1985).

Control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* con *Trichoderma viride* y distintas enmiendas orgánicas

En condiciones de invernadero se evaluó el efecto de cuatro enmiendas orgánicas: compost, estiércol, paja seca de cereales y humus de lombriz sobre el desarrollo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* en plántulas de cebolla. Adicionalmente, a cada enmienda se le inoculó el biocontrolador *Trichoderma viride* a razón de 10 g por maceta y un testigo sin inoculación. Plántulas de cebolla de la variedad Granex 33 desarrolladas en suelo estéril, fueron trasplantadas a macetas con los distintos tratamientos. Se probaron dos técnicas de inoculación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*: Punción al disco basal e inmersión en una solución de conidias y la inoculación al suelo de *Fusarium* desarrollado en bolsas con trigo. Los parámetros evaluados fueron: longitud de raíces, grado de ataque de *Fusarium*, porcentaje de plantas muertas y altura de planta. Todas las enmiendas orgánicas mostraron un efecto positivo con el hongo *Trichoderma*

en control de *Fusarium*. Todas las enmiendas mostraron efecto de control sobre *Fusarium*, siendo más notorio este efecto cuando la inoculación de *Fusarium* fue hecha directamente al suelo. El mejor control lo efectuó el humus de lombriz seguido del compost y la paja seca de cereales (Apaza Tapia y Mattos, 1998).

Control biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* con rizobacterias, *Trichoderma* y humus de lombriz

Seis aislamientos bacterianos de la rizósfera del espárrago, *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* y dos niveles de humus de lombriz, fueron evaluados para comparar su efecto antagónico bajo condiciones *in vitro* y en invernadero. Los estudios *in vitro* se realizaron en medio PDA y utilizando el método de enfrentamiento de colonias, las bacterias y *Trichoderma* contra *Fusarium*, evaluando su efecto inhibitorio. En invernadero se utilizaron coronas de espárrago de 5 meses de edad, que fueron inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* (10^6 conidias/ml), rizobacterias (10^7ufc/ml), *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* (10 g/planta) y enmendadas con el humus de lombriz en relaciones suelo:humus 5:1 y 10:1. Siete meses después se evaluó el efecto de control, midiendo el grado de pudrición de la corona, altura de planta, peso de materia fresca, peso de materias seca y longitud de raíces. Los resultados *in vitro* mostraron el efecto inhibitorio del crecimiento del hongo por las bacterias y *Trichoderma*. En invernadero 4 de los seis aislamientos bacterianos, las dos especies de *Trichoderma* y el humus de lombriz, mostraron control sobre *Fusarium*, siendo el mejor tratamiento el humus de lombriz en proporción de 5:1. Las rizobacterias mostraron tener efecto promotor del crecimiento de las plantas de espárrago (Gonzales *et al.* 2002).

Influencia de la aplicación de *Trichoderma* sobre el rendimiento del frijol canario centenario

Los altos costos de producción del fríjol y las enfermedades radiculares que se presentan durante el desarrollo del cultivo son factores que afectan considerablemente el retorno económico A fin de determinar la influencia en el rendimiento de productos biocontroladores que contienen *Trichoderma* se sembró fríjol de la variedad Canario Centenario y se realizaron dos aplicaciones dirigidas al suelo (la primera a la siembra y la segunda un mes después). Las evaluaciones se realizaron semanalmente, la dosis de los tratamientos fueron: T_1 (TrichoD® 100 g/ha), T_2 (TrichoD 200 g/ha), T_3 (TrichoD 300gr/Ha), T_4 (Mycobac® 100 g/ha), T_5 (Mycobac® 200 g/ha), T_6 (Mycobac® 300 g/ha), T_7 (Custom GP® 100 g/ha), T_8 (Custom GP 200 g/ha), T_9 (Custom GP® 300 g/ha) y T_{10} (Testigo). El tratamiento T_3 dio el mejor rendimiento (2.722 t/ha) pero no tuvo diferencias significativas con los tratamientos T_6 (2.326 t/ha) y T_5 (2.277 t/ha); el tratamiento

T_{10}, mostró el menor rendimiento (1.476 t/ha) y tuvo diferencias significativas con los tratamientos T_2 (2.147 t/ha), T_5, T_6 y T_3 (Mamani y Mattos 2004).

Efecto de controladores biológicos de fitopatógenos de suelo en el cultivo de pepinillo *(Cucumis sativus)* en el Valle de Huaral

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de los controladores biológicos de fitopatógenos de suelo para lograr incrementar la producción y calidad del fruto de pepinillo. Se tuvieron los siguientes tratamientos: T_1 (Mycobac® 300 g/ha), T_2 (Mycobac 400 g/ha), T_3 (Biostat® 100 g/ha), T_4 (Biostat150 g/ha) y T_5 (Testigo). En las plantas de pepinillo se evaluó las características biométricas, agronómicas y la presencia de fitopatógenos del suelo. Los mejores resultados en la evaluación biométrica se obtuvieron en T_4 y T_1; en cuanto a los caracteres agronómicos, el mayor número y peso de frutos fue obtenido en T_2 y T_3. En el control de fitopatógenos del suelo, todos los tratamientos fueron eficientes comparados con el testigo, lográndose los mejores resultados a mayores dosis. Una mayor tasa de retorno económico fue obtenido en el tratamiento Biostat 100g/ ha (T_3) (Dávila y Chancayllo 2004).

Situación actual del control biológico

Luego del largo camino recorrido se ha conseguido incluir el uso de agentes biológicos dentro del programa fitosanitario de las empresas en la zona norte. Sin embargo, para hacerlo sostenible era necesario contar con el abastecimiento oportuno, en la cantidad y calidad requerida, para lo cual se creó el mercado y con ello la aparición de empresas proveedoras.

Con la iniciativa del sector privado y el apoyo del SENASA, en el año 2009 se logró consolidar la creación Asociación Peruana de Control Biológico, que actualmente agrupa a más de 20 empresas a nivel nacional dedicadas a la crianza y reproducción de agentes biológicos. El objetivo de la organización es la capacitación permanente y difusión de la investigación realizada en el área. Participan en ella profesionales vinculados en la asesoría y difusión del manejo integrado de plagas y enfermedades del ámbito estatal y privado.

En Perú las empresas trabajan principalmente con hongos entomopatógenos y antagonistas y en problemas radiculares. Los principales clientes son las empresas agroindustriales exportadoras de espárrago, palto, vid y capsicum, la mayor parte de ellas ubicadas en la costa, cuentan con suelos arenosos y realizan riego por goteo o aspersión. Bajo estas condiciones el problema fitosanitario principal son nematodos (*Meloidogyne*) que encuentran el lugar propicio para desarrollarse. Para combatirlo, se cuenta con un aislamiento de *Paecilomyces lilacinus* eficiente en el control sobre todo si se inocula de forma preventiva. Con el crecimiento de las áreas de palto y al ser irrigadas con agua de las zonas altas, aumenta el riesgo de presentar pudriciones radiculares por

Phytophthora cinnamomi, en este caso y en alianza estratégica con empresas agrícolas desarrolla un programa de inoculaciones con *Trichoderma* con muy buenos resultados.

Consideraciones finales

El uso de microorganismos para el control biológico de diversas enfermedades de plantas, constituye una buena alternativa preventiva y de control más inocuo y efectivo que los fungicidas agrícolas que se expenden en el mercado. En la presente recopilación, se ha podido evaluar que el biocontrol de enfermedades es efectivo siempre y cuando sea preventivo o en un bajo nivel de daño. Es sumamente importante conocer las características fisiológicas del cultivo, la enfermedad a tratar y el biocontrolador. Esto indica que debemos preocuparnos de darle condiciones al microorganismo para que se desarrolle e inhiba el crecimiento del patógeno. A nivel de raíces, es necesario incidir en la importancia de utilizar enmiendas orgánicas para promover el desarrollo de antagonistas y rizobacterias que a la vez de controlar patógenos promueven el crecimiento radicular de la planta.

Agradecimientos

Al Ingeniero Gustavo Guerrero Paretto, por su valioso apoyo en la redacción de éste artículo. Al Ingeniero Marco Zapata Flores, por los aportes de sus investigaciones, para la realización del presente artículo. A la Bióloga Teresa Rosales, por su colaboración en brindarnos información para la redacción de éste artículo.

Bibliografía

Apaza Tapia W. 2012. Manejo Integrado de cultivo de Palto. Curso de asociación de propietarios de terrenos de Chavimochic. Trujillo, Pp. 14 – 15

Apaza Tapia W, Mattos L. 1998. Control de *Fusarium oxysporum* f. sp. cepae con *Trichoderma viride* y Distintas Enmiendas Orgánicas. XV Congreso Peruano de Fitopatología. Pucallpa. Pp.10.

Bernales R, Arévalo G, Zúñiga L, Valles C. 2000. Efecto de la Remoción de Tejidos Enfermos y la Aplicación de *Trichoderma* sp. para el control de enfermedades de los frutos de cacao. XVI Congreso Peruano de Fitopatología. Piura. Pp.7-8.

Dávila G, Chancayllo M. 2004.Efecto de controladores biológicos de fitopatógenos de suelo en el cultivo de pepinillo *(Cucumis sativus* L.) XVIII. Congreso Peruano de Fitopatología. Huaraz. Pp 8-9.

Gonzales J, Mattos L, Delgado M. 2002.Control biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* con rizobacterias, *Trichoderma* spp. y humus de lombriz. XVII Congreso Peruano de Fitopatología. Tarapoto. Pp.11.

Jarecca Rivera L, Mattos Calderón L. 2006. Control de *Lasiodiplodia theobromae* mediante *Trichoderma* spp. en patrones de palto *(Persea americana* Mill.). XIX Congreso Peruano de Fitopatología. Cajamarca. Pp.12.

Mamani M, Mattos L. 2004. Influencia de la aplicación de *Trichoderma* spp. sobre el rendimiento del frijol canario centenario. XVIII Congreso Peruano de Fitopatología. Huaraz. Pp. 10-11.

Olivos M, Mont R. 1985. Control de *Sclerotium rolfsii* con enmiendas orgánicas y microorganismos antagónicos. X Congreso Peruano de Fitopatología. Lima. Pp 9-10.

Tabori M, Aragón L, Apaza W y García S2006. Evaluación de *Trichoderma harzianum* Rifai, en la producción de compost supresivos a patógenos causales de chupaderas. XIX Congreso Peruano de Fitopatología. Cajamarca. Pp. 6.

Vásquez M, Vallejos O. 1994. Biocontrol de chupadera fungosa con *Trichoderma viride* en algodonero. XIII Congreso Peruano de Fitopatología. Tingo María. Pp. 11-12.

Verde Bedoya W, Sánchez E 2004. Efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en la moniliasis *(Moniliophthora roreri*Cif. y Par. Evans *et. al*)del cacao. XIX Congreso Peruano de Fitopatología. Huaraz. Pp. 6.

Capítulo 16

Control biológico de enfermedades de plantas en República Dominicana

Colmar A. Serra

*Investigador Titular, Entomología, Control Biológico e Integrado de Plagas, Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IDIAF), C/Rafael Augusto Sánchez 89, Santo Domingo, República Dominicana. *Autor para correspondencia: colmar.serra@gmx.net*

Introducción

Desde hace alrededor de 15 años existen en el mercado nacional de agroinsumos fungicidas y/o fungistáticos biológicos comerciales registrados por el Departamento de Sanidad Vegetal del Ministerio de Agricultura. Pocas casas comerciales han distribuido un muy reducido número de biopreparados comerciales importados y éstos solamente estuvieron disponibles en pocos negocios y regiones agrícolas del país. Diversos productos basados en cepas de *Trichoderma* spp. (*Trichoderma lignorum* y *Trichoderma harzianum*) fueron registrados, pero en algunos casos fueron descontinuados o su registro venció y no fue renovado por la baja demanda de esta clase de plaguicidas por los productores, o por sus precios relativamente altos entre otras causas. Además, se han detectado problemas de eficiencia de productos por un manejo inadecuado de los mismos en la cadena de producción hasta comercialización, necesitándose en algunos casos su mantenimiento permanente bajo refrigeración, condiciones de las cuales numerosas tiendas de agro-insumos y productores en zonas rurales carecen.

Sin embargo, existe un enorme potencial para el control biológico de fitopatógenos en el país, debido a la orientación cada vez más de subsectores agrícolas a la exportación de productos agrícolas hacia mercados de Norteamérica, Europa, Centroamérica, el Caribe y Asia. El país, por su localización geográfica y condiciones de producción, goza de ventajas comparativas en varios rubros como vegetales de producción protegida, vegetales orientales, bananos, café, cacao, mango, aguacate, entre otros. Las demandas de productos cada vez más inocuos por los mercados, aumentan las exigencias de estándares de calidad y

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN:

las agencias de inspección fitosanitaria y de inocuidad sancionan la presencia, tanto de residuos de plaguicidas como de plagas y enfermedades cuarentenarias. Debido a las exigencias de los mercados de destino y sus agencias regulatorias, el Ministerio de Agricultura ha tenido que prohibir o restringir el uso de ciertas moléculas, siendo afectados también numerosos fungicidas ampliamente usados. Ciertos subsectores orgánicos, incluyendo el del cacao y banano, que están entre los líderes a nivel mundial, como otros con mucho auge, pero con serios problemas fitosanitarios como los vegetales de invernaderos y vegetales orientales, demandan cada vez más productos biológicos y selectivos, en general, para el manejo integrado fitosanitario en sus cultivos. Existe una gama relativamente estrecha de plaguicidas permitidos, lo que ante el uso repetitivo y abusivo de las mismas moléculas fomenta la adquisición de resistencias, resurgencias de poblaciones, intoxicaciones, y contaminación del medio ambiente. Dentro de las medidas tanto preventivas, como curativas, el control biológico de patógenos de plantas puede ser un arma eficaz y con pocos efectos secundarios no deseados. Para su mayor aplicación en la República Dominicana hace falta multiplicar los esfuerzos para el desarrollo de productos basados en cepas nativas, validación de productos comerciales ya existentes y métodos de integración óptima en los sistemas de producción existentes para potenciar y también abaratar los costos del uso de esta herramienta.

Actualmente existen registros vigentes solamente de tres formulaciones de fungicidas/fungistáticos biológicos comerciales: dos de *Bacillus subtilis* (concentrado soluble o granulado) y otra basada en la mezcla de esporas de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma lignorum* y *Gliocladium virens* (polvo humectable).

Reseña histórica de investigaciones en el control biológico de patógenos en la República Dominicana

Existen muy pocos reportes y aún menos publicaciones sobre experiencias realizadas en la República Dominicana en el área temática del control biológico de enfermedades fungosas de plantas. Se ha consultado un listado de estudios realizados y divulgados entre 1995 y 2006 en métodos sustentables a nivel del país, incluyendo tesis de grado, maestría o doctorados, recopilados por el autor (disponible en www.idiaf.gov.do). Entre los 246 estudios registrados, apenas se pudo encontrar un trabajo de tesis relacionado con el control biológico de patógenos de plantas con *Trichoderma* sp. (Moya y Andujar 2004), que hacen mención de estudios realizados para el control de *Phytophthora capsici*, una seria y limitante enfermedad para la producción de pimienta (*Piper nigrum*), en la República Dominicana (Matsuda *et al*. 1997, Andujar *et al*. 1997). En el Laboratorio de Protección Vegetal de la Estación Experimental Mata Larga del Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, ubicada en San Francisco de Macorís, Provincia Duarte (19º 18′ 30″ N y 70º 12′ 27″ O), se lograron aislar y seleccionar cepas de *Trichoderma* spp. mediante pruebas de laboratorio , conservándose hasta la actualidad la cepa TM1, que resultó ser efectiva (Moya y

Andújar 2004).

Durante el período febrero-mayo del 2003, se realizó como parte de una tesis de grado una investigación con el objetivo de evaluar el efecto de *Trichoderma* sp. (cepa TM1) en el control del patógeno *Phytophthora capsici* (cepa PC1), en plántulas de pimienta (*Piper nigrum*) (Moya y Andújar 2004). La investigación se llevó a cabo con un diseño completamente al azar con ocho tratamientos y cuatro repeticiones bajo ambiente controlado en la Estación Experimental de Mata Larga, en la zona nordeste del país. Cada unidad experimental contó con 15 plántulas. Los tratamientos fueron 1) T0: testigo absoluto sin inoculación; 2) P: inoculación con *Phytophthora capsici* (PC1); 3) T: con *Trichoderma* sp. (TM1); 4) P+T: con PC1 + TM1; 5) P3T: con PC1 y 3 días después con TM1, 6) T3P: con PC1 y 3 días después con PC1; 7) P7T: con PC1 y 7 días después con TM1; y 8) T7P: con TM1 y 7 días después con PC1. Las variables evaluadas fueron incidencia y severidad de los daños, mortalidad de plántulas, altura, diámetro del tallo, número de hojas y número de raíces de las plántulas de pimienta. Se observaron diferencias altamente significativas en la incidencia de los daños y mortalidad de plántulas. Los resultados señalan que cuando la cepa de *Trichoderma* sp. se inoculó antes que *Phytophthora capsici* (T3P y T7P), la incidencia de los daños fue de 3,4% con severidad grado 1 (leve) y la mortalidad de plántulas fue de 0%, mientras que cuando *Trichoderma* sp. fue inoculado simultáneamente o después de *Phytophthora capsici* (P+T, P3T y P7T), la incidencia fue de 83,4% con grado 4 (severo) y la mortalidad fue de 73,9%. No se lograron observar diferencias significativas con respecto a la altura, diámetro del tallo, número de hojas y número de raíces de las plántulas de pimienta. Con estos resultados se concluyó que la inoculación preventiva de plántulas de pimienta con *Trichoderma* sp. es efectiva en el control de *Phytophthora capsici*. Se recomienda que durante la producción de plántulas de pimienta se debe aplicar *Trichoderma* sp. al momento de colocarlas en las fundas para prevenir el establecimiento de *Phytophthora capsici* (Moya y Andujar 2004).

Evaluación *in vitro* de la inhibición del *Phytophthora colocasiae* agente causal del Tizón Foliar de la Yautía con cepas de *Trichoderma* spp.

En la República Dominicana se sembraba en el 2004 casi 1,900 ha de taro o localmente llamado yautía coco (*Colocasia esculenta*), sobre todo en una zona tradicionalmente arrocera en el noreste del país. A partir del 2004 se presenta una epidemia del Tizón foliar de la yautía producido por *Phytophthora colocasiae*, originalmente procedente de islas del Océano Pacífico incluyendo Hawai (Méndez *et al*. 2004, Serra *et al*. 2011). Este patógeno causó serias pérdidas y logró prácticamente imposibilitar la producción de este rubro en zonas consideradas húmedas, reduciendo las áreas a unas 440 ha en 2005 y posteriormente a menos de 20 ha en 2007. El cultivo comercial de yautía coco debió ser trasladado a zonas secas bajo riego a goteo. Estudios están en proceso para cruzar la variedad local 'Bun long' susceptible con híbridos resistentes procedentes de la Universidad de

Hawai, pero que no cumplen con las exigencias del consumidor.

Moya y García (2009) han efectuado estudios *in vitro* probando dos cepas denominadas TM1 y TM2 de *Trichoderma* sp. en la inhibición del crecimiento micelial de *Phytophthora colocasiae* (cepa 1, PYC1) en medio de cultivo PDA en platos de Petri. Usaron un diseño completamente al azar con 8 repeticiones. El desarrollo de las colonias de *Phytophthora colocasiae* tanto en el plato testigo (PYC1) como en los platos de cultivos duales frente a dos cepas de *Trichoderma* sp. enfrentadas por separado fue evaluado a 1, 2, 3, 6 y 7 días después de la inoculación. Ambas cepas TM1 y TM2 redujeron el crecimiento y desarrollo de *Phytophthora colocasiae* significativamente comparado con el testigo ($P<0,01$). Los autores concluyeron en la necesidad de realizar investigaciones bajo condiciones de invernadero y de campo.

Investigaciones para el manejo de enfermedades del suelo de cultivos protegidos

Según estimaciones del Programa de Mercados, Frigorífico e Invernaderos (PROMEFRIN 2011) del Ministerio de Agricultura, en el país existen actualmente unas 600 ha dedicadas a la producción de vegetales bajo condiciones protegidas (invernaderos), un subsector con altas tasas de crecimiento. Estas estructuras son dedicadas principalmente a la siembra de ajíes (70%), tomates (10%), pepinos (15%) e hierbas aromáticas (5%).

En los cultivos protegidos de la República Dominicana se presentan problemas de enfermedades radiculares causadas por hongos, las cuales reducen los rendimientos y la rentabilidad. La mayoría de los productores manejan estos problemas con la aplicación periódica de fungicidas químico-sintéticos, lo que puede provocar resistencia, contaminación ambiental y residuos tóxicos en los productos cosechados. En búsqueda de alternativas para el control biológico se están realizando estudios dentro del marco del proyecto "Determinación de alternativas biológicas para el control de patógenos de suelo en la producción de vegetales en invernadero" (IDIAF-CONIAF). El principal objetivo consiste en aislar cepas nativas de *Trichoderma* spp. provenientes de estructuras protegidas. Se realizaron en 2010 muestreos en invernaderos de cinco zonas de producción en las provincias La Vega, San José de Ocoa y Espaillat (Moya *et al*. 2013). Previamente se aislaron cepas de *Trichoderma* spp. procedentes de suelos, sustratos y raíces para evaluar la efectividad *in vitro* de éstas como antagonistas de *Fusarium solani*, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii,* fitopatógenos de suelo. Dentro de la actividad 'Efectividad *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. en la supresión del crecimiento micelial de fipatógenos de suelo' se realizaron estudios con 85 aislados de *Trichoderma* spp. durante el período abril de 2011 a marzo de 2012, en el laboratorio de la Estación Experimental Mata Larga (EEML) del Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IDIAF). Los fitopatógenos utilizados en los ensayos se aislaron de las raíces de plantas enfermas.

Ambos grupos de microorganismos fueron cultivados en medio PDA

y enfrentados en cultivo dual, incubándose por ocho días a 28±2 °C con un diseño experimental completamente al azar contando con 429 tratamientos (85 x 4 + 89 testigos) y tres repeticiones. Como parámetro se evaluó el crecimiento micelial radial a las 24, 48, 72, 96, 168 y 196 horas. Dieciocho de las cepas de *Trichoderma* spp. evaluadas tuvieron un mayor crecimiento micelial radial que los fitopatógenos.

Se recomendó la caracterización morfológica y molecular, así como la realización de pruebas a nivel de plantas en invernaderos, actividades aún previstas antes de finalizar el proyecto, como parte de una tesis de maestría en 'Manejo Integrado de Plagas' de la Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD) (García, s/f).

Evaluación de la incidencia y severidad de cuatro fungicidas en el control de *Alternaria* sp. en campos de musú

Un equipo del IDIAF realizó investigaciones de campo en el vegetal oriental de la especie denominado musú (*Luffa acutangula*) como parte del proyecto "Manejo alternativo de plagas de los vegetales orientales en la República Dominicana" en la principal zona productora contando con apoyo del Consejo Nacional de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (CONIAF) y la Asociación Dominicana de Exportadores de Vegetales Orientales, Inc. (ADEXVO). Se estableció un experimento de campo en La Ceibita de Rincón, La Vega, (19º09'26.81" N, 70º22'14.58" O, 60 m.s.n.m.) durante el período Septiembre 2006–Enero 2007. Se evaluaron fungicidas orgánicos y selectivos para un programa de manejo integrado de enfermedades foliares en el cultivo. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones y 4 tratamientos: 1) Clorotalonil (benzonitrilo), 2) Pyraclostrobin (estrobilurina), 3) Aceite formulado de semillas de toronja (*Citrus paradisi*) y 4) un fungicida microbiológico comercial (*Trichoderma lignorum*, polvo humectable), todos en tratamientos foliares. El experimento contó con 16 parcelas de 134,4 m^2 y un área útil de 20,8 m^2/parcela y un marco plantación de 1,4 m entre hileras y 4,0 m entre plantas. Las variables evaluadas fueron: incidencia y severidad en relación con los tratamientos y factores climáticos, así como rendimientos (t/ha, peso de frutos). Las variables incidencia y severidad mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos biológicos *versus* los químico-sintéticos. Los fungicidas químico-sintéticos redujeron significativamente la cantidad de hojas infectadas que presentaron los típicos síntomas de manchas foliares. En las parcelas tratadas con los biológicos, la cantidad de manchas se presentaron en menor cantidad hasta la 3ra evaluación. A partir de este momento aumentaron y en las parcelas tratadas con los químicos luego de la 5ta evaluación se presentó un ligero aumento, después se observó una disminución, debido a que el cultivo entró en la fase final de producción. No se determinaron diferencias estadísticas con respecto a los rendimientos; sin embargo, hubo una tendencia de mayor producción en parcelas tratadas con Pyraclostrobin. Se observó que después de un período de lluvia y alta

temperatura, la cantidad de manchas foliares aumentaron, siendo mayor en las parcelas tratadas con los productos biológicos, especialmente en el tratamiento de aceite de toronja.

El producto biológico a base de *Trichoderma lignorum* fue recomendado por la casa distribuidora para usarse de manera preventiva, tanto en 'drench' contra patógenos de suelo, como en fumigaciones contra enfermedades en horas frescas del día. Se concluyó sin embargo, que la formulación no fue suficientemente efectiva en cuanto a la prevención de los patógenos foliares que atacan este cultivo, por lo menos bajo las condiciones climáticas presentes durante el estudio. Existen sin embargo reportes sobre el exitoso control de patógenos foliares en diversos cultivos mediante el uso de *Trichoderma harzianum* (Elad 2000) por lo que será necesario continuar la búsqueda de cepas con mayor potencial antagónico.

Otros estudios actualmente en ejecución

Actualmente están en ejecución en laboratorios de la EEML y del Centro de Tecnologías Agrícolas (CENTA) del IDIAF otros estudios con hongos antagonistas del género *Trichoderma* para dos diferentes tesis de maestría en "Manejo Integrado de Plagas" de la Universidad Autónoma de Santo Domingo financiada por el CONIAF como parte de dos proyectos de investigación realizadas por el IDIAF (Marisol Morel y Teófila Reinoso comunicación personal).

Como el objetivo del estudio de tesis con apoyo del CONIAF se planteó: Determinar los sustratos más adecuados para el crecimiento y desarrollo de *Trichoderma* spp. como inoculante para el manejo de patógenos de suelo en la producción de vegetales en invernadero. Como objetivos específicos se persigue determinar el crecimiento y desarrollo de *Trichoderma* spp. según el tipo de sustrato y determinar la efectividad de *Trichoderma* spp. como inoculante en suelo infestado por hongos patógenos en invernadero. La Investigación se está realizando en el Laboratorio de la EEML del IDIAF localizada en San Francisco de Macorís (M. Morel, comunicación personal).

Dentro del proyecto regional en musáceas de FONTAGRO ejecutado por el IDIAF con apoyo bajo la coordinación de Bioversity International se desarrolla la actividad denominada "Evaluación de hongos endofíticos en el control del nematodo barrenador *Radopholus similis*". Con cepas de *Trichoderma* spp. obtenidas de raíces de musáceas, están previsto realizarse estudios en el laboratorio y a nivel de ensayo en invernadero con plántulas de plátano en tarros en laboratorios de la EEML y del CENTA del IDIAF (T. Reinoso, comunicación personal).

Adicionalmente, el equipo del IDIAF contempla probar *in vitro* y en plántulas la eficiencia de cepas de *Trichoderma* spp. disponibles, tanto de forma comercial como del cepario del IDIAF, para prevenir la enfermedad Proliferación vegetativa y floral o Malformación de brotes o inflorescencias (Escoba de bruja) en mangos (*Mangifera indica*) causada por un complejo de diferentes especies de *Fusarium* fomentado mediante el ácaro vector *Aceria mangiferae.*

Bibliografía

Andújar F, Polanco A, Tejada C, Reyes E, Alcéquiez H., González JL, Moya, JD, Lora M, Guerrero RE, Alifonso V. 1997. Manual Técnico del Cultivo de la Pimienta: Proyecto de desarrollo del cultivo de la pimienta en la República Dominicana. Eds, SEA (Secretaría de Estado de Agricultura); IAD (Instituto Agrario Dominicano); JICA (Japan International Cooperation Agency). Santo Domingo, 86 pp.

Elad Y. 2000. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. Crop Protection 19: 709-714.

García S, Moya JD, Núñez P, Andújar FA, Avilés E. 2013. Efectividad *in vitro* de cepas de *Trichoderma* spp. en la supresión del crecimiento micelial de fitopatógenos de suelo. Resúmenes 6to Congreso SODIAF 2013, Juan Dolio, San Pedro de Macorís, República Dominicana, p. 18.

García S. s/f. Efectividad de cepas nativas de *Trichoderma*spp. en el control de hongos patógenos de suelos en el cultivo de ají (*Capsicum annuum* L.). Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD), Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Tesis deMaestría en Ciencias en Manejo Integrado de Plagas, Santo Domingo, R.D. (en ejecución).

Matsuda A; González JL, Moya JD. 1997. Principales enfermedades, plagas y daños fisiológicos de la pimienta en la República Dominicana. Proyecto de Desarrollo del cultivo de la pimienta Fase II. Eds. SEA (Secretaría de Estado de Agricultura); IAD (Instituto Agrario Dominicano) JICA (Japan International Cooperation Agency). Santo Domingo, 54 pp.

Méndez, R; Reyes M; Hernández, R. 2004. Tizón Foliar: enfermedad de la yautía coco (*Colocasia esculenta* L. Schott) causado por *Phytophthora colocasiae* (Raciborski, 1900). Hoja Técnica. ***En***: Boletín Innovando 1(3):4-5. Ed. IDIAF (Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales), Santo Domingo.

Moya JD, Nuñez P, García S, Andújar F, Avilés E. 2013. Aislamiento de cepas nativas de *Trichoderma* spp. de suelos, sustratos y raíces de plantas en invernaderos en República Dominicana. Resúmenes 6to Congreso SODIAF 2013, Juan Dolio, San Pedro de Macorís, República Dominicana, p. 52.

Moya JD, Andújar, FA. 2004. Efecto de *Trichoderma* sp. en el control de *Phytophthora capsici* Leonian, en plántulas de pimienta (*Piper nigrum* L.) en invernadero. Tesis de grado de Ingeniero Agrónomo. Instituto Superior de Agricultura (ISA). pp. 46.

Moya JD, García S. 2009. Efecto de *Trichoderma* spp. en el crecimiento micelial de *Phytophthora colocasiae* en platos Petri. Resúmenes 4to Congreso SODIAF, Boca Chica, República Dominicana, p. 5.

Sánchez L, Serra C, Polanco T. 2013. Evaluación de la incidencia y severidad de cuatro fungicidas en el control de *Alternaria* sp. en Musú (*Luffa acutangula* L.). En: C.A. Serra (editor): Manejo Alternativo de Plagas de Vegetales Orientales en la República Dominicana. IDIAF-CONIAF, Santo Domingo, R.D. (en imprenta).

Serra CA, Cayetano X, Féliz A**,** Ferreira M, García S, Godoy-Lutz G, Halpay M, Martínez RT, Méndez RM, Moya JD, Silverio L, Matos L. 2011. Impacts of recently emerged IAS and major threats to the Dominican Agriculture. Memoria Caribbean Food Crop Society (CFCS) 47:146-156.

Capítulo 17

Control biológico de enfermedades de plantas en Uruguay

Pedro Mondino[1], Nora Altier[2], Silvana Vero[3], Silvia Pereyra[4], Claudine Folch[5]

[1]Cátedra de Fitopatología, Departamento de Protección Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República (UdelaR), Montevideo. [2]Protección Vegetal. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. (INIA). Estación Experimental Wilson Ferreira Aldunate, Las Brujas, Canelones. [3]Cátedra de Microbiología, Departamento de Biociencias, Facultad de Química. Universidad de la República (UdelaR), Uruguay. [4]Protección Vegetal. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. (INIA). Estación Experimental La estanzuela. Colonia. [5]Técnico en empresa Lage y Cia SA. Camino Carrasco 6348. Montevideo.

Introducción

La agricultura convencional basa el control de plagas en el uso de plaguicidas de síntesis química. Estas prácticas generan impactos perjudiciales para el ambiente y la salud, y afectan la biodiversidad natural de los agro-ecosistemas, afectando los equilibrios biológicos. La intensificación de los sistemas productivos y las crecientes exigencias de los mercados por obtener productos de alta calidad, producidos en forma amigable con el ambiente e inocuos, requieren el desarrollo de estrategias que atiendan dos objetivos principales: la reducción del uso de plaguicidas, y la utilización de alternativas de bajo costo económico y ambiental. En este marco, durante las dos últimas décadas Uruguay ha generado conocimiento científico para desarrollar e implementar la estrategia de control biológico de enfermedades en la producción agrícola, así como incorporar su enseñanza en la currícula de los programas de educación terciaria y de posgrados.

Reseña histórica

La evolución del control de enfermedades de los cultivos en Uruguay, al igual que en otros países, ha estado marcada por la aparición y posterior evolución de los fungicidas de síntesis química, ya que estos tuvieron un fuerte

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

impacto tanto sobre la producción como sobre la investigación y la enseñanza de la fitopatología. Sustancias altamente tóxicas aparecieron en el mercado y fueron utilizadas siguiendo primitivos esquemas de aplicaciones periódicas. Por esos tiempos no se tenía en cuenta la biología de los patógenos, condiciones ambientales o factores de susceptibilidad de la planta. Diversos compuestos arsenicales, mercuriales e insecticidas organoclorados eran aplicados a los cultivos. A modo de ejemplo, en el año 1965 se comercializaban en Uruguay cinco formulaciones de fungicidas mercuriales y seis formulaciones de arsenito de sodio, las cuales eran recomendadas para el control de enfermedades del manzano y de la vid entre otras (Koch 1965), y como insecticida se recomendaba el uso de arseniato de plomo (Fischer 1961). Hoy día la sola mención de esas sustancias nos causa escalofríos.

Con un fuerte impulso comercial, la difusión del uso de los fungicidas se realizó en forma vertiginosa mucho antes de que se conocieran y difundieran los efectos secundarios de estos productos (Machado *et al*. 1992). Su uso indiscriminado trajo como consecuencia problemas tales como la contaminación ambiental y la presencia de residuos en los alimentos. Ejemplos de esto son la acumulación de fungicidas cúpricos en los suelos (Nuñez y Maeso 2010) y la detección de residuos de fungicidas en frutos de tomate, frutillas, manzanas, duraznos entre otros (Gemelli 2006, Maeso *et al*. 2007, Galietta *et al*. 2010, Nuñez y Maeso 2010).

Otra consecuencia negativa del uso de fungicidas sin la racionalidad debida es la aparición de poblaciones de patógenos resistentes a los principios activos utilizados. Algunos ejemplos son la presencia de cepas de *Penicillium expansum* resistentes a tiabendazole (Schinca *et al*. 2011); de *Venturia inaequalis* resistentes a estrobilurinas y a difenoconazole (Casanova y Celio 2011), de *Botrytis cinerea* resistentes a carbendazim, iprodione y pirimetanil (Gepp *et al*. 2012).

Al tiempo que la evidencia científica fue confirmando los efectos negativos del uso irracional de plaguicidas, se incrementó la conciencia en la población en general, demandando soluciones a los problemas ecológicos y exigiendo consumir alimentos de calidad superior. Todo esto sucede en el contexto de un mercado mundial de frutas y hortalizas que comienza a variar sus tradicionales exigencias basadas exclusivamente en la calidad estética de los productos, y agrega nuevas exigencias: los productos deben ser certificados como procedentes de sistemas de producción basados en criterios definidos por el paradigma de la sostenibilidad. Aparece una preocupación por lo que es ambientalmente correcto, socialmente justo y económicamente viable. A estos mercados se les denomina "mercados de calidad diferenciada" (Giacinti 2003).

El concepto de calidad para estos mercados implica que los productos deben presentar ciertos requisitos como sabor, consistencia, punto de madurez, a los que ahora se les agrega la ausencia de residuos tóxicos y la garantía de que la tecnología empleada para su producción proteja al medio ambiente y no sea perjudicial para la salud de los trabajadores agrícolas.

Para dar respuesta a esas demandas, el control de las enfermedades de plantas se debe implementar en complejos sistemas de manejo integrado. Estos sistemas utilizan el conocimiento generado sobre la biología de los patógenos, sobre la epidemiología y sobre las relaciones planta-patógeno-ambiente, para

el diseño de estrategias racionales de control. En ellos se priorizan medidas preventivas y se recurre al uso de variedades resistentes, métodos culturales y métodos biológicos, de forma de minimizar el uso de fungicidas.

En este contexto, el control biológico se plantea como una herramienta necesaria, y no una mera alternativa, para el manejo fitosanitario a través del uso de microorganismos benéficos. La biodiversidad existente en la microflora en contacto con las plantas constituye una fuente de insumos biológicos de utilidad en el manejo de las enfermedades de cultivos. Contribuye a convertir la ventaja comparativa de la riqueza biológica en ventaja competitiva para el desarrollo sostenible y para la obtención de productos diferenciados, contemplando aspectos de calidad e inocuidad. Los avances más recientes en técnicas moleculares y en el conocimiento científico en general, han favorecido el potencial de esta tecnología. Actualmente en Uruguay, diversos grupos llevan adelante investigaciones dirigidas a la búsqueda y selección de microorganismos biocontroladores de patógenos de plantas. Diferentes líneas de investigación han realizado aportes sustanciales a la generación de conocimiento para desarrollar el control biológico de enfermedades de plantas en Uruguay.

Microorganismos rizosféricos para el biocontrol de fitopatógenos del suelo

A partir de 1993, se consolida una línea de trabajo interdisciplinaria, resultado de la conjunción de esfuerzos de tres equipos de investigación [Laboratorio de Ecología Microbiana perteneciente al Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Estación Experimental Mario A. Cassinoni (EEMAC) de la Facultad de Agronomía, Sección Protección Vegetal, Fitopatología, del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA Las Brujas)], y el sector privado. Se llevaron adelante estudios dirigidos al uso de microorganismos rizosféricos para el biocontrol de fitopatógenos del suelo, identificándose cepas bacterianas nativas de *Pseudomonas fluorescens* para el manejo de enfermedades de implantación y la promoción del crecimiento de leguminosas forrajeras (Bajsa *et al*. 2005, Quagliotto *et al*. 2009, Hofte y Altier 2010). A partir de 1994, se llevaron adelante estudios de caracterización de bacterias rizosféricas para el biocontrol de fitopatógenos del suelo, identificándose cepas nativas de *Pseudomonas fluorescens* con capacidad de supresión de enfermedades de implantación, causadas por *Pythium* spp., en leguminosas forrajeras (Bagnasco *et al*. 1998, Pérez *et al*. 2000, De La Fuente *et al*. 2002, De La Fuente *et al*. 2004, Yanes *et al*. 2004, Bajsa *et al*. 2005, Quagliotto *et al*. 2009, Höfte y Altier 2010, Pérez *et al*. 2010).

Importancia de las enfermedades de implantación en las leguminosas forrajeras

Las pasturas son la base de la producción agropecuaria de Uruguay.

Las leguminosas forrajeras son un componente esencial de las pasturas, siendo utilizadas en los sistemas lecheros, ganaderos intensivos y extensivos, sobre una superficie cercana a los 2 millones de hectáreas (Rebuffo *et al.* 2006). Además de proporcionar un alimento de alta calidad para el ganado, las leguminosas forrajeras son clave para la sustentabilidad de las rotaciones cultivo-pastura, debido a su capacidad de fijar nitrógeno en simbiosis con bacterias del suelo que nodulan la raíz, colectivamente denominadas rizobios. Para capitalizar estas ventajas y lograr una productividad óptima, es necesario asegurar el establecimiento de un stand adecuado de plantas y el desarrollo de sistemas radiculares saludables. Las enfermedades de plántula causadas por patógenos del suelo, fundamentalmente del género *Pythium*, son una de las principales limitantes para el establecimiento de leguminosas. Las condiciones ambientales favorables para el desarrollo de estas enfermedades son las bajas temperaturas del suelo y altos niveles de humedad, lo cual disminuye la velocidad de germinación y reduce la emergencia de plántulas (Altier y Thies 1995, Martin y Loper 1999, Pérez *et al*. 2000). Existen escasos reportes exitosos de manejo por resistencia genética y el uso de fungicidas para el tratamiento de las semillas puede tener efecto adverso sobre los rizobios. Este análisis de situación fue el punto de partida para considerar el control biológico como una opción de manejo.

Bacterias rizosféricas como agentes de control biológico

A nivel mundial, el uso de microorganismos rizosféricos antagonistas, entre ellos las *Pseudomonas* fluorescentes, se plantea como estrategia para el manejo efectivo de patógenos del suelo que causan enfermedades en diversos cultivos (Martin y Loper 1999, McSpadden Gardener 2007, Weller *et al.* 2002, Weller *et al*. 2007). Sin embargo, la caracterización de bacterias rizosféricas para el control específico de enfermedades en las leguminosas forrajeras no ha recibido el mismo grado de atención, y su uso agronómico sigue siendo un desafío (Villacieros *et al.* 2003, Fox *et al*. 2011).

Por otro lado, la utilización de microorganismos que mejoran el establecimiento en las leguminosas forrajeras y optimizan la fijación del nitrógeno se ha implementado mediante la tecnología de inoculación de semilla con rizobio (Catroux *et al*. 2001). Los altos estándares de calidad de los inoculantes rizobianos se alcanzan mediante la utilización de un soporte de turba estéril, con valores altos de bacterias viables por paquete (2×10^9 rizobia/g turba) (Lupwayi *et al.* 2000). La experiencia existente en Uruguay al respecto constituye un antecedente histórico que el grupo de trabajo capitalizó y utilizó como modelo, a partir de 1994 (Höfte y Altier 2010).

Aislamiento y caracterización fenotípica en el laboratorio y bajo condiciones de crecimiento controladas

Inicialmente, se conformó una colección de *Pseudomonas fluorescens* con 700 cepas bacterianas. Estas fueron aisladas de la rizósfera de plantas de lotus (*Lotus corniculatus*) del campo, recolectadas en diversas regiones agroecológicas de Uruguay. Se llevó a cabo la evaluación *in vitro* del antagonismo contra patógenos y la detección de compuestos antimicrobianos. Se investigó también

la presencia de genes para la biosíntesis de antibióticos. Tres cepas seleccionadas de *Pseudomonas fluorescens* - UP61, UP143 y UP148 - demostraron antagonismo *in vitro* y fueron capaces de proteger al lotus de la infección causada por *Pythium ultimum* y *Rhizoctonia solani in vivo*, bajo condiciones controladas. Se detectó la producción de ácido cianhídrico y sideróforos fluorescentes como algunos de los factores posiblemente involucrados en su actividad de control biológico (Bagnasco *et al.* 1998). Además de esto, *Pseudomonas fluorescens* UP61 produjo los antibióticos DAPG, pyoluteorina y pyrrolnitrina (De La Fuente *et al.* 2004), mientras que *Pseudomonas fluorescens* UP148 produjo un compuesto antifúngico derivado de la fenazina no descrito anteriormente (Bajsa *et al*. 2005). También se evaluó la interacción de *Pseudomonas fluorescens* UP61, UP143 o UP148 con cepas rizobianas que se utilizan en Uruguay como inoculantes. En condiciones de cámara de crecimiento, la inoculación de las semillas de lotus y de alfalfa con cepas de *Pseudomonas* no afectó a los diferentes parámetros de la simbiosis huésped-rizobio según lo observado en el peso seco de la planta, la velocidad de nodulación, la eficacia en la fijación biológica de N_2 y la colonización de la rizósfera (De La Fuente *et al*. 2002).

Posteriormente se estableció una segunda colección de 702 cepas nativas de *Pseudomonas fluorescens*, aisladas a partir de la rizósfera de plantas de alfalfa (*Medicago sativa*) del campo. Se desarrolló un experimento *in vivo* en una cámara de crecimiento para detectar la capacidad de las *Pseudomonas fluorescens* de suprimir enfermedades y promover el crecimiento vegetal en el patosistema alfalfa-*Pythium*, bajo condiciones controladas (Yanes *et al.* 2004). Este estudio reveló una amplia respuesta de las cepas aisladas de *Pseudomonas* en cuanto a su capacidad de suprimir enfermedades al verse expuestas a *Pythium debarianum*. El 12% de las cepas que se sometieron a la detección protegieron a las plantas de alfalfa, lo cual resultó en una emergencia de más del 60% en comparación con el 33% registrado en el tratamiento de control no inoculado. Un procedimiento similar, en ausencia del patógeno, se utilizó para evaluar la capacidad de promover el crecimiento de alfalfa de las cepas de *Pseudomonas* seleccionadas, mediante la determinación de la biomasa. Se seleccionaron cinco cepas de *Pseudomonas fluorescens* - αC119, αP271, αP388, αT633 y αT688-, las cuales demostraron capacidad de suprimir enfermedades y promover el crecimiento vegetal, para ser estudiadas bajo condiciones de campo (Yanes *et al*. 2004).

Evaluación de la eficacia de control en ensayos de campo

Por varios años, se llevaron a cabo experimentos en condiciones de campo para evaluar la capacidad de *Pseudomonas fluorescens* UP61, UP143 y UP148 para suprimir enfermedades de plántula en alfalfa y lotus (Pérez *et al.* 2000, Bajsa *et al*. 2005, Quagliotto *et al.* 2009). Diferentes combinaciones de años, ubicaciones y fechas de siembra dieron por resultado veinte ambientes para cada cultivo. Las cepas de *Pseudomonas fluorescens* colonizaron con éxito las raíces de alfalfa y de lotus en densidades adecuadas para la actividad de control biológico. Los resultados demostraron que la inoculación bacteriana de la semilla proporcionó un aumento del 10-13% en la cantidad de plantas de alfalfa establecidas en relación

al control, mientras que en lotus el aumento representó un 6-10% (Quagliotto *et al*. 2009). En presencia de las cepas estudiadas, la biomasa de la parte aérea aumentó un 15-18% en alfalfa y un 6-10% en lotus. Los resultados confirmaron que el efecto positivo sobre el stand inicial de plantas se traduce en un beneficio posterior, favoreciendo el potencial productivo de la pastura.

Desarrollo de inoculantes bacterianos

Se realizaron ensayos de laboratorio para identificar un medio de cultivo para la adecuada producción de biomasa de las cepas de *Pseudomonas fluorescens* a nivel industrial, mediante la utilización de fuentes de carbono y nitrógeno disponibles comercialmente. La turba estéril fue evaluada como el soporte para formular el inoculante bacteriano, tal como lo utiliza la tecnología de inoculación con rizobio. Las cepas de *Pseudomonas fluorescens* y de rizobios sobrevivieron a 10^9 y 10^{10} UFC/g, respectivamente, en una turba estéril inoculada con cada una de las especies bacterianas, cuando se las almacenó a 4 ^oC durante un año (Bagnasco *et al.* 1998, De La Fuente *et al*. 2002).

Esta investigación, basada en las fortalezas de la tecnología de inoculación con rizobio ya existente, se enfoca actualmente en el desarrollo comercial y la eficacia agronómica de las cepas de *Pseudomonas* para la supresión de enfermedades en otros cultivos de importancia económica. Actualmente, se está en etapas avanzadas del proceso de registro de un inoculante comercial en base a tres cepas de *P. fluorescens*.

Biocontrol de enfermedades poscosecha de frutas

Desde el año 1995 se llevan adelante trabajos con el objetivo de desarrollar métodos de control biológico de enfermedades de poscosecha de manzanas y citrus. Esta investigación es llevada adelante en la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Química, en colaboración con miembros de los grupos disciplinarios de Fitopatología y Poscosecha de la Facultad de Agronomía.

Características de la poscosecha de frutas

La postcosecha de productos agrícolas se concibe como un conjunto de procesos integrados y secuenciados por los que atraviesa el producto después de la cosecha, en su camino hacia el consumidor y que se encuentra estrechamente vinculado a los sistemas de producción. Es el período que transcurre desde el momento en que los productos son recolectados hasta aquel en el cual son consumidos en estado fresco, preparados o transformados industrialmente.

Los productos hortifrutícolas normalmente requieren de cierto almacenamiento con el fin de equilibrar su oferta y su demanda. La vida de almacenamiento potencial se encuentra predeterminada en gran medida por las características genéticas y metabólicas del producto. Sin embargo los factores de

precosecha, las técnicas de manejo, el momento de la cosecha, los tratamientos poscosecha, la presencia de patógenos y las condiciones de almacenamiento son las que determinan la capacidad real de almacenamiento. Sólo mediante un riguroso control de la temperatura, humedad y atmósfera durante el almacenamiento, es que se puede lograr un producto de buena calidad al final del período, evitando la aparición de fisiopatías y enfermedades que ocasionan pérdidas del producto almacenado. A pesar de maximizar esfuerzos para reducir la susceptibilidad y minimizar las fuentes posibles de entrada de patógenos antes, durante y después de la cosecha, las pérdidas postcosecha en muchos casos siguen siendo significativas.

Parte de estas pérdidas se deben a infecciones con patógenos fúngicos. Las infecciones fúngicas cuyos síntomas se manifiestan durante el almacenamiento poscosecha, pueden ocurrir entre la floración y la maduración del fruto o posteriormente, durante la cosecha y el almacenamiento. En el primer caso, las infecciones pueden permanecer quiescentes hasta que comience la senescencia del fruto durante el almacenamiento, siendo muy difícil controlar la aparición de síntomas mediante técnicas de manejo poscosecha. En el segundo caso, es posible maximizar esfuerzos durante y después de la recolección para evitar la aparición de las podredumbres, las cuales son causadas muchas veces por patógenos de heridas. Es por ello que es de vital importancia minimizar el número de heridas provocadas en la cosecha y tomar medidas para disminuir el inóculo inicial de patógenos.

El control de las enfermedades de poscosecha se ha basado tradicionalmente, en la aplicación de fungicidas de síntesis química, previo al almacenamiento. Sin embargo, en la actualidad, es muy reducido el número de principios activos efectivos autorizados para su uso en esta etapa, debido principalmente a consideraciones toxicológicas. A su vez, se ha constatado la presencia de poblaciones de patógenos resistentes a los fungicidas más comúnmente utilizados (Wozniak 2003, Esterio *et al*. 2007). Por otra parte el uso de fungicidas, está siendo muy cuestionado por el público consumidor, el cual ha incrementado su conciencia acerca de los riesgos a la salud y al medio ambiente que trae consigo. Esto es mayor aún en la poscosecha por su cercanía al consumo. En este contexto, el control biológico en la etapa de poscosecha ha demostrado ser una alternativa promisoria, dando lugar a múltiples investigaciones en todo el mundo (Wisniewski *et al.* 2007, Droby *et al*. 2009, Sharma *et al*. 2009).

La poscosecha presenta características favorables para la implementación de medidas de control biológico. En primer lugar, el ambiente se caracteriza por ser confinado y controlado lo cual facilita la aplicación de los productos biológicos y el mantenimiento de los mismos debido a condiciones ambientales fijas. En segundo lugar, el alto valor agregado de los productos cosechados justifica la implementación de medidas de control que en otras circunstancias podrían no ser rentables. Además, en la mayoría de los casos, la aplicación de los agentes de control biológico se realiza utilizando equipos y tecnología idénticos o similares a los usados para la aplicación de fungicidas, por lo cual el cambio en las instalaciones de las plantas de tratamiento poscosecha, no sería drástico ni económicamente excesivo.

En la actualidad existen pocas formulaciones comerciales basadas

en microorganismos biocontroladores para uso en poscosecha. Biosave™ (Ecoscience, EEUU) cuyo ingrediente activo son bacterias identificadas como *Pseudomonas syringae*, es el producto comercial vigente, con mayor antigüedad en el mercado. El producto fue registrado en EEUU y es usado principalmente para enfermedades poscosecha de boniato, papa y manzana (Droby *et al*., 2009). Otros productos comerciales son Shemer™ y Boniprotect™, basados en una cepa de *Metschnikowia fructicola* y *Auerobasidum pullulans*, respectivamente. Shemer™, que será producido desde este año por Bayer CropScience, fue desarrollado en primera instancia por AgroGreen, Minrav Group, Israel. Este producto presenta actividad probada contra *Botrytis, Penicillium, Rhizopus,* y *Aspergillus* en frutillas, uvas y citrus (Sharma *et al*. 2009) mientras que Boniprotect™ (bioferm GmbH, Austria) se recomienda para patógenos de heridas (*Penicillium, Botrytis*) en manzanas, peras y membrillos. Un nuevo producto, denominado Candifruit™ (Sipcam Inagra S.A., España), basado en una cepa de levadura *Candida sake*, ha sido recientemente lanzado al mercado español para su uso en poscosecha de manzanas (Usall *et al*. 2010).

A pesar de la existencia de productos comerciales, la investigación en la selección y desarrollo de cepas antagonistas nativos debe ser alentada, ya que la implementación de un formulado local potenciaría la industria nacional involucrada, disminuyendo la dependencia con tecnología extranjera.

El control biológico de poscosecha en Uruguay

En Uruguay se ha trabajado en control biológico de enfermedades de poscosecha de manzanas y citrus. La investigación ha estado centrada en la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Química, trabajando en conjunto con miembros los grupos disciplinarios de Fitopatología y Poscosecha de la Facultad de Agronomía. Se comenzó trabajando en la búsqueda de microorganismos capaces de inhibir el desarrollo de moho azul causado por *Penicillium expansum* en manzanas Red Delicious a temperatura ambiente. Se logró obtener dos levaduras con buena capacidad antagonista que fueron identificadas como *Candida ciferrii* y *Cryptococcus laurentii*. Se demostró además que el principal mecanismo asociado a su capacidad biocontroladora era la competencia con el patógeno por fuentes de nitrógeno en las heridas de manzana (Vero *et al*. 2002). A continuación el estudio se centró en la búsqueda de antagonistas capaces de impedir el desarrollo de patógenos de poscosecha en manzanas durante el almacenamiento en cámaras de frío, en las cuales la temperatura está entre 0 ºC y 1 ºC. Para ello se intentó realizar el aislamiento de microorganismos adaptados al crecimiento a bajas temperaturas (psicrotrofos) que fueran capaces de crecer en heridas de manzana, sitio que se intentaba proteger del ataque del patógeno. La estrategia de búsqueda consistió en el aislamiento de microorganismos de la superficie de frutos que hubieran estado almacenados en frío. De esta forma se logró aislar una cepa de *Aureobasidium pullulans* capaz de disminuir en un 70% y 80% la incidencia de moho azul y moho gris, producido por *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea*, respectivamente, en heridas de manzanas Red Delicious, almacenadas a 0 ºC. Se demostró a su vez, que la cepa biocontroladora producía sideróforos mediante los cuales era

capaz de competir eficazmente con *Botrytis cinerea* en presencia de bajos niveles de hierro. A su vez, se determinó que la cepa seleccionada producía enzimas capaces de degradar paredes del patógeno (quitinasas y beta 1, 3 glucanasas), las cuales podrían colaborar en el biocontrol. Fue importante determinar que el antagonista seleccionado era incapaz de crecer a 37 ºC, lo cual implica que es incapaz de colonizar el cuerpo humano causando enfermedad, característica muy importante en un microorganismo que se pretende aplicar sobre fruta. Se determinó también que el antagonista era resistente a los fungicidas tiabendazol e iprodione en concentraciones de uso sobre fruta, permitiendo el planteo de estrategias de uso en conjunto. Sin embargo, se comprobó que el crecimiento de la capa antagonista se veía disminuido cuando era inoculado en heridas de manzana tratadas con imazalil, uno de los fungicidas aceptado por las normas de producción integrada de Uruguay (Scatoni *et al*. 2004), a la concentración de uso recomendada. Se constató además, que cuando la dosis de imazalil utilizada se reducía a la mitad, el crecimiento del antagonista en las heridas de manzanas tratadas se restablecía. Estos resultados permitieron postular que en este caso podría ser viable la aplicación en conjunto del antagonista y el fungicida, siempre que se utilizaran dosis menores del mismo (Vero *et al*. 2009).

Con el objetivo de aislar microorganismos capaces de controlar el desarrollo de moho azul y moho verde, causado por *Penicillium italicum* y *Penicillium digitatum*, en citrus almacenados en frío, se realizó también la búsqueda de microorganismos psicrótrofos (Garmendia *et al*. 2005). Para ello se realizaron aislamientos de la superficie de limones que habían estado en cámara fría durante más de un mes. Se obtuvieron 11 levaduras de las cuales 8 redujeron significativamente la incidencia de ambos patógenos en heridas de naranjas almacenadas a 5 ºC, obteniéndose con cinco de ellas niveles de protección iguales o mayores al 80% (Vero *et al.* 2011). La estrategia de aislamiento de microorganismos psicrotrofos para el control de enfermedades poscosecha de fruta almacenada en frío, resultó exitosa tanto en el caso de las manzanas como en el de los citrus. El método propuesto sesgó la selección hacia aquellos microorganismos capaces de crecer en las condiciones en las cuales los productos a proteger serían almacenados. De esa forma se minimizó el número de aislamientos a ensayar en las pruebas de selección sobre fruta, las cuales son muy laboriosas e insumen muchos recursos y tiempo. Con anterioridad, en el trabajo de Wozniak (2003), realizado en la Cátedra de Microbiología, se ensayaron como controladores sobre fruta cerca de 100 microorganismos aislados de superficie de naranjas de diferentes predios al momento de cosecha. Solamente una bacteria y una levadura mostraron una protección moderada de las heridas de naranjas almacenadas en frío, frente al ataque con *Penicillium italicum*. Estos resultados evidencian la importancia de realizar un aislamiento selectivo y una buena selección primaria para obtener buenos resultados en menor tiempo.

Dos de las levaduras seleccionadas por su capacidad biocontroladora en naranjas, también mostraron actividad antagonista frente a *Penicillium expansum* y *Botrytis cinera* en manzana. Las levaduras fueron identificadas a nivel fenotípico y molecular como *Cystofilobasidium infirmominiatum* y *Leucosporidium scotti* (Vero *et al.* 2011). Se demostró que ambos antagonistas eran incapaces de crecer a 37 ºC y que su actividad biocontroladora se basaba principalmente en mecanismos de

competencia por nutrientes con el patógeno.

En búsqueda de microorganismos psicrótrofos para el control biológico de enfermedades de manzanas almacenadas en frío, se intentó ensayar la capacidad biocontroladora de aislamientos de muestras provenientes de zonas frías, como la Antártida. Es así que a partir de muestras de suelo y agua provenientes de zonas cercanas a la base antártica uruguaya, se realizaron enriquecimientos en jugo de manzana estéril, incubándolos a bajas temperaturas durante 15 días. De 20 muestras colectadas sólo se obtuvieron cinco levaduras, cuya actividad biocontroladora frente a *Penicillium expansum* fue evaluada en manzana Red Delicious y Pink Lady. Una levadura identificada como *Leucosporidium scotti* At17 fue la que mostró mayores niveles de control, similares a los observados para el antagonista *Cystofilobasidium infirmominiatum* PL1, seleccionado con anterioridad (Vero *et al.* 2013). Fue sorprendente el haber seleccionado la levadura *Leucosporidium scottii*, a partir de muestras de orígenes tan distantes (suelo antártico y superficie de limones almacenados en frío).

La cepa At17 fue resistente a fungicidas de uso en poscosecha de manzana (tiabendazol, imazalil e iprodione) y también a la concentración de uso de difenilamina, que habitualmente forma parte del tratamiento previo al almacenamiento que reciben las manzanas. De acuerdo a dichos resultados la cepa At17 podría ser aplicada en forma conjunta con el tratamiento de difenilamina sin modificar el esquema ni metodología de tratamiento usual en las centrales procesadoras de fruta. La levadura antártica también mostró capacidad de formar biofilms, lo cual facilita su adhesión a superficies y confiere protección frente a compuestos químicos tales como los que surgen del stress oxidativo provocado por la inoculación de las levaduras biocontroladores en las heridas de fruta (Macarisin *et al.* 2010). La resistencia de los microorganismos biocontroladores a dichos compuestos es crucial para lograr una buena colonización de las heridas a proteger (Castoria *et al.* 2003).

La capacidad de las levaduras de resistir a diferentes tipos de stress, tanto oxidativo, como osmótico, térmico o por desecación se puede modificar variando las condiciones de producción de las mismas o por el agregado de aditivos que favorezcan su resistencia en el sitio de acción. El trabajo de Liu *et al.* (2011) demostró que la adición de glicina betaína exógena aumentó la resistencia al stress oxidativo de la levadura *Cystofilobasidium infirmominiatum* PL1, obteniendo mayor nivel de colonización y protección frente a patógenos en heridas de manzana. El trabajo de Labadie (2011) evidenció que las condiciones de cultivo fueron determinantes en el grado de resistencia al stress oxidativo y a los tratamientos de secado por parte de la levadura antagonista *Leucosporidium scotti* At17, de origen antártico. Para determinar las condiciones de producción a mayor escala del antagonista se diseñó un medio de cultivo mineral utilizando glucosa como fuente de carbono y amonio como fuente de nitrógeno. Fue necesario adicionar extracto de levadura para lograr obtener crecimiento del antagonista. La composición del medio y las condiciones de cultivo se optimizaron mediante diseños factoriales fraccionados y de superficie de respuesta (central compuesto) para lograr mayor producción de biomasa (Labadie *et al*. 2011). A su vez, se optimizaron las condiciones de producción en un medio preparado a base de melaza, subproducto de la industria azucarera. En este caso no fue necesario el agregado de extracto de levadura. La

biomasa obtenida a partir del medio de melaza presentó una mayor resistencia al stress oxidativo *in vitro* y en heridas de manzana y al secado por liofilización.

Los desafíos a futuro se basan en el estudio del potencial biocontrolador de las levaduras seleccionadas en otros patosistemas desarrollados en condiciones de conservación de frío, para determinar el potencial de transferencia a la industria. A su vez será necesario el estudio de la factibilidad de producción en otros subproductos industriales nacionales, tales como el permeado de leche o la glicerina cruda obtenida de la producción de biodiesel, así como las condiciones de escalado para la producción a mayor escala.

Los resultados de las investigaciones realizadas permiten concluir que el control biológico en la etapa poscosecha es posible y que la obtención de agentes de biocontrol es factible siempre que se utilicen los métodos de selección adecuados. La selección es sólo el paso inicial del desarrollo. Los pasos siguientes que involucran la correcta identificación y caracterización del agente, así como el estudio de sus mecanismos de acción y la optimización de su producción en sustratos baratos, son igualmente importantes. Además los estudios de inocuidad y el debido registro de una adecuada formulación del agente de biocontrol son la culminación para obtener un producto comercializable.

Control biológico de la fusariosis de la espiga de trigo

Esta investigación es llevada adelante en conjunto entre la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Química, el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) y la Facultad de Agronomía.

Caracteristicas e importancia de la enfermedad

La fusariosis de la espiga (FE) es una enfermedad destructiva en trigo en las regiones húmedas y sub-húmedas del mundo. En las últimas décadas ha causado pérdidas significativas en los países del Cono Sur de América del Sur y en particular en Uruguay, representa una de las principales limitantes para la producción de trigo (Díaz de Ackermann y Kohli 1997, Díaz de Ackermann y Pereyra 2011). Las pérdidas de rendimiento de grano producidas por esta enfermedad pueden llegar hasta 30% en condiciones de epidemias severas y cultivares muy susceptibles (Díaz de Ackermann y Kohli 1997). Sin embargo, el aspecto más relevante es la producción de micotoxinas por parte de los hongos causales de la enfermedad.

La fusariosis de la espiga puede estar causada por una o más especies del género *Fusarium*. En Uruguay, la especie predominante asociada a fusariosis de la espiga en trigo es *Gibberella zeae* (Schwein.) Petch, anamorfo: *Fusarium graminearum* (Schwabe) (Boerger, 1928, Boasso 1961; Pritsch 1995, Pereyra y Dill-Macky 2010, Umpierrez *et al*. 2011). *Gibberella zeae* es capaz de sobrevivir saprofíticamente en los rastrojos de trigo, cebada, maíz, sorgo y otras gramíneas (Da Costa Neto 1976, Sutton 1982, Reis 1988, Pereyra y Dill-Macky 2008) y por tanto, estos constituyen la vía de supervivencia y fuente de inóculo más importante.

En la actualidad, las medidas disponibles de control no son altamente efectivas en prevenir el desarrollo de la fusariosis de la espiga. Se ha encontrado resistencia parcial (Mesterházy 1997) y hasta el momento se han incorporado niveles moderados de resistencia en cultivares comerciales a nivel mundial (Kosová *et al*. 2009) y en cultivares de trigo en Uruguay. Si bien existen fungicidas suficientemente efectivos, su uso esta limitado porque el momento óptimo para la aplicación frecuentemente coincide con condiciones de precipitaciones, costo y la preocupación de residuos de fungicidas en el producto final (Díaz de Ackermann y Pereyra 2011). El beneficio potencial de la rotación con cultivos no susceptibles es menor debido al amplio rango de huéspedes de *Gibberella. zeae* (Da Costa Neto 1976, Sutton 1982, Reis 1988, Pereyra y Dill-Macky 2008). Mientras el enterrado del rastrojo promueve su descomposición y disminuye la producción de inóculo primario al impedir la producción de peritecios y ascosporas y su dispersión (Khonga y Sutton 1988, Dill-Macky y Jones 2000, Pereyra *et al.* 2004), la siembra directa es una práctica más atractiva a los productores ya que ofrece ventajas de conservación de suelos y menores costos. El uso de agentes de control biológico provee una estrategia adicional para un enfoque de manejo integrado de la fusariosis de la espiga.

Estrategias para el control biológico de la fusariosis de la espiga

Las estrategias de control biológico de la fusariosis de la espiga varían en función del ciclo de vida de *Gibberella zeae*. Existen tres estrategias posibles, que a su vez pueden ser complementarias: a) La aplicación de microorganismos antagonistas seleccionados para ser aplicados a las espigas al momento de antesis (floración) en procura de impedir o reducir la infección (Perondi *et al*. 1996, Stockwell *et al*. 2000, Khan *et al*. 2001, Schisler *et al.* 2002, Luz *et al.* 2003).b) La aplicación de microorganismos antagonistas a los rastrojos con el fin de reducir los niveles de inóculo primario (Fernández 1992, Bujold *et al.* 2001) y c) el incremento de las poblaciones de antagonistas de *Gibberella zeae* naturalmente presentes en los rastrojos mediante medidas de manejo como la rotación de cultivos. En Uruguay se ha enfatizado en estas dos últimas estrategias.

Aplicación a la espiga

La aplicación de antagonistas al momento de antesis puede impedir o retardar la germinación de las esporas de *Gibberella zeae* en el sitio de infección de la espiga (Luz *et al*. 2003). Debido a que la ventana de vulnerabilidad a la infección es relativamente corta, desde floración al estado de grano lechoso-masa blanda, una aplicación del agente de biocontrol en la espiga o justo antes de antesis podría ser eficiente.

En este tipo de trabajo, en Brasil, Estados Unidos y Canadá se han aislado microorganismos capaces de reducir la incidencia y severidad de la fusariosis de la espiga así como también el contenido de toxina deoxinivalenol (Perondi *et al*. 1996, Khan *et al.* 2001). Los microorganismos con los que han logrado los mejores

resultados han sido bacterias (*Bacillus amiloquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Pantoea agglomerans)* (Luz *et al*. 2003, Gilbert y Fernando 2004) y levaduras de los géneros *Cryptococcus* y *Sporobolomyces* (Stockwell *et al.* 1997, Khan *et al*. 2001, Schisler *et al*. 2002, Luz *et al*. 2003). Se han logrado las mejores eficiencias de control reduciendo la severidad de fusariosis de la espiga a campo en 50-67% así como también las pérdidas de rendimiento en grano en más de 700 kg/ha (Luz *et al*. 2003). En trabajos orientados a evaluar la aplicación de agentes de biocontrol junto con fungicidas eficientes en el marco de un manejo integrado de la enfermedad, se han logrado eficiencias de control de fusariosis de la espiga de hasta 86% y disminución en el contenido de deoxinivalenol hasta del 25% (Bergstrom 2000, Stockwell *et al*. 2000).

Aplicación al rastrojo

El uso de agentes de biocontrol que afectan la supervivencia saprofítica de *Gibberella zeae* y/o reducen cuantitativamente el inóculo primario (peritecios y ascosporas) es una propuesta original donde se han realizado escasos trabajos (Fernandez 1992, Bujold *et al.* 2001). La fusariosis de la espiga es una enfermedad monocíclica donde la principal fuente de inóculo son los rastrojos infestados sobre la superficie del suelo. En las condiciones de Uruguay, *Gibberella zeae* es capaz de sobrevivir en rastrojo de trigo o cebada por dos años y en rastrojo de maíz hasta por tres años (Pereyra y Dill-Macky 2008). En consecuencia, el uso de antagonistas adaptados a las condiciones de campo capaces de reducir el nivel de inóculo inicial en los rastrojos, podría ser una herramienta útil en el manejo integrado de la fusariosis de la espiga.

Existen antecedentes que mediante la aplicación de *Microsphaeropsis* sp. a los rastrojos de trigo y maíz, es posible disminuir la producción de ascosporas *in vitro* en estos rastrojos. A campo si bien no se detectó un efecto en el patrón de maduración de peritecios, se vio un efecto significativo de aplicar *Microsphaeropsis* sp. en el número de peritecios producidos (Bujold *et al*. 2001).

En Uruguay se evaluó en una primera etapa el efecto de la aplicación de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma harzianum* comercialmente disponibles en Estados Unidos y en Uruguay, en la colonización del rastrojo por *Gibberella zeae* y en la producción de peritecios y ascosporas. Se llevaron a cabo dos experimentos en condiciones semicontroladas donde se aplicaron *Bacillus subtilis,* cepa GBO3 de Estados Unidos (Kodiak®) a 0.05 g/m^2, 4.6x10^{10} ufc/g, *Trichoderma harzianum* cepa KRL-AG2 de Estados Unidos (T-22®) a 2 y 5 g/m^2, 1x10^7 ufc/g y *Trichoderma harzianum* cepa L1 (Trichosoil®) a 2 y 5 g/m^2, 1x10^7 ufc/g, y cepas B y C de Uruguay a 5 g/m^2, 1x10^7 ufc/g a rastrojo de trigo naturalmente infectado con *Gibberella zeae* (83% de los nudos colonizados). Ninguno de los tratamientos tuvo un efecto significativo en reducir la colonización del rastrojo por *Gibberella zeae*. Sin embargo, los rastrojos inoculados con *Trichoderma harzianum* T-22® (2 y 5 g/m^2) y *Trichoderma harzianum*, Trichosoil® (5 g/m^2) presentaron una significativamente ($P<0.05$) menor producción de peritecios por mm^2 de rastrojo, a los tres meses de aplicar estos antagonistas. En este caso, la menor producción de peritecios de *Gibberella zeae* estuvo en parte explicada por una ausencia de aquellos estados

de madurez categoría 1 de la escala de Paulitz que corresponde a inicios de peritecios (Pereyra *et al.* 2005).

En una segunda etapa se aislaron y seleccionaron, según distintas características, cepas nativas de *Trichoderma* para el control biológico de *Gibberella zeae* a partir de rastrojo de trigo. Dieciséis cepas nativas de *Trichoderma* se identificaron molecularmente por secuenciación de dos regiones génicas (ITS1-5.8S rDNA-ITS2 y de una región del gen que codifica para el factor de elongación de la traducción 1 alfa). Se identificaron las especies *Trichoderma koningiopsis*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma longibrachiatum* (Cabrera 2009). Para estimar la potencialidad como agente de biocontrol las cepas fueron caracterizadas por su capacidad de producir distintas enzimas como celulasas, quitinasas y β-1,3-glucanasas así como por su habilidad para inhibir el crecimiento del patógeno en condiciones *in vitro*. Con los resultados de esta caracterización se logró seleccionar cinco cepas de *Trichoderma,* cuatro de *Trichoderma koningiopsis* y una de *Trichoderma atroviride,* que fueron posteriormente evaluadas *in vitro* por su capacidad de inhibir la producción de peritecios de *Gibberella zeae* sobre rastrojo de trigo. Las cinco cepas evaluadas lograron disminuir significativamente la producción de peritecios sobre el rastrojo de trigo, incluso una de las cepas logró inhibir la formación de peritecios hasta un 85% respecto al testigo (Cabrera 2009).

Manejo de antagonistas mediante distintas secuencias de cultivos

Trichoderma es un hongo que normalmente habita los suelos y que ha mostrado tener una gran capacidad antagónica frente a un variado grupo de patógenos y ha mostrado ser eficiente en el biocontrol de *Gibberella zeae* (Cabrera 2009). Sin embargo, desde una perspectiva ecológica, aún cuando se realicen inoculaciones con cepas microbianas nativas del sitio donde se está utilizando, las poblaciones del agente inoculado se enfrentan a ambientes hostiles que naturalmente evitaron su presencia en altas densidades (Garret 1970).

En 2009 se iniciaron estudios que buscan identificar el efecto de distintas medidas de manejo sobre las poblaciones nativas de *Trichoderma*, no sólo con el objetivo de favorecer altas poblaciones indígenas ya presentes allí, sino además para identificar ambientes que favorezcan el desarrollo de *Trichoderma* y de esta forma asegurar un mejor ambiente para realizar las inoculaciones de cepas eficientes para el biocontrol de los principales patógenos de cultivos extensivos, entre ellos, *Gibberella zeae* (Perez y Villar 2011).

Consideraciones finales

El control biológico representa una alternativa adicional en un enfoque de manejo integrado de la fusariosis de la espiga, tanto mediante la aplicación de antagonistas en la espiga para impedir la infección como en el rastrojo para interferir en la producción de inóculo primario de la enfermedad. Sin embargo, los resultados obtenidos hasta el momento sugieren que es necesario contar

con mayor información que incluya conocer el modo de acción de los agentes de biocontrol, el momento óptimo para la aplicación de los mismos, aspectos ecológicos del patógeno y antagonista, formulación más adecuada según la estrategia objetivo y la compatibilidad de la aplicación con otras prácticas de producción de los cultivos, en especial la secuencia de cultivos.

Control biológico de patógenos en hortalizas

La producción de hortalizas en Uruguay es realizada en su gran mayoría por productores familiares, que hacen un uso intensivo del suelo y recurren al uso de fungicidas como principal herramienta de manejo de las enfermedades de sus cultivos. El uso de plaguicidas en cultivos hortícolas se realiza sin las precauciones debidas (Banchero y Kausas 1989, Navarro y Piña 2006) lo que pone en riesgos a productores, trabajadores y consumidores. A su vez la baja eficiencia en el control químico de algunos patógenos ha obligado al desarrollo de sistemas de manejo integrado de las principales enfermedades. Para ello se han desarrollado trabajos conjuntos entre las cátedras de Horticultura y Fitopatología. Por un lado, el rescate de poblaciones locales de hortalizas mantenidas por los productores ha permitido disponer de variedades adaptas a la zona de producción y con mayores niveles de resistencia. Un ejemplo de ello es la selección de poblaciones locales de cebolla con mayor resistencia a *Botrytis squamosa* (Galván *et al*. 2003). El uso de la solarización mostró ser altamente efectiva en el control de patógenos de suelo (Gepp *et al.* 1999 Gepp *et al*. 2001, Casanova y Tricot 2001). El uso de Propóleos para el control de enfermedades de hortalizas ha sido otra de las líneas de trabajo de este grupo (González *et al*. 2005). Por último, el control biológico de enfermedades de hortalizas ha sido otra de las líneas de trabajo en la búsqueda de herramientas útiles en la implementación de estrategias de manejo integrado, destacándose los trabajos llevados adelante en los patosistemas *Sclerotinia sclerotiorum* – lechuga y *Botrytis squamosa* – cebolla.

Control Biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* en Lechuga

En todo el mundo los cultivos son afectados por diversos patógenos de suelo, entre los cuales se encuentran hongos, bacterias y nemátodos. Su incidencia en la producción se incrementa a medida que el suelo se usa en forma mas intensa. Varios factores contribuyen a que el control de estos patógenos sea muy dificultoso, entre ellos el hecho de que es muy difícil llegar al patógeno en el perfil del suelo con cualquier sustancia química y que existe una escasez de variedades resistentes. En algunos casos los patógenos poseen un amplio rango de huéspedes, lo cual significa un obstáculo para su manejo mediante rotaciones de cultivos. Tal es el caso de *Sclerotinia sclerotiorum*, un hongo de suelo que provoca pérdidas importantes en numerosos cultivos hortícolas e industriales en el Uruguay (Gepp *et al*. 1998, Gepp 2003). Este hongo afecta numerosos cultivos, produce estructuras de resistencia (esclerotos) que permanecen en el suelo y en determinadas condiciones se reproduce sexualmente mediante apotecios

que liberan ascosporas al aire. La importancia de la podredumbre blanda de las hortalizas y las dificultades existentes para manejarla con las herramientas disponibles llevó a la cátedra de Fitopatología de la Facultad de Agronomía a desarrollar un proyecto con el objetivo de aislar y seleccionar cepas de hongos antagonistas de *Sclerotinia sclerotiorum*. Los trabajos se iniciaron en el año 1999 y habrían de continuar por tres años. La estrategia utilizada fue la de aislar potenciales antagonistas partiendo de los propios esclerotos de *Sclerotinia sclerotiorum* que pudiesen estar parasitados. Se procuró de esta manera dirigir la selección hacia aquellos microorganismos. capaces de parasitar esclerotos, estructuras de sobrevivencia de este patógeno. Para ello se utilizaron esclerotos producidos en el laboratorio los que fueron utilizados como cebos o trampas. Grupos de estos esclerotos fueron colocados en la tierra dentro de mallas plásticas por un periodo de tres meses. Posteriormente se retiraron y se procedió a aislar antagonistas (Silveira *et al.* 2001). Se utilizó una estrategia de selección escalonada. Comenzando con técnicas de laboratorio, luego se pasó a técnicas que utilizan trozos de material vegetal para finalmente usar la selección sobre plantas. La selección primaria se realizó *in vitro*, mediante la técnica de cultivos duales. De un total de 130 aislamientos obtenidos se seleccionaron los 56 que mejor controlaron al patógeno. Posteriormente se usó una técnica modificada de Rabendran *et al*. (1998) consistente en colocar un disco de agar con el antagonista sobre uno con *Sclerotinia sclerotiorum* (ambos micelios en contacto) en el centro de una placa de Petri sobre sustrato estéril húmedo y rodeados por tres trozos de pecíolo de repollo o lechuga. Se seleccionaron así 40 aislamientos que lograron evitar la colonización de los trozos de repollo del ataque del patógeno. La mayoría de los aislados resultaron pertenecer al género *Trichoderma* (Silveira *et al*. 2002, Silveira *et al.* 2003).

Con los cinco mejores antagonistas seleccionados se pasó a la etapa de evaluación en planta. Para ello, previamente se debió ajustar la multiplicación de los antagonistas en sustrato de maíz picado grueso y se aplicó una suspensión de esporas (10^{-6} ufc/ml) a un sustrato estéril en almacigueras, donde se sembró lechuga. Cada celda de la almaciguera se inoculó con un disco de agar con micelio del patógeno y se evaluó el porcentaje de plantas muertas al cabo de 40 días. El trabajo concluyó con éxito y obteniéndose una serie de aislados capaces de disminuir la incidencia de *Sclerotinia sclerotiorum*. El género más encontrado fue *Trichoderma*. No se aisló *Coniothyrium minitans*, un micoparásito de esclerotos que existe en otros continentes y que se ha desarrollado comercialmente.

Control biológico de la mancha foliar y punta seca de la cebolla ocasionada por *Botrytis squamosa*

El cultivo de cebolla tiene gran importancia socio-económica en nuestro país, debido a que involucra a un gran número de productores en su mayoría familiares. Es una de las cinco hortalizas más cultivadas y el número de productores asciende a 1300 aproximadamente, con una producción anual en el entorno de las 25.500 toneladas (DIEA-DIGEGRA, MGAyP 2010). El 95 a

98% de la producción nacional es llevada a cabo por productores familiares, los cuales en su mayoría cultivan superficies de una o dos hectáreas como valores modales. Durante la etapa de almácigo la mancha foliar y punta seca causada por *Botrytis squamosa* es la mayor limitante a la producción (González *et al*. 1998a). En condiciones favorables esta enfermedad puede ocasionar la destrucción total de los plantines en el almácigo. Su manejo requiere de la integración de diferentes medidas de control. Esta problemática se abordó en conjunto por las cátedras de Horticultura y Fitopatología de la Facultad de Agronomía. Se realizó una selección de poblaciones locales de cebolla evaluándose su resistencia a la mancha foliar y punta seca.

En el año 1997 comenzó la búsqueda y selección de antagonistas y se realizó la primera evaluación a campo de una cepa de *Clonostachys rosea*. La estrategia de búsqueda utilizada en este caso fue la de aislar antagonistas a partir de esclerotos de *Botrytis squamosa* visiblemente parasitados. Mediante la técnica de cultivos duales fue seleccionada la mejor cepa. Inmediatamente se pasó a la etapa de ajuste de la producción de inóculo del antagonista en diferentes sustratos (granos de trigo, afrechillo, granos de maíz enteros, granos de maíz molidos). El mayor rendimiento en producción de conidios de *Clonostachys rosea* se obtuvo sobre granos de trigo previamente esterilizados en autoclave. Los tratamientos consistieron en aplicaciones semanales de *Clonostachys rosea* (10^8 conidios/ml), Iprodione (Rovral) en concentración de 1 g/l, y agua estéril a un almácigo de cebolla. La aplicación de *Clonostachys rosea* presentó menores niveles de enfermedad que el testigo sin tratar (González *et al*. 1998b, Silvera-Pérez *et al*. 1998). Las mayores dificultades encontradas en el desarrollo de métodos de control biológico de enfermedades de hortalizas son la falta de continuidad en el financiamiento de la línea de investigación y la falta de un banco de microorganismos en donde depositar las cepas seleccionadas. Las líneas se discontinuaron y muchas de las cepas promisorias se fueron perdiendo con el correr del tiempo por no estar conservadas en forma apropiada.

El primer producto biológico completamente desarrollado en Uruguay que alcanzó la etapa de registro

La empresa Lage y Cía registra el primer producto biológico en el año 2009 (Registro Nº 3087). Se trata de Trichosoil, un fungicida biológico cuyo principio activo es una cepa de *Trichoderma harzianum* de origen nacional. A continuación se presenta la historia de este fungicida actualmente presente en el mercado.

Desarrollo del Trichosoil, primer biofungicida registrado en Uruguay

En la década del 90 no había antecedentes en Uruguay acerca del uso de antagonistas para el control de enfermedades a nivel de campo. Incluso a nivel mundial eran pocos los productos comerciales para control biológico de enfermedades vegetales, si bien había un gran número de trabajos científicos al

respecto, destacándose las referencias del uso de hongos del género *Trichoderma*.

En nuestro país, en años previos, se estaba investigando en el uso de *Trichoderma* para el control de *Sclerotium rolfsii* con buenos resultados de laboratorio. *Sclerotium rolfsii* es un patógeno importante en Uruguay, pues ataca diversos cultivos y es de difícil control (Lupo 1992).

En el año 1991, la empresa Lage y Cía S.A., productora de inoculantes a base de rizobios desde 1960, se interesa en el desarrollo de agentes microbianos de control biológico, aprovechando su experiencia e infraestructura para la producción de microorganismos a gran escala.

Para que un microorganismo pueda transformarse en un producto comercial no sólo debe poseer una buena capacidad antagónica, sino que también tiene que poder producirse de forma económica, en condiciones estandarizadas y a gran escala. Además hay que lograr una formulación que se pueda aplicar fácilmente en el cultivo y que le confiera al producto una sobrevivencia adecuada para permitir su comercialización. Luego de obtener un producto formulado hay que determinar la forma y momento en que se aplicará en el campo, dependiendo del cultivo y el patógeno a controlar; también se deben instrumentar controles de calidad para garantizarle al usuario un producto estandarizado. Por último, se deben completar los trámites de registro ante las autoridades competentes.

Para iniciar los trabajos, Lage y Cía. obtuvo un Proyecto del Fondo de Promoción y Tecnología Agropecuaria (FPTA) de INIA en 1991, con una duración de cuatro años, denominado "Control biológico de hongos de suelo y su aplicación masiva a campo". Las investigaciones se centraron en el control de *Sclerotium rolfsii* en ajo con *Trichoderma*, dados los antecedentes de trabajo en este tema en INIA y Facultad de Ciencias. En Uruguay, *Sclerotium rolfsii* es un patógeno importante en el cultivo de ajo, provocando grandes pérdidas al fin del ciclo del cultivo, fundamentalmente en la calidad del bulbo. En esos años el ajo era un cultivo con perspectivas de exportación, por lo cual las exigencias de calidad eran altas. Las medidas de control químico usadas hasta el momento no eran efectivas, por lo cual había fundadas esperanzas en que la aplicación de productos a base de *Trichoderma* podría ser una alternativa viable para el control de *Sclerotium rolfsii* en un sistema de manejo integrado.

Los objetivos del Fondo de Promoción y Tecnología Agropecuaria Lage-INIA fueron:

- Seleccionar aislamientos de *Trichoderma* con alto poder antagonista.
- Ajustar las condiciones de producción del antagonista.
- Probar soportes para obtener una formulación efectiva y de fácil aplicación.
- Definir dosis y momentos de aplicación para controlar *Sclerotium rolfsii* en ajo.
- Probar la compatibilidad de aislamientos de *Trichoderma* con fungicidas químicos con vistas a utilizarlos en un plan de manejo integrado.

Luego de culminado el proyecto se logró una colección de aislamientos con probada actividad antagónica frente a *Sclerotium rolfsii*, un adecuado sistema de producción de *Trichoderma* y un método de control integrado del patógeno

con fungicidas compatibles.

En los años subsiguientes, Lage y Cía. continuó las investigaciones por su propia cuenta. Seleccionó de la colección un aislamiento de *Trichoderma harzianum* que tenía buenas características como antagonista y para la producción industrial. Con él desarrolló un formulado con posibilidad de ser aplicado a campo y con una aceptable vida útil, que permite su comercialización. (Folch *et al*. 1997).

Los productos para control biológico se utilizan principalmente en cultivos hortifrutícolas que hacen un uso más intensivo de los recursos. En Uruguay este mercado es muy pequeño, por lo cual para lograr comercializar un volumen interesante de un fungicida biológico hay que determinar el espectro de acción del antagonista y ajustar su aplicación en diferentes situaciones productivas. El aislamiento de *Trichoderma harzianum* seleccionado no sólo controla *Sclerotium rolfsii* sino que también se probó su efectividad sobre otros patógenos de suelo como *Sclerotinia*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Fusarium*, y algunos foliares como *Botrytis*. También se pudo constatar promoción de crecimiento en los almácigos. Estos patógenos son bastante polífagos y por esta razón se trabajó en varios cultivos, adaptando el uso del producto al sistema de producción. Hay que tener en cuenta que en la década del 90, y aún hoy, los productores no están acostumbrados a usar herramientas biológicas y el control de las enfermedades se realiza mayoritariamente con fungicidas químicos. La inclusión de un fungicida biológico debe estudiarse caso a caso, junto con el productor, analizando el sistema de producción, los patógenos que se presentan y los momentos en que aparecen y las restantes medidas que se utilizan para su control; solamente de esta manera se podrá incluir el agente antagonista en un manejo integrado.

Al obtener un producto formulado (denominado Trichosoil), con un uso definido, se decidió registrarlo en el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MGAP). En el año 2001, cuando se iniciaron los trámites, no existía en Uruguay una legislación que permitiera el registro de productos biológicos para el control de plagas y enfermedades; los únicos formulados microbianos que se podían registrar eran los inoculantes de rizobios. El registro debió hacerse siguiendo la normativa de los productos químicos, con dos serias dificultades: en primer lugar los formularios estaban diseñados para registrar un fungicida químico, y en segundo lugar, las autoridades competentes desconocían las características particulares de un fungicida biológico. Finalmente, en el año 2005, se obtuvo el registro de Trichosoil como plaguicida agrícola, que resultó ser el primer fungicida biológico registrado en Uruguay. Cuando en 2010 venció el registro, Uruguay ya contaba con una normativa para registrar agentes microbianos de control biológico y la renovación se hizo siguiendo los nuevos requisitos.

El desarrollo de agentes microbianos de control biológico es un proceso dinámico. Hay que mejorar las formulaciones para que se adapten a los sistemas productivos, probar la compatibilidad con los nuevos productos químicos que aparecen en el mercado y que puedan utilizarse en un manejo integrado. En la actualidad, el mercado está cada vez más ávido de este tipo de productos y surgen permanentemente nuevos nichos en los que hay que incursionar, incluso en cultivos extensivos, donde hay que buscar formas de aplicación que sean económicamente viables.

Dificultades encontradas en la investigación en control biológico en Uruguay y nuevas perspectivas

La investigación en control biológico ha estado centrada en el sector público, la Universidad de la República, el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y el Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Diversos grupos de investigación han realizado importantes esfuerzos en procura de desarrollar metodologías de control biológico de enfermedades de plantas. A pesar de ello, hasta el momento, un solo producto ha alcanzado la etapa de registro. Se trata de Trichosoil registrado por la empresa Lage y Cia.

Una de las limitantes importantes ha sido la discontinuidad de los fondos recibidos lo que dificulta el establecimiento de equipos de investigación estables. Las prioridades de financiamiento en la actualidad no incluyen entre las temáticas concursables el desarrollo de metodologías de manejo de enfermedades de plantas dirigidos a minimizar el uso de plaguicidas y sus impactos.

Por otra parte existen serias dificultades para transferir los conocimientos generados al sector privado. Muchos microorganismos con alto potencial biocontrolador han quedado en la etapa de selección sin que luego se haya dado paso a la investigación en métodos de producción masiva, desarrollo de un formulado comercial y finalmente uso por parte de los agricultores.

En general, muchas iniciativas completan exitosamente las primeras etapas llegando a establecer colecciones de cepas con alto potencial para ser utilizadas en el desarrollo de un producto biológico, pero al igual que ocurre a nivel mundial, muchas de ellas no logran concretar el desarrollo comercial. Existen dificultades al momento de establecer los términos de transferencia al sector privado de las cepas, como realizar la protección de las mismas, como asegurar el pago de los royalties.

A esto se han sumado las dificultades al momento de proceder al registro, ya que durante años no existió una legislación que permitiese registrar productos biológicos. El registro de un plaguicida biológico siguiendo los protocolos existentes para los fungicidas de síntesis química llevó a que se exigieran análisis innecesarios y se omitieran otros que deberían exigirse a un producto biológico.

Finalmente, en los últimos años, se destrabó el registro de productos biológicos y sin embargo muchos productos no logran alcanzar esta etapa. En ocasiones se ha intentado registrar productos biológicos con serias carencias de investigación y desarrollo. Por ejemplo intentar registrar un producto cuyo agente de biocontrol no está identificado en forma certera. La falta de identificación lleva a otras carencias como la ausencia de pruebas que garanticen su inocuidad. Por otra parte tampoco se han desarrollado protocolos que garanticen la calidad de los productos biológicos.

Si bien existe conocimiento científico generado sobre un número importante de cepas microbianas, el desafío actual es ingresar en la etapa de adopción y uso de productos comerciales. Para ello, se debe dar un salto de escala que implica desarrollar investigación en bioproducción y formulación, en fuerte vinculación con la industria, y contribuir a la armonización del marco normativo vigente.

Actualmente el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), ha realizado esfuerzos para fortalecer las líneas de investigación en bioproducción y desarrollo de producto, incluyendo la multiplicación, el escalado y la fermentación en sustrato líquido o sólido, la formulación y el control de calidad. Con la reciente culminación y puesta en funcionamiento del Laboratorio de Microbiología de Suelos en la Estación Experimental Wilson Ferreira Aldunate, INIA incorpora este antecedente nacional en bioproducción. Esta iniciativa permite potenciar las capacidades ya instaladas del Laboratorio de Bioproducción de Agentes Microbianos de Control Biológico y la Unidad de Biotecnología. La suma de dichas capacidades en áreas temáticas convergentes y con abordajes metodológicos comunes, fortalece el desarrollo de una Plataforma de Bioinsumos de Uso Agrícola en base a Microorganismos Benéficos.

Para la puesta en funcionamiento de dicho laboratorio se priorizó la vinculación tecnológica con grupos internacionales, como AgResearch (Nueva Zelanda), Embrapa (Brasil), USDA Crop Bioprotection Unit (Estados Unidos). En particular, AgResearch trabaja en el desarrollo de Agentes de Control Biológico desde hace más de 20 años, investigación impulsada por una política netamente proteccionista del medio ambiente con una fuerte rentabilidad comercial.

En este mismo sentido se destaca el reciente proyecto de "Instalación de un centro de multiplicación y distribución de agentes microbianos para el control de enfermedades y plagas en horticultura". En este caso se trata de una iniciativa de un agrupamiento de productores nucleados en la Sociedad Fomento Rural Los Arenales ubicada en el departamento de Canelones.

El proyecto, con apoyo de la Facultad de Agronomía e INIA, procura desarrollar un laboratorio para la producción y comercialización de agentes de control biológico. Para su ejecución se definen diferentes etapas: instalación de laboratorio y salas de multiplicación; capacitación del personal a cargo del laboratorio; producción a escala comercial de los distintos agentes biológicos; capacitación de productores y técnicos del territorio en el uso de esta herramienta; seguimiento y supervisión en predios de referencia que permita ajustar técnicas de aplicación del agente biológico; difusión de los resultados obtenidos a productores y técnicos; y distribución a productores de los agentes de control biológico (González, 2012; Patrón *et al.* 2012).

La enseñanza del control biológico

En Uruguay, como en la mayoría de los países, el Control Biológico de enfermedades de plantas permaneció relegado durante muchos años. El primer antecedente docente se remonta a 1991, año en que se incluye el tema dentro del curso de fitopatología en la formación de los ingenieros agrónomos. Esta introducción del tema se da en un plano teórico debido a que aún no existen productos comerciales de control biológico en el mercado y por lo tanto no es posible analizar su aplicación en campo ni ejemplificar con datos concretos las formas de manejar enfermedades de plantas mediante la aplicación de biocontroladores. Su inclusión se realizó con el fin de brindar a los futuros profesionales los conocimientos básicos para incorporar esta tecnología en el futuro.

En el año 1999 se dicta el curso "Bases Moleculares en el Control Biológico de Patógenos de Suelo" en el Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas. Participaron del mismo como docentes invitados la Dra. Linda Tomashow (USDA, Root Disease and Biological Control Research Unit, Estados Unidos) y el Dr. Philip Lemanceau (INRA, Francia).

A partir del año 2003 se comienza a dictar un curso de posgrado sobre "Control biológico de enfermedades de plantas". Este curso se continúa dictando en forma bianual para estudiantes de posgrado y ha contado con la asistencia de estudiantes de diferentes países de Latinoamérica. En el año 2006 se publica la primera edición del libro de texto para dicho curso "Control biológico de patógenos de plantas" (Mondino y Vero 2006). En el año 2012 el curso fue seleccionado en la convocatoria de cursos del Centro Argentino Brasileño de Biotecnología (CABBIO).

La difusión del control biológico y eventos científicos

Tan importante como la enseñanza curricular del control biológico, ha sido la atención dedicada a la promoción de eventos realizados con el objetivo de sensibilizar sobre el uso de microorganismos benéficos en la agricultura. En particular, se destacan una serie de hitos con participación del sector académico, productivo y político, que marcan la relevancia del conocimiento generado en Uruguay, y posicionan al país en un escenario favorable a nivel regional. La organización de dichos eventos ha sido responsabilidad del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), la Universidad de la República (UdelaR) y el Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), contando con el apoyo del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP), el Programa Cooperativo de Investigación del Cono Sur (PROCISUR), la Sociedad Uruguaya de Fitopatología (SUFIT), Embrapa (Brasil), INTA (Argentina), INIA (Chile), AgResearch (Nueva Zelanda).

- V Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe - V SIRGEALC. RRGG Microbianos. Noviembre 23-25, 2005. Montevideo, Uruguay. Los trabajos presentados fueron publicados en un número especial de la revista Agrociencia (Agrociencia No. 9 vol 3 del año 2005).

- Primer Taller sobre Producción de Agentes Microbianos de Control Biológico. Marzo 21-22, 2006. INIA la Estanzuela, Colonia, Uruguay. El Primer Taller Uruguayo sobre Agentes Microbianos de Control Biológico (AMCB) dejó de manifiesto la existencia de vasto conocimiento generado en el país (Alzugaray y Visnovsky 2006). Permitió sentar las bases de la situación actual de Uruguay en la temática, así como establecer las principales limitantes y demandas del sector científico, de las empresas proveedoras de productos biológicos y de los usuarios finales. Principalmente se enfatizó la necesidad de contar con un marco regulatorio para el registro y utilización de AMCB en el territorio nacional.

- Segundo Taller de Agentes Microbianos de Control Biológico. Setiembre 4-5, 2008. INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay. El Segundo Taller Uruguayo de Agentes Microbianos de Control Biológico se focalizó en analizar y discutir los avances logrados en la prospección, evaluación y eficiencia de control de

agentes microbianos para el control de enfermedades e insectos, con énfasis en los aspectos de formulación, escalado y producción de los AMCB. Así mismo, se desarrolló una discusión sobre "Marco Normativo y Comercialización", con la participación de destacados investigadores de la región (Brasil, Argentina, Chile) y de países con modelos exitosos (Colombia, Cuba, Israel, Nueva Zelanda), cuyas conclusiones levantan la relevancia de fomentar la integración regional/ internacional de los grupos trabajando en el tema de control biológico.

- Tercer Taller de Agentes Microbianos de Control Biológico. Setiembre 4, 2011. Piriápolis, Maldonado, Uruguay. El Tercer Taller Uruguayo de Agentes Microbianos de Control Biológico tuvo como objetivo abordar la temática "Uso y perspectivas de los Agentes Microbianos de Control Biológico en sistemas de producción sustentables". Se discutieron aspectos de desarrollo y uso de agentes microbianos para el control biológico de insectos plaga y de enfermedades vegetales, así como la importancia de la gestión de las colecciones de cultivos microbianos y su rol en la conservación y uso sustentable del recurso. El taller se realizó al comienzo de la vigésimo quinta Reunión Latinoamericana de Rizobiología (XXV RELAR), tornándose una ocasión para reunir investigadores de la región y sumar capacidades en el área de los recursos genéticos microbianos.

Marco normativo para el registro de Agentes de Control Biológico en Uruguay

Durante muchos años no fue posible registrar productos biológicos para uso agrícola en el Uruguay debido a la inexistencia de una legislación que lo regule. Los intentos de registro se realizaron siguiendo la normativa existente para plaguicidas de síntesis química lo que terminaba imposibilitando el registro.

En la discusión final del Primer Taller de Agentes Microbianos de Control Biológico se arribó a la siguiente conclusión: "Se remarca la falta de un marco normativo que permita la utilización en el país de estos Agentes Microbianos de Control y el desarrollo de productos basados en microorganismos nativos. La elaboración de este marco normativo debería colocarse como una prioridad estratégica, ya que sería un punto de apoyo trascendente para lograr un país productivo, sustentable y natural, y debería ser consensuado por todas las instituciones involucradas en el tema, incluyendo la industria y a los productores agropecuarios" (Primer Taller Uruguayo de Producción de Agentes Microbianos de Control Biológico, 2006).

A partir de entonces la Dirección General de Servicios Agrícolas (MGAP), autoridad competente en la materia, ha trabajado en una propuesta de marco regulatorio aprobándose el 09 de mayo de 2007 el Decreto 170 (Diario Oficial), por el cual el Poder Ejecutivo decreta de interés para la producción agrícola el uso de Agentes de Control Biológico. Dicha propuesta plantea que los Agentes de Control Biológico sean sometidos a Análisis de Riesgo en cuanto a impacto ambiental y salud humana. Por esta razón, la Dirección Nacional de Medio Ambiente (MVOTMA) y la Dirección de Salud Ambiental y Ocupacional (MSP) son parte del sistema.

INIA, a través de la Gerencia de Vinculación Tecnológica, ha realizado un esfuerzo conjunto para la armonización de una estrategia nacional que atienda el registro, control de calidad y uso de productos biológicos, con todos los actores institucionales involucrados (MGAP, MVOTMA, MSP, Consejo Sectorial de Biotecnología, Gabinete Productivo, UdelaR).

El procedimiento vigente para el registro establece pautas para obtener información sobre la eficacia agronómica de los Agentes de Control Biológico. A partir del año 1998 la Cátedra de Fitopatología de la Facultad de Agronomía brinda el servicio de "evaluación de productos biológicos con fines de registro". Diversos formulados nacionales y extranjeros fueron evaluados siguiendo los protocolos exigidos por el MGAP. El primer producto evaluado fue el "MBI 600", un formulado en base a *Bacillus subtilis* recomendado para el control de la podredumbre morena ocasionada por *Monilinia* spp. en duraznos. Los resultados no fueron positivos y la empresa Lage & Cia desistió de registrarlo.

En el año 2005 un segundo producto biológico fue traído a Uruguay por la empresa BILSA. Se trató de Bioderma, un formulado de origen hindú en base a *Trichoderma viride* que se intentó registrar sin éxito. Se realizaron ensayos para evaluar su eficiencia en el control de patógenos de suelo. En este caso se obtuvieron resultados promisorios, pero la ausencia de legislación impidió el registro.

En los años 2007-2008 se realizaron ensayos de evaluación de Nattogro, formulado fabricado por la empresa Microbax, India, consistente en una combinación de diferentes cepas del género *Bacillus* con predominancia de la especie *Bacillus subtilis.* Nattogro fue ingresado en traído a Uruguay por la empresa Benatto (Garmendia *et al.* 2008). Ante la ausencia de una legislación que le permitiera iniciar los tramites de registro la empresa desistió en sus pretensiones de comercializar en Uruguay dicho producto.

A partir del año 2007 y hasta el 2010 se realizan ensayos de evaluación de Zimevit, un producto biológico desarrollado en la cátedra de enología de la Facultad de Química que combina la acción de una cepa de la bacteria *Bacillus subtilis* con una cepa de la levadura *Metschnikowia pulcherrima* para el control de *Botrytis cinerea* en vid (Mondino *et al*. 2012).

Consideraciones finales

En las últimas dos décadas, Uruguay ha generado conocimiento científico sobre microorganismos benéficos de uso potencial para el control biológico de enfermedades de plantas, alineándose con un escenario favorable a nivel mundial. Hoy se dispone de capacidades institucionales creadas para realizar investigación y de recursos humanos calificados. Así mismo, hay antecedentes de vinculación con el sector industrial para el desarrollo comercial de productos. Esta iniciativa nacional es trascendente para la concreción de tecnologías innovadoras para la agricultura y el logro de un país productivo, sustentable y natural, con el consenso de todos los actores involucrados en el tema. El éxito está condicionado a un fuerte compromiso para la armonización del marco normativo y la instrumentación de políticas de educación y extensión en cuanto al uso de insumos biológicos, con alcance a los diferentes sectores de la sociedad.

Bibliografía

Altier N, Thies JA. 1995. Identification of resistance to *Pythium* seedling diseases in alfalfa using a culture plate method. Plant Disease 79:341-346.

Alzugaray R, Visnovsky G. (eds.) 2006. Proceedings of the First Uruguayan Workshop on Bioproduction of Biological Control Agents, Montevideo. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIA. 72pp.

Bagnasco P, De La Fuente L, Gualtieri G, Noya F, Arias A. 1998. Fluorescent *Pseudomonas* spp. as biocontrol agents against forage legume root pathogenic fungi. Soil Biology & Biochemistry 30:1317-1322.

Bajsa N, Quagliotto L, Yanes ML, Vaz P, Azziz G, De La Fuente L, Bagnasco P, Davyt D, Pérez C, Ducamp F, Altier N, Arias A. 2005. Selección de *Pseudomonas* fluorescentes nativas para controlar enfermedades de implantación en praderas. Agrociencia 9:321-325.

Banchero ML, Kausas S. 1989. Consecuencias en la salud del uso de agrotóxicos en el área de influencia de la Sociedad de Fomento Rural de Santa Rosa. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía. Universidad de la República, Montevideo. 234 pp.

Bergstrom GC. 2000. NCR-184 State Report New York 2000. In: Proc. 2000 National *Fusarium* Head Blight Forum, Erlanger, KY. Pp. 327-329.

Boasso C. 1961. Estado fitosanitario de los cultivos de trigo de la reciente cosecha. Boletín Informativo 854:7.

Boerger A. 1928. Observaciones sobre agricultura, quince años de trabajos fitotécnicos en Uruguay. Imprenta Nacional, Montevideo. 436 pp.

Bujold I, Paulitz TC, Carisse O. 2001. Effect of *Microsphaeropsis* sp. on the production of perithecia and ascospores of *Gibberella zeae*. Plant Disease 85:977-984.

Cabrera M. 2009. Control biológico de la fusariosis del trigo. Tesis de Maestría en Biotecnología. Facultad de Ciencias. Universidad de la República, Uruguay. 90 pp.

Casanova L, Celio CA. 2011. Determinación de los niveles de resistencia "*in vitro*" a Trifloxystrobín en poblaciones de *Venturia inaequalis*. Tesis de Grado Facultad de Agronomía. Universidad de la República, Uruguay. 65 pp.

Casanova S, Tricot D. 2001. Efecto de la solarización sobre malezas y hongos fitopatógenos de suelo en cultivo de lechuga en invernáculo. Tesis de Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Uruguay. 80p.

Castoria R, Caputo L, De Curtis F, De Cicco V. 2003. Resistance of postharvest biocontrol yeasts to oxidative stress: a possible new mechanism of action. Phytopathology 93:564–572.

Catroux G, Hartmann A, Revellin C. 2001. Trends in rhizobial inoculant production and use. Plant Soil 230:21-30.

Da Costa Neto JP. 1976. Lista de fungos sobre gramíneas (capins e cereais) no Rio Grande do Sul. [List of fungi on gramineous species in Rio Grande do Sul, Brazil]. Revista da Faculdade de Agronomia. UFRGS 1:43-78.

De La Fuente L, Quagliotto L, Bajsa N, Fabiano E, Altier N, Arias A. 2002. Inoculation with *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains does not affect the symbiosis between rhizobia and forage legumes. Soil Biology & Biochemistry 34:545-548.

De La Fuente L, Thomashow L, Weller D, Bajsa N, Quagliotto L, Chernin L, Arias A. 2004. *Pseudomonas fluorescens* UP61 isolated from birdsfoot trefoil rhizosphere produces multiple antibiotics and exerts a broad spectrum of biocontrol activity. European Journal of Plant Pathology 110:671-681.

Díaz de Ackermann M, Kohli MM. 1997. Research on *Fusarium* head blight of wheat in Uruguay. En: Dubin HJ, Gilchrist L, Reeves J, McNab A (eds.). *Fusarium* head scab: Global status and future prospects. CIMMYT, DF, Mexico Pp. 13-18

Díaz de Ackermann M, Pereyra S. 2011. Fusariosis de la espiga de trigo y cebada. En: manejo de enfermedades en trigo y cebada. Pereyra S, Díaz de Ackermann M, Germán S, Cabrera K. (Eds) Serie Técnica N° 189 INIA, Montevideo. Pp. 111-128

DIEA-DIGEGRA, MGAyP, 2010. Encuestas Hortícolas 2009 Zonas Sur y Litoral Norte Serie Encuestas N° 290.

Dill-Macky R, Jones R. 2000. The effect of previous crop residues and tillage on *Fusarium* head blight of wheat. Plant Disease 84:654-660.

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 52:137-145.

Esterio M, Auger J, Ramos C, García H. 2007. First report of fenhexamid resistant isolates of *Botrytis cinerea* on grapevine in Chile. Plant Disease 91:768.

Fernandez MR. 1992. The effect of *Trichoderma harzianum* on fungal pathogens infesting wheat and black oat straw. Soil Biology & Biochemistry 24:1031-1034.

Fischer G. 1961. Calendario agropecuario y de jardinería. Almanaque BSE 1961, Montevideo. Pp. 47-50.

Folch C, Viñas E, Baraibar A. 1997. Control de *Sclerotium rolfsii* con *Trichoderma* y flutolanil en cultivos de ajo. 9 Congreso Latinoamericano de Fitopatologia. Sociedad Uruguaya de Fitopatologia. Montevideo. p184

Fox SL, O'Hara GW, Bräu L. 2011. Enhanced nodulation and symbiotic effectiveness of *Medicago truncatula* when co-inoculated with *Pseudomonas fluorescens* WSM3457 and *Ensifer (Sinorhizobium) medicae* WSM419. Plant and Soil 348:245-254.

Galietta G, Egaña E, Gemelli F, Maeso D, Casco N, Conde P, Nuñez S. 2010. Pesticide dissipation curves in peach, pear and tomato crops in Uruguay. Journal of Environmental Science and Health, Part B, 45:8:862-867.

Galvan GA, González PH, Reggio A. 2003. Onion leaf blight caused by *Botrytis squamosa* in Uruguay and the differential response of local cultivars. Allium Improvement Newsletter 13:51-54.

Garmendia, G.; Ferreira, Y.; Casanova, L.; Mondino, P.; Vero, S. 2008. Caracterización de Nattogro y determinación de su inocuidad en la germinación y crecimiento de plántulas de tomate. 2° Taller Uruguayo de Agentes Microbianos de Control Biológico. Colonia, Uruguay.

Garmendia G, Garat F, De Aurrecoechea I, Vero S. 2005.Levaduras nativas como controladores de enfermedades postcosecha de frutas en Uruguay. Agrociencia, 9:327-335.

Garret SD. 1970. Pathogenic root-infecting fungi. Cambridge University Press. Cambridge. 294 pp.

Gemelli F. 2006. Residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas frescas. Intendencia Municipal de Montevideo, Comisión administradora del Mercado Modelo. Serie Trabajos técnicos. Montevideo. 25 pp.

GEPP, V. 2003. Manejo de enfermedades en cultivos hortícolas. In: Rodriguez, A. y García, M. eds. Producción orgánica; aportes para el manejo de sistemas ecológicos en Uruguay. PREDEG/GTZ, Medios editores, Montevideo. p. 231-242.

Gepp V, Rodríguez J, Silvera-Pérez E, Carriquiri E, Gómez A, Straconi E. 1998. Producción sustentable de hortalizas de hoja en Montevideo. Facultad de Agronomía, IMM. 34 pp.

Gepp V, Silveira-Perez E, Rodríguez J, Gómez A. 1999. La solarización para el control de *Sclerotinia sclerotiorum*.III Congreso de Agricultura Orgánica del Uruguay y II Encuentro de Producción Orgánica del MERCOSUR, Montevideo. Pp. 23-27.

Gepp V, Silvera E, Casanova S, Tricot D. 2001. Solarization in the management of lettuce drop (*Sclerotinia* spp.). En: Young CS, Hughes KJD (eds0. Proceedings of *Sclerotinia* 2001 – The XI International *Sclerotinia* Workshop, York, England: Central Science

Laboratory, York, England. Pp.135-136.
Gepp V, Vero S, Cassanello ME, Romero G, Silvera E, González P, Rebellato J, Ferreira Y, Bentancur O. 2012. Resistencia a fungicidas en *Botrytis cinerea* en el Uruguay. Agrociencia 16:97-107.
Giacinti MA. 2003. Visión mundial de las frutas con calidad diferenciada: Producción integrada y Orgánica. Fruticultura Profesional 136:7-20.
Gilbert J, Fernando WGD. 2004. Epidemiology and biological control of *Gibberella zeae/ Fusarium graminearum*. Canadian Journal of Plant Pathology 26:464-472.
González P. 2012. Instalación de un centro de multiplicación y distribución de agentes microbianos para el control de enfermedades y plagas en horticultura. Resultados Experimentales en Sanidad de Tomate y Morrón 694:2123.
González P, Galván G, Silvera-Pérez E. Scattolini A, Mondino P, Gepp V, González H. 1998a. Metodología de selección de resistencia a mancha de la hoja de la cebolla (*Botrytis* sp.). Fitopatología, 33:1: 31
González P, Rauduviniche L, De Aurrecoechea I, Gepp V, Mondino P, Zaccari F, Cracco P. 2005. El propóleo como alternativa al control químico de enfermedades hortícolas. 11er. Congreso Nacional de Hortifruticultura y 3er. Congreso Panamericano de Promoción del Consumo de Frutas y Hortalizas. Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU). .
González P, Silvera-Pérez E, Di Candia M, Galván G, Scattolini A, Mondino P, Gepp V, Curbelo N. 1998b. Control biológico de la mancha foliar y punta seca de la cebolla (*Allium cepa*) ocasionada por *Botrytis squamosa* en almácigo. Fitopatología 33:1:50.
Höfte M, Altier N. 2010. Fluorescent pseudomonads as biocontrol agents for sustainable agricultural systems. Research in Microbiology 161:464-471.
Khan NI, Schisler DA, Boehm MJ, Slininger PJ, Bothast RJ. 2001. Selection and evaluation of microorganisms for biocontrol of *Fusarium* head blight of wheat incited by *Gibberella zeae*. Plant Disease 85:1253-1258.
Khonga EB, Sutton JC. 1988. Inoculum production and survival of *Gibberella zeae* in maize and wheat residues. Canadian Journal of Plant Pathology 10:232-239.
Koch, BL. 1965. Calendario de aplicación de fungicidas en montes frutales. Almanaque del BSE 1965. Montevideo. Pp. 139-146.
Kosová K, Chrpová J, Sip V. 2009. Cereal resistance to Fusarium head blight and possibilities of its improvement through breeding. Czech J. Genet. Plant Breeding 45: 87-105.
Labadie V. 2011. Optimización de las condiciones de cultivo para producción de levadura para control biológico de postcosecha de manzanas. Tesis (Maestría en Biotecnología). Facultad de Ciencias. Universidad de la República. Montevideo. Uruguay.
Labadie V, Bentancur O, Vero S. 2011. Diseño de un medio de cultivo para la producción de *Leucosporidium scottii*, levadura psicrótrofa biocontroladora de *P. expansum* en manzanas. III Taller Uruguayo de Agentes de Control Biológico. Sociedad uruguaya de Fitopatología. Piriápolis, Maldonado, Uruguay.
Liu J, Wisniewski M, Droby S, Vero S, Tian S, Hershkovitz V. 2011. Glycine betaine improves oxidative stress tolerance and biocontrol efficacy of the antagonistic yeast *Cystofilobasidium infirmominiatum*. International Journal of Food Microbiology 146:76-83.
Lupo S. 1992 Selección de cepas de *Trichoderma harzianum* para el control biológico de *Sclerotium rolfsii*. Tesis de Mestría PEDECIBA-Universidad de la República.
Lupwayi NZ, Olsen PE, Sande ES, Keyser HH, Collins MM, Singleton PW, Rice WA. 2000. Inoculant quality and its evaluation. Field Crops Res. 65:259-270.
Luz WC, Stockwell CA, Bergstrom GC. 2003. Biological control of *Fusarium graminearum*. En: Fusarium head blight of wheat and barley. K. Leonard and W. Bushnell, eds. The American Phytopathological Society Press. St. Paul, MN. Pp. 381-394.

Macarisin D, Droby S, Bauchan G, Wisniewski M. 2010. Superoxide anion and hydrogen peroxide in the yeast antagonist-fruit interaction: A new role for reactive oxygen species in postharvest biocontrol? Postharvest Biology Technology 58:194-202.

Machado V, Mondino P, Vidal I. 1992. Impacto sociológico del uso de agrotóxicos en la fruticultura. Caso del área de influencia de la cooperativa JUMECAL. Facultad de Agronomía. Universidad de la República Oriental del Uruguay junio 1992 Tesis de grado. 215 pp.

Maeso D, Núñez S, Núñez S, Mieres I, Conde P, Duarte F, Bruno A. 2007. Evaluación del impacto ambiental de los plaguicidas en la Producción Hortifrutícola (Parte 2. Cultivos Hortícolas). Revista INIA 13:20-26.

Martin FN, Loper JE. 1999. Soilborne plant diseases caused by *Pythium* spp.: ecology, epidemiology and prospects for biological control. Critical Review Plant Science 18:111–181.

McSpadden Gardener, BB. 2007. Diversity and ecology of biocontrol *Pseudomonas* spp. in agricultural systems. Phytopathology 97:221–226.

Mesterházy Á. 1997. Methodology of resistance testing and breeding against Fusarium head blight in wheat and results of selection. Cereal Res. Commun. 25:631-637.

Mondino, P.; Casanova, L.; Calero, G.; Bentancur, O.; Alaniz,S. 2012. Zimevit: un biofungicida que combina la acción de una bacteria y una levadura para el control del moho gris de la vid ocasionado por *Botrytis cinerea*. Revista Brasileira de Agroecologia. 7:3:127-134.

Mondino P, Vero S. 2006. Control Biológico de patógenos de plantas. Facultad de Agronomía. Montevideo. 158 pp.

Navarro MN, Piña L. 2006. Análisis de la situación de uso de los agrotóxicos en Uruguay. Caso de estudio "la producción de tomate" Facultad de Agronomía. Montevideo.121 pp.

Nuñez S, Maeso D. 2010. Los plaguicidas agrícolas y su potencial impacto ambiental. Revista INIA 22:35-40.

Patrón G, Juncal M, González P. 2012. Proyecto: Instalación de un centro de multiplicación y distribución de agentes microbianos para el control de enfermedades y plagas en horticultura. Actividades de difusión Nº 694. INIA. Canelones. Pp. 21-22.

Pereyra SA, Dill-Macky R. 2008. Colonization of the residues of diverse plant species by *Gibberella zeae* and their contribution to *Fusarium* head blight inoculum. Plant Disease 92:5:800-807.

Pereyra SA, Dill-Macky R. 2010. *Fusarium* species present in wheat and barley grains in Uruguay. En: Second International Symposium on *Fusarium* Head Blight, Vol. 2. Orlando, EEUU p. 488.

Pereyra SA, Dill-Macky R, Sims AL. 2004. Survival and inoculum production of *Gibberella zeae* in wheat residue. Plant Dis. 88:724-730.

Pereyra S, Garmendia G, Cabrera M, Vero S, Pianzolla M, Dill-Macky R. 2005. Control biológico de la Fusariosis de la espiga de trigo y cebada. Agrociencia 9:337-343.

Pérez C, Arias A, Altier N. 2010. Manejo de enfermedades de implantación en leguminosas forrajeras, con especial énfasis en el uso de agentes de biocontrol. INIA. Montevideo (Uruguay). Serie Técnica 183:111-122.

Pérez C, De La Fuente L, Arias A, Altier N. 2000. Uso de *Pseudomonas fluorescentes* nativas para el control de enfermedades de implantación en *Lotus corniculatus* L. Agrociencia 4:41-47.

Perez C, Villar HA. 2011. Control biológico en cultivos extensivos. En: Serie Técnica 189. INIA Uruguay. Hemisferio Sur. Montevideo. Pp. 49-62.

Perondi NL, Da Luz WC, Thoomas R. 1996. Controle microbiologico da giberela do trigo. Fitopatologia Brasileira 21:243-249.

Pritsch C. 1995. Variabilidad patogénica en *Fusarium* spp. agente causal del golpe blanco

del trigo. FPTA-INIA. Informe final 79 pp.
Quagliotto L, Azziz G, Bajsa N, Vaz P, Pérez C, Ducamp F, Cadenazzi M, Altier N, Arias A. 2009. Three native *Pseudomonas fluorescens* strains tested under growth chamber and field conditions as biocontrol agents against damping-off in alfalfa. Biological Control 51:42-50.
Rabendran N, Jones E, Stewart A. 1998. Isolation and *in vitro* screening of soil fungi for biological control of *Sclerotinia sclerotiorum*. Proceedings of the fifty first New Zealand plant protection conference.
Rebuffo M, Bemhaja M, Risso DF. 2006. Utilization of forage legumes in pastoral systems: state of art in Uruguay. *Lotus* Newsletter 36:22-33.
Reis EM. 1988. Doenças do trigo III. Giberela. Segunda edição. São Paulo, Brazil. 13 pp.
Scatoni B, Mondino P, Leoni C, Nuñez S, Buschiazzo M, Merino N, De Lucca R, Moizo A, Ferrando N, Telis V. 2004. Programa de Producción Integrada Frutícola, Directivas Zona Sur-Uruguay. Facultad de Agronomía. Montevideo. 46 pp.
Schinca C, González MB, Vero S, Barcos J, Montealegre JR, Mondino P, Herrera R, Henríquez JL. 2011. Identification of Penicillium isolates causing blue mould of apples in Uruguay and Chile, and assessment of thiabendazole resistance. International Congress of Postharvest Pathology. Lleida. España.
Schisler DA, Khan NI, Bohem MJ, Slininger PJ. 2002. Greenhouse and field evaluation of biological control of Fusarium head blight on durum wheat. Plant Disease 86:1350-1356.
Sharma RR, Singh D, Singh R. 2009. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. Biological Control 50:205-221.
Silveira AC, Gepp V, Perez E. 2001. Aislamiento y selección de hongos antagonistas de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: Anais da 7ª Reuniao de Controle Biológicos de Fitopatógenos. Bento Gonçalvez, Embrapa Uva e Vinho. P. 95.
Silveira AC, Gepp V, Perez E. 2003. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* in Uruguayan vegetable crops. 8th Internacional Congress of Plant Pathology, Christchurch, Nueva Zelandia, P. 33.
Silvera-Pérez E, González P, Mondino P, Galván G, Gepp V. 1998. Segundo año de evaluación del control biológico de la mancha foliar y punta seca de la cebolla (*Allium cepa*) ocasionada por *Botrytis squamosa* en almácigo. Resumen en Fitopatología 34:2:51-52.
Stockwell CA, Luz WC, Bergstrom GC. 1997. Biocontrol of wheat scab with microbial antagonists. Phytopathology 87:S94.
Stockwell CA, da Luz WC, Bergstrom GC. 2000. Identification of bioprotectants for control of *Gibberella zeae*. En: 2000 National *Fusarium* head blight Forum (proc.), Erlanger, KY. Pp. 114-117.
Sutton JC. 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. Can. J. Plant Pathol. 4:195-209.
Umpiérrez M, Garmendia G, Pereyra S, Rodríguez A, Vero S. 2011. Las técnicas moleculares en el estudio de los patógenos: ejemplos en patógenos de trigo. En: Serie Técnica 189. INIA Uruguay. Hemisferio Sur. Montevideo. Pp. 41-47.
Usall J, Teixidó N, Abadias M, Torres R, Cañamas T, Viñas I. 2010. Improving Formulation of Biocontrol Agents Manipulating Production Process En: Prusky D, Gullino ML. (Ed) Postharvest Pathology (Plant Pathology in the 21st Century), Springer Netherlands, Pp. 149-169.
Vero S, Garmendia G, Garat MF, De Aurrecoechea I, Wisniewski M. 2011. *Cystofilibasidium infirmominiatum* as a biocontrol agent of postharvest diseases on apples and citrus. Acta Horticulturae 905:169-180.
Vero S, Garmendia G, González MB, Bentancur O, Wisniewski M. 2013. Evaluation of Yeasts Obtained from Antarctic Soil Samples as Biocontrol Agents for the Management of

Postharvest Diseases of Apple (*Malus* x *domestica*). Fems Yeast Research 13:2.189-199.

Vero S, Garmendia G, González MB, Garat MF, Wisniewski M. 2009. *Aureobasidium pullulans* as a biocontrol agent of postharvest pathogens of apples in Uruguay. Biocontrol Science and Technology 19:1033-1049.

Vero S, Mondino P, Burgueño J, Soubes M, Wisniewski M. 2002. Characterization of biocontrol activity of two yeast strains from Uruguay against blue mold of apple. Postharvest Biology and Technology 26:91-98.

Villacieros M, Power B, Sánchez-Contreras M, Lloret J, Oruezabal RI, Martín M, Fernández-Piñas F, Bonilla I, Whelan C, Dowling DN, Rivilla R. 2003. Colonization behaviour of *Pseudomonas fluorescens* and *Sinorhizobium meliloti* in the alfalfa (*Medicago sativa*) rhizosphere. Plant Soil 251:47-54.

Weller DM, Landa BB, Mavrodi OV, Schroeder KL, De La Fuente L, Blouin Bankhead S, Allende Molar R, Bonsall RF, Mavrodi DV, Thomashow LS. 2007. Role of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in the defense of plant roots. Plant Biology 9:1:4-20.

Weller DM, McSpadden Gardener BB, Raaijmakers JM, Thomashow LS. 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. Ann. Rev. Phytopathol. 40:309-48.

Wisniewski M, Wilson C, Droby S, Chalutz E, El Ghaouth A, Stevens C. 2007. Postharvest Biocontrol: New Concepts and Applications. En: Vincent C, Goettel MS, Lazarovits G. (Ed.), Biological Control A Global Perspective. CABI, Cambridge, MA, USA, Pp. 262-273.

Wozniak A. 2003. Caracterización de los patógenos postcosecha de citrus y perspectivas para el control biológico de los mismos. Tesis (Maestría en Biotecnología). Facultad de Ciencias. Universidad de la República. Montevideo. Uruguay. 158 pp.

Yanes ML, Fernández A, Arias A, Altier N. 2004. Método para evaluar protección contra *Pythium debaryanum* y promoción del crecimiento de alfalfa por *Pseudomonas* fluorescentes. Agrociencia 8:23-32.

Capítulo 18

Control biologico de enfermedades de plantas en Venezuela

Carlos Zambrano[1], Yaritza Goyo[2], María Auxiliadora Jiménez[2], Karla Zambrano B[2]

[1]Insubiol C.A., Departamento de Desarrollo. Dirección: Caserío el Mayal, calle principal, casa Nº 3. Cabudare. Estado Lara. Venezuela. Código Postal 3023. [2]Universidad de la Región Centroccidental Lisandro Alvarado. Decanato de Agronomía, Código Postal 3023. Cabudare, Estado LARA, Venezuela. E-mail: carloszambranop@yahoo.es

Historia del control biológico de enfermedades de cultivos en Venezuela

El Control Biológico de plagas y enfermedades de cultivos en Venezuela ha seguido el mismo camino que la mayoría de los países en Latinoamérica, donde sobresale la introducción de insectos parasitoides o depredadores para el manejo de plagas, con éxitos y fracasos por cuanto la tecnología de liberación se circunscribe al control biológico clásico. Es a partir de la década del 70 que se inicia el control biológico de enfermedades (Tablas 1 y 2).

En Venezuela el control biológico se ha caracterizado por introducciones de entomófagos desde 1884 hasta 1999 con la intervención de eminentes investigadores (entomólogos) como Adolfo Ernst, Charles Balou, Harold Box, Pedro Guagliumi, Francis Geraud, Blas Linares, Francisco Ferrer y Dilcia Hernández, con éxitos en la mayoría de sus trabajos pero en la práctica con avances muy lentos. Con respecto a la introducción de entomopatógenos no hay conocimiento. Sin embargo, hay señalamientos de su existencia en el país: Guagliumi (1962) observa al *Metarhizium anisopliae* sobre *Aeneolamia varia,* Agúdelo-Silva (1986) *Nomuraea rileyii, Verticillium* y *Paecilomyces* sobre *Spodoptera frugiperda*. Otra investigadora (Rincón 1995) caracteriza al *Nomuraea rileyii*. Zambrano (1981) identifica a *Trichoderma* spp., utilizado como antagonista de fitopatógenos.

En el presente capitulo, el control biológico tiene otra connotación, se piensa en forma integral, este periodo se puede decir que se inicia en 1984

Bettiol, W.; Rivera, M.C.; Mondino, P.; Montealegre, J.R.; Colmenárez, Y.C. (Eds.)
Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe
ISBN: 978-9974-0-1091-8

con el cultivo de la Caña de Azúcar en donde todos los parámetros de manejo de los insectos plagas *Diatraea* spp. y *Aeneolamia varia* interactúan bajo una coordinación de PICANTA (Programa Interinstitucional de manejo de la Candelilla y Taladradores) época donde se aplica por primera vez el *Metarhizium anisopliae* (Zambrano *et al* 1987)

Hoy con mucha dificultad económica, competencia desleal, pero con un apoyo importante con las nuevas políticas de recuperación ambiental y desarrollo sustentable de la agricultura, el control biológico se presenta como columna vertebral en la mayoría de los programas de Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades aunado a la ampliación integral de tratamientos biológicos con la incorporación de bioestimulantes y biofertilizantes (Zambrano *et al.* 2013ab).

El control microbiano forma parte de la Patología de Insectos y del control biológico, se caracteriza hasta 1984 por ser descriptivo o mejor dicho no se pensaba en la multiplicación o masificación de los microorganismos, es en 1987 que Venezuela inicia las aplicaciones masivas con *Metarhizium anisopliae* (Zambrano *et al* 1987; Arias 2011), acompañando los trabajos inícials en control biológico realizados por Box (1953), Linares, Ferrer (1990), Hernández, Ferrer (1986) y Ferrer (1992), iniciando una alta masificación y utilizando dentro del manejo los mas resaltantes entomófagos aplicados en forma masiva y con éxito en el campo (Ferrer 2001ab) particularmente en los cultivos como caña de azúcar, tomate industrial, tabaco, maíz, café, papa, ajo, crucíferas, invernaderos y otros.

A partir del 2013 en Venezuela hubo un incremento en el uso de biológicos como alternativas ya comprobadas en el manejo de plagas y enfermedades de los cultivos gracias a los aportes científicos y técnicos de un gran número de investigadores y lideres en el área como Francisco Ferrer, Blas Linares, Asdrúbal Arcia, Juan Pineda, Nelly Sanabria, Carlos Zambrano, Blas Dorta, Luis Bautista, Oscar Reanud, Yaritza Goyo, María Auxiliadora Giménez, Rosaima García, Ramón Riera, María Claudia Sánchez entre otros científicos preparados y asesorado por ellos, la gran mayoría con el titulo de doctorado. Debemos agregar a estos acontecimientos el desarrollo de la industria nacional de biológicos quien obtiene en este periodo de gobierno un apoyo de seguridad con la publicación muy próxima de las normativas para la producción, comercialización y aplicación de agentes biológicos.

El futuro del control biológico estará ligado a la introducción e identificación de nuevos agentes, caracterizaciones moleculares, fertilización biológica y orgánica, sinergismo entre agentes de control biológico, inductores bióticos y abióticos, biotecnologías de producción (biotecnología asistida o transgénica), aplicaciones bajo el sistema de manejo integrado-biointensivo o manejo holístico de plagas, profundización en la vía de la Agroecología, aspersiones a ultra bajo volumen y transferencias bajo los criterios tecno-científicos de agricultura sustentable resumido en un manejo inteligente y oportuno. Las políticas del gobierno, particularmente normas o reglamentos permitirán seguir patrones de calidad, trayendo como resultado la protección del ambiente y del consumidor.

Se debe incluir en el desarrollo del control biológico los niveles culturales de nuestra población, porque el hombre debe compartir con la naturaleza la

conservación y mantenimiento del equilibrio en la producción de alimentos.

Para finalizar es bueno señalar que se debe realizar y comparar los efectos económicos en términos de costo/beneficios. En este caso en Venezuela aun no se determinan esos cálculos a nivel de campo; solo en cultivos bajo techo, tratamos de comparar tratamientos químicos contra manejo integrado de plagas y enfermedades en términos de producción final.

Experiencias del control biológico en Venezuela

En Venezuela se han realizado muchos trabajos con agentes de control biológicos como entomófagos, por ejemplo: *Trichogramma* sp., *Chrysoperla, Cotesia* sp., *Telenomus, Tetrastichus howardi, Sphalangia cameronis* o microbiales como entomopatógenos, biofertilizantes, endofiticos. Existe una tecnología de producción industrial y de transferencia, con productos que se comercializa en el país desde 1987 (Tabla 3). También algunas enfermedades producidas por virus obtienen agentes de control biológico como alternativas para la aplicación en manejo integrado de plagas que actúan como vectores.

Otra información importante son los trabajos a nivel de laboratorio con agentes de control biológico en los cuales participan las universidades, institutos de investigación, organismos del gobierno y empresas privadas. Uno de los agentes mas estudiado es el *Trichoderma* aplicado en el manejo de hongos fitopatógenos habitantes del suelo, e iniciando los trabajos para uso de problemas fitopatologícos en follaje y fruto, controlando hongos como *Pyricularia grisea, Moniliophthora roreri, Colletotrichum gloeosporiodes* y *Phytophthora palmivora*, presentados en el Congreso de Fitopatología, realizado en Trujillo, Noviembre del 2011 (SVF 2011).

La definición de Cook y Baker (1983) en donde control biológico "Es la reducción de la densidad de inóculo o de las actividades de un determinado patógeno o parásito en su estado activo o latente, por la acción de uno o más organismos, en forma natural o a través de la manipulación del medio ambiente, hospedante o antagonista, o por la incorporación de una población de uno o más antagonistas". Esa definición deja abierta las posibilidades a futuro de otros paradigmas en el control biológico, es lo que se observa cuando conseguimos una serie de mecanismos como sinergismo, resistencia sistémica inducida, microorganismos endofiticos, microorganismos no patogénicos (atenuados), modificaciones moleculares, microorganismos efectivos y el caso bastante discutido de los extractos vegetales (considerados por algunos como ajenos al control biológico por sus características fitoquímicas).

Esta manera de ver las cosas ha permitido llevar las investigaciones al campo bajo conceptos más amplios e integrales, incorporando el trabajo desde el laboratorio o empresa hasta el productor. Sin embargo, desde el año 1970 que iniciamos las actividades en campo, la mayoría han sido orientadas a los fitopatógenos habitantes del suelo y casi negativo a la parte de la filosfera, muchas razones plantea Andrews (1992) con el cual coincidimos. Particularmente un agente de control biológico como lo es *Trichoderma* spp., gracias a los múltiples trabajos con esta especie de hongo en el mundo (Shuster y Schmoll 2010) y en

Tabla 1. Historia del desarrollo del Control Biológico de Insectos Plagas en Venezuela.

FECHA	AUTOR (S)	AGENTE CB	PLAGA
1884-1913	Ernst (1884)	*Scelio fermerelis*	*Schitocerca cancellata*
1939-1941	Balou (1945).	*Rodolia cardinalis, Apanteles thurberiae*	Coccidae, Aphididae
1952	Guagliumi (1962)	*Lixophaga, Diatraea*	*Diatraea* spp.
1953	Box (1953)	*Lydella minense, Paratheresia claripalpis*	*Diatraea* spp.
1977	Ferrer y Salazar (1977)	*Cotesia, Trichogramma, Sphalangia, Crisopas*	*Diatraea* spp. *Spodoptera frugiperda* (Hernández, et al., 1989)
1986	Agúdelo-Silva (1986)	*Nomuraea, Verticillium* y *Paecilomyces*	Señalamientos en ocurrencias naturales sobre *Spodoptera frugiperda*
1987	Zambrano *et al.* (1987)	*Metarhizium anisopliae*	Sobre *Aeneolamia varia*
1989	Hernández *et al.* (1989)	Telenomus	*Spodoptera frugiperda*
1993	Zambrano *et al.* (1993)	*Verticillium lecanii*	1° identificación sobre *Bemisia tabaci*
1995	Rincón (1995)	*Nomuraea rileyii*	Estudios y aplicación sobre *Spodoptera frugiperda*
1999	Ferrer (2001)	*Heterorhabditis bacteriophago*	Dípteros y Coleópteros
2001	Zambrano y Dávila (2001)	*Metarhizium, Beauveria, Paecilomyces*	Estudios moleculares de patogenicidad en entomopatógenos
2005	Goyo *et al.* (2005)	*Bacillus thuringiensis* y *Beauveria bassiana*	1° mezcla de *Bacillus thuringiensis* y *Beauveria bassiana* sobre *Plutella xylostella*

Tabla 2. Historia del desarrollo del control biológico de Enfermedades en Venezuela.

FECHA	AUTOR	AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO	PLAGA (S)
1978	Zambrano (1981)	*Trichoderma harzianum*	*Macrophomina* - 1 trabajo control biológico en campo.
1981	Pineda (1981)	*Penicillium* spp.	*Sclerotium rolfsii*
1989	Latiegue (1989)	*Trichoderma harzianum*	*Sclerotium rolfsii*
1988	Acevedo y Arcia (1988)	*Trichoderma harzianum*	*S. cepivorum*. 1°Trabajos de campo, Ajo
1999	Zambrano *et al.* (1999)	*Trichoderma harzianum*	*Rhizoctonia solani* AG1IA 1° Trabajo de campo en maíz.
2003	Altuna *et al.* (2003)	*Trichoderma* spp.	*Fusarium oxysporum, Fusarium verticillioides*
2004	Castillo (2004)	*Trichoderma harzianum*	1° Trabajo como bioindicador de suelos supresivos.
2004	Colmenarez (2004)	Micorrizas	Enfermedades del café
2005	Goyo (2005)	*Bacillus thuringiensis* (inducción de resistencia)	*Spodoptera frugiperda* y *Fusarium verticillioides*
2005	García *et al.* (2005)	*Trichoderma harzianum*	*Plasmodiophora brassicae*
2006	Salazar (2006)	*Trichoderma* spp.	Fusariosis en tomate
2008	Romero (2008)	Arthrobotrys, Lecanicillium, Paecilomyces, Gliocladium	*Globodera rostochiensis*.
2008	Rodríguez (2008)	*Trichoderma* y *Bacillus thuringiensis*	*Spodoptera frugiperda* y *Fusarium verticillioides*
2011	Jiménez y Ulacio (2011)	*Trichoderma* spp.	*Sclerotium cepivorum*. Resistencia Sistémica Inducida
2011	Rivero y Pavone (2011)	*Trichoderma* spp.	1° Estudios de identificación molecular
2011	Labrador *et al.* (2011)	*Trichoderma crassum, Bacillus subtilis*	*Phytophthora palmivora* cacao.
2011	Hernández *et al.* (2011)	Microorganismos benéficos	Control de Bacterias
2012	Godoy (2012)	*Trichoderma*	Calidad de productos a base de *Trichoderma* sp.
2013	Zambrano *et al.* (2013)	*Trichoderma* + *Azotobacter*	sinergismo en campo de tabaco

Tabla 3. Agentes de Control Biológico y Biofertilizantes elaborados en Venezuela.

Productos Comerciales	Agentes de Control Biológico	Hospedante	Dosis/ha/año	Industrias
Cobican	*Metarhizium* spp.	*Aeneolamia* sp.	20.000	Probioagro
MetaGrass	*Metarhizium anisopliae*	*Aeneolamia*, Chinches (Veneza, Paton)	6.000	Insubiol
Metabiol	Metarhizium anisopliae	Aeneolamia	5.000	Agrobosque
Biograss	Metarhizium anisopliae	Aeneolamia	5.000	Agrobica
Oficial (INSAI,INIA)	*Metarhizium anisopliae*	Homópteros	20.000	Oficial
Beaubass	*Beauveria bassiana*	Coleópteros, Homópteros	3.500	Insubiol
Proecol	*Beauveria bassiana*	Coleópteros	2.500	Probioagro
Biomix	Mezcla entomopatogenos		10.000	Agrobica
Sumecol	Mezcla de entomopatógenos		5.000	Insubiol
Paecilobiol	*Paecilomyces* sp.	Homópteros, Nematodos	5.000	Insubiol
Nemabiol	*Paecilomyces lilacinum*	Nematodos	5.000	Agrobica
Lecanibiol	*Lecanicillium lecanii*	*Bemisia* sp.	1.000	Insubiol
Lecanicillium		*Bemisia* sp.	1.000	Agrobica
Oficial			3.000	Oficial
Heterorhabditis	H. bacteriophago	Dípteros,Coleópteros, Homópteros	Para 700 ha, 4 millones/ha	Insubiol y Oficial.
Biofertilizantes	Rizobacterias, *Bacillus megaterium*	Fertilizantes e inductores		Oficial (INSAI, INIA)

Venezuela (Zambrano y García 2006; Zambrano *et al.* 2012) hemos llegado hasta los productores, con una asistencia técnica auxiliada por reglamento internos de algunas compañías, asociaciones, productores individuales (tabacalera, azucarera, asociaciones de productores de maíz, frutales, hortalizas e invernaderos).

Los éxitos en otros países, los posgrados y la ayuda de las redes ha permitido en Venezuela avanzar en los estudios de identificación y caracterizaciones de agentes de control microbial (Zambrano 1981; Zambrano K. y Dávila 2001; Salazar 2006; Romero 2008, Romero *et al.* 2011; Jiménez *et al.* 2008; Pavone 2011; Godoy 2012). Resultados que han sido trasladados a las técnicas de producción cuando se exigen control de calidad en las empresas que procesan agentes de control biológico para fitopatógenos.

Es importante señalar que se cuenta en el país con una Ley de Salud Agrícola Integral donde se define Agroecología como la ciencia cuyos principios están basados en los conocimientos ancestrales de respecto, conservación y preservación de todos los componentes naturales de los agrosistemas sustentables, a cualquier escala o dimensión, reduciendo al mínimo los efectos de contaminación del suelo, agua, plantas, alimentos y al ser humano.

En Venezuela el inicio de las investigaciones en control biológico de fitopatógenos, en un 100% parte de las universidades (1970-1990), continuando con posgrados y trabajos más directos con las actividades de campo, profundizado por el interés de las compañías o empresas de biológicos (1991-2013), de llegar a todos los cultivos para que se vean beneficiados por los efectos de las relaciones microbiales o de control biológico. La investigación repunta, entrando en consideración otros agentes de control biológico (Alkaraki 1998; Alkaraki y Clark 1998; Bashab 1993; Colmenarez 2004; Ingham 2000) que se mostraran más adelante.

Las investigaciones y trabajos son nacionales, por lo tanto están las posibilidades de profundizar más en tecnologías que permitan reducir costos con productos más eficientes. La idea de los venezolanos es crear un organismo que financie todo los aspectos y áreas del desarrollo de agentes de control biológico y que las empresas nacionales tengan una protección contra las trasnacionales.

Las perspectivas del crecimiento y adopción del sistema de Control Biológico en el país se desarrollarán cuando la industria vea que el agricultor o consumidor por su propio interés requiera incluir los biológicos en sus estrategias. Se pretende que ya no vean a los insumos biológicos como una alternativa sino una como una necesidad, para obtener beneficios múltiples de su uso. Desde ese mismo momento las investigaciones se incrementaran, los industriales invertirán y el trabajo de transferencia se multiplicarán.

La situación señalada es un objetivo esperado, para lo cual a pesar de que va lento debemos unirnos en toda Latinoamérica, somos un territorio con una alta biodiversidad.

Generalidades sobre control biológico de enfermedades: investigación, receptividad, aplicación, éxitos, fracasos e instituciones

Algunas situaciones generales en el manejo del control biológico de enfermedades en Venezuela se reflejan en el inicio de esta actividad (época de los 70), podríamos señalar en primer lugar que los fitopatógenos habitantes del suelo, al igual que otros países Latinoamericanos, son los primeros a visualizar para el control. Las dificultades en campo determinan la efectividad del control, la cantidad del agente controlador, momento de aplicación, tipo de patogenicidad y la tecnología de masificación. El manejo de *Macrophomina phaseolina* con *Trichoderma harzianum* en el año 1978-1981 presentó variaciones diferentes entre los ensayos *in vitro* y *in situ* (Zambrano 1981).

Más adelante basado en los trabajos de Chet et al. (1981) y Chet (2008) sobre la interacción hifal con hongos fitopatógenos como *Rhizoctonia solani* y *Pythium* spp. con *Trichoderma harzianum* permiten aclarar los mecanismos de parasitismo y el nuevo paradigma. Basado en esas investigaciones, desde 1989 se viene trabajando *Trichoderma* spp. contra *Sclerotium rolfsii* (Latiegue 1989; Velázquez 1996), *Macrophomina phaseolina* (García 1993), *Rhizoctonia solani* AGI (Cabrera 2001; Zambrano *et al*. 1999), *Sclerotium cepivorum* (Acevedo y Arcia 1988, Acevedo 1989; García *et al*. 1999; Ulacio *et al*. 2008; Jiménez *et al*. 2008) y otros como *Plasmodiophora brassicae* (García *et al.* 2005), *Fusarium oxysporum* (Páez y Sanabria 2007); *Fusarium verticillioides* (Goyo 2005; Rodríguez 2008), *Pythium* spp. (Arcia 2009) entre otros. Ya la tecnología de aplicación se viene mejorando en el campo por empresas privadas, universidades públicas, particularmente el momento de aplicación y la dosificación, considerando los factores epidemiológicos (fenología, ambiente y ciclo del fitopatogeno).

Otros microorganismos con capacidad de disminuir las enfermedades en cultivos vienen siendo estudiados, como bacterias por sus efectos de sinergismo o quórum sensing (Henandez *et al.* 2011), rizobacterias, micorrizas, *Bacillus subtilis,* entomopatógenos como *Lecanicillium lecanii, Arthrobotrys, Paecilomyces* spp., *Bacillus thuringiensis* y compuestos orgánicos ricos en bacterias (Alkaraki 1998; Bashab 1993; Colmenarez 2004; Goyo 2005; Ingham 2000), algunos de ellos ya en el mercado y otros en fase de investigación.

Todos estos productos pueden tener efectos sinergisticos e inductores de resistencia a estrés causados por fitopatógenos cuando los combinamos con *Trichoderma* (Zambrano *et al*. 2013a; Zambrano y Goyo 2012), o inductores de defensa como acibenzolar-S-methyl (Bion) mas *Trichoderma koningii* (Jiménez *et al*. 2011); uso de cepas nativas de rizobacterias, como *Azotobacter* y *Bacillus megaterium* fs. *fosphoriun* en la producción de cebollas (Sulbaran 2010) por lo que se plantean nuevas estrategias de combinación para lograr integrar un manejo inteligente y productivo en cada cultivo.

Investigaciones sobre agentes de control biológico de enfermedades en Venezuela

Las investigaciones sobre agentes de control biológico de enfermedades en los cultivos se han centrado en las Universidades, entre ellas tenemos la Universidad Central de Venezuela (UCV), Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado" (UCLA), Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET), la Universidad del Zulia (LUZ), Universidad de Los Andes, Mérida (ULA) y la Universidad de Oriente (UDO); entre las empresas privadas se destacan Probioagro S.A., Insubiol C.A. y Agrobica C.A. Desde 1993 hasta la fecha, el Instituto de Sanidad Agrícola Integral (INSAI) Mérida a través de su laboratorio de fitopatología ha impulsado grandemente el estudio y aplicación. Más tarde, en el 2004, el gobierno nacional a través del Instituto de Sanidad Agrícola Integral (INSAI) por ley ha desarrollado proyectos agroecológicos basados en la producción y aplicación de agentes microbianos.

Venezuela ha desarrollado un marco legal que ampara las investigaciones, aplicaciones y seguimientos de planes de manejo, donde se incluye el control biológico, entre ellas destaca: Art. 127 de la Constitución Nacional de la República Bolivariana de Venezuela: "Es un derecho y un deber de cada generación proteger y mantener el ambiente en beneficio de sí misma y del mundo futuro. Toda persona tiene derecho individual y colectivamente a disfrutar de una vida y de un ambiente seguro, sano y ecológicamente equilibrado…". Art. 6 Ley de semillas. Capítulo II publicado en gaceta oficial N° 37.552 de fecha 18 de Octubre de 2002. "Es función del Instituto Nacional de Semillas, normar y supervisar los análisis oficiales para la identificación, caracterización de calidad de semilla y material de reproducción animal e insumos biológicos, siguiendo y fiscalizando los procesos de obtención, producción, comercialización o uso de los mismo. Art. 48 de la ley de Salud Agrícola Integral: Agroecología. "A los efectos del presente decreto con rango, valor, y fuerza de ley, se entiende por Agroecología, la ciencia cuyos principios están basados en los conocimientos ancestrales de respeto, conservación y prevención de todo los componentes naturales de agroecosistema sustentables, a cualquier escala o dimensión".

Las líneas de investigación son muy diferentes y variables (biofertilizantes, entomófagos, entomopatógenos y antagonistas o bioprotectores, identificaciones moleculares de especies, sinergismo, acción endofítica, acción inductora y producción masiva), impulsadas por los problemas fitosanitarios, en donde el 90% se orientan a trabajos con fitopatógenos habitantes del suelo. En los últimos ocho años (2005-2013), se han desarrollado muchos trabajos en laboratorios *in vitro* e *in vivo* contra *Colletotrichum, Alternaría,* y a nivel de campo *Botrytis, Oídium* y *Mildéus* (realizados en un 80% en la Universidad Central de Venezuela y Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado") (Sociedad Venezolana de Fitopatología 2013). Por el otro lado, el agente de control biológico mas trabajado es *Trichoderma*. Otros agentes biológicos como *Bacillus thuringiensis* se aplica a *Spodoptera frugiperda* en el cultivos del maíz para evitar de manera indirecta el desarrollo de *Fusarium verticillioides* (Goyo 2005). En el mismo cultivo, Rodríguez (2008), usando la misma tecnología en campo, aplicando en la semilla de maíz *Trichoderma harzianum* mas *Bacillus thuringiensis*

consigue el estimulo de productos del metabolismo secundario de la planta, o lo que llamamos resistencia sistémica inducida contra *Fusarium verticillioides*. De igual manera los virus o complejo virus-planta-insecto se disminuyen cuando se previenen con aplicaciones de entomopatógenos (Agüero 1998; Zambrano K. y Dávila 2001).

Globodera rostochiensis, nematodo de la papa, por primera vez en Venezuela se consigue el control asociando los hongos *Paecilomyces*, *Arthrobotrys, Gliocladium* y *Verticillium* sp., los cuales son recomendados para control biológico de este nematodo (Romero 2008). También el nematodo *Radophulos símiles* es controlado efectivamente con aplicaciones de *Trichoderma* y *Beauveria bassiana* como endofiticos, permitiendo altos rendimientos en el cultivo de banano y a la vez el control del gorgojo (*Cosmopolite sordidus*) (Bracho *et al.* 2001; Camacho 2005). Bracho *et al.* (2001) señala que hubo control de la bacteria *Erwinia carotovora* con los tratamientos biológicos en campo incidiendo en un incremento de los rendimientos.

Otros agentes de control biológico son las micorrizas (hongos micorrízicos arbusculares, *Acaulospora* spp., *Glomus* spp., *Paraglomus* spp., *Entrophopora infrequens*), que se producen en el país en forma artesanal hasta el presente con buenos resultados para nematodos (Vargas *et al.* 2011).

En Venezuela, una gran cantidad de fitopatógenos foliares son controlados con productos del metabolismo secundario (extractos de diversas plantas), los cuales no son considerados elementos del control biológico, pero sus combinaciones con biológicos dan una mayor efectividad, considerándolos parte de la inducción abiótica de la agricultura sustentable (Urdaneta *et al.* 2011). De estos productos la información es muy variable, el más conocido es el extracto de Neem por su comercialización e investigaciones. Algunos autores señalan la inhibición del micelio y esporulación de los hongos en trabajos de laboratorio con los extractos vegetales de diferentes plantas (Ulacio *et al.* 2013).

La experiencia de laboratorio y campo presenta resultados exitosos con agentes de control biológico y están siendo recopiladas en algunos libros, unos publicados y otros por publicar muy pronto, trabajos realizados por algunos investigadores que se mantienen constantes y cónsonos con el control biológico.

- Manual de Manejo Integrado de Artrópodos y Enfermedades en Frutales. 2006. Autores. Carlos Zambrano y Rosaima García. Editado por INIA. 340 PP.
- Manual de Manejo Integrado de Artrópodos y Enfermedades en Hortalizas. 2012b. Editor Carlos Zambrano. Por publicar.
- Manejo Integrado de Enfermedades de Plantas. 2013. Editor Dilcia Ulacio y Colaboradores. Editado por Fundacion-Yaracly. 260 PP.
- Insectos y Microorganismos benéficos en el control biológico de Artrópodos y Enfermedades en Venezuela. 2012. Carlos Zambrano; Francisco Ferrer y Yaritza Goyo. Por publicar
- Protocolos para el manejo de Insectos Plagas y Enfermedades en cultivos Hortícolas, Frutales y Extensivos. 2013. Yaritza Goyo y Carlos Zambrano. Por publicar

Aplicación, éxitos y fracasos con agentes de control biológico

En diferentes cultivos se han realizado aplicaciones de los controladores biológicos, tanto en laboratorio como campo, los resultados son exitosos en la mayoría de los casos y con errores en su minoría. Es por ello que en Venezuela se tiene confianza en el control biológico sumándose cada día más productores al sistema. El acompañamiento o transferencia personalizada es casi una obligación para su éxito; sin embargo, aun existe desconocimiento y falta de cultura por los biológicos (Tablas 4, 5 y 6). Actualmente las instituciones que trabajan son diversas, pero las empresas privadas y el Instituto de Sanidad Agrícola Integral son los que han logrado llevar la mayor parte de los controladores biológicos en forma masiva al campo. Durante el año 2011, las empresas privadas lograron producir en forma solida 60.000 dosis de esporas (dosis de 30 y 100 g) con concentración de $1x10^{12}$ ufc (unidades formadoras de colonias).

El interés de los investigadores sigue en la búsqueda de agentes de control biológico, su identificación y clasificación, al igual que las pruebas de eficiencia *in vitro* e *in vivo*. Por el otro lado, las empresas privadas usan la biotecnología en la masificación y elaboración de productos comerciales efectivos y a bajo costo. Vemos que se realizan dos tipos de investigación que terminan en un producto que va a un mercado con un consumidor que piensa en efectividad.

Fitopatógenos controlados biológicamente a nivel de campo

La mayoría de los trabajos de control biológico a nivel de campo se han llevado a cabo por el manejo de las relaciones entre las Universidades, Institutos de Investigación oficiales y la empresa privada. Esta relación y las necesidades del productor de ver otras alternativas conllevan a poner en practica las técnicas con los agentes que se señalan, para lo cual presentamos una breve exposición sobre los resultados contra los fitopatógenos que señalamos: *Pythium, Phytophthora, Macrophomina phaseolina, Sclerotium rolfsii, Sclerotium cepivorum, Plasmodiophora brassicae, Fusarium verticillioides, Fusarium oxysporum, Fusarium solani, Rhizoctonia solani, Globodera rostochiensis, Radophulus similes, Meloidogyne* spp., *Phytophthora palmivora, Phytophthora parasitica, Phytophthora cinnamoni, Pyricularia grisea, Colletotrichum gloeosporiodes, Moniliophthora roreri, Botrytis* y bacterias, complejo virus-planta-vector-controlador biológico. Con esta iniciativa cumplimos con un gran objetivo "reducir las estructuras de resistencia de muchos fitopatógenos habitantes del suelo, inhibir y minimizar fitopatógenos foliares e introducir elementos biológicos para el equilibrio"

Control biológico de *Macrophomina phaseolina.* Es un hongo habitante del suelo que produce síntomas en la semilla, plántulas, raíces, tallo y frutos, a lo que hemos denominado pudrición carbonosa. En Llanos Occidentales de

Tabla 4. Cultivos hortícolas con manejo biológico de enfermedades en campo o laboratorio.

Cultivo	Patógeno	Bioagente	in vitro	Campo y Invernadero	Referencia
Ajo	*Sclerotium cepivorum*	*Trichoderma*	X	X	Acevedo (1989); García *et al.* (2005); Arcia (2003), Ulacio *et al.* (2008); Jiménez *et al.* (2008 y 2011)
Cebolla	Hongos del suelo	Rizobacterias		Campo	Sulbaran (2010)
Papa	Rhizoctonia	*Trichoderma*		Campo	García *et al.* (2005); Moreno (2011)
Papa	*Globodera rostochiensis*	*Paecilomyces, Arthroboctrys, Lecanicillium*	X	X	Romero (2008)
Tomate, pimentón	*Rhizoctonia, Fusarium, Meloidogyne*	*Trichoderma, Paecilomyces*		Invernadero	Zambrano *et al.* (2012a)
Crucífera	*Plasmodiophora*	*Trichoderma*		Campo	García *et al.* (2001)

Tabla 5. Cultivos frutales con manejo biológico de enfermedades en campo o laboratorio.

Cultivo	Patógeno	Bioagente	Campo y invernadero	Referencia
Platano (Banano, AAB)	*Erwinia carotovora* y *Micosphaerela fijiensis*	*Trichoderma* y microorganismos efectivos	Campo	Bracho *et al.* (2001); Gutiérrez *et al.* (2011)
Parchita (Pasiflora)	*Rotylenchulus Reniformes*	*Trichoderma* y *Beauveria*	X	Pernia *et al.* (2002)
Guayaba	*Meloidogyne*	*Trichoderma* + Humus	X	Zambrano y García (2006).
Aguacate	*Phytophthora cinnamoni*	*Trichoderma*, Rizobacterias	X	Zambrano y García (datos no publicados)

Tabla 6. Cultivos extensivos con manejo biológico de enfermedades en campo y en laboratorio.

Cultivos extensivos	Patógeno	Bioagente	In vitro	Campo y Invernadero	Referencia
Maíz	*Rhizoctonia* AG1 IA	*Trichoderma*		X	Zambrano *et al.* (1999)
Maíz	*Fusarium. Verticillioides*	*Bacillus thuringiensis, Trichoderma*		X	Goyo (2005); Rodríguez *et al.* (2008)
Ajonjolí y Girasol	*Macrophomina*	*Trichoderma*	X	X	García (1993)
Tabaco	Fitopatógenos del suelo	*Trichoderma, Azotobacter*, Humus	X	X	Velázquez (1996); Zambrano *et al.* (2013a)
Leguminosa	Macrophomina	*Trichoderma*	X	X	Altuna *et al.* (2011); Latiegue (1989)
Arroz	*Pyricularia grisea*	*Trichoderma*	X		Núñez y Pavone (2011)
Cacao	*Moniliophthora roreri*	*Trichoderma*	X		SVF (2011)
Arroz, Caraota, Cebolla, Tomate y Papa	*Burkholderia glumae, Pantoea agglomerans, Xanthomonas campestris, Xanathomonas phaseolis*	*Bacillus subtilis, Bacillus megaterios, Bacillus licheniformis, Pseudomonas fluorencens, Pseudomonas putida*	X	X	Hernández *et al.* (2011)

Venezuela, durante el verano, tiene una incidencia de 5 a 30% sobre ajonjolí, tabaco, sorgo, maíz, girasol, leguminosas y algunas frutales como cucurbitáceas y guayaba. Hasta el presente las medidas de control de la pudrición carbonosa se han orientado por la introducción de resistencia a los cultivares [Mazzani *et al.* (1975), Montilla *et al.* (1977), citados por Simosa (1987)]. Sin embargo, las iniciativas de algunos investigadores últimamente es la del manejo integrado de esta enfermedad, incluyendo métodos para elevar los rendimientos por hectárea. Su control se realiza por diferentes vías; encontrando deficiencias, por la dificultad de destrucción de los microesclerocios. *Macrophomina phaseolina* se constituye en un patógeno potencialmente peligroso en los Llanos Occidentales de Venezuela por efecto del monocultivo. Los trabajos de Simosa (1987) y Cardona *et al.* (1998), con respecto a la relación planta hospedante y los de Zambrano (1981), García (1993), Alcano *et al.* (2008) y Altuna *et al.* (2011) en desarrollo de alternativas de control, permiten la introducción de *Trichoderma harzianum* en forma comercial, recomendándose aplicaciones en la semilla y antes de la floración en cantidades de 30 a 100 g de esporas/ha a los cultivos de leguminosa, oleaginosas y tabaco sembrados en épocas secas, época donde el fitopatogeno produce su mayor daños. A partir del 2010, se inicia la combinación de rizobacterias, bioestimulantes (humus, bioles), extractos vegetales con el *Trichoderma* logrando estímulos de metabólitos secundarios de defensa y hormonas de producción (Zambrano *et al* 2013ab; Ulacio *et al* 2013).

Control biológico de *Sclerotium rolfsii.* Es también un habitante del suelo, tiene un amplio rango de hospederos entre ello maíz, sorgo, ajonjolí, girasol y tabaco. A pesar de los numerosos trabajos sobre control biológico de este hongo a nivel de laboratorio, poco son los trabajos de campo. Latiegue (1989) realiza investigaciones de campo para establecer diferencias entre Iprodione y *Trichoderma*, consiguiendo diferencias significativas con el testigo, pero no entre el fungicida y el antagonista, teniendo como hospedante el cultivo de leguminosa (caraota). Rodríguez (1999) realiza estudios de caracterización y dinámica poblacional de *Trichoderma* sp. y su implicación en el control biológico de *Sclerotium rolfsii* y Velázquez (1996) lleva el bioregulador para el mismo patógeno hasta el campo, efectuando aplicaciones del antagonista en semillero, trasplante y segundo aporque sobre tabaco Virginia (Acarigua, Portuguesa-Venezuela) obteniendo control efectivo del patógeno en la fase vegetativa del cultivo del tabaco. Basado en estos trabajos, el control de fitopatógenos habitantes del suelo, desde 2001, lo realiza la compañía Bigott incorporando *Trichoderma* al suelo desde la siembra en el cultivo de tabaco (Bigott 2001). Se calcula que esta empresa tabacalera usa unas 8.000 dosis del producto comercial Trichobiol (30 g/dosis de concentración $1x10^{12}$ ufc, producido por Agrobica C.A.). Existen también otros dos productos de igual calidad denominados Subiol (producido por Insubiol C.A. www.insubiol.com.ve) y Natibiol (elaborado por Probioagro S.A.). En la actualidad el momento de aplicación y la concentración del producto activo (esporas) tienen que ver con la eficiencia, los fitopatógenos del suelo no efectúan sus ataques al mismo tiempo, las concentraciones de esporas variaran hasta con la fenología de los cultivos (Perez-Pivat y Arcia 2008).

Control biológico de *Sclerotium cepivorum.* Es una enfermedad del ajo reconocida en todas partes del mundo donde siembran ajo como de gran importancia económica, en Venezuela es denominada Pudrición blanca o cachera negra (Cedeño 1992). Anualmente si no existe control del patógeno se puede incrementa el numero de esclerocios en el suelo hasta 30%, teniendo en cuenta que un esclerocio/g de suelo es un umbral alto y por lo tanto debemos hacer controles preventivos con *Trichoderma harzianum*. Los trabajos de control de esta enfermedad se inician en 1987 (Acevedo y Arcia 1989), seguido de una serie de trabajos con agentes de control biológico, extractos vegetales *(Nicotiana tabacum, Urtica* sp., *Polygonum* sp., *Aloe vera* y *Prunus persicae*) y fungicidas (tebuconazoles), sobresaliendo el uso de manejo integrado con *Trichoderma* como columna vertebral y obteniendo éxito en las respuestas obtenida por los rendimientos y calidad del ajo frente a los biofungicidas (Arcia 2003; Arcia 2011; Ulacio *et al.* 2008, 2011; Jiménez y Ulacio 2011; García *et al.* 2005; Zambrano *et al.* 2013a).

Control biológico de *Rhizoctonia solani.* En esta parte referiremos a la *Rhizoctonia solani* AG1 IA del maíz y la *Rhizoctonia solani* de la papa, por considerar el esfuerzo de los investigadores y el éxito en la aplicación de alternativas biológicas. Posiblemente de estas experiencias se manejan los otros cultivos donde este fitopatogeno es problema (Zambrano *et al.* 1999; Cabrera 2001; Pavone 2012). De León (1999) indica que no es viable controlar la enfermedad con fungicidas, el hongo ataca gramíneas en general y se mantiene en estructuras de resistencia (esclerocios) que deben ser minimizadas por métodos biológicos. Las investigaciones con *Trichoderma* finalizan con aplicaciones efectivas en el campo. Diseñándose una estrategia que comienza con aplicaciones en la semilla del antagonista y en zonas criticas dos aplicaciones a los 25-35 días de crecimiento (Cabrera 2001). Este trabajo permite asistir a un gran número de hectáreas que en el 2001 consumieron más de 25.000 dosis de un litro de *Trichoderma harzianum*, siendo el cultivo de maíz en estos momentos el que más se le aplica el biocontrolador en Venezuela, aproximadamente 50.000 dosis (30 g/dosis). Se puede considerar que este es uno de los trabajos con más éxito en el manejo del control biológico en Venezuela.

Manejo de *Rhizoctonia solani* y *Spongospora subterranea* en papa. Para estas enfermedades ya se tiene implementado el control biológico con *Trichoderma harzianum* (García *et al.* 1999, 2005). Se logra con las investigaciones resultados de mayor producción cuando se combinan semillas certificadas y el biocontrolador *Trichoderma*. Hoy la papa no se siembra sin el control biológico, evitando daños por hongos del suelo. Otra característica de los productos biológicos es incrementar la resistencia a problemas fitosanitarios por efectos de metabolismo secundario y sus productos de defensa.

Control biológico de *Plasmodiophora brassicae.* García *et al.* (2005) realizaron un ensayo de campo con el antagonista *Trichoderma harzianum*, dos biopreparados del INIA y un producto comercial Natibiol producido por la empresa Probioagro S.A. Los resultados demuestran la eficacia del antagonista

y dos biopreparados cuando se presentan menos plantas infectadas por el fitopatogeno de la hernia de las crucíferas.

Control biológico de *Fusarium oxysporum.* Zambrano *et al.* (2013), en estudios de la microbiota del suelo con tabaco, encuentra diferentes especies de *Fusarium*, resaltando que las plantas presentaron marchitamiento a pesar de tener resistencia al fitopatógeno, encontrando factores asociados como el tipo de suelo, fertilización con urea, contenido de calcio, nematodos y estrés hídrico. Las aplicaciones de *Trichoderma* asociado a *Azotobacter* presentaron resultados que posiblemente en conjunto con otros microorganismos del suelo, debilitan o compiten con *Fusarium*. La cebolla es otro cultivo atacado por *Fusarium*, dañando todas las raíces, perjudicando la formación de bulbos y disminuyendo la producción. Con la aplicación de biofertilizantes, entre ellos *Bacillus megaterium* y *Azotobacter*, Sulbaran (2010) logra incrementos en la producción de 24%, superior al promedio de 30.000 kg/ha. En la actualidad se recomienda humus de lombriz, *Trichoderma* y el sistema de Sulbaran a los 30 días de trasplante, en zonas donde predomina el *Fusarium*. El tomate es otro cultivo atacado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en donde el *Trichoderma*, con diferentes manejos desde estudios de laboratorio hasta aplicaciones en campo, han permitido reducir los ataque de este fitopatógeno (Altuna 2003; Salazar 2006; Páez y Sanabria 2007; Perdomo *et al.* 2007; Jiménez *et al.* 2008). También en tomate se ha determinado los efectos de *Trichoderma* sobre el crecimiento. En ese sentido Jiménez *et al.* (2011), logran resultados efectivos aplicando el antagonista y Bion®, evaluando en condiciones de umbráculo el efecto de *Trichoderma harzianum* sobre el crecimiento de plantas de tomate. Se observo que con la aplicación de *Trichoderma harzianum* se estimuló el crecimiento y desarrollo de tomate y se recomienda su aplicación en semillero y 15 días después de su siembra.

Control biológico de *Pythium* y *Phytophthora.* *Trichoderma* spp.es utilizado para control de *Phytophthora parasitica* en tabaco desde 2001. Es realizado por la empresa Agrobigott (Bigott 2001). Yelina *et al.* (2011) demostraron la capacidad biocontroladora *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma crassum* y *Bacillus subtilis* sobre *Phytophthora palmivora*, causante de la pudrición de la mazorca de cacao. Esto viene a demostrar la factibilidad de combinar ambos biocontroladores para *Phytophthora.*

Control biológico de bacterias. Hernández *et al.* (2011) realizan una investigación con el objetivo de evaluar *in vitro* la efectividad antibacteriana de *Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas putida, Bacillus licheniformis, Bacillus subtilis* y *Bacillus megaterium*, contra cepas fitopatógenas que causan graves daños a cultivos de gran importancia, entre las que se destacan: *Burkholderia glumae, Pantoea agglomerans, Xanthomonas phaseoli, Xanthomonas campestris* y *Ralstonia solanacearum*. Los resultados en laboratorio muestran que los aislamientos del género *Bacillus* presentan una buena acción antagónica contra los fitopatógenos seleccionados, destacándose *Bacillus licheniformis* y *Bacillus megaterium* como bacterias potenciales para el control de bacteriosis en los cultivos de arroz, caraota, cebolla, tomate y papa. Los resultados muestran que las bacterias expresan mejor

su acción antagónica contra los fitopatógenos cuando se encuentran todas presentes como un pool, infiriendo esto en posible efecto cooperativo o de sinergia. También se podría mencionar un posible efecto de quórum sensing entre ellas, requiriéndose estudios más rigurosos para entender mejor los mecanismos de comunicación entres las bacterias y su relación con las plantas.

Desarrollo del control biológico de nematodos

El control de nematodos se ha venido realizando con nematicida o agrotóxicos de banda roja altamente perjudiciales a la microbiota del suelo. Las empresas de biológicos han contado con *Paecilomyces* y *Trichoderma*, aplicados en algunos cultivos de gran importancia económica como el plátano o banano "Plátano Hartón" (*Musa* AAB), con más de 30.000 ha en el país, en donde trabajos de Bracho *et al.* (2001) aplicando los hongos señalados mas *Beauveria bassiana* logra un manejo integrado de *Radophulos similes*, *Cosmopolite sordidus* y *Erwinia carotovora*. Blanco *et al*. (2011), trabajando con vitroplantas y cormos, señala que los fitonemátodos estuvieron presentes en mayor número en vitroplantas que en plantas provenientes de cormos, siendo *Pratylenchus*, *Rotylenchulus* y *Meloidogyne* los más abundantes. Plantas tratadas con la cepa 1 de *Trichoderma* presentaron menor número de fitonemátodos tanto en vitroplantas como en cormos. Ambas cepas incrementaron hasta un 15% el peso de raíces funcionales en plátano comparados al químico y favorecieron la altura de la planta y el peso del racimo. *Globodera rostochiensis* es otro nematodo de importancia particularmente en el cultivo de la papa, para el mismo se ha podido verificar a través de las investigaciones de Romero (2008) hongos asociados con quistes de *Globodera* spp.*: Fusarium, Aspergillus, Penicillum, Paecilomyces, Thielaviopsis, Trichocladium* y *Verticillium,* y hongos asociados con huevos y juvenil 2 (j2) *de Arthrobotrys* y *Globodera***.** También Moreno *et al.* (2011) encontró una densidad inicial promedio de 308 quistes por cada cien gramos de suelo, luego de las aplicaciones de *Trichoderma harzianum*, se cuantifico una densidad promedio de 146 quistes por cada cien gramos de suelo, con una disminución del 53% y generando un incremento de la producción. En tomate los nematodos son un problema grave, por lo cual se comienzan a tomar medidas alternativas en el país. Importante son los aportes de la empresa privada y de los investigadores al llegar a conclusiones de que los productos bióticos y abióticos controlan biológicamente *Meloidogyne* (Arcia 2011; Romero *et al.* 2011).

Inducción de resistencia y sinergia entre *Bacillus thuringiensis, Trichoderma harzianum* y biofertilizantes en el control biológico de *Fusarium moniliforme (verticillioides)* y fitopatógenos del suelo, en maíz y tabaco

La supresión y/o reducción de la incidencia como de la severidad en las enfermedades de las plantas causadas por fitopatógenos habitantes del suelo, follaje (activos o en latencia) o sistemas complejos como *Spodoptera frugiperda/ Fusarium moniliforme (=F. verticillioides)*, con las asociaciones de microorganismos benéficos como controladores, traerían muchas ventajas entre las cuales tenemos: una como mejor nutrición (fijación de nitrógeno, solubilización del fosforo y otros elementos), incremento de resistencia (Harman 2008; Smith y Goodman 1999; Silva y Oliveira 2009). El resultado de las asociaciones permite la sinergia y expresión metabólica de las plantas. Sin embargo, la aplicación de químicos inhibe estos efectos y los fitopatógenos, tanto del suelo como de la filosfera, incrementa estresando la planta y en muchos casos permitiendo la producción de sustancia toxicas como la fuminisina, un producto de la relación *Spodoptera frugiperda* y *Fusarium moniliforme* en maíz, y en tabaco el incremento de metabólitos no esenciales como la nicotina, al desgastarse menos las vías de producción de alcaloides por efecto de las relaciones fitopatógenos-hospedante, cuando se aplica al suelo *Trichoderma* y *Azotobacter* (Goyo 2005; Rodríguez 2008; Zambrano et al., 2013a).

Goyo (2005), estudiando el control de *Fusarium moniliforme* por medios biológicos, encuentra que el fitopatogeno causante de pudriciones en el maíz, se activa con estrés hídrico o ataques del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*). Usando *Bacillus thuringiensis* contra el insecto inhibe el desarrollo de *Fusarium moniliforme*, cuando compara con insecticidas químicos para el control del insecto. Además no se desarrolla la fuminisina, y el producto o granos de maíz disminuyen los porcentajes de toxinas y pérdidas. El estudio realizado sobre el porcentaje de incidencia de *Fusarium moniliforme* en granos de maíz, nos evidencia que donde se aplicó *Bacillus thuringiensis* el porcentaje de incidencia de *Fusarium moniliforme* es menor con respecto a los tratamientos donde se aplicó control químico. Rodríguez (2008) continúan los trabajos pero incluyen dentro de las investigaciones la aplicación de *Trichoderma harzianum*.

La relación entre el comportamiento de la incidencia de *Fusarium moniliforme* y el daño causado por *Spodoptera frugiperda* fue demostrada. En el tratamiento testigo donde no hubo control, tanto el porcentaje de incidencia de *Fusarium moniliforme* como el porcentaje de infestación de *Spodoptera frugiperda* son elevadas, en un 81 y un 67%, respectivamente. Cuando se controló las larvas de *Spodoptera frugiperda* con *Bacillus thuringiensis* (Dipel®), la incidencia de *Fusarium moniliforme* fue de 47,7% y de 13% para *Spodoptera*. Cuando se controló a *Spodoptera frugiperda* con diazinon + cipermetrina (corsario), siendo el % de incidencia de *Fusarium moniliforme* de 88% y de 10% de *Spodoptera*, donde a pesar que el producto es efectivo para el control de *Spodoptera frugiperda*, la

incidencia de *Fusarium moniliforme* es mayor, inclusive, que al tratamiento testigo. Controlándose las larvas de *Spodoptera frugiperda* con una cepa nativa de *Bacillus thuringiensis*, biopreparado UCLA Bt-73, la incidencia de *Fusarium* fue de 58% y el % de infestación de 27%, tanto en el % de incidencia como en el % de infestación, hubo una reducción significativa con respecto al testigo. Cuando se controlaron las larvas y también *Fusarium moniliforme*, con productos químicos, la incidencia de *Fusarium moniliforme* fue de 87,2% y el % de infestación de 7%. El control químico es efectivo para el control de *Spodoptera*, pero la incidencia de *Fusarium* es mayor, a pesar de las aplicaciones de fungicida e inclusive es mayor que el tratamiento testigo. El presente estudio permite observar el patosistema compuesto por Planta-insecto-patógeno-ambiente, que siempre se ha relacionado, pero que en nuestro país se ha estudiado por separado.

Rodríguez (2008) verificaran que el tratamiento *Bacillus thuringiensis* + *Trichoderma harzianum* resultó ser el más efectivos para el control de S*podoptera frugiperda,* observo también la menor porcentaje de incidencia causada por *Fusarium moniliforme* en frutos de maíz y mayor cantidad de metabólitos secundarios.

Zambrano *et al.* (2013a), analizó los metabólitos secundarios inducidos en plantas de tabaco por efecto del *Trichoderma harzianum* y la rizobacteria *Azotobacter* para el combate integrado de fitopatógenos del suelo en tres localidades: Cojedes, Portuguesa y Guárico, concluyendo que el análisis de la microflora en suelos que siembran tabaco coincide con su presencia en el rizóplano y rizósfera (aunque con funciones diferentes); que las plantas responden a la aplicación de microorganismos benéficos como *Trichoderma y Azotobacter* por la presencia de metabólitos secundarios, asegurando la calidad del producto final, y los mejores resultados donde se aplico *Trichoderma* más *Azotobacter*.

Manejo de *Sclerotium cepivorum,* con inductores biótico (*Trichoderma*) y abiótico en las alternativas de control

Jiménez y Ulacio (2011) concluyen que el control biológico ampliado (productos sustentables) de la pudrición blanca *S. cepivorum* es factible, mediante el manejo integrado con extractos calcio y *Trichoderma.* Además se mantiene la salud del suelo, del agua y la sociedad. También se demuestra que los inductores bióticos y abióticos aportan significativamente valores para su incorporación, cuando logramos disminuir el índice de la enfermedad e incrementamos la producción. Con este tipo de trabajo y el uso de otras alternativas biológicas como las rizobacteria, entomófagos y entomopatógenos, se percibe en Venezuela una vía para el nuevo milenio y la agricultura sana.

La industria del control biológico: producción industrial, agentes de control biológico, control de calidad, técnicas de comercialización

La producción industrial de Agentes de Control Biológico sigue los mismos patrones de la mayoría de los países Latinoamericanos. Podemos variar en cuanto a los agentes que mas sobresalen por efectos de la necesidad y educación del consumidor y que tradicionalmente los entomólogos inician primero esta actividad con el llamado control biológico clásico (Alves 2008; Bustillo 2002; SMFCB 1999; Lecuona *et al.* 1996, Zavaleta 1999; Ferrer 2001ab; Zambrano y García 2006; Orieta-Larrea 2006;). El caso no es diferente en Venezuela y podríamos señalar cinco etapas y el avance en la aplicación de los biológicos:

El uso de los biocontroladores y bioestimulantes.

1. Desarrollo de la industria de entomófagos (laboratorios de *Cotesia, Trichogramma, Telenomus, Chrysoperla, Orius*). Años 1950- 2012. Cultivos: caña de azúcar, tabaco, maíz, arroz (los que más consumen), en menor escala café, cacao, palma aceitera.
2. Desarrollo industrial de entomopatógenos (*Metarhizium, Beauveria, Paecilomyces, Lecanicillium, Nomuraea, Bacillus thuringiensis, Heterorhabditis bacteriophago, Gliocladium, Arthrobotrys)* - Años 1987-2013. Cultivos: Agroindustriales (Caña de Azúcar, Tabaco, Maíz, Arroz, Café, Hortalizas, Frutales, Flores, Platano, Lechosa, Cítricas, Parchita maracuyá, Guayaba, Aguacate.
3. Producción de *Trichoderma harzianum* (identificación de especies hasta caracterización molecular). Años 1990-2013. Cultivos: Para hortalizas los productos va dirigidos a tomate, pimentón, papa, crucíferas, cucurbitáceas, zanahoria, cebolla, ajo. Agroindustriales, el de mayor requerimiento es Maíz. En Frutales como en hortalizas, la mayoría aplican *Trichoderma harzianum* al sustrato.
4. Producción de rizobacteria (*Rhizobium, Azotobacter, Azospirillum, Bacillus megaterium)* y *Bacillus subtilis* **y** Micorrizas. Años 2005-2013. Cultivos: Flores y Forestales son incluidos en los últimos años, con planes de ampliación y estudios.
5. Manejo Inteligente y Producción: Es un sistema que utiliza todas las herramientas de manejo en forma oportuna, sensibilizando la planta en todas sus etapas fenológicas y de manera preventiva. Particularmente los biocontroladores se combinan con otros compuestos compatibles (Zambrano *et al.* 2013ab; Ulacio *et al.* 2013).

Tipo de manejo:

1. El tipo de manejo de los biológicos es en forma integral, se consideran estrategias para insectos plagas, enfermedades y raramente control de malezas, así las enfermedades más tratadas son las producidas por fitopatógenos habitantes del suelo y del follaje en algunas casos como *Botrytis, Colletotrichum, Mycosphaerella fijiensis, Pyricularia,*

Moniliophora roreri, Sarocladium, Rhizoctonia solani y bacterias. Para estos casos se inicia con *Trichoderma* como antagonista, en forma endofitica con otros hongos como *Lecanicillium, Beauveria,* en actividades de resistencia sistémica inducida.

2. Los biofertilizantes se producen a través de 12 laboratorios del gobierno (*Rhizobium, Azotobacter, Bacillus megaterium*). Se aplican en estrategia con otros biológicos como *Trichoderma.*

Quienes producen en el país:

En el país existe un gran número de laboratorios oficiales dirigidos por Instituto de Sanidad Agrícola Integral, Instituto Nacional de Investigación Agrícola y cuatro privados (Probioagro, Agrobica, Agrobosque e Insubiol), todos producen los mismos biológicos. Con grandes diferencias en cuanto a la forma de trabajar y llegar hasta el productor. A este equipo se unen las Universidades los cuales logran una amplia red para difundir los conocimientos del Control Biológico, pronto una de estas universidades (UCLA) abrirá un posgrado en CB, de donde saldrán especialistas en el área. Todas estas empresas o laboratorios no tienen un producto aun registrado (excepción Agrobica con un *Trichoderma*, certificado obtenido en el 2013) y a pesar de no existir una normativa efectiva que evalúen los requerimientos para el registro, utilizando protocolos por cada agente de control biológico y problema fitosanitario a controlar o regular. Más adelante en registros de productos biológicos en Venezuela se profundizara sobre el tema.

Aplicación de los agentes de Control Biológico.

1. La aplicación de agentes de control biológico es una parte que correspondería a un capitulo, pero es importante resaltar que la educación de los que usan los biológicos no es suficiente, se requiere para el éxito de las aplicaciones, impartir conocimiento de la forma y momento de aplicación, de tal manera que las pequeñas empresas ven como seguridad tomar la iniciativa de la asistencia personalizada.
2. El crecimiento del control biológico en Venezuela requiere de la profundidad en el desarrollo de todas las técnicas que permitan calidad en el campo, por este camino algunas empresas serias y responsable, luchan por mantener una diferencia, manteniendo un personal altamente capacitado hasta quinto nivel y salir a comercializar con seguridad, protegiendo los beneficios de trabajar con biológicos.
3. Hay un gran vacío de personal preparado para llevar las tareas en el campo, la mayoría de las empresas les es muy difícil luchar con las trasnacionales.
4. La mayoría de las empresas privadas son de corte tecnológico y de riesgo, el financiamiento debería ser blando o a largo plazo e intereses bajos, lo cual no existe en Venezuela.

Producción industrial de microorganismos

La producción en su mayoría se realiza *in vitro* bajo fermentación solida o liquida. En la solida podemos ver una serie de empresas oficiales y privadas particularmente con sustratos para hongos entomopatógenos y antagonista (Tablas 8 y 9). En la parte de fermentación liquida se desarrollan bacterias entomopatogenas y rizobacterias, con producciones muy nuevas. La producción *in vivo* la realizamos con dos baculovirus: *Erinnys ello* gusano de la yuca, aplicaciones en 4.000 ha y uno para *Tecia solanivora*, en papa (García *et al.* 2005). También sobre *Galleria mellonella* se produce *Heterorhabditis bacteriophago* para el control de *Aeneolamia varia* en 752 ha caña de azúcar (Arias 2011).

El producto industrial con más tiempo en el mercado es *Metarhizium anisopliae* desde 1987, con cuatro marcas comerciales (MetaGrass, Metabiol Cobican y Biogras) elaborados en cuatro fabricas privadas localizadas en cuatro estados (Lara, Carabobo, Portuguesa y Yaracuy) con una producción aproximada de 65.000 dosis anual (dosis=30 a 100 g de esporas) y en 25 años de 1.625.000 dosis (4 dosis/ha).

Tabla 8. Compañías, ubicación y estimación de productos a ser aplicados en el control biológico de insectos plagas y enfermedades durante el 2012. (Fuente: Insubiol C.A.).

Compañía	Ubicación	Producto	Zona Asistida	Producción
INSUBIOL	LARA	Subiol (T), S1, Bb, M, Pf, Ll	Lara, Yaracuy, Portuguesa, Falcón, Barinas, Cojedes, Zulia, Mérida, Trujillo. AGROPATRIA	25.000
AGROBICA	CARABOBO	T, Bb, M, Pf, Ll, Mezclas	Venezuela Tanassu Agropatria, Bigott	80.000
AGROBOSQUE	YARACUY	M	Yaracuy, Lara, Portuguesa, Bobure (Zulia)	20.000
PROBIOAGRO	PORTUGUESA	T, M, Bb,	Portuguesa, Barinas, Cojedes, Lara, Oriente	60.000
COOP. SANARE	LARA	T	Lara	10.000
INSAI E INIA (Sector oficial), CAEEZ	COJ., POR., BAR., YAR., LAR., FALC., TRUL., MER., ARAG., ANZOAT.	T, Bb, M, Pf, Ll, Bt, N.	VENEZUELA	120.000 (Hongos, Bacterias)
TOTAL				315.000 dosis

T = *Trichoderma*; B = *Beauveria bassiana*; M = *Metarhizium anisopliae;* Pf = *Paecilomyces fumosoroseus*; Ll = *Lecanicillium lecanii*; S1, mezcla entomop= Sumecol; Bt = *Bacillus thuringiensis*; N = Nematodos (Heterorhabditis). Dosis de 30 a 100 g. Estados que aplican: COJEDES, PORTUGUESA, FALCON, TRUJILLO, ARAGUA, YARACUY, LARA, MERIDA, ANZOATEGUI.

Tabla 9. Requerimientos de dosis de *Trichoderma* y cantidad producida en el país (Fuente: Insubiol C.A.). Un ejemplo de cómo las empresas se preparan para una campaña.

Mecanismos de acción	Cultivos	Dosis requerida (estimadas)	Producción actual	
			Compañías	Dosis
Promueve crecimiento y resistencia a estrés bióticos o abióticos	Maíz Arroz Caña de Azúcar Tabaco	200.000(1 dosis/ha) 60.000 (1 dosis/ha) 45.000 (1 dosis/ha) 21.000 (3 dosis/ha)		
Promueve crecimiento y resistencia a estrés bióticos o abióticos	Hortalizas Frutales (Cítricas)	35.000(General, en todo el país) 20.000 (3 dosis al año)		
Hiperparasitismo y antagonismo. Inducción de resistencia. Competencia	Platano Parchita Guayaba Otras	35.000 (2 dosis año) 2.500 (2 dosis /año) 2.500 (2000 ha/1 dosis/año)	INSUBIOL AGROBICA PROBIOAGRO COOP. BOJO OFICIAL	30.000 30.000 40.000 20.000 120.000
Protección General. Sustratos	Viveros e Invernaderos	4.000 dosis en 200 ha(2/mes; 20/año),		
Protección General y desarrollo	Cultivos de verano (Ajonjolí, Girasol, Sorgo)	Sin información.		
Subtotal		415.000 dosis		240.000
TOTAL		415.000 dosis		240.000

Correcto Desarrolo de formulaciones microbianas

Una de las situaciones más delicadas en la producción es tener información sobre las formulaciones de productos microbiales, las empresas e instituciones se reservan los derechos. Muchas investigaciones hacen referencia sobre todas las características para la eficiente producción en las industrias, un caso la de hongos entomopatógenos (Dorta *et al*. 1990).

El control de calidad de los productos microbiales es una garantía del éxito, muchas empresas sin tener parámetros oficiales siguen el mismo patrón por necesidad de permanecer en el sistema y competir con los químicos y el desconocimiento de los consumidores.

Las formulaciones deben seguir un patrón en los procesos de producción y control de calidad del producto final que garantice la eficiencia del mismo aplicado en el campo. Los productos que contienen agentes microbianos de control biológicos elaborados en Venezuela, generalmente presentan un contaje de esporas de $1x10^{12}$ esporas/g en las formulaciones. Los productos elaborados por el sistema de fermentación solida que no han sido formulados no pasan de $1x10^{9}$ esporas/g. Sin embargo Dorta *et al.* (1990), logra con medios industriales específicos concentraciones de $1x10^{13}$ ufc.

Un parámetro que se quiere mantener es una concentración entre $1x10^{8}$ a $1x10^{12}$ ufc, para los hongos, 85% de germinación y 85% patogenicidad; para las bacterias esporogénicas, las unidades se miden en complejos esporas-cristal. La exportación e importación de los biológicos encuentra dificultades en sus procesos de producción, empaques, almacenamiento y desconocimiento de los entes oficiales en el manejo de estos productos, creo que es general en Latinoamérica.

Las formulaciones en el mercado venezolano son en su mayoría polvos mojables, en el caso de *Trichoderma* varias especies se colocan en el mercado siendo las más comunes *Trichoderma asperellum, Trichoderma harzianum, Trichoderma viride, Trichoderma atroviride, Trichoderma koningiopsis.* Muchas investigaciones se han realizado con *Trichoderma* desde simple aislamientos y multiplicación en los años 80 (Zambrano 1981) hasta la caracterizaciones moleculares realizadas por Pavone (2012) quien identifica las especies de *Trichoderma* analizando las secuencias de los espaciadores transcritos internos del DNA ribosomal (ITS 1 y 2) y el factor de elongación de la traducción 1a (*tef1*) con los programas TrichOKEY, TrichoMARK y TrichoBLAST (www.isth.info). La capacidad biocontroladora se evaluó en cultivos duales en medio sólido y líquido. La diversidad de *Trichoderma* fue baja en comparación con la reportada en otras localidades del mundo, siendo de 9 especies distintas de 176 aislados totales. Las especies encontradas fueron: *Trichoderma asperellum, Trichoderma atroviride, Trichoderma erinaceum, Trichoderma harzianum, Trichoderma koningiopsis, Trichoderma pleurotum, Trichoderma reesei, Trichoderma spirale* y *Trichoderma virens*. *Trichoderma harzianum* fue la más abundante. También Jiménez *et al.* (2008), realizando análisis moleculares con marcadores RAPD, caracterizo 12 aislamientos de *Trichoderma* agrupando las procedencias del país por especies. También los perfiles enzimáticos de *Trichoderma* en diferentes aislamientos son evaluados por Bautista *et al*. (2008).

Estas caracterizaciones le permiten a las pequeñas compañías que las formulaciones tengan criterios científicos y obtengan seguridad cuando

se requiera competencia. Muchos no lo realizan por falta de presupuestos y recurren a las universidades o instituciones de investigación.

Las formulaciones en Venezuela tienen costos de precios al consumidor muy variables se puede decir que están entre 70 y 120 bolívares (US$18 a 30). Las aplicaciones tienen un costo que varía de acuerdo al equipo de fumigación utilizado (un helicóptero costo/ha 70.000 bolívares). En este caso las formulaciones en aceite que aun no existen en Venezuela son las más económicas.

Comercialización de Productos microbianos

La utilización de productos biológicos para el control de enfermedades en Venezuela es muy variable desde el punto de vista de los diferentes grupos, empresas, sociedades y agricultores independientes que requieren los productos. La dinámica en el desarrollo de los productos de control biológico y la agresividad de las trasnacionales confunden al usuario, relegando a un segundo plano la efectividad de los biológicos (que es muy diferente a los agrotóxicos). La manera de actuar de los productos biológicos y la forma de llevarlos al mercado debe cambiar en toda Latinoamérica (requerimos de la unificación de criterios con patrones de calidad). Particularmente las reuniones internacionales de *Trichoderma*, han demostrado que el paradigma de los microorganismos es como lo define Harman (2008): Tenemos 80 años conociendo a *Trichoderma*, como controlador biológico y su habilidad para incrementar el desarrollo como la producción agrícola. Para comercializar el *Trichoderma*, las evidencias sugieren que la relación *Trichoderma*-Planta y *Trichoderma*-Planta-Patógeno es más importante que *Trichoderma*-Patógeno. Concluye que *Trichoderma*: aumenta el desarrollo y producción de la planta, aumenta el desarrollo de las raíces y tolerancia a las heridas, induce resistencia sistémica, aumenta el color verde de las hojas probablemente por incremento de la rata de fotosíntesis; aumenta el porcentaje de germinación y rata de germinación de las semillas. En conclusión, en Venezuela creemos que se "Debe comercializar como un promotor de crecimiento y activador de las defensas de la planta, con propiedades de antagonista y endofitico"; destacados investigadores verifican la complejidad de interacción de *Trichoderma* con la planta y beneficios, como la protección directa o a través de inducción, apoyados en caracterizaciones biológicas y moleculares (Chet 2008; Harman 2008; Lorito 2008; Jiménez *et al.* 2008; Pavone 2012; Zambrano *et al*. 2013ab;).

Siguiendo este patrón desde el 2010 estamos colocando los productos biológicos de manera inteligente, siguiendo la fenología de la planta, el control o el manejo de las enfermedades y otro parámetros relacionados en la producción (Zambrano *et al.* 2013ab; Ulacio *et al.* 2013).

Registro de productos biológicos en Venezuela

Existen en Venezuela leyes para la agricultura sustentable y alimentos sanos (Art. 117, 127 y 305, 306, 307 de la Constitución) y Agroecología (Art.

48 Ley de Salud Agrícola Integral), pero normas para el registro de insumos biológicos aun se discute; sin embargo, las documentaciones para el registro están siendo entregada y evaluadas en las oficinas del Instituto Nacional de Salud Agrícola Integral.

El interés de la empresa venezolana de insumos biológicos es compartida, es necesario registrar las empresas, los productos y su mercadeo, evitando de esta manera la competencia ilegal y la desacreditación de la ciencia del control biológico. Nos exponemos al perder tanto tiempo y dinero en la investigación, transferencia, mercadeo de productos necesarios y apoyados legalmente por leyes superiores. Algunas empresas mantienen su control de calidad y aspiran tener la legalidad, de lo contrario la fuerzas del propio mercado regula el desarrollo de las empresas privadas.

La mayoría de los productos registrados en el país vienen con certificación del exterior, entre ellos el más sobresaliente *Bacillus thuringiensis* el cual se comercializa idénticamente que los agrotóxicos y últimamente sin ningún estudio profundo los inductores de origen sintéticos (lo venden como competidor de *Trichoderma*, como inductor abiótico).

Consideraciones Finales

La comercialización de productos biológicos en Venezuela tiene unas perspectivas amplias, sus investigadores están al día, existen las leyes. La educación por presión de los interesados modifica y aprueba nuevas carreras de pregrado y posgrado; las empresas se modernizan y la transferencia cada día se hace más amplia según su necesidad. Toda esta situación la analizan la fabricas de agrotóxicos, ya compiten con biológicos elaborados por ellos en otros países. En fin el objetivo debe ser el equilibrio ambiental, al cual nosotros con la producción de agentes de control biológicos contribuimos.

Sin embargo, para desarrollar este sistema en los países Latinoamericanos necesitamos unirnos, para tener reglas claras del manejo y a la vez seguridad en la salud, exigimos normativas que nos ayuden (no que impidan el desarrollo con registros costosos), financiamiento de investigación, dinero blando para el desarrollo empresarial nativo por parte de los gobiernos y una distinción como consideración entre los que luchamos por la agricultura sustentable.

Bibliografía

Acevedo R, Arcia A. 1988. Control de *S. cepivorum* por *Trichoderma harzianum* en macetas (Resumen). Fitopatología Venezolana 1:34.

Acevedo R. 1989. Control integrado de la pudrición blanca del ajo (*Allium sativum*). Tesis de posgrado. UCV, Maracay, Venezuela, 170 p.

Agudelo-Silva F. 1986. Naturally ocurring pathogens of Spodoptera frugisperda (Lepidoptera: Noctuidae) larvae collected on corn in Venezuela. Fla. Entomol. 69:768-769

Agüero C E. 1998. Estudio y caracterización de *Paecilomyces fumosoroseous*. Tesis MS. Posgrado Agronomía-UCLA. Barquisimeto-Lara, Venezuela. 90 pp

Alcano M, Salazar E, Albarracín N, Salazar L, Altuna G, Glenda A, Guzmán J. 2008. Caracterización molecular de aislamientos de *Trichoderma* spp., usados en el control de *Macrophomina phaseolicola*, en *Phaseolus vulgaris* mediante el uso de marcadores RAPD. X Congreso Internacional de Trichoderma. Costa Rica (Resúmenes, p. 15).

Al-Karaki, GN. 1998. Benefit, cost and water-use efficiency of arbuscular mycorrhizal durum wheat grown under drought stress. Mycorrhiza. 8 (1):41-45.

Al-karaki, GN, Clark RB. 1998. Growth, mineral acquisition, and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. Journal of Plant Nutrition, 21: 263-276

Alves SB.1998. Controle Microbiano de Pragas. pp.1165.Fealq, São Paulo, Brasil.

Altuna,G. Y. 2003. Control biológico de la marchitez por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Tesis de grado para optar al titulo de Ingeniero Agrónomo. Maracay, Venezuela, Universidad Central de Venezuela. 77 pp.

Altuna GN, Sanabria MA, Guzmán J, Aponte G. 2011. Control biológico de *Macrophomina phaseolina* con *Trichoderma harzianum* en el cultivo de la caraota. Resúmenes (091). XXII Congreso de Fitopatología. Noviembre 08-11, Trujillo- Venezuela.

Andrews JH. 1992. Biological control in the phyllosphere. Annual Review of Phytopathology 30:603-635.

Arcia A. 2003. Biotecnología y Manejo Integrado del cultivo del Ajo (*Allium sativum*) en Venezuela. Memorias. IX Congreso Nacional de Hortalizas. Editores UNAET, San Cristóbal, Táchira. Venezuela, p 57-69.

Arcia A. 2009. Manejo de plagas y enfermedades en invernadero. Revista Agrotendencia. 10: 20-21.

Arcia A. 2011.Recuperacion de suelos para siembra de ajo usando *Trichoderma harzianum*. XXII Congreso de Fitopatología y I Congreso del Ajo. Trujillo-Venezuela. Ponencia.

Arias M. 2011. Incorporación de agentes biológicos en el Manejo Integrado de la Candelilla de la caña de azúcar (*Aeneolamia varia*). I Reunión de Ciencia en Caña de Azúcar. CAEZ B, Sabaneta, Venezuela. (Conferencia).

Ballou, Ch. 1945.Notas sobre los insectos dañinos observados en Venezuela; 1938 1943. Caracas, Editorial Crisol.

Bashab Y.1993. Potential use of *Azospirillum* as biofertilizer. Turrialba 23:286-291.

Bautista LA, Arcia A, Jiménez MA. 2008. Caracterización del perfil de enzimas extracelulares de cepas del hongo Trichoderma por el sistema API ZYM. X Reunión Internacional de *Trichoderma*. Costa Rica Resúmenes (26).

Bigott. 2001. Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades en el Tabaco. (2001, January). IPM. Ponencia presentada 1nd. International Integrated Pest Management Seminar of Tobacco.

Blanco GJ, Hernández J, Linares B, Jiménez N, Salazar C, Pérezi A, Segovia P, Guédez R, Stella A, Pocasangre L, Rosales F. 2011. Efecto de *Trichoderma atrovirides* sobre la presencia de nematodos, el crecimiento y producción del plátano. XXII Congreso de la Sociedad Venezolana de Fitopatología. Resúmenes (139). Trujillo.

Bracho M, Zambrano C, Riera R, Garcia R. 2001. Experiencias en el uso masivo de *Trichoderma harzianum* en el control de *Erwinia carotovora* del plátano en la zona Sur del Lago de Venezuela. XVI Congreso de Fitopatología, Maracay-Venezuela. Resumen (003). Pp. 44-45.

Box H. 1953. The control of sugarcane moth borer (*Diatraea*) in Venezuela. A preliminary account. Tropical Agriculture 30, 97-113 pp.

Bustillo AE. 2002. Los hongos entomopatógenos en el control de insectos plaga. Memorias del curso internacional teórico-práctico sobre entomopatógenos, parasitoides y otros enemigos de la broca del café. Sección I Entomopatógenos de la broca del café. CENICAFE, Chinchiná, Colombia. pp.1-53.

Cabrera S. 2001. Prácticas de manejo para el control de la mancha bandeada de la hoja

(*Rhizoctonia*). Determinación de los niveles de incidencia, severidad y efecto sobre el peso de la mazorca en siembras comerciales de maíz. VIII Curso sobre Producción de Maíz. Acarigua, Portuguesa-Venezuela. 315-333 p.

Camacho B. 2005. Control biológico de plagas y enfermedades en plátano. Edo. Trujillo. Curso-Taller de Control Biológico. Trujillo-Venezuela. (Ponencia).

Cardona R, Rodríguez HA, Nass YH. 1998. Dinámica poblacional de microesclerocios de *Macrophomina phaseolina* en un suelo naturalmente infestado y bajo rotación de cultivo. Fitopatol. Venez. 11: 23-26

Colmenarez F. 2004. Manejo de micorrizas y control de enfermedades. Tesis de MS en fitoproteccion. UCLA-Agronomía. 95 pp

Cedeño L. 1992. Características ultra estructurales de *S. cepivorum* agente causal de la Pudrición Blanca del ajo en Venezuela. Agronomía, Acta Científica Venezolana 43:178-189.

Chet I, Harman GE, Baker R. 1981. *Trichoderma harzianum* its hifal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. Microb. Ecol. 7:29-38

Chet I. 2008. Biocontrol and induced resistance in plants caused by *Trichoderma*. X Reunion Internacional de *Trichoderma*. Costa Rica (Conferencia).

Chet I. 2008. Changing paradigms on the mode of action and uses of *Trichoderma* spp for control. X Reunión Internacional de *Trichoderma*. Costa Rica. Ponencia

Cook KJ, Backer R. 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. St Paul, American Phytopathological Society.

De Léon C. 1999. *Rhizoctonia solani* (grupo anastomosico AG-1 IA) atacando Maíz en el Mundo (Conferencia, Acarigua-Portuguesa, Venezuela).

Dorta B, Bosch A, Arcas JA, Ertola RJ. 1990. High level of sporulation of *Metarhizium anisopliae* in a medium containing by products. Applied Microbiolology and Biotechnology 33:712-715.

Egusquizar BR. 2000. La papa, producción, transformación y comercialización. (Ed) Prisma y Proyecto Papa Andina (CIP-Cause). Lima. 192 pp.

Ferrer, R., y J. Salazar. 1977. Avances en la producción de parásitos a partir de huéspedes criados con dietas artificiales. En: Primer seminario nacional sobre el problema de los taladradores de la caña de azúcar (*Diatraea* spp.) Barquisimeto, Venezuela. p. 123-132

Ferrer F. 1992. Producción industrial de *Lydella minense Townsend (= Metagonistylum mínense), Cotesia flavipes* y *Telenomus remus* y su impacto dentro de los programas de manejo integrado de plagas en la C. Azúcar, Maíz y Sorgo. Reunión Latinoamericana y del Caribe en Biotecnología, Industria y Políticas Publicas para el Control Biológico de Plagas. UCLA-OEA, Barquisimeto, Lara-Venezuela. 120 pp

Ferrer F. 2001a. Biological control of agricultural insect pests in Venezuela; advances, achievements, and future perspectives. Biocontrol News and Information 22:67-74.

Ferrer F. 2001b. ANCA, introducción de *Trichogramma* spp., durante los años 1975-1980. Biocontrol New and Information 22: 68.

García R. 1993. Comportamiento de *Trichoderma harzianum* sobre *Macrophomina phaseolina* en Ajonjolí (*Sesamo indicum*) y Girasol (*Helianthus annus*). Tesis de MS. Agronomia-UCLA. Lara, Venezuela. 95 pp.

García R. Leon R, Menezes L. 1995. Selección de clones de papa por resistencia a candelilla tardía y marchitez bacteriana. FONAIAP Divulga, 48:38-40.

García R, Riera R, Zambrano C, Maggiorani A. Garcia A 2005. Uso del antagonista *Trichoderma harzianum* para controlar tres enfermedades fungosas del suelo. INIA Divulga 4:8-14

García R, Niño L, Vargas A. 2005. Problemas fitosanitarios relacionados con la producción de tubérculos-semillas de papa. En: Producción de semilla de papa en Venezuela. Arcia R, Salas J, Ramos G (Eds) Serie de manuales de cultivo INIA N° 5. 260 pp.

García R, Riera R, Zambrano C, Gutiérrez L. 2006. Desarrollo de un fungicida biológico a

base de una cepa del hongo *Trichoderma harzianum* proveniente de la región andina venezolana. Taller Latinoamericano Biocontrol de Fitopatógenos con *Trichoderma* y otros antagonistas. La Habana. Cuba. 115 pp.

Godoy Y. 2012. Determinación de la calidad de tres bioproductos comerciales a base de *Trichoderma* sp., usados dentro del manejo agroecológico de enfermedades de plantas. 1° Congreso Venezolano de Ciencia, Tecnología e Innovación. Caracas Pp 418.

Goyo Y, Núñez M, Carmona A, Falcón A y Méndez N. 2005. Aislamiento, identificación y efectividad de una cepa nativa de *Beauveria bassiana* patógena a *Plutella xylostella*. Resúmenes (209). XIX Congreso Venezolano de Entomología. San Felipe. Venezuela. 193 pp.

Goyo Y. 2005. Evaluación de *Bacillus thuringiensis* para el control de *Spodoptera frugiperda (*Smith) (Lepidóptera: Noctuidae) y su relación con de la incidencia de *Fusarium moniliforme* en maiz (*Zea mays* L.) Tesis de MSc en Fitopatología UCLA-Posgrado de Agronomía. 105 pp.

Guagliumi P.1962. Las plagas de la caña de azúcar en Venezuela. 2, Maracay. Min. Agric. y Cria. 850 pp

Guedez C, Castillo C, Cañizalez L, Olivar R. 2009. Control biológico una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. Revista ULA (13):50-74

Gutiérrez L, Bracho M, González P. 2011. Evaluación del efecto de microorganismos eficientes (EM) en el control de sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en el cultivo de plátano (*MUSA* AAB). . Resúmenes (88) XXII Congreso de Fitopatología. Trujillo.

Harman G. 2008. Changing paradigms on the mode of actin and use of *Trichoderma* spp for control. X Reunión Internacional de Trichoderma. Costa Rica (Conferencia).

Hernandez D, Ferrer F, Linares B. 1986. Introduccion de *Telenomus remus* para el control de *Spodoptera frugiperda* en Yaritagua. Agron. Trop. 39:199-205.

Hernández Y, Castillo O, Flores C. 2011. Uso de microorganismos benéficos (PGPR) para el control de bacterias fitopatógenas. XXII Congreso de la Sociedad Venezolana de Fitopatología. Resúmenes (012). Trujillo. Venezuela.

Ingham ER. 2000. Compost Tea Brewing Manual. Soil Foodweb. Inc., Corvallis, Oregon-EEUU. 79 p.

Jimenez MA, Arcia MA, Hernandez A, Ramis C, Mendez N. 2008. Caracterización molecular de 12 aislamientos de *Trichoderma* sp con marcadores RAPD. (Resúmenes). X Reunión Internacional de Trichoderma. Costa Rica. 23p.

Jiménez MA, Ulacio D, Arcia A Hernández A y Méndez N. 2011. Efecto de *Trichoderma koningiopsis* y acibenzolar-s-metil (Bion®) como inductores de resistencia a la pudrición blanca *Sclerotium cepivorum* berk. en ajo (*Allium sativum* l.) bajo condiciones controladas**.** Resumenes (97) XXII Congreso Venezolano de Fitopatología y I Congreso del Ajo. Trujillo-Venezuela.

Jiménez O, Lara M, Jiménez N. 2011. Evaluación de bio- controladores y abonos orgánicos en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* l.), para el control de patógenos. XXII Congreso Venezolano de Fitopatología. Resúmenes (129)Trujillo. Ponencia

Jiménez C, Albarracín NS, Altuna G, Alcano M. 2011a. Efecto de *Trichoderma harzianum* (Rifai) sobre el crecimiento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.). Rev. Fac. Agron. (LUZ). 28: 1-10 pp.

Labrador Y, Sanabria N, Subero L, Pérez-Pivat H. 2011. Evaluación de la capacidad biocontroladora *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma crassum* (Bissett) y *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn sobre *Phytophthora palmivora* Butler causante de la pudrición de la mazorca de cacao. XXII Congreso de la Sociedad Venezolana de Fitopatología. Resúmenes (104). Trujillo.

Linares B, Ferrer F. 1990. Introducción de *Cotesia flavipes* para el control de *Diatraea* spp. en Venezuela. Caña de Azúcar 8, 1-5 pp

Latiegue A. 1989. Control de *Sclerotium rolfsii* causante de la pudrición de caraota (*Phaseolus*

vulgaris) con el antagonista *Trichoderma harzianum*. Tesis de MS. Agronomia-UCLA. Lara, Venezuela.

Lecuona RE, Papierok B, Riba G. 1996. Hongos entomopatógenos. En: Lecuona RE (ed.) Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Talleres Gráficos Mariano Mas, Buenos Aires, Argentina. .35-60pp.

Lorito M. 2008. Development of a new *Trichoderma* bioformulation base on a liquid fermentation. X Reunión Mundial de Trichoderma, VII Congreso Nacional de Fitopatología II Congreso Nacional. San Jose Costa Rica (Conferencia).

Moreno J, Díaz J, Rivas M, Jaimes S. 2011. Efecto de *Trichoderma harzianum* en el control *Rostochiensis* en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum)* en el Municipio Libertador, Estado Mérida. XXII Congreso de la Sociedad Venezolana de Fitopatología. Resúmenes (140). Trujillo. Venezuela.

Núñez M, Pavone D. 2011. Inhibición *in vitro* del crecimiento de *Pyricularia grisea* por *Trichoderma* spp. XXII Congreso Venezolano de Fitopatología. Resúmenes (093). Ponencia.

Orieta-Larrea L. 2006. Temas sobre producción de agentes microbiales de control biológico. Edtor. INIA, CONVENIO Cuba-Venezuela. 300 pp

Pavone D. 2012. Biocontrol de *Rhizoctonia solani* por *Trichoderma* spp. Tesis Doctoral UCV. Facultad Ciencias, 188 pp, Biología Celular.

Paez M, Albarracin SN. 2007. Evaluación de la capacidad antagónica de *Trichoderma koningii* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Rev. Fav. Agron. (LUZ). 2007, 24 Supl. 1: 27-31

Perez-Pivat HY, Arcia A. 2008. Efecto de la concentración y el momento de aplicación de *Trichoderma harzianum* sobre el combate del *Sclerotium rosfii* y *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* en tomate cv. Rio Grande, bajo condiciones de invernadero. X Congreso Internacional de Trichoderma. Costa Rica, Resúmenes, 25 p.

Perdomo M, Peña J, Guedez C, Castillo C, Cañizalez L. 2007. *Trichoderma harzianum* para el control de sancocho en semilleros de Tomate. Academia. Vol. VI, (12): 52-61.

Pernia A, Zambrano C, Riera R, Bracho M. 2002. MIP en el cultivo de la Parchita (*Passiflora edulis* f.sp. *flavicarpa*) en la Agropecuaria "El Chamito " En: Crozzoli R, Ciancio H, Mukerji KG (Eds). Integrated management of fruit crops and forest. Pp.63-83

Pineda, J. 1981. Control biológico de *Sclerotium rolfsii* con *Penicillium* sp. . Tesis de MS, Agronomía-UCLA. Barquisimeto, Lara –Venezuela. 88pp.

Rincón de Castillo Z. 1995. Variaciones biológicas y bioquímicas del hongo entomopatógeno *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samsum en Venezuela. Tesis de MS, Agronomía-UCLA. Barquisimeto, Lara –Venezuela.

Rivero M, Pavone D. 2011. Identificación de *Trichoderma* spp .por metodologías molecular. XXII Congreso Venezolano de Fitopatología. Resúmenes (68) Trujillo-Venezuela

Rodríguez I. 1999. Caracterización y dinámica poblacional *Trichoderma* sp., y su implicación en el control de *Sclerotium rolfsii* en Tabaco. Tesis de Maestría. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela (UCV). Maracay, Venezuela.85 pp.

Rodríguez J. 2008. Metabólitos secundarios inducidos en Maíz por efecto combinado de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus thuringiensis* para el combate integrado de *Fusarium moniliforme* y *Spodoptera frugiperda*. Tesis de grado para Ingeniero Agrónomo. Decanato Agronomía. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). Barquisimeto, Venezuela. 79 pp.

Romero RS, García FAO. 2009. Indução de resistencia em plantas a patógenos por eliciadores de natureza bacteriana. En: Bettiol W, Morandi MAB (eds) Biocontrole de doenças de plantas: Uso e Perspectivas. Embrapa Meio Ambiente. 85-99 pp.

Romero E. 2008. Hongos asociados con quistes de *Globodera* y su relación parasítica. Tesis de MS. UCLA-Posgrado de Agronomía. 88 pp.

Romero E, Agelvis L, Renaud D, Guedez F, Pire A, Pineda N. 2011. Capacidad parasítica

de hongos aislados de huevos y juveniles de *Globodera* spp., sobre *Meloidogyne* spp., en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). XXII Congreso de la Sociedad Venezolana de Fitopatología. Resúmenes 141. Trujillo. Venezuela.

Salazar L. 2006. Caracterización isoenzimatica de aislamientos de *Trichoderma* spp., procedente de los estados Aragua y Guarico y evaluación de su patogenicidad para el control de la Fusariosis del tomate "*in vitro*" y "*in vivo*". Tesis de MSc. Agronomia, UCV. Maracay. Venezuela 88 pp.

Shuter A, Schmoll M. 2010. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. Applied Microbiology and Biotechnology 87:787-799.

Simosa N. 1987. Comportamiento del Cultivo de Ajonjoli (*Sesamo indicus)* en presencia de cuatro cepas de *Macrophomina phaseolina*. Tesis de MSc. UCLA- Agronomía. 80 p.

Smith KP, Goodman RM. 1999. Host variation for interaction with beneficial plant-associated microbes. Annual Review of Phytopathology. 37:473-491.

Sociedad Mexicana de Control Biológico. 1999. Memorias del X curso nacional de control. (Ed.) Sociedad Mexicana de control biológico. Montecillo, México. 217pp.

Sociedad Venezolana de Fitopatología. 2011. Memorias del XXII Congreso de Fitopatología. Trujillo, Venezuela

Sulbaran J. 2010. Evaluación de biofertilizantes en el cultivo de cebolla (A*llium cepa)* y producción a partir de cepas nativas de la finca Larapinta, Municipio Julián Mellado, el Sombrero. Edo–Guárico. Tesis de grado Ingeniería Agronómica. UCV. Venezuela. 70 p.

Ulacio D. 2013. Concentración, dosis, momento y frecuencia de aplicación de los extractos vegetales. Estudios de casos. En: Manejo Integrado de las enfermedades de las plantas (Principios y aplicaciones), edit. Dilcia Ulacio. Fundación-Yaracuy, Venezuela. 259 pp

Ulacio D, Jiménez MA, Sanabria ME, Perdomo W. 2008. Efecto de *Trichoderma harzianum* y extractos vegetales en la incidencia de la pudrición blanca *(S. cepivorum*) y el rendimiento de ajo, comparado con el uso de Tebuconazole. Congreso Mundial de Trichoderma. Costa Rica. Memorias.17 p.

Ulacio D, Jimenez MA, Perdomo W. 2011. Estrategia de manejo integrado de la pudrición blanca *S. cepivorum* en Carache, Edo. Trujillo, Venezuela. Bioagro 23 (2): 105-114.

Urdaneta L, Sanabria ME, Rodriguez D, Camacaro MP. 2011. Effect of ethanol extract of *Gliricidia sepium* on sporulation of *Colletotrichum acutatum*XXII Congreso de Fitopatología y I Congreso del Ajo. Trujillo. Resúmenes (122).

Vargas SG, Cuenca G, Lovera M, Pérez-Pérez E, Casasa AM, Gonzélez C. 2011. Presencia de Hongos Micorrízicos Arbusculares en Guayabos (*Psidium guajava* L.) infestados con *Meloidogyne* spp. XXII Congreso de Fitopatología y I Congreso del Ajo. Trujillo Resúmenes (130).

Velásquez JG. 1996. Control Biológico *Sclerotium rolfsii* con *Trichoderma harzianum* en siembras comerciales de Tabaco en el Edo. Portuguesa-Venezuela. Tesis de MS. Agronomía-UCLA, Lara, Venezuela. 90 p.

Zambrano C. 1981. Comportamiento de *Trichoderma harzianum* ante *Macrophomina phaseolina* en 1250 cultivares de Ajonjolí (*Sesamo indicum*). Trabajo de Ascenso a Prof. Titular. UCLA-Agronomía. Lara, Venezuela. 120 p.

Zambrano C. 1999. Avances en el Manejo Integrado de *Rhizoctonia solani AG1-IA* en el cultivo del Maíz, Turen Edo. Portuguesa-Venezuela. Ponencia presentada en XVI Congreso de Fitopatología, Barquisimeto.

Zambrano C. 2005. Historia del control biológico en Venezuela. (Ponencia) Taller de control biológico. Trujillo-Venezuela.

Zambrano C, Garcia R. 2006. Manual de MIP en frutales. Edit. INIA. 345pp

Zambrano K, Davila M. 2001. Detección de fragmentos de ADN de los hongos y RAPD en aislamientos de *Metarhizium anisopliae, Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus*

por RAPD y su posible relación con la síntesis de proteínas activadas en *Diatraea* spp. Rev. Facultad de Agronomía. LUZ 19:185-193.

Zambrano C, Goyo Y. 2012. *Trichoderma* como agente Biológico inductor de resistencia a estrés hídrico en Maíz. (Por publicar). 35 p.

Zambrano C, Molina N, Sosa ML. 1987. Control biológico de la candelilla (*Aeneolamia varia*), mediante el uso de *Metarhizium anisopliae* en las Fincas "Las Raíces" y "Choro" del Edo. Portuguesa. Venezuela. Revista Venezuela Azucarera, N° 26: 32-34 pp

Zambrano C, Cabrera S, Garcia P. 2002. Avances en el Manejo Integrado de *Rhizoctonia solani* en el cultivo del Maíz. Turen-Portuguesa. En: Cabrera S. (ed) Memorias del IX curso sobre producción de maíz. INIA - ASOPORTUGUESA Acarigua, Portuguesa. Pp. 444-464

Zambrano C, Goyo Y, Cañizales M, Rivas H, García R. 2012 a. Avance en el MIP de plagas y enfermedades en Invernadero del CAIS, Cabudare – Lara. 1er Congreso Venezolano de Ciencia, Tecnología e Innovación. Caracas.

Zambrano C, Goyo Y, Zambrano K, Jiménez M, Castillo M. 2012b. Manual de Manejo de Plagas y Enfermedades en Hortalizas. Edit. Insubiol C.A. (por publicar). 350 pp.

Zambrano C, Padilla I, Gutiérrez L, Goyo Y, Ceballo C, Sanabria M. 2013a. Respuesta por efectos inducidos de Trichoderma harzianum y Azotobacter en plantas de tabaco. Resúmenes. XXIII Congreso de Fitopatología Venezolano. Caracas.

Zambrano C, Graterol G, Goyo Y, Castillo M. 2013b. Incremento de producción de ajonjolí (*Sesamo indicum*) mediante efectos combinados de los bioestimulantes *Trichoderma harzianum* y Humus aplicados a semillas. Resúmenes. XXIII Congreso Venezolano de Fitopatología, Caracas.

Zavaleta-Mejia E. 1999. Control biológico de fitopatógenos. Memorias del X Curso Nacional de Control Biológico. Montecillos- México. 157-167 pp.

FACULTAD DE
AGRONOMIA
UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA

En esta publicación se presentan la historia, situación actual y perspectiva del Control Biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe.

Esta información podría servir de base para la implementación de políticas públicas destinadas al fomento de estas tecnologías en la producción vegetal. A su vez, investigadores, académicos, estudiantes, profesionales y técnicos interesados en Control Biológico de enfermedades de las plantas, encontrarán en este libro información acerca de las experiencias, éxitos y dificultades encontradas en esta parte del mundo por parte de quienes han trabajado en el desarrollo de estas tecnologías en América Latina y el Caribe.

Para lograr la publicación, se invitaron a diferentes especialistas de los países, quienes escribieron el capítulo correspondiente. La invitación tuvo una respuesta positiva de parte de investigadores de Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, República Dominicana, Uruguay y Venezuela, mientras que para la región del Caribe se escribió un capítulo que incluye información recabada en diversos países de esa zona, que puede usarse como ejemplo y punto de partida.

Este libro es el resultado del esfuerzo conjunto de especialistas de esos países y de los editores de Argentina, Brasil, Chile y Uruguay quienes pensamos que es necesario impulsar, incentivar e incrementar el uso de esta tecnología en nuestra región y aportar un marco histórico para esta área de la fitopatología en el continente.

ISBN: 978-9974-0-1091-8