

The background of the page is a microscopic image showing various plant tissues and structures, likely related to soil-borne phytopathogens. It features elongated, thin structures, possibly hyphae or plant cells, and several larger, rounded, and somewhat irregular structures that could be spores or specialized cells. The overall color is a muted green, and the image has a slightly grainy texture.

Capítulo 2

Control biológico de fitopatógenos del suelo

Chapter 2

Biological control of soil-borne phytopathogens

Carlos Andrés Moreno-Velandia,¹ Alba Marina Cotes,¹
Camilo Beltrán-Acosta,¹ Wagner Bettioli,² Yigal Elad³

¹ Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA)

² Embrapa Meio Ambiente

³ Plant Pathology and Weed Research, ARO, The Volcani Center

Contenido

Introducción	148
Reseña histórica	149
Ecología de la rizosfera	152
Concepto de rizosfera	152
Composición de los exudados de la raíz	152
Rasgos fisicoquímicos de la rizosfera	155
Competencia rizosférica	156
Efecto rizosférico	157
Principales biocontroladores y sus modos de acción	158
<i>Coniothyrium minitans</i>	162
<i>Pythium oligandrum</i>	163
<i>Bacillus</i> spp.	164
<i>Trichoderma</i> spp.	169
<i>Pseudomonas</i> spp.	175
Bioplaguicidas	178
Estudios de caso	182
Control biológico de <i>Rhizoctonia solani</i> en papa (Colombia)	182
Control biológico de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en soya (<i>Glycine max</i>) (Brasil)	187
Uso de <i>Trichoderma koningiopsis</i> Th003 en esquemas de manejo integrado del moho blanco de la lechuga y del marchitamiento vascular del tomate (Colombia)	191
Limitantes del control biológico de fitopatógenos del suelo	200
Consideraciones finales y perspectivas	202
Agradecimientos	203
Referencias	204

Resumen

El control biológico de enfermedades de las plantas causadas por patógenos del suelo es posible gracias a las complejas interacciones que se dan entre los agentes de control biológico (ACB), la planta hospedera, el fitopatógeno y la comunidad microbiana de la rizosfera —la cual está sujeta a cambios dramáticos en una escala corta de tiempo—. Eventos como lluvias y periodos de sequía durante el día desencadenan fluctuaciones en la concentración de sales, el pH, el potencial osmótico, el potencial hídrico y la estructura del suelo, entre otros. Por otra parte, en una escala larga de tiempo, se generan cambios en la rizosfera debido al crecimiento de las raíces, las interacciones entre los organismos allí presentes y los procesos de meteorización del suelo. La complejidad de estas interacciones ha influido en el éxito y el fracaso de distintos casos de control biológico de las enfermedades de las plantas, lo que generó, en sus inicios, un alto grado de escepticismo hacia esta práctica. Sin embargo, la percepción de este método de control por parte de los agricultores también ha evolucionado, gracias a las exigencias generalizadas del consumidor por alimentos libres de residuos de plaguicidas, el cuidado del medioambiente y el apoyo de la legislación en varios países. La generación de conocimiento sobre la ecología de los ACB ha permitido entender mejor las interacciones entre los antagonistas y los demás componentes de la rizosfera, razón por la cual, hoy en día, el diseño de estrategias de implementación de bioplaguicidas tiene en cuenta este conocimiento para favorecer la actividad de los ACB. Aunque en la actualidad existen brechas de conocimiento sobre las mencionadas interacciones, los avances recientes en tecnologías de secuenciación del DNA han facilitado la caracterización de la composición, la diversidad y el potencial funcional de las comunidades microbianas. Esto ha permitido identificar nuevos ACB y desarrollar estrategias de manejo de comunidades microbianas para aumentar la supresión de enfermedades. En este capítulo se presenta un resumen de la historia del desarrollo del control biológico de fitopatógenos del suelo y las principales características fisicoquímicas y biológicas de la rizosfera. También se describen los ACB más ampliamente reconocidos y sus modos de acción, así como estudios de caso exitosos de control biológico de patógenos de suelo y las características que debería tener un ACB ideal.

Palabras clave

Bioplaguicidas, control biológico, fitopatógenos del suelo, frutas, hortalizas, papa, soya

Abstract

Biological control of plant diseases caused by typical soil-borne phytopathogens are the result of complex interactions between biological control agents (BCA), the plant host, the pathogen and the rhizosphere microbial community and environment. The multiphase interaction is subject to dramatic changes in a short time. Events such a rain and drought during the day can trigger fluctuations of, among others, salts concentrations, pH, osmotic potential, water potential, and soil structure changes. Whilst in a long-time range changes in the rhizosphere are given by growth of roots, organisms interactions, and soil weathering processes. The complexity of these interactions has influenced both success and failure cases of biological control as a method for plant disease management, generating in the beginning a high degree of skepticism towards this practice. However, the perception of this control method by growers has evolved, owing to generalized demands of the consumer for food free of pesticides, care of environment and the support of legislation in several countries. Generation of knowledge about BCA-ecology has allowed to better understand the interactions between the antagonists and the other components of the rhizosphere and nowadays the design of strategies for the implementation of biopesticides considers this knowledge in order to favor the activity of the BCA. Although there are currently gaps in knowledge about the complex interactions between BCA, the host plant, the phytopathogens, the plant microbiome and the environment, recent advances in DNA sequencing technologies have facilitated the characterization of the composition, diversity and functional potential of microbial communities. This has allowed the identification of new BCAs and the development of management strategies for microbial communities to improve the suppression of plant diseases and the repucibility of the BCA activity. In this chapter, a summary of the history of the development of biological control of soil-borne phytopathogens is presented. The main physical-chemical and biological characteristics of the rhizosphere, scenario in which the interactions between the components of the biocontrol system of soil-borne phytopathogens are developed, the most widely recognized biological control agents and their modes of action are described. Successful case studies of biological control of soil-borne pathogens are described and the characteristics for an ideal BCA are presented.

Keywords

Biological control, biopesticides, fruits, potato, soil-borne phytopathogens, soybean, vegetables

Introducción

Los sistemas agrícolas representan la forma más importante de uso del suelo, con un cubrimiento de aproximadamente 1.500 millones de hectáreas entre tierras de labranza y cultivos permanentes en todo el planeta, lo que representa cerca del 11% de la superficie continental. Dado su carácter como recurso no renovable, hoy se reconoce que la productividad del suelo depende de su buen mantenimiento, por lo cual existe una especial atención al desarrollo de programas para promover el uso sostenible de este recurso (Pennock & McKenzie, 2016).

Uno de los factores que pone en riesgo la sostenibilidad del suelo es la aplicación de fumigantes y fungicidas, que se usan debido a la alta incidencia de enfermedades en los órganos subterráneos de las plantas, causadas principalmente por hongos del suelo. Sin embargo, desde los años ochenta se conocen iniciativas legislativas para reducir el uso de plaguicidas químicos y, en la actualidad, hay mayor percepción pública sobre los riesgos toxicológicos, de contaminación ambiental y de desarrollo de resistencia por parte de los fitopatógenos, debido al uso inadecuado de los plaguicidas. Los efectos colaterales del uso de plaguicidas han desencadenado cambios importantes de actitud en relación con su uso, en efecto, hoy se cuenta con regulaciones estrictas y se han generado varias órdenes de retiro de varios agroquímicos del mercado (Pal & Gardener, 2006).

Si se parte de que para el 2050 la población mundial se calcula en cerca de 9 billones de personas, se supone que la producción de alimentos debería aumentar para entonces en un 70% (Lazarovits, Turnbull, & Johnston-Monje, 2014). En este contexto, los agricultores están llamados a producir más, con menos fertilizantes, menos plaguicidas y fumigantes y más prácticas sostenibles, lo que incluye la labranza mínima, la agricultura de precisión y el control biológico. Este último y la promoción del crecimiento vegetal con microorganismos biofertilizantes, fitoestimuladores y rizorremediadores son considerados alternativas eficaces en programas de manejo integrado de los cultivos.

El control biológico de fitopatógenos del suelo comenzó su historia hace 45 años. De acuerdo con Alabouvette, Olivain, Migheli y Steinberg (2009), en el simposio realizado en Berkley en 1965, *Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens: Prelude to Biological Control*, se propusieron los dos enfoques principales del control biológico: el de aumento de las poblaciones naturales de antagonistas y el de introducción de agentes de control biológico (ACB) seleccionados. La preocupación pública sobre los peligros asociados a los agroquímicos estimuló la apertura de empresas dedicadas a la producción de bioplaguicidas e hizo que varias compañías reconocidas por sus productos agroquímicos abrieran programas de desarrollo de productos biológicos —hoy en día, incluidos en su portafolio—.

En este contexto, Bayer, por ejemplo, adquirió Agraquest; BASF adquirió Becker Underwood; Syngenta adquirió Pasteuria and Devgen; y, en el 2013, Novozymes y Monsanto establecieron la alianza BioAg, con el fin de descubrir, desarrollar y poner en el mercado soluciones microbianas para la agricultura con un menor uso de agroquímicos (Schäfer & Adams, 2015). En este panorama —y aunque la diferencia del tamaño entre los mercados de los bioplaguicidas y los plaguicidas sintéticos todavía es enorme, ya que las ventas de bioplaguicidas representan cerca del 3% del total de ventas de plaguicidas (Blum, Nicot, Köhl, & Ruocco, 2011)—, se estima que el mercado global de bioplaguicidas aumentará a una tasa de 6,9% anual y, para 2019, alcanzará un valor de US\$ 83,7 billones, de acuerdo con el estudio realizado por BCC Research (BccResearch, 2017). La entrada de estas grandes compañías en el mercado del control biológico prevé una plataforma más estable de recursos humanos y financieros, lo cual garantizaría que los productos sean comercializados a gran escala y cuenten con un fuerte respaldo, factores que han estado ausentes, en gran medida, en el campo actual del control biológico (Lazarovits et al., 2014).

En la práctica, se considera que los microorganismos de la rizosfera son ideales para ser usados como agentes de control biológico contra patógenos de

la raíz (Weller, 1988). En este sentido, ha sido evidente que las investigaciones en control biológico de fitopatógenos del suelo con microorganismos se han enfocado principalmente en los géneros *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Fusarium* no patogénicos, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Burkholderia* (Cook, 1993; Fravel, 2005). Estos géneros constituyen el principio activo de la mayoría de bioplaguicidas registrados en Europa (Ravensberg, 2015), EE. UU. (Fravel, 2005) y Suramérica (Cotes, 2011), y son considerados como los mercados más amplios de los bioplaguicidas (Velivelli, De Vos, Kromann, Declerck, & Prestwich, 2014).

Si bien en las últimas dos décadas se han adelantado investigaciones para entender la biología de las interacciones (entre el antagonista, el patógeno y la planta hospedera) que resultan en la supresión de la enfermedad, estas no han sido suficientes. Actualmente se realizan estudios para ampliar el conocimiento de las interacciones entre la comunidad de microorganismos de la rizosfera y la influencia de las condiciones ambientales sobre el comportamiento de estas. El entendimiento de la complejidad de estos sistemas ha sido una pieza fundamental para comprender la variabilidad de los resultados de biocontrol y para diseñar prácticas que favorezcan el desempeño de los ACB. Esta información, en últimas, influenciará la aceptación del control biológico como método para combatir las enfermedades de las plantas.

Reseña histórica

La primera mención indirecta del control biológico data de los años 372 a 287 a. C., cuando Teofrasto sugirió que la mezcla de diferentes muestras de suelo permitía eliminar los defectos de uno y añadir vida al otro (Tisdale, Havlin, Beaton, & Nelson, 1975). Sin embargo, esto solo fue demostrado mucho tiempo después, gracias a la microscopía. Una mención sobre la tierra cultivable y la restauración de los suelos fue registrada, por primera vez, por Virgilio, el poeta romano (70-19 a. C.), quien dijo: "Donde la arveja, las legumbres y los tallos de lupino crecen como una madera obstinada, en la siguiente temporada, pueden convertirse en el producto del año dorado"

(Wasson, 2017). Sin embargo, la historia del control biológico de fitopatógenos del suelo a nivel científico se remonta al año 1908, cuando Potter demostró que un microorganismo fitopatógeno podía ser inhibido por sus propios metabolitos (Baker, 1987). El término *antagonismo*, no obstante, data de 1874, cuando William Roberts demostró, en cultivo líquido, la acción inhibitoria de bacterias al crecer conjuntamente con *Penicillium glaucum* (Roberts, 1873). Expresamente, el término *control biológico*, como una posible propuesta del manejo de enfermedades de las plantas, fue acuñado por primera vez en 1914 por Carl von Tubeuf, fundador de la fitopatología en Europa y uno de los primeros en escribir un libro en inglés sobre las enfermedades de las plantas. Ya en 1901, Tubeuf había publicado la sistemática de *Tuberculina maxima* Rostr., un parásito de la roya blanca del pino de Weymouth (*Pinus strobus* L.), y en 1914 publicó el libro *Control biológico de las enfermedades fúngicas de las plantas* (Maloy & Lang, 2003).

Los primeros intentos de aplicación de agentes de control biológico tuvieron lugar cuando Hartley (1921) inoculó suelos de un vivero forestal con trece hongos potencialmente antagonistas para controlar el volcamiento de plántulas producido por *Pythium debaryanum* en los almácigos. Como resultado, encontró un 35,8% de volcamiento en los almácigos inoculados, mientras que, en aquellos sembrados en suelo estéril, en ausencia de los antagonistas, el volcamiento fue del 100%. Posteriormente, Millard y Taylor (1927) investigaron sobre el control de la sarna común de la papa causada por *Streptomyces scabies*, con el potencial biocontrolador *Streptomyces praecox*, que fue inoculado en cortes de pasto verde y colocado sobre suelo estéril. El resultado fue un decrecimiento de la población de *S. scabies*. Luego, Sanford y Broadfoot (1931) demostraron un "efecto supresor" de *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* en materas cuyo suelo estéril fue inoculado con diferentes biocontroladores potenciales (seis hongos, quince bacterias y un actinomicete), varios de los cuales redujeron la enfermedad. Estos autores también demostraron que, al utilizar los filtrados de cultivo de algunos de esos microorganismos, se reducía la infección.

De otra parte, Henry (1931) demostró que *Fusarium graminearum* o *Helminthosporium sativum* causaron un porcentaje mayor de plantas de trigo con pudrición

cuando estos patógenos se inocularon en suelo estéril que cuando se inocularon en el mismo suelo no esterilizado. Además, cuando mezclaron trazas de suelo no estéril con suelo estéril e inoculado con patógenos en materas, la infección por *H. sativum* se redujo de 47,6% a 7,8%. Esta fue la primera transferencia exitosa de una microflora antagonista total del suelo para producir un suelo supresivo. Adicionalmente, cuando el suelo estéril infestado con *H. sativum* fue inoculado con cuatro hongos, dos bacterias y dos actinomicetos, aislados originalmente de este suelo, solo se produjo un 2,8% de infección. Los microorganismos, multiplicados durante veinticuatro días, permitieron que el suelo esterilizado (pero inoculado con estos) se hiciera tan supresivo como el suelo no estéril.

Posteriormente, una serie de trabajos clásicos de Weindling (1932, 1934, 1936, 1941) puso en evidencia el potencial de *Trichoderma* spp. como agente de biocontrol de *R. solani* (Weindling, 1932, 1934), así como su parasitismo y antibiosis (Weindling, 1941; Weindling & Emerson, 1936). Grossbard (1945, 1946, 1947, 1948a, 1948b, 1949, 1952), Kembel et al. (2014), Wright (1954, 1956) y otros demostraron que los antibióticos se producían en el suelo por *Aspergillus* spp., *Trichoderma* spp. y *Streptomyces* spp. El control biológico también se logró mediante la protección del material de siembra con antagonistas cuando Wood y Tveit (1955) encontraron que *Chaetomium* spp. aislado de semillas de avena de Brasil proporcionó algún nivel de control contra *Helminthosporium victoriae*. También Wright (1956) demostró que la aplicación de *Trichoderma* a las semillas de mostaza las protegía del ataque de *Pythium* sp.

Desde los años cincuenta hasta el 2000, muchas enfermedades han sido controladas efectivamente, aplicando ACB tanto al material de siembra como al suelo. Se destaca el uso de *Trichoderma* spp. contra patógenos de semillas y de raíces tales como *Pythium* y *Rhizoctonia* (Aluko & Hering, 1970; Bliss, 1951; Cotes, Lepoivre, & Semal, 1996; Chet, 1987; Elad, Chet, & Henis, 1982a; Elad, Kalfon, & Chet, 1982b; Hadar, Harman, & Taylor, 1984; Harman, Chet, & Baker, 1980; Harman, 2000; Harman, Howell, Viterbo, Chet, & Lorito, 1981; Howell, 1982; Lifshitz, Windham, & Baker, 1986; Lumsden, Locke, Adkins, Walter, & Ridout, 1992; Marshall, 1982; Papavizas, Lewis, & Moity, 1982; Wells, Bel, & Jaworski, 1972;

Yedidia, Benhamou, & Chet, 1999; Zhang, Howell, & Starr, 1996).

Varios estudios colaterales han contribuido significativamente al estudio del control biológico de patógenos del suelo. Está el caso, por ejemplo, de los estudios sobre la microbiología de la rizosfera, en los cuales Hiltner (1904) examina la actividad microbiana en la zona que rodea las raíces de las plantas, a la que llamó *rizosfera*. Lochhead (1940) y Lochhead y Chase (1943) estudiaron el agrupamiento de las bacterias del suelo y de la rizosfera en función de la nutrición que estas zonas les proveen. Luego, Rovira (1956) aclaró la composición de los exudados radiculares, los factores que afectan su producción y la influencia de estos sobre la microflora de la rizosfera. El término *rizobacterias* fue, a su vez, acuñado por Kloepper y Schroth (1978), con base en sus experimentos con rábanos. Estas bacterias fueron definidas como una comunidad que coloniza de forma competitiva las raíces, aumenta el crecimiento de las plantas y reduce las enfermedades. La estimulación del crecimiento y la capacidad exitosa de control biológico por parte de estas bacterias han sido demostradas por varios autores (Kloepper, 1993; Weller, 1988; Weller, Raaijmakers, Gardener, & Thomashow, 2002; Whipps, 2001).

Además del uso de bacterias promotoras de crecimiento (PGPR), las estrategias para el control biológico de las enfermedades bacterianas se han basado principalmente en el uso de cepas no patogénicas, cepas patogénicamente atenuadas, bacterias saprofitas (Frey et al., 1994; Iriarte et al., 2012; Ji et al., 2006) y cepas de *Agrobacterium radiobacter* no patógenas que inhiben cepas patógenas estrechamente relacionadas que producen bacteriocinas (Kerr, 1974; Kerr & Htay, 1974).

En relación con los suelos supresivos, se sabía desde 1892 que el marchitamiento producido por *Fusarium oxysporum* era más frecuente en suelos arenosos que en suelos arcillosos. Sin embargo, fue debido a las políticas de la United Fruit Company y a la dificultad de obtener bananos resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, que se continuó con los estudios iniciados en 1922 en suelos arcillosos "resistentes" o "de larga vida" en Centroamérica. Reinking y Manns (1933) fueron quienes confirmaron la relación entre este tipo de suelo y la tolerancia al patógeno. Walker y Snyder (1933)

observaron que los guisantes cultivados en suelos arcillosos permanecieron libres del marchitamiento por *F. oxysporum* f. sp. *pisi* y que el patógeno se establecía con dificultad en estos. Más adelante, Stotzky y Torrence Martin (1963) y Stotzky y Rem (1966) estudiaron la mineralogía del suelo en cuanto a la propagación del marchitamiento por *F. oxysporum* en el cultivo de banano, y establecieron particularmente el efecto a los minerales arcillosos montmorillonita y caolinita.

La supresividad producida por factores bióticos del suelo fue determinada por Hartley (1921) en estudios contra *P. debaryanum*. Estudios posteriores demostraron la supresividad contra la pudrición del tubérculo y de la raíz de la papa producida por *Fusarium* en Washington (Burke, 1965; Menzies, 1959), contra la fusariosis de los melones en Francia (Alabouvette, 1986) y contra la marchitez de la papa, el lino y el clavel por *Fusarium* en California (Scher & Baker, 1980). En Colombia, Chet y Baker (1981) reportaron que un suelo plantado con clavel en la sabana de Bogotá fue supresivo para *Rhizoctonia solani* en rábano y frijol. También se ha demostrado la supresividad de suelos para los oomicetos *Phytophthora* spp. y *Pythium* spp. en Australia, California, Hawái y México (Broadbent & Baker, 1974; Kao & Ko, 1986; Martin & Hancock, 1986).

Varias de estas investigaciones han revelado que el control de las enfermedades está asociado a la combinación de factores bióticos y abióticos del suelo (Hornby, 1983). La supresividad de enfermedades inducida por el monocultivo de la planta huésped también ha sido mencionada por varios autores; la más conocida ocurrió después de algunos años de monocultivo de trigo en Inglaterra, Países Bajos, Estados Unidos y Australia (Shipton, 1977). En esta, la incidencia de la enfermedad causada por *Gaeumannomyces graminis* aumentó después de varios años con el monocultivo de trigo, pero disminuyó después de un largo cultivo continuo. Se han observado efectos similares en la disminución de enfermedades como *R. solani* en rábano (Liu & Baker, 1980) y marchitez por *Fusarium* en sandía, después de siembras sucesivas de cultivares específicos (Larkin, Hopkins, & Martin, 1993).

Otro aporte importante al control biológico de fitopatógenos partió de los estudios de McKinney (1929), quien descubrió la protección cruzada al

inocular plantas con un virus para protegerlas de un segundo virus patógeno. Este hallazgo fue confirmado rápidamente por otros investigadores, lo cual allanó el camino para la posterior aplicación comercial exitosa del método. Biraghi (1951) encontró que los chancros de la castaña, causados por *Endothia parasitica*, en Italia se curaban inesperadamente; sus extensas observaciones estimularon el descubrimiento de la hipovirulencia transmisible. Así mismo, la pudrición de la batata causada por *F. oxysporum* f. sp. *batatas* fue controlada por McClure (1951) mediante la preinoculación de los cortes con aislamientos de *Fusarium solani*, un patógeno de bajo impacto en este cultivo. De otra parte, Lindberg (1959) encontró que los cultivos de *Helminthosporium victoriae*, patógeno de la avena, desarrollaron una enfermedad transmisible que les causó una reducida virulencia, asociada con la presencia de micovirus dsRNA en el patógeno, a los cuales se les han atribuido los efectos de hipovirulencia a partir de esa fecha.

Los virus bacterianos también han sido usados para el control biológico. La investigación en este tema se inició con el descubrimiento de Twort (1915) de la existencia de virus ultramicroscópicos llamados posteriormente *bacteriófagos*, los cuales fueron estudiados como agentes contra enfermedades bacterianas de seres humanos y de animales (Beckerich & Hauduroy, 1922; Brunoghe & Maisin, 1921). Poco después, estos se encontraron asociados a patógenos bacterianos de plantas y se propusieron como agentes de control biológico (Moore, 1926). Los pioneros en este tema fueron Mallmann y Hemstreet (1924), quienes observaron que el filtrado del líquido del repollo inhibía el crecimiento de la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* que le causaba pudrición a esta planta.

Kotila y Coons (1925) demostraron que los bacteriófagos aislados del suelo suprimían el crecimiento de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum*, el agente causal de la enfermedad de la pata negra de la papa. Al realizar bioensayos coinoculando el fago con la fitobacteria lograron controlar la descomposición de los tubérculos de la papa. Además, aislaron fagos activos de varias fuentes ambientales (agua de ríos y suelo), los cuales fueron efectivos contra *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* y contra *Agrobacterium tumefaciens* (Coons & Kotila, 1925). Los primeros ensayos de campo fueron conducidos por Thomas (1935) contra el marchitamiento del maíz producido

por *Pantoea stewartii*, para lo cual las semillas de maíz infestadas con el patógeno fueron tratadas con fagos aislados de material vegetal enfermo. Este tratamiento de semillas fue bastante eficaz y dio como resultado una incidencia de 1,4%, mientras que en las semillas sin tratar la incidencia de la enfermedad fue del 18%. El tema tuvo muchos desarrollos en el siglo xx, varios de ellos encaminados al control biológico de bacterias fitopatógenas (Summers, 2005).

Ecología de la rizosfera

Las principales actividades de los microorganismos en el suelo incluyen la descomposición de la materia orgánica, la mineralización de nutrientes, la fijación de nitrógeno, la supresión de fitopatógenos y el parasitismo de raíces (con el consecuente daño a las plantas). Varias de las propiedades biológicas, físicas y químicas del suelo se cumplen en función de la materia orgánica del suelo. Esta última contribuye a la disponibilidad de nutrientes para las plantas, provee condiciones físicas favorables para su crecimiento, aumenta la capacidad de tampón del suelo, estimula el desarrollo de las raíces, incrementa la diversidad biológica y facilita los ciclos geoquímicos como los del carbono y el nitrógeno (Abawi & Widmer, 2000). El control biológico de fitopatógenos del suelo es complejo, debido a que las interacciones entre antagonista-patógeno-hospedero y comunidad microbiana ocurren en la rizosfera, que se caracteriza por cambios fisicoquímicos continuos y una intensa actividad microbiana.

Concepto de rizosfera

El término *rizosfera* fue propuesto por primera vez en 1904 por el científico alemán Lorenz Hiltner. La definición de dicho término se centró en la idea de que la nutrición vegetal está influenciada considerablemente por la composición microbiana de la rizosfera. Hiltner mencionó que los exudados de las raíces eran responsables del sostenimiento de comunidades de bacterias en la zona de la raíz, a las cuales llamó *bacteriorrizas*, por analogía con los hongos asociados simbióticamente con las raíces de las plantas, llamados *micorrizas*. Basado en sus observaciones, Hiltner también planteó la hipótesis

de que la resistencia de las plantas a los patógenos y la calidad de los productos vegetales dependían de la composición de la microflora de la rizosfera (Hartmann, Rothballer, & Schmid, 2008).

Después de Hiltner, se encuentran en la literatura científica varias definiciones de la rizosfera, sin embargo, todas presentan los elementos propuestos por este autor en 1904: aquella zona del suelo íntimamente ligada a la raíz de las plantas, en la cual se presenta una alta actividad biológica coordinada por la presencia de exudados de la raíz (Hartmann et al., 2008). En los estudios de control biológico de fitopatógenos de la raíz a menudo se analiza solamente el componente biológico (planta y microorganismo) y se dejan de lado los componentes físicos y químicos que afectan las interacciones de este, lo que podría explicar en gran parte la variabilidad de los resultados.

A continuación, se propone una definición de la rizosfera con base en las propuestas de varios autores: la rizosfera es un sistema físico, químico y biológico complejo, que comprende la interfaz entre la raíz de las plantas y el volumen de suelo en contacto íntimo con esta (figura 2.1). La rizosfera se ve afectada directamente por la actividad de la raíz (Darrah, 1993; Hinsinger, 1998) y, a su vez, mantiene una comunicación bidireccional con ella. Esta zona se caracteriza por tener una alta densidad de población de microorganismos, por lo cual las raíces de las plantas deben competir por espacio, agua y nutrientes con los sistemas de raíces invasoras (de plantas vecinas de otras especies) y con los microorganismos del suelo (bacterias, hongos e insectos que se alimentan de una fuente abundante de materia orgánica) (Ryan, Delhaize, & Jones, 2001). Lynch (1990) propuso dividir la rizosfera en tres partes: la ectorrizosfera, que comprende el suelo adherido a la raíz; el rizoplano o superficie de la raíz; y la zona interior de la raíz, que abarca la rizodermis y las células corticales.

Composición de los exudados de la raíz

Se estima que entre el 5% y el 21% del carbono fijado por las plantas a través de la fotosíntesis es transferido a la rizosfera en forma de exudados de la raíz (Marschner,



Foto: Carlos Andrés Moreno

Figura 2.1. Rizosfera de dos solanáceas. a. Rizosfera de una planta de uchuva de una semana de edad; b. Rizosfera de tomate de dos semanas de edad después del trasplante.

1995), aunque esta proporción puede ser hasta de 30 % o 40 % en plántulas (Bertin, Yang, & Weston, 2003). Grayston y Campbell (1996) clasificaron los exudados de la raíz en cinco clases: compuestos difusibles, secreciones, lisados, gases y mucílago. Los compuestos difusibles se caracterizan por ser de bajo peso molecular y ser solubles en agua —azúcares, ácidos orgánicos o aminoácidos—, y se difunden pasivamente a través de la pared celular o entre las células de la epidermis, como resultado de gradientes de concentración entre el interior y el exterior de la raíz. Las secreciones son compuestos de alto peso molecular, como los sideróforos, secretados activamente por la raíz en respuesta a gradientes electroquímicos. Los lisados consisten en material orgánico liberado en el suelo por las células muertas después de la autólisis. Los gases son principalmente etileno, dióxido de carbono y cianuro de hidrógeno. El mucílago, usado para mejorar el proceso de penetración de la raíz en el suelo, está compuesto por polisacáridos y ácidos poligalacturónicos; suele llamarse mucigel si contiene *mucílago* microbiano.

El conjunto de todos estos componentes asociados a la raíz y acumulados en la rizosfera también recibe el nombre de *rizodepósito* y, como ya se ha descrito, afecta el crecimiento vegetal y la ecología de la rizosfera (Bertin et al., 2003; Faure, Vereecke, & Leveau, 2009). La exudación de la raíz es realizada principalmente por

los pelos radicales y las raíces primarias y secundarias en crecimiento activo (Bertin et al., 2003); pero las células apicales también hacen una contribución significativa (Faure et al., 2009). En la tabla 2.1 se listan los principales compuestos orgánicos y enzimas que hacen parte de los exudados de las raíces.

La composición de los rizodepósitos varía de acuerdo con la especie, la variedad y el estado fenológico de la planta, así como con la exposición de esta a condiciones de estrés y el tipo de suelo, entre otros (Compant, Clément, & Sessitsch, 2010). De esto también dependen las diferencias en la composición de las comunidades de bacterias asociadas a la rizosfera (Haichar et al., 2008). En efecto, los exudados de la raíz son considerados como un factor que determina la interacción específica entre las rizobacterias y el hospedero: se ha demostrado que, con los exudados de la raíz, la planta puede seleccionar los colonizadores de la rizosfera. Por ejemplo, algunos aislamientos de *Azospirillum* spp. son atraídos por el mucílago producido por la raíz del maíz, pero otras cepas aisladas de la rizosfera de plantas de arroz no respondieron a los exudados del maíz (Mandimba, Heulin, Bally, Guckert, & Balandreau, 1986). Humphris et al. (2005) observaron que las células del borde y el mucílago de la raíz de plantas de maíz reducen la colonización del ápice de la raíz por *Pseudomonas fluorescens* SBW25.

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

Compuesto	Componentes	Funciones
Azúcares	Arabinosa, desoxirribosa, fructosa, galactosa, glucosa, maltosa, oligosacáridos, rafinosa, ramnosa, ribosa, sucrosa, xilosa y manitol	Lubricación, protección de las plantas contra toxinas, quimioatracción y estimulación del crecimiento de microorganismos
Aminoácidos y amidas	Todos los 20 aminoácidos proteínogénicos, ácido γ -amino butírico, cistationina, cistina, homoserina, ácido mugénico, ornitina, fitosideróforos, betaina y estacidrina	Inhibición de nematodos, estimulación del crecimiento de microorganismos, quimioatracción, osmoprotección y captura de hierro
Ácidos alifáticos	Los ácidos siguientes: acético, acetónico, aconítico, aldónico, butírico, cítrico, eritrónico, fórmico, fumárico, glucónico, glutárico, glicólico, isocítrico, láctico, maléico, málico, malónico, oxálico, oxaloacético, oxaloglutárico, piscídico, propiónico, pirúvico, shikímico, succínico, tartárico, tetrónico y valérico	Regulación del crecimiento vegetal, quimioatracción y estimulación del crecimiento de microorganismos
Ácidos aromáticos	Ácidos p-hydroxybenzónico, caféico, p-coumérico, ferúlico, gálico, gentísico, protocatecúico, sinápico y siríngico	Regulación del crecimiento vegetal y quimioatracción
Fenoles	Flavanol, flavonas, flavanonas, antocianinas, isoflavonoides y acetosiringona	Regulación del crecimiento vegetal; quimioatracción; interacciones alelopáticas; defensa vegetal; fitoalexinas; iniciadores de la interacción con <i>Rhizobium</i> en leguminosas; iniciadores de interacción con micorrizas y actinomicetos; estimulación del crecimiento de microorganismos; y estimulación de la degradación xenobiótica de bacterias
Ácidos grasos	Ácidos linoléico, linolénico, oléico, palmítico y esteárico	Regulación del crecimiento vegetal
Vitaminas	Ácido p-aminobenzónico, biotina, colina, ácido n-metionilnicotínico, niacina, pantotenato, piridoxina, riboflavina y tiamina	Estimulación del crecimiento de microorganismos
Ésteres	Campesterol, colesterol, sitosterol y estigmasterol	Regulación del crecimiento vegetal
Enzimas y proteínas	Amylase, invertasa, fosfatasa, poligalacturonasa, proteasa, hidrolasa y lectina	Defensa vegetal y factor de degradación Nod

(Continúa)

(Continuación tabla 2.1)

Compuesto	Componentes	Funciones
Hormonas	Auxina, etileno y su precursor ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), putrescina, jasmonato y ácido salicílico	Regulación del crecimiento vegetal
Otros	Sin identificar, similar a acil-homoserina lactona, saponina, escopoletina, especies reactivas de oxígeno, nucleótidos, calistegina, trigonelina, xantona y estrigolactonas	<i>Quorum quenching</i> ; regulación del crecimiento vegetal; defensa vegetal; adhesión de microorganismos; estimulación del crecimiento de microorganismos; e iniciadores de interacciones de micorrizas arbusculares

Fuente: Adaptado de Faure et al. (2009)

Rasgos fisicoquímicos de la rizosfera

La rizosfera difiere del resto del suelo en una serie de procesos bioquímicos, químicos y físicos que le son propios como consecuencia del crecimiento de la raíz, la captación de agua y nutrientes, la respiración y la rizodeposición —procesos que afectan la ecología de los microorganismos allí presentes y la fisiología de la planta de forma considerable—. Estos cambios también se derivan de la actividad de los microorganismos que son estimulados en la vecindad de las raíces como consecuencia de la liberación de rizodepósitos (Jones, Hodge, & Kuzyakov, 2004).

Los procesos coordinados por la raíz que son responsables de los principales cambios en las propiedades físicas y químicas de la rizosfera fueron revisados en detalle por Hinsinger (1998) y, posteriormente, resumidos por Hinsinger, Gobran, Gregory y Wenzel (2005), con especial énfasis en la geometría y la heterogeneidad de la rizosfera en el espacio y en el tiempo. Hinsinger, Plassard y Jaillard (2006) presentaron, además, un resumen de las consecuencias de los procesos químicos básicos que ocurren en la rizosfera sobre la biogeoquímica de varios elementos como fósforo, potasio, nitrógeno, magnesio y calcio. Aunque se asume de forma general que estos cambios en las propiedades fisicoquímicas de la rizosfera coordinados por la raíz afectan, en últimas, las actividades de los microorganismos del suelo,

aún es escasa la aplicación de este conocimiento a las interacciones particulares entre especies de agentes de control biológico y plantas cultivadas.

El crecimiento de la raíz ejerce fuerzas considerables que alteran las propiedades físicas del suelo, como la densidad aparente, la porosidad y la resistencia. Los polisacáridos liberados por la raíz en los rizodepósitos tienen un papel importante en los cambios físicos de la rizosfera (Czarnes, Hallett, Bengough, & Young, 2000). A su vez, los exopolisacáridos producidos por los microorganismos de la rizosfera juegan un papel clave en la agregación de suelo (Amellal, Burtin, Bartoli, & Heulin, 1998). La captación de agua por la raíz cambia el potencial de agua a su alrededor, lo cual afecta la transferencia radial hacia su interior y también la actividad de los microorganismos en la rizosfera.

Con respecto a los procesos químicos, se conoce que las funciones biológicas de las raíces de las plantas —como la absorción, la respiración y la exudación— alteran de forma considerable varias propiedades químicas de la rizosfera, entre las que se encuentran las concentraciones de nutrientes; de elementos tóxicos como el aluminio y otros contaminantes; las concentraciones de complejos de compuestos quelantes; el pH; el potencial redox; y la presión parcial de CO₂ y O₂, entre otras (Hinsinger et al., 2005). Particularmente, la absorción de agua y solutos contenidos en la solución del suelo ocasionan zonas de agotamiento de iones, lo cual ha sido observado para el fósforo, el nitrógeno nítrico y el potasio (Hinsinger et al., 2006). En otros casos, el fenómeno encontrado es

la acumulación de nutrientes cerca de la superficie de la raíz, especialmente en ecosistemas forestales en los cuales la concentración de calcio y magnesio en el suelo es más alta que la demandada por la planta (Hinsinger et al., 2006).

El intercambio de protones, cationes y aniones entre la raíz de la planta y la solución del suelo es responsable, en gran medida, de cambios de hasta dos unidades en el pH de la rizosfera (Hinsinger et al., 2003). La respiración de las raíces y los microorganismos de la rizosfera también ocasionan cambios en el pH, debido a la acumulación de CO₂ en la rizosfera y en el suelo; se sabe que este proceso llevado a cabo por los microorganismos es una fuente importante de protones (Van Breemen, Driscoll, & Mulder, 1984). Por otra parte, la liberación de compuestos ácidos desde la raíz puede ocasionar la disolución de carbonato de calcio (Hinsinger et al., 2006).

La exudación de compuestos orgánicos desde la raíz a la rizosfera tiene un mayor impacto sobre la microbiología del suelo y sobre el ciclo biogeoquímico del carbono. Algunos exudados y metabolitos microbianos (fosfatasa, proteasas, arilsulfatasas) tienen un efecto significativo sobre los ciclos biogeoquímicos de fósforo, nitrógeno y azufre. Compuestos carboxilados como malato, citrato y oxalato exudados por las raíces tienen efectos biogeoquímicos debido a su papel en la formación de complejos metálicos con aluminio, calcio, hierro y elementos traza (Hinsinger, 2001).

Competencia rizosférica

La introducción de microorganismos antagonistas de fitopatógenos en cultivos agrícolas es uno de los métodos más promisorios para incrementar la productividad agrícola y la eficiencia en la biodegradación de contaminantes. La práctica de aplicar al suelo cepas de hongos y bacterias benéficas como inóculo microbiano para estimular el crecimiento vegetal y para controlar fitopatógenos lleva ya bastante tiempo. Sin embargo, uno de los principales problemas en la introducción de microorganismos es que varios de estos no sobreviven o no ejercen la función específica esperada; en este sentido, se sabe que la colonización de la raíz es un factor importante en la promoción del crecimiento

vegetal y en el control biológico (De Weger et al., 1995; Knudsen et al., 1997; Lugtenberg, Dekkers, & Bloemberg, 2001). No obstante, se debe tener en cuenta que la introducción exitosa de un agente de biocontrol en un sistema planta-suelo-ambiente determinado no garantiza los mismos resultados ni la sobrevivencia de este en otro tipo de suelo o en otro genotipo vegetal (Jagnow, Höflich, & Hoffmann, 1991; Van Elsas & Heijnen, 1990; Van Veen, Van Overbeek, & Van Elsas, 1997).

Después de la inoculación, un antagonista debe establecerse y distribuirse en la raíz, reproducirse y sobrevivir por varias semanas, así como competir con la microflora nativa (Benizri, Baudoin, & Guckert, 2001; Compant et al., 2010; Compant, Duffy, Nowak, Clément, & Barka, 2005; Weller, 1988). El término *competencia* fue usado por Ahmad y Baker (1987) para describir la capacidad que tienen los agentes de control biológico de crecer y ejercer su actividad biocontroladora en la rizosfera. Dicha competencia varía entre especies y entre cepas de la misma especie.

En el caso de las rizobacterias, por ejemplo, su dispersión desde el punto de inoculación (usualmente la semilla) hacia las raíces en crecimiento es controlada básicamente por dos mecanismos: motilidad activa de la bacteria y el movimiento pasivo de la bacteria a través del agua de percolación o a través de vectores (figura 2.2). La efectividad de los mecanismos de dispersión depende del tipo de suelo, la planta hospedera y las características de la bacteria (Benizri et al., 2001). No obstante, existen otros factores que afectan el proceso de colonización de la rizosfera y que, a su vez, pueden explicar el hecho de que la colonización del rizoplano no sea uniforme. Tales factores incluyen patrones variables de exudación de la raíz, quimiotaxis, producción de metabolitos secundarios involucrados en biocontrol, presencia de flagelos, *quorum sensing* y producción de compuestos específicos como polisacáridos extracelulares y enzimas.

La simple introducción de agentes de control biológico solos o en consorcio al suelo no ha brindado el éxito deseado, principalmente porque los antagonistas no sobreviven lo suficiente para tener un efecto significativo. Una estrategia utilizada para colocar los antagonistas en el sitio donde haya mayor disponibilidad de nutrientes, en teoría, es aplicarlo en la

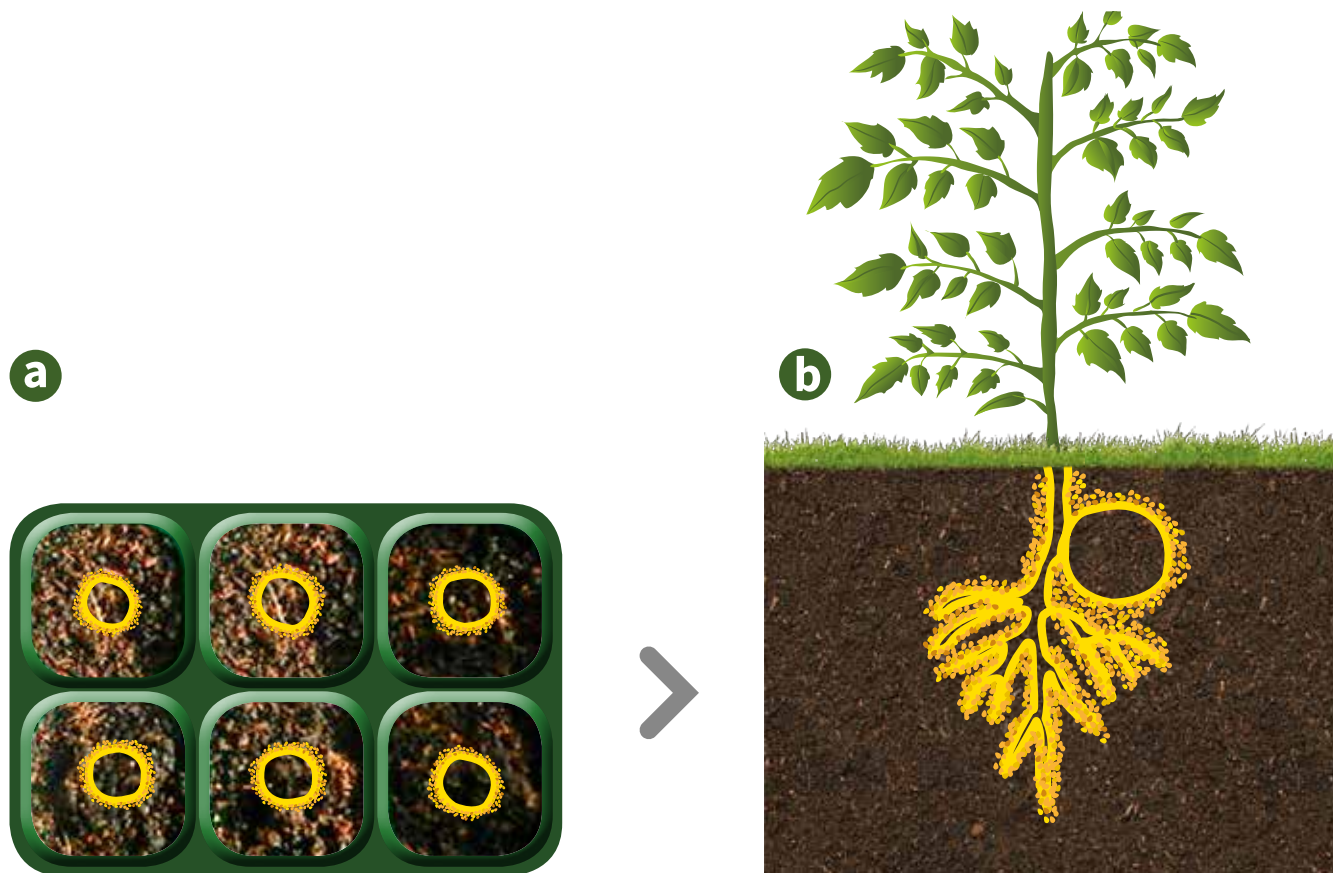


Figura 2.2. Colonización de rizobacterias. a. Semillas tratadas con un biocontrolador que las coloniza. b. Dispersión y colonización del biocontrolador en el sistema radicular de la planta.

Fuente: Elaboración propia

raíz de las plántulas antes del trasplante. Otra estrategia consiste en la introducción de una base nutricional, como abonos verdes o compost, junto con el agente de control biológico (Hoitink & Boehm, 1999).

Efecto rizosférico

Las comunidades de microorganismos que se desarrollan en la rizosfera utilizan los exudados de la raíz como fuente de energía y nutrientes (Hartmann et al., 2008; Smalla, Sessitsch, & Hartmann, 2006). Dicho estímulo ejercido por los exudados radicales es conocido como “efecto rizosférico” (Hinsinger et al., 2005; Lugtenberg & Kamilova, 2009). Los principales grupos de microorganismos y otros agentes que se encuentran en la rizosfera incluyen bacterias, hongos, nematodos, protozoos, algas y

microartrópodos (Raaijmakers, Paulitz, Steinberg, Alabouvette, & Moënné-Loccoz, 2009). Algunas especies de microorganismos presentes en la rizosfera son benéficas y otras son deletéreas para el crecimiento de las plantas (Raaijmakers et al., 2009; Welbaum, Sturz, Dong, & Nowak, 2004) (figura 2.3). Las especies de bacterias y hongos que se encuentran en el primer grupo se conocen como rizobacterias y hongos promotores del crecimiento vegetal (PGPR y PGPF, por sus siglas en inglés) (Kloepper & Schroth, 1978).

Los fitopatógenos y los antagonistas compiten entonces por la oferta de nutrientes que ofrece la planta a través de los exudados radicales, por lo que resulta de gran interés conocer los compuestos que favorecen el crecimiento de los últimos y aquellos que afectan negativamente a los primeros. Conocer la interacción entre los fitopatógenos y los exudados de la raíz resulta de particular interés en el caso de patógenos cosmopolitas, como *Fusarium*

oxysporum, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*. En este sentido, Steinberg, Whipps, Wood, Fenlon y Alabouvette (1999) observaron que el desarrollo (germinación, elongación de hifas y ramificación) de cepas de *F. oxysporum* patogénicas y no patogénicas fue estimulado de forma similar por los exudados radicales de tomate. Así mismo, estas cepas mostraron un patrón similar de respuestas en la vecindad de las raíces de tomate y trigo. De forma semejante, el trabajo de

Steinkellner, Mammerler y Vierheilig (2005) demostró que los exudados de plantas no hospedadas estimularon la germinación de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Aunque los mecanismos de reconocimiento y señalización entre la planta hospedada y los patógenos o cepas no patogénicas ocurre sobre la raíz o en su interior, estos trabajos permiten ver una de las estrategias utilizadas por los patógenos para competir con la microflora del suelo.

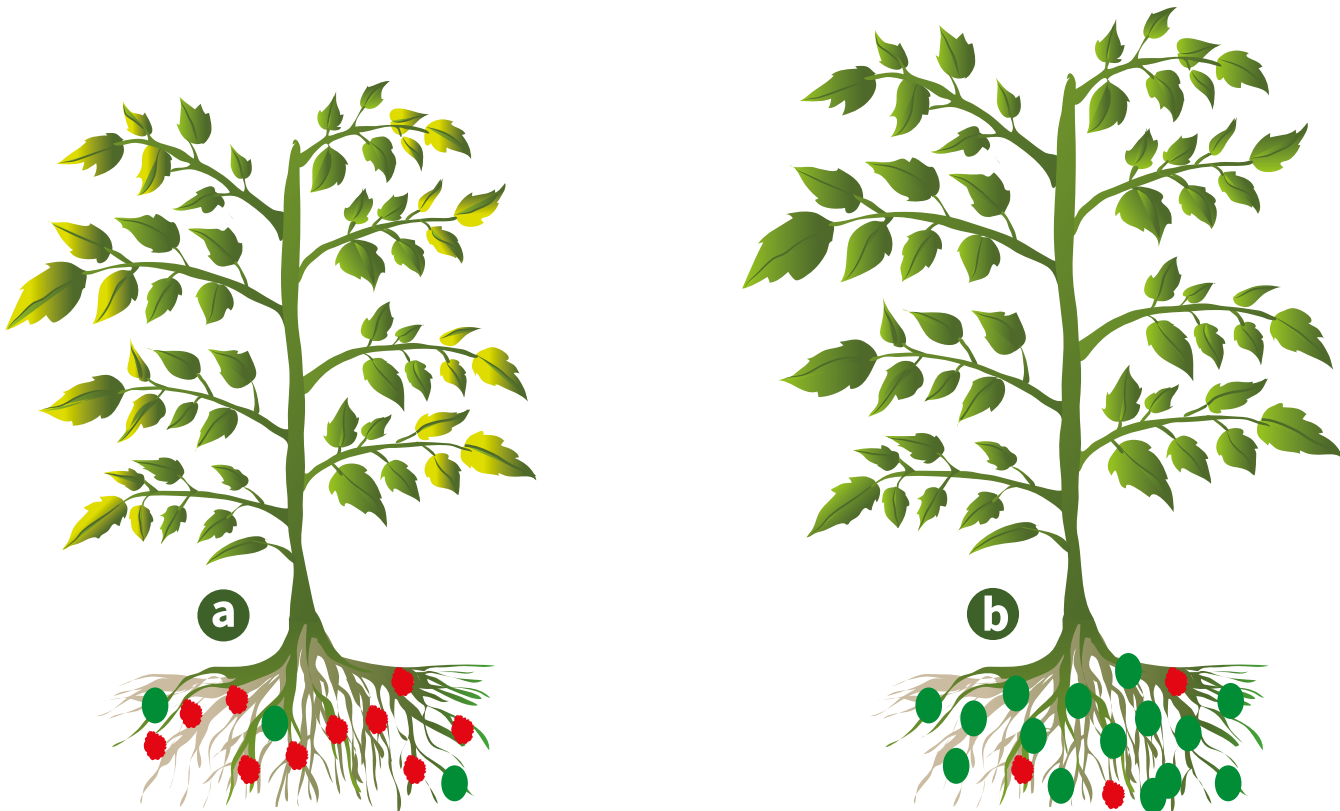


Figura 2.3. Efecto de la población microbiana sobre la salud de la planta. a. Planta con población mayoritaria de fitopatógenos ● ; b. Promoción de crecimiento y control de fitopatógenos en planta con población mayoritaria de biocontroladores ● .

Fuente: Elaboración propia

Principales biocontroladores y sus modos de acción

La investigación sobre agentes de biocontrol durante los últimos 40 años ha desencadenado una lista de bioproductos comerciales que se encuentra siempre en crecimiento. Sin embargo, la mayoría de ellos están fabricados a base de cepas de especies de los géneros *Trichoderma*, *Pseudomonas* y *Bacillus* (figura 2.4). Este último grupo es preferido como agente estimulador

del crecimiento vegetal y como biocontrolador, debido a su capacidad de formar endosporas, las cuales brindan una alta sobrevivencia a los miembros de este género durante el proceso de formulación, aun en las condiciones ambientales desfavorables presentes en el ambiente de la rizosfera (Egamberdieva, 2016). Los modos de acción utilizados por *Bacillus* spp. para

promover el crecimiento vegetal incluyen la producción de fitohormonas, osmoprotectantes, solubilización y movilización de fosfatos, inhibición de la síntesis de etileno en la planta, antibiosis (figura 2.5) y competencia por nutrientes y espacio (Egamberdieva, 2016). Por su parte, *Trichoderma* spp. es conocido

principalmente como un microorganismo benéfico y un agente de biocontrol útil en un amplio rango de aplicaciones, desde el recubrimiento de semillas hasta la poscosecha, desde el suelo hasta la filosfera, con base en una amplia gama de modos de acción (Lorito & Woo, 2015).

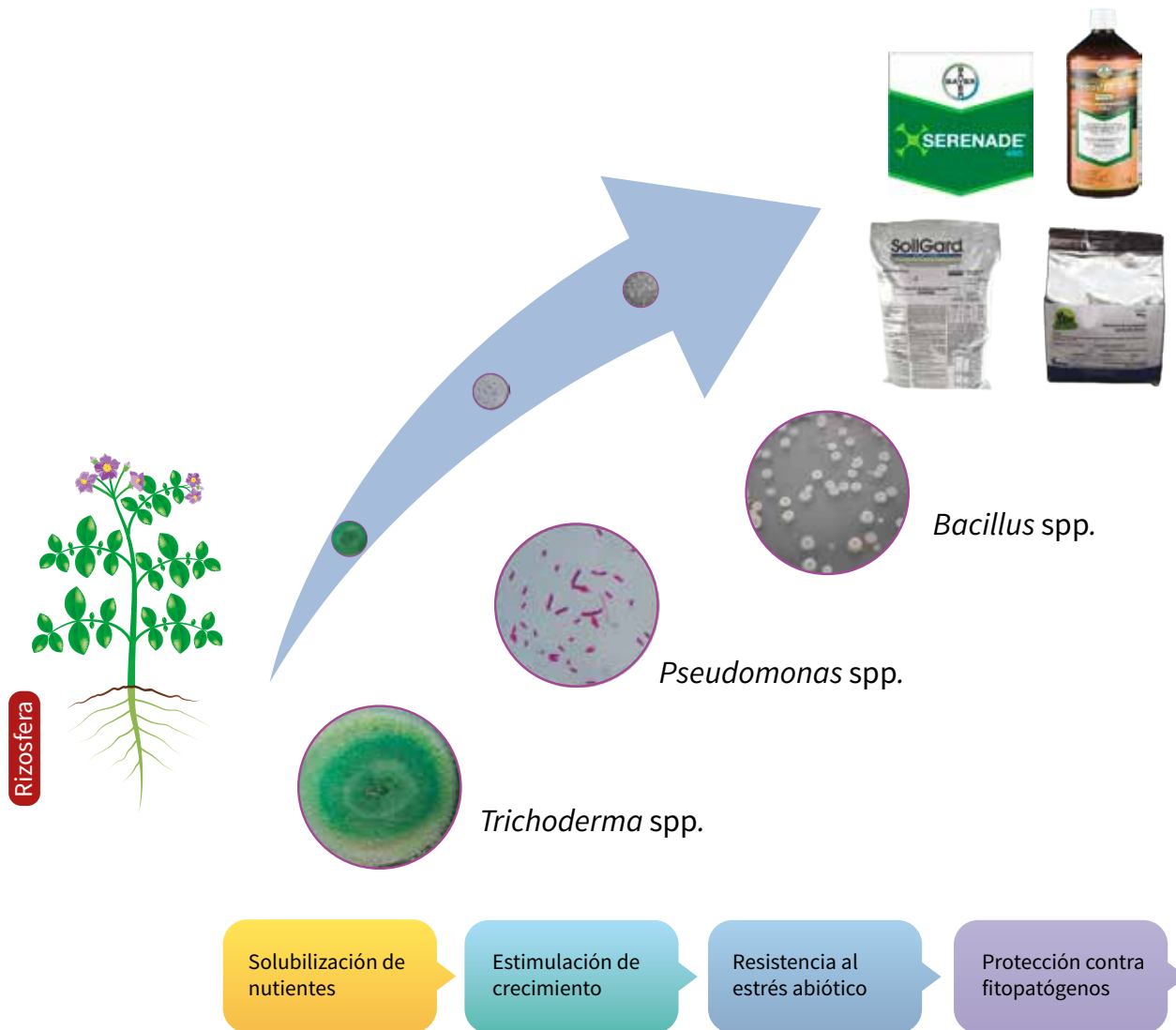


Figura 2.4. Principales grupos de microorganismos antagonistas aislados de la rizosfera que son el principio activo de la mayoría de los bioproductos registrados para el control de enfermedades.

Fuente: Elaboración propia

El uso de *Trichoderma* spp. ha causado un notable impacto en el sector agrícola mediante la expresión de sus propiedades principales, tales como una estable colonización de la raíz, el endofitismo, el micoparasitismo (figura 2.5), la competencia por nutrientes, la antibiosis y la inducción de resistencia en las plantas (Lorito & Woo, 2015). *Pseudomonas* spp., al igual que *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp., es un microorganismo

cosmopolita en el suelo. Es una bacteria gramnegativa con alta capacidad de sobrevivencia en un amplio rango de ambientes y con gran versatilidad metabólica (Srivastava, Sinha, Vaishnavi, Kunwar, & Tigga, 2012). Entre las características que hacen de *Pseudomonas* spp. un buen candidato como agente de control biológico están el rápido crecimiento que presenta *in vitro* para su producción masiva; su eficiente utilización de los

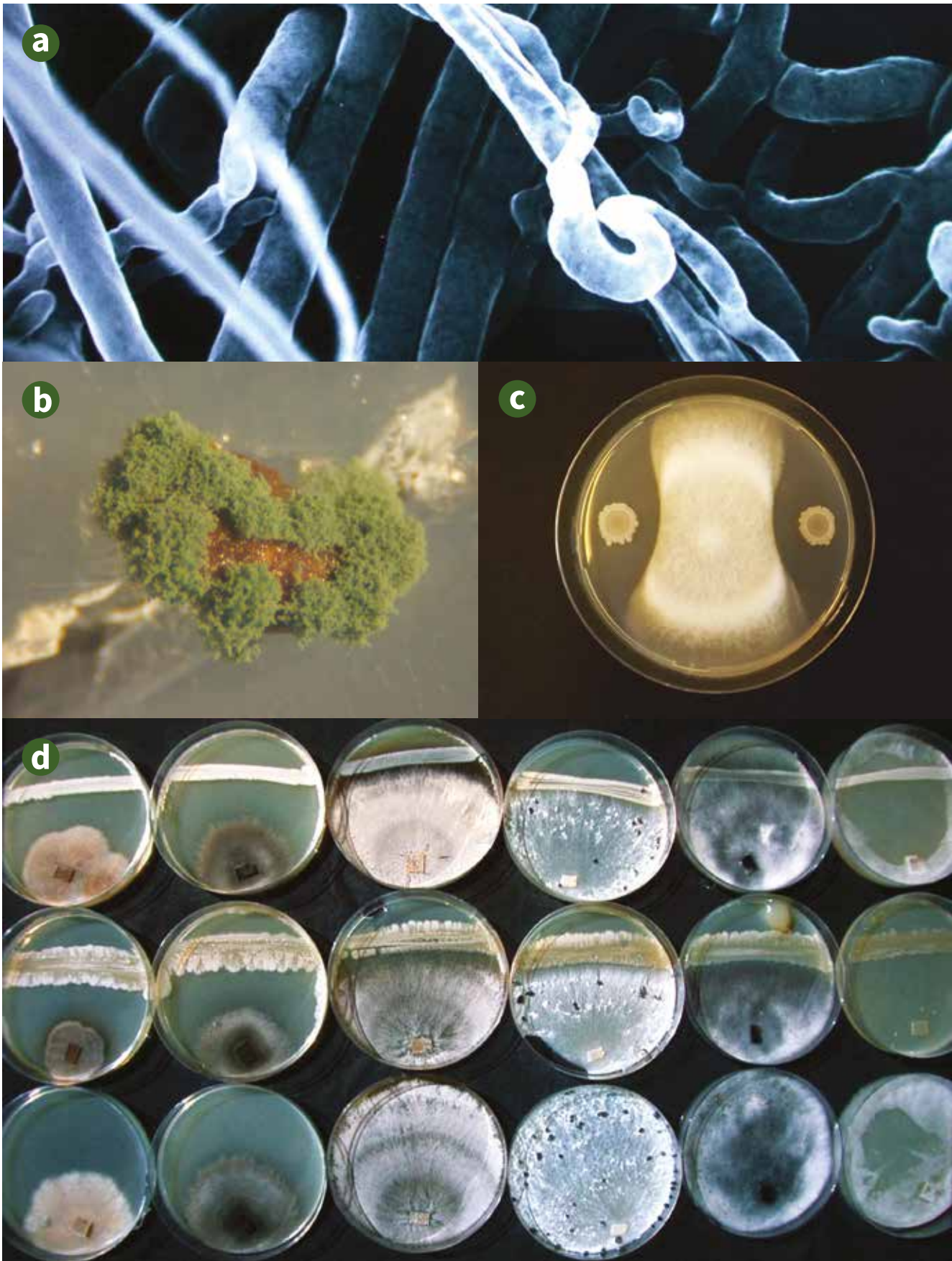


Figura 2.5. Micoparasitismo y antibiosis. a. Hifas de hongo micoparásito enrolladas al micelio de *R. solani*; b. Micelio de *T. koningiopsis* Th003 (biomasa color verde) en crecimiento sobre esclerocios de *R. solani*; c. Efecto de antibiosis ejercido por el aislamiento nativo: *B. amyloliquefaciens* Bs006 sobre *F. oxysporum* f. sp. *physali* cepa Map5; d. Antibiosis contra diferentes hongos fitopatógenos.

exudados de las semillas y de las raíces de las plantas; su capacidad para colonizar la rizosfera, la espermosfera y la raíz de forma endofítica; la producción de un amplio número de metabolitos bioactivos (antibióticos, sideróforos, compuestos volátiles y promotores del crecimiento vegetal); y su capacidad de adaptación a condiciones de estrés (Weller, 2007).

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) también utilizan la producción de compuestos orgánicos volátiles (voc) como un mecanismo de acción para prevenir el desarrollo de enfermedades en las plantas. De esta forma, reducen el crecimiento de los fitopatógenos directamente o actuando como inductores de resistencia sistémica en las plantas.

Entre las especies de bacterias benéficas en las que se ha determinado la producción de voc están *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Arthrobacter* y *Stenotrophomonas*. Los voc sintetizados por *Bacillus* sp. más conocidos son acetoina y 2,3-butanediol (Ryu et al., 2003). La figura 2.6 resume los modos de acción utilizados por los agentes de control biológico en contra de los fitopatógenos del suelo.

Además de *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp., otros microorganismos reconocidos como agentes de control biológico de fitopatógenos de suelo son *Pythium oligandrum*, *Coniothyrium minitans* y *Sporidesmium sclerotivorum* (Fravel, 1999); así como cepas no patogénicas de *F. oxysporum* (Alabouvette,

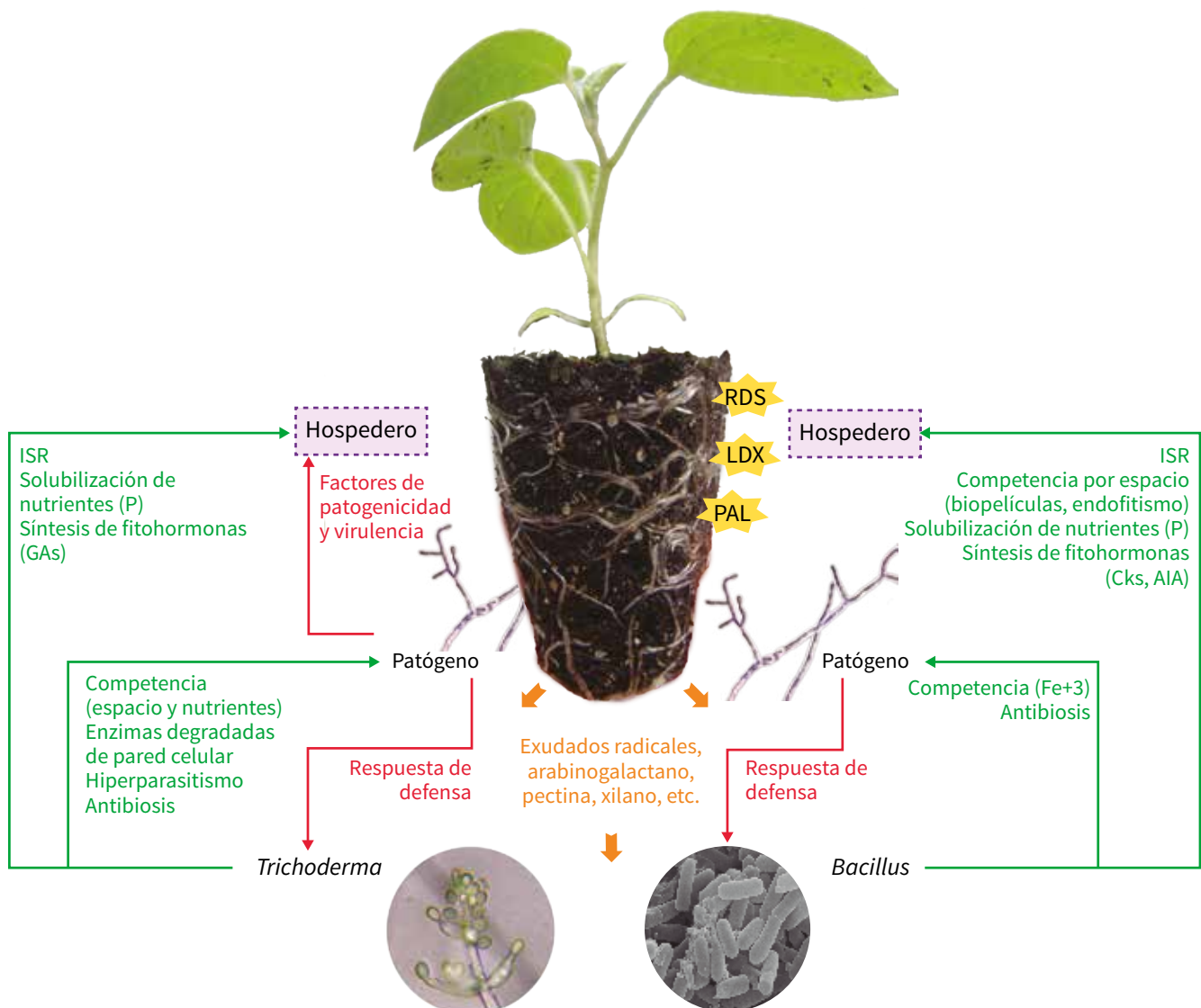


Figura 2.6. Modos de acción utilizados por agentes de control biológico contra fitopatógenos del suelo.

Fuente: Elaboración propia

Schippers, Lemanceau, & Bakker, 1998), *Talaromyces flavus*, *Pantoea agglomerans* (Sammer, Reiher, Spittler, Wensing, & Völksch, 2012) y *Paenibacillus polymyxa* (Grady, MacDonald, Liu, Richman, & Yuan, 2016). Sobre la mayoría de estos se han desarrollado investigaciones, pero no hay muchos bioplaguicidas en el mercado, como en los casos de *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. En el presente capítulo se muestran las características generales de *P. oligandrum* y *C. minitans* como representantes de la minoría de bioproductos y se profundiza en la información de los tres géneros representantes de la mayoría de dichos bioproductos.

La figura 2.6 muestra de forma simplificada cómo en un sistema de control biológico de fitopatógenos del suelo se presentan interacciones entre la planta hospedera, el fitopatógeno y el agente de biocontrol. Los exudados radicales se comportan como quimioatrayentes de microorganismos, tanto patógenos como benéficos. Las bacterias y los hongos biocontroladores —representados por *Trichoderma* y *Bacillus*, respectivamente— tienen la capacidad de afectar directamente a los fitopatógenos mediante varios modos de acción: parasitismo, en el cual la síntesis de enzimas degradadoras de pared celular tiene una alta importancia (es un rasgo más predominante en los hongos biocontroladores); antibiosis, mediante la biosíntesis y la liberación de compuestos con capacidad para matar a los fitopatógenos o para impedir su crecimiento (rasgo que es predominante en las bacterias biocontroladoras); y competencia por espacio y nutrientes, la cual se presenta tanto en hongos como en bacterias biocontroladoras.

A su vez, la colonización de la superficie de la raíz o el endofitismo por parte de los agentes de control biológico puede inducir respuestas locales o sistémicas (ISR) en las células del hospedero, como la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), y la síntesis de enzimas como fenilalanina amonio liasa (PAL) y lipooxigenasa (LOX), entre otras que limitan el ingreso de las estructuras de los fitopatógenos a la planta. Varios agentes de control biológico también tienen la capacidad de promover el crecimiento vegetal a través de la solubilización de nutrientes (lo cual los hace disponibles para las plantas) y la síntesis de fitohormonas como citoquininas (CK), ácido indolacético (AIA) y giberelinas (GA), entre las más comunes. Por su parte, el patógeno despliega sus

estrategias para superar las barreras de defensa del hospedero y también está en capacidad de responder al ataque de los agentes de control biológico.

Coniothyrium minitans

C. minitans es un hongo antagonista reconocido por su actividad biocontroladora de la enfermedad del moho blanco, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotinia minor* y *Sclerotinia trifoliorum*, en cultivos susceptibles (como lechuga, fríjol, canola, pepinos, gerbera, crisantemo, girasol, espárrago, repollo, zanahoria, apio, garbanzo, lenteja, guisante, pimentón, papa, tomate y sandía). Las esporas de *C. minitans* germinan en el suelo húmedo y actúan parasitando los esclerocios de *Sclerotinia* spp. presentes en suelo, reduciendo el número de esclerocios viables y controlando el crecimiento vegetativo del patógeno. *C. minitans* forma picnidios y conidios sobre los esclerocios de los patógenos para multiplicarse y dispersarse (Whipps & Gerlagh, 1992; Zeng et al., 2012). Este agente de control biológico también es usado sobre los residuos de cosecha para disminuir la contaminación del suelo cuando se rompe el ciclo del patógeno.

La cepa CON/M/91-08 ha sido un modelo de investigación en el género y es el principio activo del bioproducto Contans® wg. La actividad micoparasítica de *C. minitans* es ejercida a través de la producción de enzimas extracelulares que degradan la pared celular primaria, como la quitinasa (codificada por el gen *CHI*) y la β -1-3 glucanasa (codificada por *Cmg1*) (Giczey, Kerényi, Fülöp, & Hornok, 2001; Whipps, Hand, Pink, & Bending, 2008). Un segundo modo de acción utilizado por *C. minitans* es la antibiosis a través de un compuesto macrólido denominado *macrospheleido A*, al cual se le ha atribuido la inhibición del crecimiento de *S. sclerotiorum* y *S. cepivorum* (McQuilken, Gemmell, Hill, & Whipps, 2003). *C. minitans* también produce oxalato decarboxilasa (codificado por *Cmoxdc1*), el cual degrada el ácido oxálico, factor de virulencia de *S. sclerotiorum* y micotoxina con potencial efecto negativo sobre las plantas y sobre microorganismos, incluyendo los agentes de control biológico (Zeng et al., 2014). La proteína MAP-quinasa, codificada por *CmBCK1* y *CmSlt2* en *C. minitans*, también juega un papel importante en la conidiación y en el parasitismo (Wei et al., 2016; Zeng et al., 2012).

En evaluaciones *in vitro*, se determinó inhibición del crecimiento de *Aspergillus citricus*, *Penicillium* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora nicotianae*, *Pythium ultimum* y *Staphylococcus aureus*, por seis aislamientos de *C. minitans*, incluido el principio activo de Contans®. Este efecto inhibitorio se debió a la producción del compuesto macrospheleido A, lo cual indicó el amplio espectro de la actividad antibiótica de este metabolito (Tomprefa, Hill, Whipps, & McQuilken, 2011; Tomprefa, McQuilken, Hill, & Whipps, 2009). La producción de conidios de este hongo no es muy eficiente, por lo que las investigaciones para aumentar la producción de conidios de *C. minitans* mejoraría aún más su potencial como agente de control biológico. Por esto, es clave comprender las vías de señalización que modulan su conidiación, como la actividad de sintasa de óxido nítrico (NOS) —que está relacionada con el desarrollo de las esporas asexuales (Gong et al., 2007)— y los niveles de guanosín monofosfato cíclico (cGMP) —que es mensajero en la señalización (Li et al., 2010)—. El conocimiento de la regulación de los procesos de conidiación y de parasitismo de *C. minitans* puede facilitar su manipulación como agente biocontrolador para usos comerciales (Zeng et al., 2012).

Pythium oligandrum

P. oligandrum es un oomiceto hiperparásito con fuerte capacidad de competencia contra hongos fitopatógenos como *S. sclerotiorum*, *Leptosphaeria maculans*, *P. infestans*, *R. solani* y *Fusarium* spp., que activa mecanismos de defensa en la planta hospedera y estimula en ella el crecimiento vegetal. *P. oligandrum* es un colonizador de la rizosfera de muchas especies de plantas cultivadas y un buen competidor por espacio y nutrientes. Tiene una especial relación con la planta hospedera, porque coloniza la superficie de la raíz y puede ingresar de forma restringida hasta las primeras capas de las células corticales sin hacer daño, pero su tiempo de vida allí es de cerca de 12 h (Gerbore et al., 2014). Su capacidad micoparasítica está basada en una batería de enzimas líticas (quitinasas, β -1,3 glucanasas y celulasas) que desempeñan un papel clave al causar la liberación de oligosacáridos de la pared celular de hongos fitopatógenos del suelo, incluyendo ascomicetos (Benhamou et al., 1997;

Bradshaw-Smith et al., 1991), basidiomicetos (Ikeda et al., 2012), oomicetos patógenos estrechamente relacionados (Benhamou et al., 1999) y estructuras de reposo o esclerocios, muy comunes en varios fitopatógenos del suelo (Rey et al., 2008).

Este antagonista también produce compuestos antimicrobianos y es promotor del crecimiento vegetal a través de la producción putativa de triptamina (TNH₂), un precursor de auxinas (Le Floch et al., 2003; Mohamed et al., 2007; Takenaka et al., 2008). La resistencia en la planta inducida por *P. oligandrum* está mediada por al menos dos patrones moleculares asociados a microorganismos (MAMP) similares a la elicitorina. El primero, oligandrina, estimula las vías fenilpropanoides y terpenoides que conducen a una mayor acumulación de compuestos fenólicos, los cuales pueden afectar la viabilidad de las células de los fitopatógenos (Picard et al., 2000). El segundo patrón se refiere a las glucoproteínas de la pared celular (CWP) denominadas POD-1 y POD-2 (Takenaka et al., 2006), que parecen estar estrechamente involucradas en los pasos que preceden a la activación de la vía del ácido jasmónico, a la señalización dependiente del etileno y a la posterior inducción de resistencia local y sistémica (Benhamou et al., 2012).

Otra especie micoparasítica no fitopatógena del género *Pythium* es *Pythium nunn* (Lifshitz et al., 1984b), cuya actividad micoparasítica se ha evidenciado en el microscopio: *P. nunn* enrolla y rompe las hifas de *P. ultimum* y *Pythium vexans*, y parasita las hifas de *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum*, *Phytophthora parasitica* y *Phytophthora cinnamomi* para formar apresorios. Esto sugiere que presenta modos de acción diferenciales según la susceptibilidad del patógeno objetivo (Lifshitz et al., 1984a).

P. mycoparasiticum (Foley & Deacon, 1985) y *Pythium acantophoron*, aislados de la rizosfera de jengibre en India, micoparasitaron las hifas del hospedero enrollándolo, desarrollaron abundantes oogonios en la zona de interacción y penetraron las hifas de *Fusarium solani* y *Pythium myriotylum*, patógenos causantes de la pudrición del rizoma de jengibre (Lodha & Webster, 1990). *P. lycopersicum*, aislado de suelos de cultivo de tomate en Turquía, también muestra antagonismo mediante la inhibición del crecimiento y la esporulación de *Botrytis cinerea* (Karaca et al., 2008).

Todas las especies benéficas de *Pythium* identificadas son consideradas potenciales agentes de control biológico, debido a su agresividad hacia una amplia gama de fitopatógenos del suelo. *P. oligandrum* también ha sido un modelo de estudio en el control biológico de *Verticillium* spp., uno de los patógenos de mayor importancia económica mundial, por lo cual incluimos, abajo, una breve descripción de este fitopatógeno.

Bacillus spp.

Bacillus es un género cosmopolita en el suelo, y constituye uno de los principales grupos de microorganismos benéficos utilizados contra enfermedades causadas por fitopatógenos del suelo (Pérez-García et al., 2011; Weller, 1988). Con excepción de algunas especies patogénicas (*B. cereus* y *B. anthracis*), el género *Bacillus* incluye especies con propiedades generalmente reconocidas como seguras o con calificación de presuntamente seguras (GRAS/QPS, por su sigla en inglés) (Monaci et al., 2016).

En los años recientes se ha incrementado la aplicación comercial de PGPR en agricultura, para aumentar el rendimiento de algunos cultivos y para reducir el uso de agroquímicos. Cerca del 75% de los productos comerciales hechos a base de microorganismos están formulados con bacterias (Lazarovits et al., 2014), de las cuales se usan varias especies del género *Bacillus* spp. debido a su capacidad para formar endosporas. Estas últimas les brindan ventajas para resistir condiciones de exposición a compuestos químicos, radiación, desecación y déficit nutricional (Emmert & Handelsman, 2006; Ongena & Jacques, 2008; Weller, 1988). De hecho, el primer producto a base de *B. subtilis*, Alinit, fue comercializado en 1897 como fertilizante bacteriano para cereales (Borriss, 2011).

Especialmente, miembros del complejo de especies del grupo *B. subtilis* —tales como *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis* y *B. pumilus*— han probado ser eficientes en la promoción del crecimiento vegetal y en el control biológico de fitopatógenos (Borriss, 2015). Los miembros de este complejo de especies de *Bacillus* producen un amplio rango de compuestos bioactivos, entre los cuales, los lipopéptidos cíclicos (CLP) de las

Verticillium sp.

Verticillium es un hongo del suelo, patógeno de numerosos cultivos —como el algodón, la papa, hortalizas, frutas y plantas ornamentales— y causante de la marchitez vascular de las plantas (Klosterman et al., 2009; Malamud, 1989). La especie más reconocida de este género es *Verticillium dahliae*, la cual es capaz de sobrevivir a condiciones adversas del ambiente, debido a la producción de microesclerocios, que le permiten mantenerse viable en el suelo por varios años a la espera de un hospedero (Inderbitzin et al., 2011). Estas estructuras pueden germinar formando micelio, y este, a su vez, genera los conidios, que son el inóculo más importante para infectar las plantas con facilidad. El hongo avanza a través de la epidermis, el córtex y la endodermis hasta alcanzar el xilema. De allí, sigue siendo transportado a lo largo del tallo, mientras produce más conidios, hasta llegar a obstruir por completo el sistema vascular.

En el caso de la papa, *Verticillium* puede ocasionar marchitez unilateral con o sin amarillamiento. En estos casos, los tallos pueden verse de color negro debido a la producción de microesclerocios y el tamaño de los tubérculos puede verse disminuido como consecuencia de la muerte temprana de las plantas (Torres, 2002). Para el control del marchitamiento causado por *Verticillium* se han utilizado tratamientos químicos con bromuro de metilo (Watson et al., 1992), sin embargo, su uso fue relevado debido al impacto negativo en la salud de los seres humanos y el medioambiente. Otros ingredientes activos comúnmente empleados en el control de *Verticillium* en plantas de pimienta (benomil, carbendazim y metiltiofanato) no mostraron efectos satisfactorios debido a la generación de resistencia. Por lo anterior, el control biológico con *P. oligandrum* ha sido una alternativa satisfactoria (Al-Rawahi & Hancock, 1998; Kratka et al., 1994).

familias de surfactinas, iturinas y fengicinas (figura 2.7) son reconocidos por su potencial uso en biotecnología y biofarmacia (Banat et al., 2000; Cochrane & Vederas, 2016; Singh & Cameotra, 2004). Además de las propiedades antimicrobianas de estos compuestos, también se ha demostrado que están involucrados en el proceso de colonización y en la motilidad de *Bacillus*, así como en la estimulación sistémica de respuestas de defensa de las plantas (Ongena et al., 2009). La importancia de las surfactinas radica, por ejemplo, en su papel como inductores de respuestas de defensa sistémica (Cawoy et al., 2013; Pertot et al., 2013) y su aparente participación como moléculas de señalización en los procesos de colonización de *Bacillus* (Bais et al., 2004). Las fengicinas e iturinas, por su parte, están relacionadas con los efectos directos sobre los hongos fitopatógenos (Cawoy et al., 2015; Malfanova et al., 2012).

Importancia de los lipopéptidos cíclicos de *Bacillus* spp. en el control biológico

Los lipopéptidos cíclicos (CLP) son metabolitos secundarios anfífilos que consisten en un anillo peptídico hidrofílico compuesto de siete (iturinas y surfactinas) o diez (fengicinas) aminoácidos unido a una molécula ácido-graso hidrofóbica de tipo β -hidroxi (fengicinas y surfactinas) o β -amino (iturinas) (figura 2.7). Cada familia de lipopéptidos se ha subdividido en grupos con base en la composición de aminoácidos, y dentro de cada grupo existen moléculas homólogas, las cuales se diferencian en el número de carbonos, la ramificación y la saturación de la cola lipídica (Malfanova et al., 2012; Ongena & Jacques, 2008). De esta manera, la longitud de la cadena lipídica puede variar desde C_{13} a C_{16} (surfactinas), C_{14} a C_{17} (iturinas) y C_{14} a C_{18} (fengicinas) (Akpa et al., 2001).

Estas últimas son las principales características que hacen atractivo a este género como agente de control biológico. Sin embargo, su eficacia variable, debida en parte a la brecha en el conocimiento de los factores bióticos y abióticos que afectan su desempeño en el sitio de aplicación, ha limitado el uso de las formulaciones. Otro problema que dificulta el uso de bioplaguicidas es el alto costo de registro y el largo tiempo que dura dicho proceso. Esta situación es más crítica en Europa, donde la evaluación de dosieres tarda más de 70

meses —comparado con 23 meses en Estados Unidos (Borriss, 2011)—, debido principalmente a que el sistema de regulación para bioplaguicidas está basado en el modelo usado para los plaguicidas químicos (Chandler et al., 2011).

En Suramérica, el proceso de registro también encuentra dificultades, dado que en algunos países como Argentina, Brasil y Chile no existía una regulación específica para el registro de bioplaguicidas, razón por la cual estos también tenían que someterse a los procedimientos necesarios para el registro de plaguicidas químicos (Cotes, 2011); solo en los últimos años se han desarrollado procedimientos adecuados para bioplaguicidas. En esta región, Colombia ha sido un país pionero, ya que tiene una tradición de vieja data en su regulación específica para el registro, autorización de venta y control técnico de bioplaguicidas, lo cual ha facilitado el registro de muchos productos. Por ejemplo, cuando el microorganismo propuesto pertenece a una especie reconocida como agente de control biológico, se requieren solamente estudios de toxicidad aguda (Cotes, 2011).

Debido a su naturaleza anfífilica, los CLP pueden asociarse fácilmente y anclarse firmemente a bicapas lipídicas (Bonmatin et al., 2003; Carrillo et al., 2003), lo que les permite interactuar con las membranas de células vegetales e inducir respuestas de defensa sistémica en las plantas (Jourdan et al., 2009), así como interactuar con la membrana de los hongos y causar desestabilización celular (Bonmatin et al., 2003; Han et al., 2015; Zhang et al., 2013). Los CLP sintetizados por *Bacillus* spp. pueden interferir en la integridad de las membranas celulares de acuerdo con la dosis, pero la susceptibilidad de las membranas varía de manera específica, lo cual explica que cada familia de CLP afecte blancos distintos.

Las surfactinas, por ejemplo, son conocidas principalmente por poseer actividad hemolítica, antiviral, antimicoplasma y antibacterial, pero curiosamente no tienen una actividad fungitóxica típica. Por su parte, las iturinas tienen una fuerte actividad hemolítica y antifúngica, una limitada actividad antibacterial y ninguna actividad antiviral. Finalmente, las fengicinas poseen menor actividad hemolítica que las iturinas y las surfactinas, pero han mostrado una fuerte actividad antifúngica, especialmente, sobre hongos filamentosos (Ongena et al., 2009).

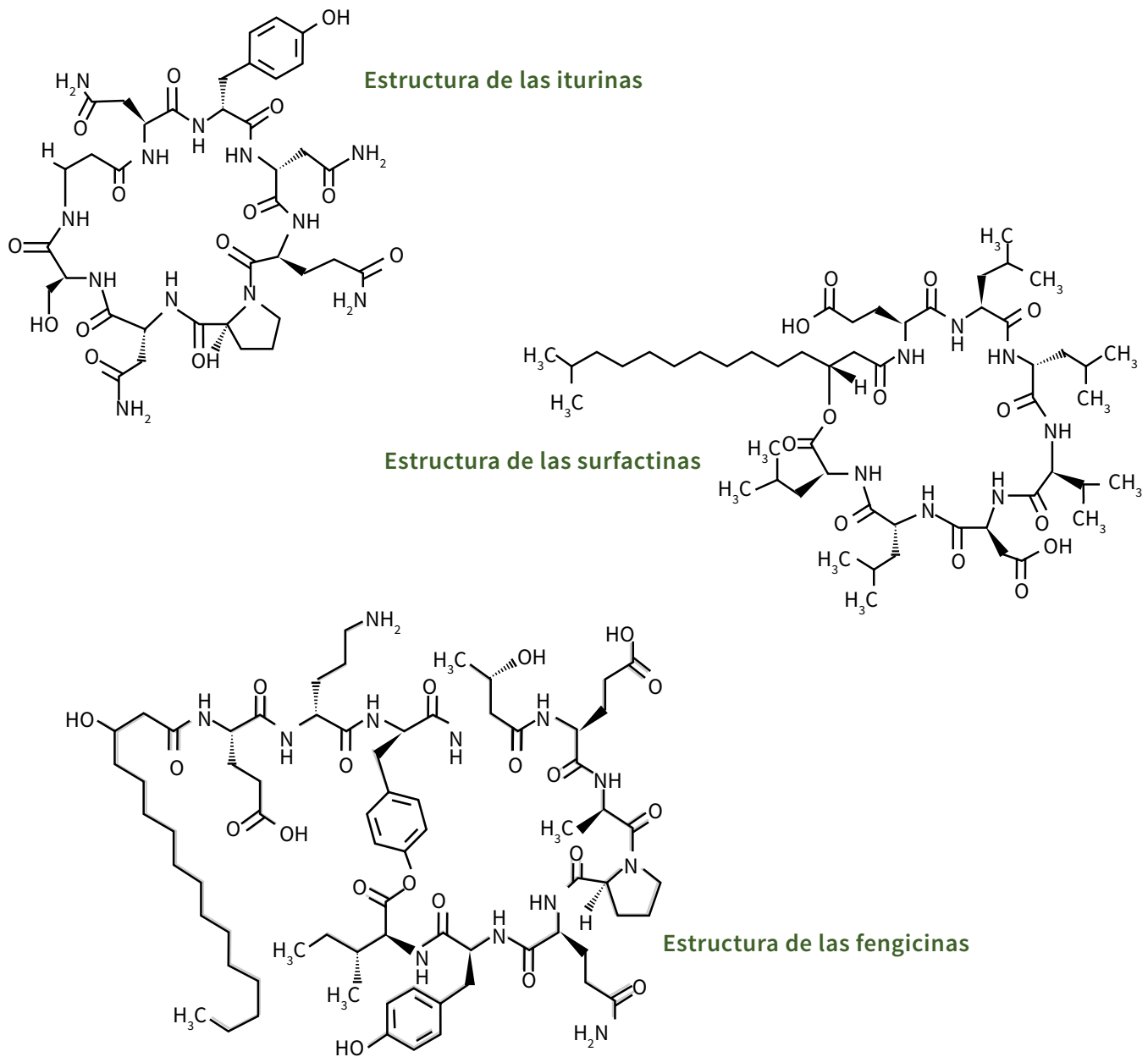


Figura 2.7. Estructuras químicas de compuestos representativos y diversidad de compuestos homólogos de las tres principales familias de lipopéptidos cíclicos sintetizados por *Bacillus subtilis* y *B. amyloliquefaciens*.

Fuente: Adaptada de Mongkoltharuk (2012)

Estos hallazgos coinciden con un estudio reciente realizado por Moreno-Velandia (2017), en el cual se demostró que una mezcla de compuestos homólogos de fengicinas tuvo efectos fungistáticos (reducción de la germinación de microconidios) y fungicidas (hinchamiento, poros en la membrana y lisis de microconidios y de hifas) sobre *F. oxysporum* (figura 2.8). Por su parte, las iturinas tuvieron un efecto fungistático y las iturinas no afectaron el desarrollo del hongo.

Entre los mecanismos de acción de los péptidos antibióticos con actividad antifúngica, se encuentra el cambio de permeabilidad de la membrana celular mediante la inhibición de la síntesis de esteroides y la destrucción de la pared celular (Yeaman & Yount, 2003). En general, se conoce que los CLP de las familias de las iturinas, surfactinas y fengicinas son reconocidos por su capacidad para permeabilizar la membrana celular y formar poros (Inès & Dhouha,

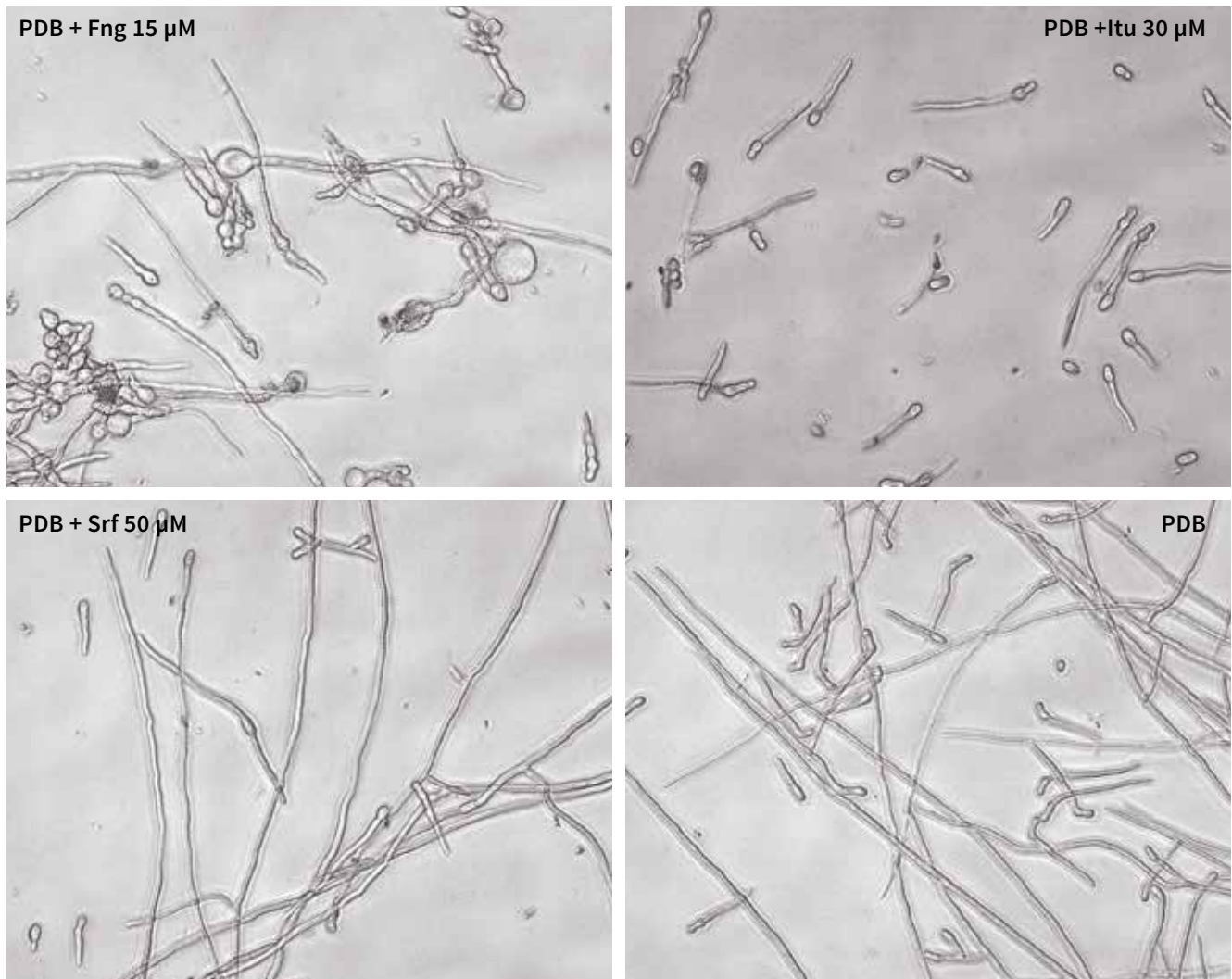


Figura 2.8. Efecto de la mezcla de compuestos homólogos de fengicinas (Fng), iturinas (Itu) y surfactinas (Srf) sobre el desarrollo de *F. oxysporum* Map5, 24 h después de incubación (oscuridad, 30 °C, 125 rpm). Los compuestos se extrajeron del cultivo líquido de *B. amyloliquefaciens* S499 y fueron adicionados al medio de cultivo caldo papa-dextrosa (PDB) en diferente concentración (μM). El medio PDB fue uno de los controles del experimento.

Fuente: Adaptada de Moreno-Velandia (2017)

2015). Particularmente, la actividad antifúngica de las iturinas está relacionada con su interacción con la membrana citoplasmática de las células blanco. Los compuestos activos de iturinas interactúan fuertemente con esteroides de la membrana, formando complejos lipopéptido/esterol en la membrana fosfolipídica (Maget-Dana & Peypoux, 1994). Dicha interacción provoca la permeabilidad de iones de K^+ , la formación de pequeñas vesículas y la agregación de componentes de membrana, lo cual puede desencadenar la pérdida de electrolitos y productos de alto peso molecular del citoplasma, la degradación

de los fosfolípidos y la ruptura de la membrana celular (Kumar & Johri, 2012).

La citada capacidad para formar poros depende tanto de la composición de los lípidos de la membrana como de la estructura del anillo peptídico del lipopéptido (Maget-Dana & Peypoux, 1994). Así mismo, la lisis de la pared celular provocada por las iturinas puede ocurrir de forma dependiente de la concentración de este LP (Chitarra et al., 2003; Kumar et al., 2012). En el mismo sentido, para el caso de las surfactinas, se ha demostrado que en bajas concentraciones estas

se insertan en la capa exterior de la membrana e inducen una perturbación limitada. Concentraciones intermedias inducen permeabilización transitoria de la membrana, pero dosis altas causan formación irreversible de poros y ruptura de la bicapa lipídica (Carrillo et al., 2003). En el caso de las fengicinas, se conoce que forman agregados en las membranas según la composición y concentración de lípidos (Patel et al., 2011), conforme a lo cual llegan a provocar hinchamiento, ondulamiento y lisis celular en los hongos (Li et al., 2007; Romero et al., 2007; Torres et al., 2016; Vanittanakom et al., 1986).

La variación en el contenido de ergosterol en la membrana citoplasmática de los hongos puede afectar la interacción con los CLP. Por ejemplo, la baja actividad de iturina A sobre *Rhizopus* sp. se le atribuye al bajo contenido de ergosterol en la membrana, mientras que su actividad sobre *Penicillium roqueforti* causa lisis celular, permeabilidad de la membrana e inhibición de la germinación de las esporas (Chitarra et al., 2003). Así mismo, se ha demostrado que el colesterol puede contrarrestar el efecto desestabilizante de las surfactinas (Carrillo et al., 2003) y varios tipos de esteroides (incluso el ergosterol), y puede limitar la actividad fungicida de las fengicinas dependiendo de su contenido en la membrana (Vanittanakom et al., 1986; Wise et al., 2014).

Durante la interacción con las células vegetales, las surfactinas producidas por *B. amyloliquefaciens* constituyen patrones moleculares que son reconocidos por receptores de la membrana celular vegetal y que conducen, así, a la activación de la primera línea de defensa de las plantas (PTI), la cual puede extenderse a todos los órganos de la planta (ISR) (Henry et al., 2011). Los eventos iniciales asociados con las respuestas de defensa de la planta, después del reconocimiento de las surfactinas, comprenden la alcalinización del medio externo debido a la salida de iones (K^+ , NO_3^- , Cl^-) desde el citoplasma; la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS); la estimulación de la actividad de la enzima fenil alanina amonio liasa (PAL); la acumulación de compuestos fenólicos; y la estimulación de la actividad lipoxigenasa (LOX) (Jourdan et al., 2009). Sin embargo, las altas concentraciones de surfactinas en interacción con las células vegetales pueden provocar muerte celular (Jourdan et al.,

2009), lo cual —aunque fue considerado de menor importancia por estos mismos autores— podría tener un significado durante el proceso de infección de patógenos necrótrofos.

A su vez, las investigaciones para descifrar el diálogo molecular entre *B. amyloliquefaciens* y la planta han revelado que la secreción de surfactinas tiene lugar durante las primeras horas de interacción entre la bacteria y la raíz, como resultado de la percepción de polisacáridos presentes en la pared celular de esta última por parte de la bacteria (Debois et al., 2015). Adicionalmente, la acumulación de surfactinas producidas por *B. amyloliquefaciens* en la superficie de la raíz se ve favorecida por los exudados radicales (Nihorimbere et al., 2012), lo que explica que estas sean el principal CLP detectado en el antibioma de *B. amyloliquefaciens* en la superficie de la raíz (Debois et al., 2015).

La colonización de la raíz es un paso importante tanto para el proceso de infección de fitopatógenos de suelo como para el establecimiento de asociaciones benéficas con microorganismos (Bais et al., 2006). Dicho proceso de colonización es coordinado por los nutrientes contenidos en los exudados radicales, hacia los que se ven atraídos los microorganismos (Hartmann et al., 2008). Durante la colonización de la superficie de las raíces, las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) pueden formar biopelículas (Lugtenberg, 2015), para lo cual se ha demostrado que la participación de lipopéptidos es indispensable (Bais et al., 2004). Otros trabajos han demostrado que los nutrientes disponibles en los exudados radicales —principalmente ácidos orgánicos, azúcares y aminoácidos (Kamilova et al., 2006)— sustentan el crecimiento de especies de *Bacillus* e influyen el patrón de producción de lipopéptidos en cantidades biológicamente relevantes (Cawoy et al., 2013; Debois et al., 2014; Nihorimbere et al., 2012).

No obstante, la producción de CLP ha mostrado ser muy baja en la rizosfera, en comparación con lo que ocurre en condiciones de laboratorio (Nihorimbere et al., 2012), y no refleja el potencial genético del antagonista dirigido a la síntesis de estos compuestos (Debois et al., 2014). Por lo tanto, el conocimiento de la capacidad de producción de CLP *in planta* tiene alta relevancia en el contexto del control biológico, debido

a que cada familia de CLP tiene funciones biológicas y mecanismos de acción específicos en el control de fitopatógenos (Raaijmakers et al., 2010).

La participación de cada familia de CLP en la inhibición de fitopatógenos de importancia agronómica mediante pruebas *in vitro* de enfrentamiento dual ha sido bastante documentada. Algunos trabajos han contribuido a ampliar el conocimiento sobre la capacidad que tienen algunas cepas de *B. amyloliquifaciens* para colonizar la raíz de algunas especies de plantas y producir compuestos bioactivos como los CLP sobre las raíces (Debois et al., 2015; Debois et al., 2014; Nihorimbere et al., 2012). No obstante, los análisis de los CLP realizados hasta hoy se han llevado a cabo durante la interacción PGPR-planta principalmente, pero no durante la interacción PGPR-planta-patógeno. Así mismo, en este modelo *in vitro* de enfrentamiento PGPR-patógeno, se ha demostrado que el perfil de CLP producido durante la interacción puede variar de acuerdo con el microorganismo blanco (Cawoy et al., 2013).

En el trabajo de Moreno-Velandia (2017) se demostró el alto potencial que tiene la cepa nativa de *B. amyloliquifaciens* Bs006 para colonizar las raíces de la planta de uchuva (*Physalis peruviana*) (figura 2.9). Durante el proceso de colonización, Bs006 produjo compuestos homólogos de las tres familias de CLP (iturinas, fengicinas y surfactinas) (figura 2.9), las cuales probablemente estuvieron involucradas en la inhibición de la colonización del fitopatógeno *F. oxysporum* hacia las raíces de la planta (figura 2.9). Sin embargo, las interacciones multitróficas que ocurren en la rizosfera entre fitopatógenos, PGPR y las plantas son complejas y, en general, todavía pobremente entendidas.

Investigaciones recientes *in planta* demostraron que la cantidad de compuestos antimicrobianos producidos por *B. amyloliquifaciens* FZB42 en la rizosfera es relativamente baja, por lo que su papel como responsables de la acción directa sobre los fitopatógenos en condiciones reales está en duda. Por lo anterior, se ha sugerido una nueva hipótesis sobre el papel principal de este tipo de compuestos como inductores de resistencia en el hospedero, más que como responsables directos de actuar contra los fitopatógenos (Chowdhury et al., 2015).

Trichoderma spp.

El género *Trichoderma* (Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Hypocreales, Hypocreaceae) (Teleomorfo: *Hypocrea*) presenta alta adaptabilidad a diferentes condiciones ecológicas y ambientales. Las especies de este género tienen diversos estilos de vida, son usuales habitantes del suelo y crecen saprofiticamente en la madera, la corteza y otros sustratos, especialmente, en aquellos que contienen materia orgánica o residuos vegetales en descomposición (Friedl & Druzhinina, 2012; Zeilinger et al., 2016). Además, presenta una notable diversificación genética, atribuida al hábito micoparasítico y de competencia por recursos de muchas de sus especies (Chaverri & Samuels Gary, 2013; Druzhinina et al., 2011; Jaklitsch, 2011; Kubicek et al., 2011); cuenta con al menos 250 de ellas identificadas, ampliamente distribuidas (Atanasova et al., 2013; Degenkolb et al., 2015; Hermosa et al., 2014). La correcta identificación de una cepa promisorio de *Trichoderma* que presenta ciertas características deseables es muy importante, porque algunos de los beneficios y rasgos fisiológicos, ecológicos y modos de acción son específicos de las especies o de una cepa en particular para desarrollar todo su potencial en un producto comercial exitoso (Atanasova et al., 2013).

Las especies del género *Trichoderma* son reconocidas como excelentes agentes de control biológico ampliamente utilizados en la agricultura (Romão-Dumaresq et al., 2012). Poseen varios modos de acción contra hongos fitopatógenos de diferentes grupos taxonómicos, oomicetos y bacterias fitopatógenas; incluso, se han reportado como parásitos de nematodos (Sharon et al., 2001; Szabó et al., 2012). Se estima que las especies del género pueden sintetizar más de 1.000 metabolitos secundarios dependiendo de la cepa y de las condiciones ambientales (Hermosa et al., 2014). La capacidad de síntesis de los metabolitos secundarios de *Trichoderma* pudo haber evolucionado para la comunicación con otros microorganismos, en la interacción con las raíces de las plantas en la rizosfera o en la defensa contra otros microorganismos (Brakhage & Schroeckh, 2011; Chiang et al., 2011; Mukherjee et al., 2012). El estilo de vida micoparasítico, particularmente de *Trichoderma atroviride* (*Hypocrea atroviridis*) y *Trichoderma virens*

(antes *Gliocladium virens*) (*Hypocrea virens*), presenta una alta variedad de metabolitos en el ataque y el control contra fitopatógenos, comparado con los de *Trichoderma reesei* (*Hypocrea jecorina*) —considerado un débil micoparásito, con menos diversidad de metabolitos secundarios, pero con buena capacidad de degradación de biomasa— (Kubicek et al., 2011).

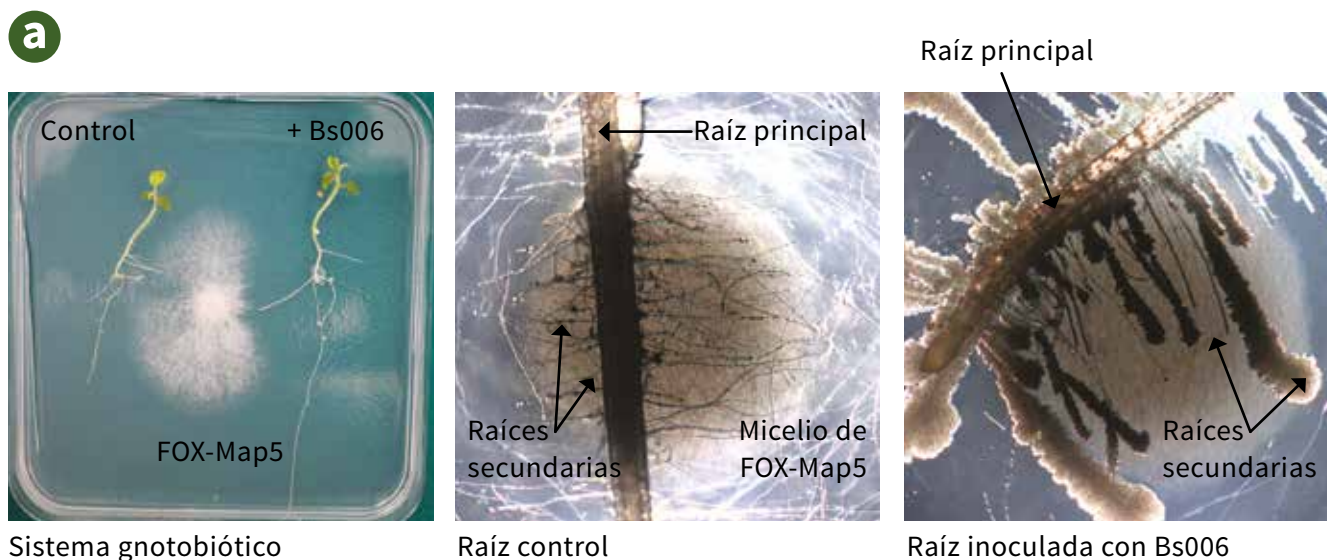
La producción de metabolitos secundarios influye en su actividad de antibiosis mediante la producción de diversos compuestos antimicrobianos (Di Pietro et al., 1993; Howell, 2003; Howell & Puckhaber, 2005; Romão-Dumaresq et al., 2012; Vinale et al., 2008; Whilhite et al., 1994), en su actividad micoparasítica (producción de enzimas degradadoras de la pared celular de otros hongos) (Lorito et al., 1996; Reithner et al., 2011; Viterbo & Horwitz, 2010) e incluso en sus propiedades herbicidas (Hutchinson, 1999; Javaid & Ali, 2011).

De acuerdo con la variabilidad de las estructuras de las moléculas identificadas, estos metabolitos se agrupan en dos tipos principales (Reino et al., 2008; Sivasithamparam & Ghisalberti, 1998; Szekeres et al., 2005). Moléculas tipo 1: de bajo peso molecular y metabolitos volátiles (butenólidos, terpenos e isocianuros), incluidos los compuestos aromáticos simples, algunos policétidos (como pirógenos y butenólidos), terpenos volátiles y metabolitos de isociano —todos los cuales son sustancias relativamente no polares—. Moléculas tipo 2: metabolitos polares de alto peso molecular,

como peptaiboles (polipéptidos no ribosomales) y dicetopiperazina; y los compuestos gliotoxina y gliovirina, que pueden ocasionar un efecto directo sobre los fitopatógenos blanco (Hermosa et al., 2014).

Varias especies de *Trichoderma* inducen respuestas de defensa en las plantas, de forma que estas pueden contrarrestar las infecciones de los fitopatógenos (Hanson & Howell, 2004; Harman et al., 2004; Luo et al., 2010; Yedidia et al., 2003). Otro modo de acción conocido en varios miembros de este grupo de agentes de control biológico es la exclusión de nicho, a través de la competencia con los fitopatógenos por los nutrientes y por sitios de infección (Bae et al., 2010). Varias especies de *Trichoderma* son utilizadas como promotores de crecimiento en cultivos de hortalizas, de plantas ornamentales y en viveros de árboles (Harman et al., 2004; Lorito et al., 2010; Shores et al., 2010). También es conocido que *Trichoderma* spp. brinda a las plantas tolerancia al estrés abiótico, como condiciones de sequía y salinidad, por ejemplo (Delgado-Sánchez et al., 2010; Mastouri et al., 2010; Mukherjee et al., 2013; Shores et al., 2010).

El control biológico mediante el uso de microorganismos benéficos del suelo —como las diferentes especies de *Trichoderma*— representa un medio sostenible gracias al cual una amplia gama de patógenos habitantes del suelo de las plantas puede controlarse. En este sentido, se ratifica la tesis de que los ACB son una propuesta alternativa viable frente al uso de plaguicidas químicos (Harman et al., 2004; Verma et al., 2007).



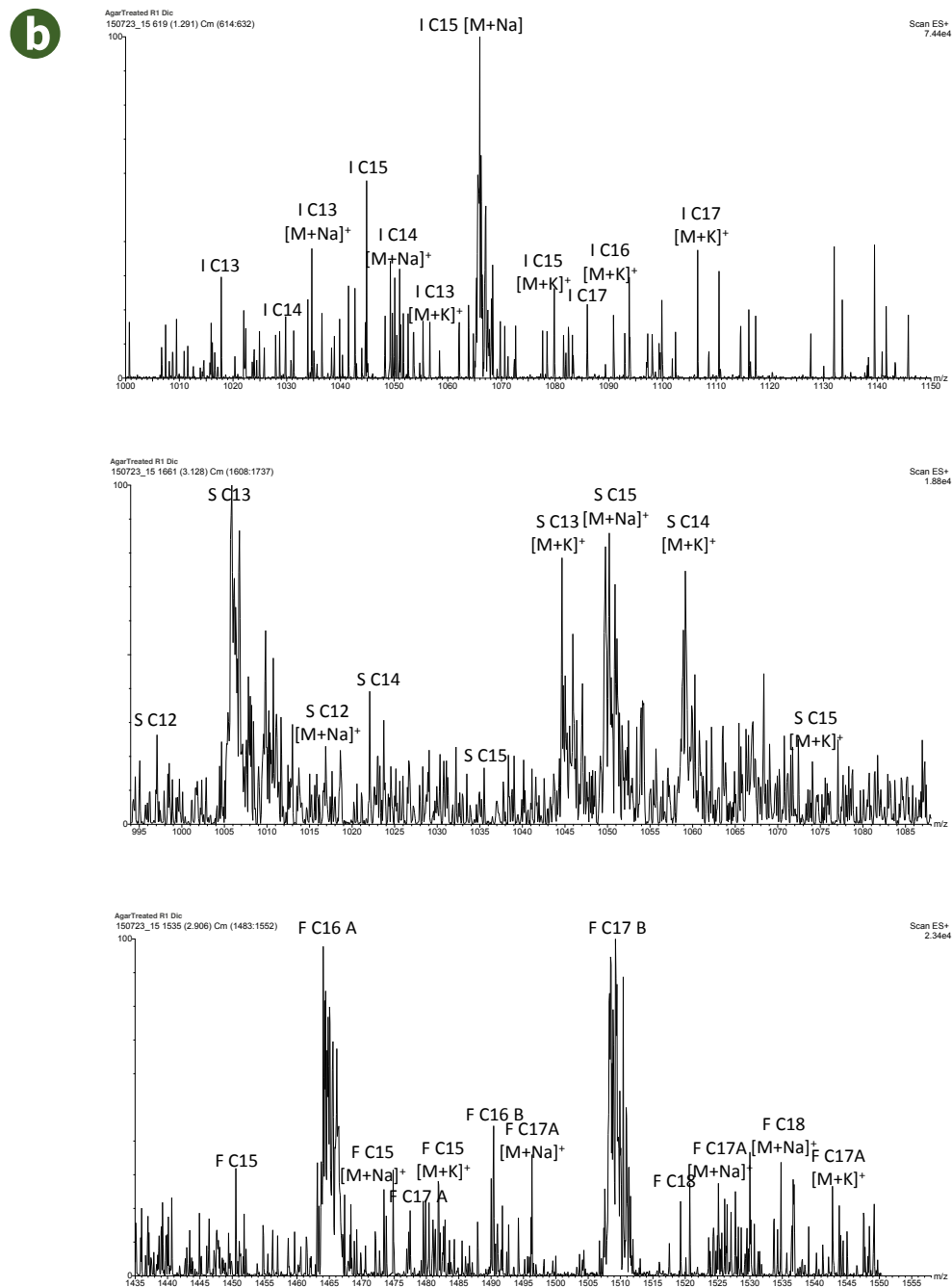


Figura 2.9. Efecto biocontrolador de *B. amyloliquefaciens* contra *F. oxysporum* en uchuva, expresado como competencia y producción de lipopéptidos. a. Modelo gnotobiótico utilizado para estudiar las interacciones entre *B. amyloliquefaciens* Bs006, *F. oxysporum* y uchuva. La plántula control fue inoculada con agua destilada estéril y la plántula tratada fue inoculada con 4 μ L de Bs006 en concentración de 1×10^8 ufc.mL⁻¹ en la zona del cuello (+Bs006). Nótese la zona de inhibición del crecimiento de FOX-Map5 entre el hongo y la planta inoculada con la bacteria. En la imagen de la raíz de la planta control se observa gran cantidad de micelio de FOX-Map5 colonizando la raíz, mientras que en la raíz tratada con Bs006 se observan pocas hifas del hongo acercándose a la raíz. Se observa también la biopelícula formada por la bacteria Bs006 sobre la raíz principal, las raíces secundarias y los pelos radicales de la raíz inoculada. Las imágenes se tomaron cinco días después de la inoculación del hongo en el sistema; b. Espectros de compuestos homólogos de iturinas (I), fengicinas (F) y surfactinas (S) detectadas en la zona de inhibición del crecimiento de FOX-Map5 obtenidos por análisis ESI-MS. Los compuestos homólogos de cada familia de lipopéptidos, por su longitud de la cadena lipídica de 12 a 17 carbonos, se indican como I C14-17 (iturinas), F C15-17 (fengicinas) y S C12-16 (surfactinas).

Fuente: Adaptada de Moreno-Velandia (2017)

Interacción *Trichoderma*-fitopatógeno

El fenómeno de micoparasitismo de un agente de control biológico como *Trichoderma* spp. sobre los microorganismos del suelo y su interacción con la planta huésped ha sido descrito como un proceso dirigido, dividido en las etapas siguientes:

identificación del fitopatógeno; reconocimiento de la presencia del fitopatógeno (detección); inducción de las moléculas necesarias para cercar a la presa; ataque real y eventual “muerte” del fitopatógeno o reducción de la enfermedad de la planta (Druzhinina & Kubicek, 2014; Druzhinina et al., 2011; Harman et al., 2004) (figura 2.10).

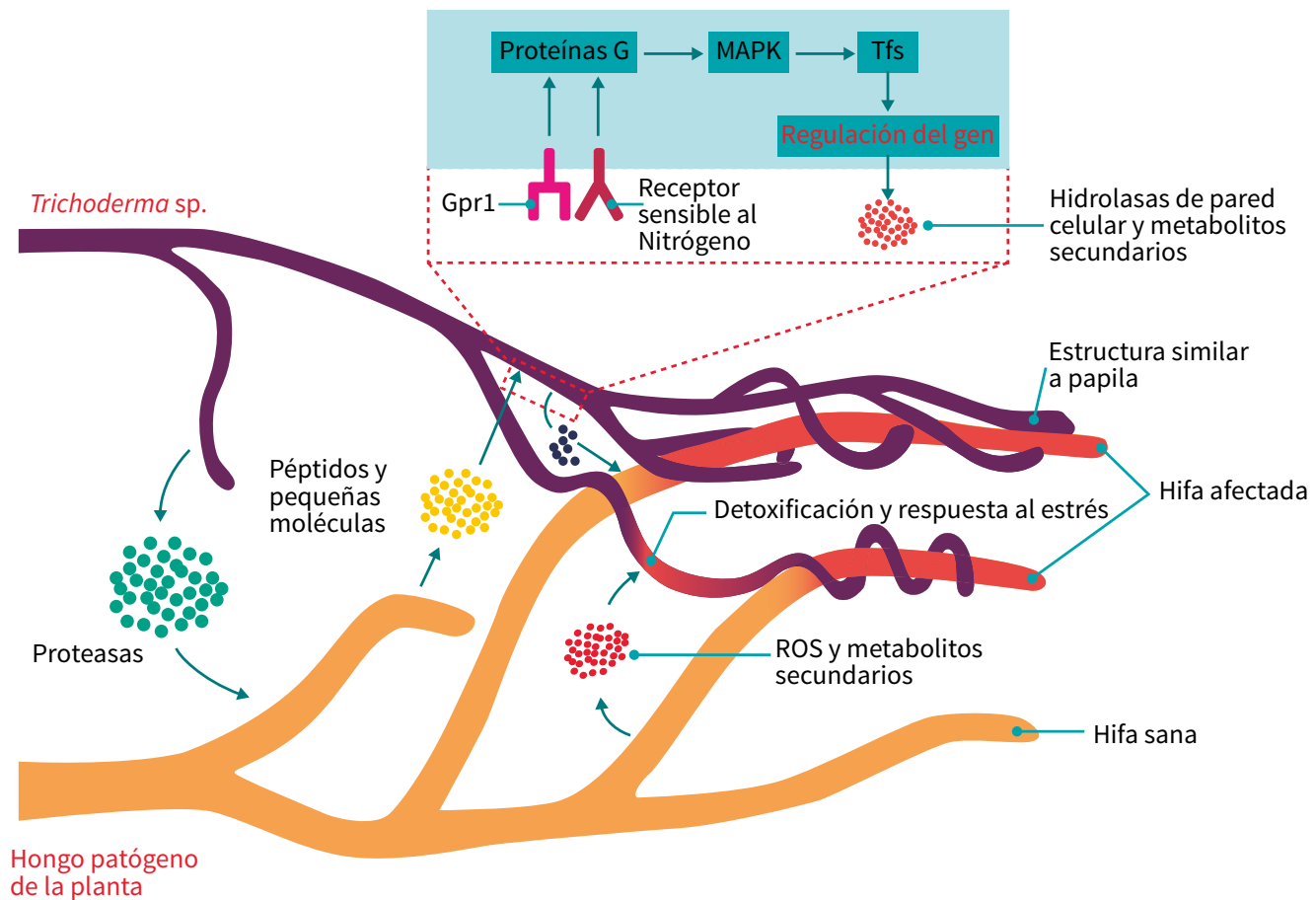


Figura 2.10. Micoparasitismo de *Trichoderma* spp. en la comunidad del suelo.

Fuente: Adaptada de Druzhinina et al. (2011)

Identificación del fitopatógeno. Un primer mecanismo se da cuando una o varias cepas de *Trichoderma* spp. con competencia en la rizosfera reconocen moléculas de bajo peso molecular liberadas por un hongo fitopatógeno y, en consecuencia, responden a su presencia. Algunas de estas moléculas pueden ser péptidos que se liberan por la acción de proteasas excretadas por *Trichoderma* spp., antes de establecer un contacto físico (figura 2.10).

Los péptidos y otras moléculas liberadas por los fitopatógenos se pueden unir a receptores acoplados a proteínas G (GPCR, *G protein coupled receptors*) en *Trichoderma* spp., como Gpr1 o PTH11-G, los cuales regulan la morfogénesis, el apareamiento, la división celular, la quimiotaxis, el metabolismo secundario y la virulencia (Brunner et al., 2008). También se pueden unir a receptores sensibles al nitrógeno en la superficie de la hifa de *Trichoderma* sp.,

lo cual genera una cascada de señalización que comprende proteínas G y proteínas quinasas como *mitogen-activated protein kinases* (MAPK, por su sigla en inglés) implicadas en respuestas a la luz, al estrés oxidativo ocasionado por la luz y en el control del ritmo circadiano en hongos (Wang et al., 2017). Particularmente, las MAPK están implicadas en la fosforilación de factores de transcripción (FT) que regulan la síntesis de celulasa en *Trichoderma* (Wang et al., 2017) (figura 2.10).

Dicha interacción también estimula en *Trichoderma* spp. la expresión de varios genes involucrados en la biosíntesis de gliotoxinas y de sus metabolitos precursores; de lectinas y β -glucanasas; de pequeñas proteínas secretadas como cisteínas y sintasas; y de enzimas proteolíticas y transportadoras de oligopéptidos. Todos estos metabolitos mejoran la capacidad micoparasítica de *Trichoderma* spp. (Atanasova et al., 2013; Dijksterhuis et al., 1994; Flores et al., 1997; Seidl et al., 2009).

Las lectinas del hongo patógeno y otras proteínas que tienen módulos de unión con la celulosa de las hifas de *Trichoderma* spp. pueden colaborar en el acercamiento del biocontrolador al patógeno. Al mismo tiempo, el patógeno responde formando metabolitos secundarios antifúngicos y especies reactivas de oxígeno (ROS) que provocan la expresión de genes de *Trichoderma* spp. en respuesta al estrés oxidativo (citocromo C peroxidasa, prolina oxidasa y glutatión-S-transferasas) y a procesos de desintoxicación —transportadores ABC de salida y transportadores de resistencia a fármacos pleiotrópicos (PDR) y a múltiples fármacos (MDR)— (Aliferis & Jabaji, 2010; Lorito et al., 2010; Papapostolou & Georgiou, 2010; Ruocco et al., 2009; Seidl et al., 2009) (figura 2.10).

Detección. Una vez detectado el fitopatógeno por parte de *Trichoderma* spp., este último dirige su crecimiento hacia las hifas del objetivo. En el proceso participan receptores (como PTH11) implicados en la formación de estructuras (apresorio y papila) y en su capacidad parasítica. También participan proteínas similares al receptor de cAMP, implicadas en el proceso de enrollamiento (figura 2.10) y en la expresión de enzimas como las quitinasas, las cuales liberan fragmentos de la pared celular de las hifas del patógeno (Atanasova et al., 2013; DeZwaan et

al., 1999; Kubicek et al., 2011; Kulkarni et al., 2005; Omann & Zeilinger, 2010; Omann et al., 2012).

Cercamiento de la presa. El reconocimiento, así como el crecimiento dirigido hacia y junto a la hifa del fitopatógeno (como respuesta activa y de quimiotaxis) es el primer paso esencial para la adhesión y la interacción con el fitopatógeno. Diferentes cepas y especies de *Trichoderma* usan los diversos metabolitos secundarios en varias estrategias para el proceso de antagonismo. La formación de hifas del agente de control biológico en forma de hélice y el enrollamiento alrededor de la hifa del fitopatógeno es una respuesta morfológica que con frecuencia está asociada con el parasitismo. Este proceso se ha relacionado con la estimulación de la expresión de genes que codifican proteínas con dominios tipo lectina, los cuales incrementan la liberación de enzimas y proteínas similares con sitios de unión a carbohidratos y la producción de antibióticos (Atanasova et al., 2013; Inbar & Chet, 1996; Notenboom et al., 2002) (figura 2.10).

Muerte. La muerte del fitopatógeno depende de la acción sinérgica de diversos metabolitos secundarios antifúngicos como los péptidos no ribosomales — sintetizados a partir de sintetasas peptídicas no ribosomales (NRPS)— o las gliotoxinas (Howell, 2006; Lumsden et al., 1992). Metabolitos como los peptaiboles, con propiedades antibióticas, pueden actuar sinérgicamente con enzimas hidrolíticas (como las hidrolasas secretadas en la pared celular) para promover el ingreso de estructuras infectivas de *Trichoderma* y evitar la reparación de estas; lo cual sugiere un papel importante para el estilo de vida de los micoparásitos y el antagonismo contra los patógenos de plantas (Kubicek et al., 2011; Lorito et al., 1996; Schirmböck et al., 1994).

También pueden funcionar de forma similar metabolitos como los policétidos sintetizados mediante policétidos sintasas (PKS), derivados de isoprenoides como la viridina —un esteroide fungistático que puede ser reducido a viridiol, compuesto con propiedades herbicidas— (Jones & Hancock, 1987; Kubicek et al., 2011; Mukherjee et al., 2006). Funciona de forma parecida el compuesto trichodermina, altamente fungitóxico y fitotóxico, el cual es formado por una cascada de reacciones en las que la tricodieno-sintasa (gen TRI5) cataliza el primer paso (Tijerino et al., 2011). Así mismo,

el grupo de compuestos denominados *pironas*, como 6-pentil-(2H)-piran-2-ona (6-PP), un compuesto orgánico volátil (con un característico aroma de coco) que tiene actividad antifúngica (Serrano-Carreón et al., 1993).

La pared celular representa aproximadamente el 30% del peso seco de las células fúngicas y consiste principalmente en quitina, β -1,3-glucanos, α -1,3-glucanos y α -1,4-glucanos (Latgé, 2007). Las especies de *Trichoderma*, en general, sintetizan varias quitinasas que hidrolizan la quitina, que es el polímero más abundante de la pared fúngica (Benítez et al., 2004; Harman et al., 2004; Kubicek et al., 2011; Limón et al., 2004; Mukherjee et al., 2003; Seidl, 2008). Las enzimas quitosanas hidrolizan el quitosano, una forma parcialmente desacetilada de la quitina (Hanson & Howell, 2004; Kubicek et al., 2011). Las β -1,3-glucanasas hidrolizan el β -1,3-glucan, que es el segundo polímero en abundancia (Kubicek et al., 2011; Latgé, 2007); además, producen β -1,6-glucanasas, que hidrolizan el β -1,6-glucan, también presente en la pared de varios hongos, principalmente, en levaduras (Ihrmark et al., 2010; Montero et al., 2007). Se considera que algunas de estas enzimas han coevolucionado por selección positiva durante la interacción entre el biocontrolador y el fitopatógeno (Ihrmark et al., 2010).

Interacción *Trichoderma*-planta

Las especies biocontroladoras de *Trichoderma* tienen la capacidad de colonizar la rizosfera e interactuar en la superficie de las raíces y en las capas exteriores de la corteza de la raíz. Allí establecen una zona de interacción interna en la que *Trichoderma* libera moléculas bioactivas y se presentan señales de intercambio entre el biocontrolador y la planta (figura 2.10). Algunos de estos compuestos, liberados tanto en la exorrizosfera como en la endorrizosfera, se comportan como elicitores de resistencia vegetal: proteínas homólogas de avirulencia (Avr), péptidos y proteínas con funciones enzimáticas, y compuestos de bajo peso molecular que activan una cascada de proteínas quinasas (MAPK) en la planta.

Los fragmentos de pared celular de otros hongos, provenientes de la acción de quitinasas, liasas,

peroxidasas y β -1-3-glucanasas de *Trichoderma*, también estimulan la respuesta de defensa de la planta. Compuestos como peptaiboles y la ceratoplatanina Sm1 (Epl1 en algunas especies) inducen resistencia sistémica en las plantas, que culmina con la síntesis de hidroperóxido liasa, peroxidasa y fenilalanina amonio liasa (PAL), que, a su vez, inducen la lignificación del tejido. Las plantas producen así depósitos en la pared celular y factores bioquímicos que limitan el crecimiento de *Trichoderma* a causa de su avirulencia (Shoresh et al., 2010).

Las vías de señalización del ácido jasmónico (JA) y del etileno se activan, lo que resulta en la inducción de genes relacionados con el aumento de la defensa de la planta, que finalmente aumentan la resistencia del huésped tratado con *Trichoderma* (Moreno et al., 2009). Además, se aumenta el metabolismo de carbohidratos y la fotosíntesis, lo cual cambia la relación fuente-vertedero. Esto genera más energía y fuentes de carbono disponibles para la planta, de forma que se da una respuesta de crecimiento vegetal. *Trichoderma* spp. se beneficia directamente de las raíces de las plantas al recibir sacarosa como fuente de carbono, lo que permite su crecimiento más rápido.

Las xilanasas producidas por algunas especies de *Trichoderma* también pueden estimular respuestas de defensa de la planta, pues degradan parcialmente las celulosas y actúan como un patrón molecular asociado a microorganismos (Rotblat et al., 2002). La enzima 1-aminociclopropano-1-carboxílico desaminasa (AAC desaminasa) también es sintetizada por *Trichoderma* spp. Esta enzima inhibe la formación de etileno en la planta, lo cual estimula el crecimiento de la raíz. Una nitrilasa sintetizada constitutivamente por *Trichoderma* podría ayudar en la síntesis de ácido indol-3-acético (AIA), al cual también se le ha atribuido el efecto promotor del crecimiento de la raíz en plantas tratadas con *Trichoderma* spp. El fenómeno de nematofagia de *Trichoderma* spp. involucra la acción de quitinasas y proteasas de tipo subtilisina, proteínas pequeñas secretadas ricas en cisteína (SSCP) (Kubicek et al., 2011).

Algunas cepas de *Trichoderma* inducen respuestas de defensa, pero no estimulan el crecimiento vegetal, y viceversa, lo que sugiere que la señalización de las respuestas para cada vía es diferente. Finalmente, como

consecuencia de la interacción entre *Trichoderma* spp. y la planta, una variedad de patógenos de las raíces y de partes aéreas de las plantas causan menos enfermedad cuando las raíces están colonizadas por *Trichoderma* spp. Igualmente, en ausencia de patógenos o de enfermedades, las plantas frecuentemente tienen raíces más largas y altos rendimientos en presencia de *Trichoderma* spp.

Pseudomonas spp.

Las bacterias biocontroladoras del género *Pseudomonas* spp. son gramnegativas, están presentes en todos los suelos agrícolas y se adaptan muy bien para crecer en la rizosfera. Las rizobacterias de este género han sido uno de los centros de atención de la investigación en control biológico de fitopatógenos del suelo y en el desarrollo de bioplaguicidas. Los primeros estudios con *P. fluorescens* y *P. putida* mostraron el alto potencial de este grupo de microorganismos como promotores del crecimiento vegetal (Weller, 1988). Sin embargo, mientras que *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. han sido más atractivos debido a que son fáciles de producir masivamente y de formular, *Pseudomonas* spp. ha recibido bastante atención en estudios básicos sobre mecanismos de biocontrol, porque presenta mayor facilidad para las manipulaciones genéticas frente a los dos géneros mencionados y es un colonizador fuerte tanto de la rizosfera como de la filosfera (Weller & Thomashow, 2016). Aunque *Pseudomonas* spp. se puede producir fácilmente, la vida útil de los productos formulados es limitada, ya que no genera esporas dormantes como *Bacillus* spp.

Así como *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp., las especies de *Pseudomonas* biocontroladoras también tienen mecanismos que afectan directamente a los fitopatógenos, inducen resistencia sistémica en la planta y estimulan el crecimiento vegetal. Además de los rasgos ya mencionados, otras características que hacen de *Pseudomonas* un agente de control biológico apropiado son su capacidad de utilizar rápidamente los exudados de las semillas y de las raíces; su capacidad de colonizar eficientemente la rizosfera y la espermosfera; su capacidad de crecer y multiplicarse en el interior de los tejidos vegetales; su facultad para sintetizar un amplio espectro de metabolitos bioactivos como

antibióticos, sideróforos, volátiles y promotores del crecimiento vegetal; y su fácil adaptación a condiciones de estrés ambiental (Weller, 2007).

El género *Pseudomonas* es uno de los mejores ejemplos de defensa natural contra las enfermedades de las plantas por suelos supresivos. En los suelos supresivos, un fitopatógeno no se establece o no persiste eficientemente. En el caso de que logre establecerse, causa poco o ningún daño a las plantas, o también puede causar daño en los primeros ciclos de cultivo, pero en los ciclos siguientes la enfermedad se vuelve menos importante (Weller et al., 2002). Un ejemplo es la reducción de la enfermedad del mal del pie de los cereales (*take-all*) causada por *Gaeumannomyces graminis*, caso en el cual la reducción espontánea de la incidencia y la severidad de la enfermedad, así como el incremento del rendimiento, ocurrieron después de un ataque severo de la enfermedad en condiciones de monocultivo de trigo o cebada (Weller & Thomashow, 2016).

El control de enfermedades por suelos supresivos puede ser general o específica: general, debido a la competencia y actividad antagonista del microbioma total del suelo; específica, debido a un grupo particular de microorganismos que actúa contra un fitopatógeno específico y, con frecuencia, sobre un cultivo específico. La supresión general no es transferible, se puede aumentar con prácticas que incrementen la actividad microbiana en el suelo y se reduce con el vapor; mientras que la supresión específica se superpone a la supresión general, es transferible y se pierde por pasteurización del suelo (Weller, 2015). En términos generales, las bases microbiológicas de la mayoría de suelos supresivos en el mundo no están del todo determinadas, sin embargo, la aplicación de las nuevas técnicas ómicas, junto con métodos clásicos utilizados para caracterizar suelos supresivos, constituyen una herramienta útil para identificar las bases microbiológicas de los suelos supresivos (Mendes et al., 2011).

Se ha demostrado que varias especies de *Pseudomonas fluorescens* —productoras de 2,4-diacetilfloroglucinol (DAPG) en densidades superiores a 1×10^5 ufc/g de raíz— han sido las responsables directas de la reducción espontánea de la incidencia y la severidad de la enfermedad mal del pie de los cereales producida por *Gaeumannomyces graminis*, fenómeno conocido en inglés como *take-all decline* (TAD) (Raaijmakers &

Weller, 1998; Weller, 2007; Weller et al., 2002). Estas rizobacterias productoras de DAPG son miembros naturales del microbioma del suelo y se encuentran en bajas densidades. Sin embargo, la infección de las raíces del trigo y la cebada durante los monocultivos estimula el crecimiento de su población. El DAPG es un antibiótico tipo policétido y se ha demostrado que cepas de especies productoras como *P. protegens* CHA0, *P. fluorescens* F113, Q-287, SSB17 y *P. brassicacearum* Q8r1-96 tienen efecto contra varios fitopatógenos del suelo como *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Fusarium*, *Pectobacterium*, *Dickeya* y nematodos quistes (Weller, 2015).

Modos de acción utilizados por *Pseudomonas* contra fitopatógenos del suelo

La especie vegetal y el tipo de suelo tienen una amplia influencia sobre la estructura y la función de las poblaciones de microorganismos de la rizosfera, lo cual es menos pronunciado para las comunidades de hongos que para las bacterias (Berg et al., 2005). Sin embargo, algunos estudios han demostrado pocas diferencias para el grupo de bacterias antagonistas del género *Pseudomonas* entre el suelo y la rizosfera (Berg et al., 2006), lo que sugiere que los miembros de este grupo de bacterias poseen rasgos que les permiten competir eficientemente y colonizar este ambiente particular. Las características determinantes de la colonización de la raíz, la promoción del crecimiento vegetal y la actividad biocontroladora contra fitopatógenos se pueden encontrar con mayor detalle en las revisiones de Lugtenberg et al. (2001), Berg y Smalla (2009), Couillerot et al. (2009) y Mavrodi et al. (2013). Aquí presentamos un breve resumen de estos rasgos que diferencian a *Pseudomonas* spp. como un agente de control biológico. Se considera que la producción de sideróforos, lipopolisacáridos y metabolitos secundarios con efectos antibacterianos y antifúngicos tiene un papel fundamental en el control biológico de fitopatógenos por *Pseudomonas*.

La capacidad de *Pseudomonas* spp. para utilizar los monosacáridos, los ácidos orgánicos y las poliaminas contenidas en los exudados radicales, y su capacidad

para adherirse a la superficie de la raíz a través de componentes como proteínas de membrana, polisacáridos y lipopolisacáridos (Lugtenberg et al., 2001) son indicadores de su habilidad competitiva y de la colonización de la rizosfera, requerimiento importante en el control de las enfermedades de la raíz (Chin-A-Woeng et al., 2000). Otro factor importante para la colonización de las raíces por especies benéficas de *Pseudomonas*, especialmente en condiciones con limitaciones de hierro, es la síntesis de compuestos quelantes de hierro (sideróforos como pioverdinas y pseudobactinas), que implica una menor disponibilidad de este elemento para los fitopatógenos (Kloepper et al., 1980).

Las cepas de especies antagonistas de *Pseudomonas* generalmente sintetizan varios antibióticos utilizados en contra de los fitopatógenos, en particular, pioluteorin (Plt), ácido fenazina-1-carboxílico (PCA), 2,4-diacetilfloroglucinol (DAPG), pirrolnitrina (Prn), ácido cianhídrico (HCN) y bacteriocinas (Haas & Défago, 2005). Finalmente, similar al caso de *Bacillus* y *Trichoderma*, las especies biocontroladoras de *Pseudomonas* también pueden inducir respuestas de defensa sistémicas en el hospedero, como un mecanismo adicional de acción contra los fitopatógenos (figura 2.11). Estas pueden ser inducidas por el reconocimiento de componentes de la superficie celular de *Pseudomonas*, como lipopolisacáridos y flagelos, o por la interacción con metabolitos secundarios producidos por la bacteria, incluidas pioverdina y DAPG (Bakker et al. 2007; Pieterse et al., 2003). Recientemente se demostró que las fenazinas (PCN) de *Pseudomonas* sp. son determinantes en la inducción de resistencia sistémica contra *Magnaporthe oryzae* y *R. solani* en plantas de arroz y frijón, respectivamente (Ma et al., 2016).

De acuerdo con lo descrito en la figura 2.11, *P. fluorescens* puede actuar directamente sobre la planta, a través de la producción de varias señales —2,4-diacetilfloroglucinol (DAPG), fitohormonas, etc.— o mediante la inducción de vías de respuesta de resistencia sistémica (ISR). A su vez, la planta les proporciona exudados orgánicos y señales moleculares. Este grupo de bacterias también puede inhibir los fitopatógenos por competencia o antagonismo mediado por metabolitos secundarios tales como DAPG. Además, estos efectos son modulados por la acción de ciertos miembros de la comunidad microbiana

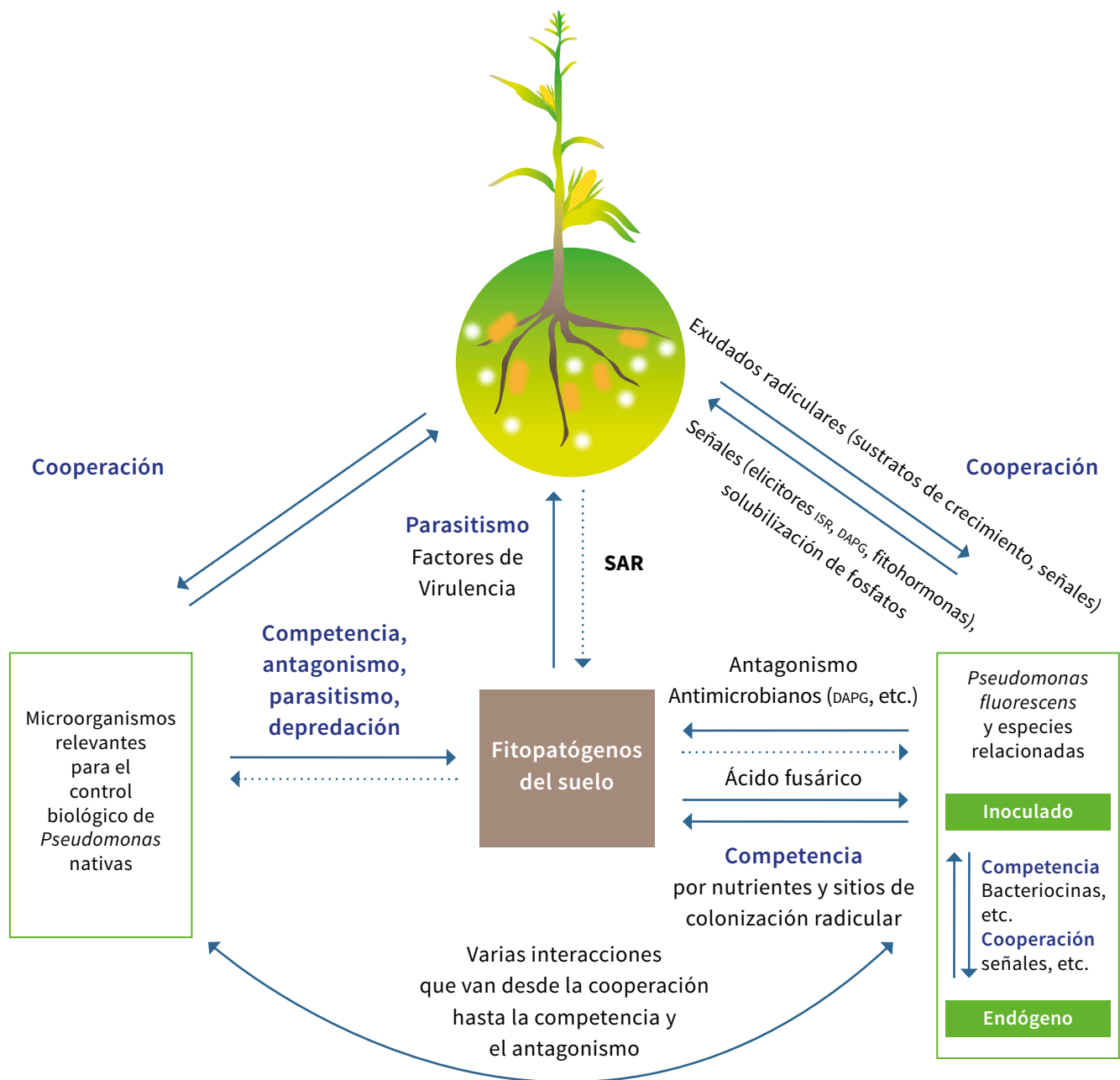


Figura 2.11. Descripción de los modos de acción utilizados por *P. fluorescens* y especies de *Pseudomonas* fluorescentes estrechamente relacionadas con la protección de plantas.

Fuente: Adaptada de Couillerot et al. (2009)

diferentes a *Pseudomonas*, que también pueden tener efectos de biocontrol directos o indirectos (es decir, a través de la planta) o interferir con el funcionamiento de los agentes de biocontrol de *P. fluorescens* y especies relacionadas. En cuanto a los inoculantes a base de *Pseudomonas*, su ecología y propiedades benéficas para las plantas pueden verse influenciadas positivamente (a través de la señalización y cooperación) o negativamente

(a través de la competencia) por *Pseudomonas* nativas colonizadoras de raíces. Las líneas discontinuas (figura 2.11) indican posibles respuestas de *Pseudomonas* durante interacciones negativas, tales como la inhibición de la producción de DAPG ocasionada por el ácido fusárico de *Fusarium oxysporum* y la resistencia sistémica adquirida en la planta en respuesta a la infección de un fitopatógeno.

Bioplaguicidas

Dentro de los principios activos de diferentes productos registrados y comerciales para el control de diversos insectos plaga y enfermedades en el mundo, Van Lenteren et al. (2018) encontraron información de al menos 209 cepas de microorganismos correspondientes a 94 especies diferentes, lo cual representa un acercamiento aproximado de la diversidad existente. Frente a estas cifras, es importante aclarar que puede existir un subregistro, debido a que, en diferentes casos, la información registrada por aproximadamente 200 fabricantes puede duplicar o subestimar la cifra según el país y la región en que se distribuya el producto, puesto que se usan diferentes nombres comerciales para una misma cepa. En este mercado se presenta la tendencia a que las empresas multinacionales de agroquímicos se

fusionen o absorban pequeñas y medianas empresas que producen y comercializan bioplaguicidas, dado el potencial del mercado de productos más amigables con el medioambiente y con los consumidores (Van Lenteren et al., 2018).

Actualmente en Europa y en Estados Unidos de América se encuentran registrados al menos 46 bioplaguicidas para el control de enfermedades radiculares (Environmental Protection Agency [EPA], 2017; European Commission [EU], 2017) (tabla 2.2). El 50% de estos tiene como ingrediente activo una bacteria, el 43,4% está fabricado a base de hongos filamentosos y solo el 6,5% está hecho a base de actinomicetes.

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

Ingrediente activo	Cepa	Nombre comercial / formulación registrada en la Unión Europea	Nombre comercial / formulación registrada en Estados Unidos de América (EE. UU.)
Hongos			
<i>Trichoderma asperellum</i>	T34		T34®, Biocontrol® Asperello T34®
<i>Trichoderma asperellum</i>	T-25	Tusal®	
<i>Trichoderma asperellum</i>	TV1	Virisan®	
<i>Trichoderma asperellum</i>	ICC 012		Bioten® WP Nombres alternos: Tenet® WP Remedier WP Tenet® T&O
<i>Trichoderma hamatum</i>	382		Incept®
<i>Trichoderma gamsii</i>	ICC 080	Remedier®	
<i>Trichoderma asperellum</i> <i>Trichoderma gamsii</i>	ICC 012 ICC 080	Bioten®, Tenet® WP, Remedier®	Bioten® WP Nombres alternos: Bio-Tam® 2.0 Tenet® WP Remedier WP Tenet® T&O
<i>Trichoderma polysporum</i> <i>Trichoderma harzianum</i>	IMI 206039 IMI 206040	Binab T® WP	

(Continúa)

(Continuación tabla 2.2)

Ingrediente activo	Cepa	Nombre comercial / formulación registrada en la Unión Europea	Nombre comercial / formulación registrada en Estados Unidos de América (EE. UU.)
<i>Trichoderma atroviride</i> (antes, <i>T. harzianum</i>)	ITEM 908, T-11, T22	Triatum-P®	
<i>Clonostachys rosea</i> (antes, <i>Gliocladium catenulatum</i>)	J1446	Prestop® PreStop Mix®	
Bacterias			
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (antes, <i>Bacillus subtilis</i>)	MBI 600		Subtilex® Biotak® Integral®
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. <i>plantarum</i>	D747		Double nickel 55® CX-9030® CX9032®
<i>Bacillus subtilis</i> var. <i>amyloliquefaciens</i>	FZB24		Taegro 2®
<i>Bacillus subtilis</i>	QST 713		Rhapsody® ASO Serenade®
<i>Bacillus subtilis</i>	GB03		Kodiak®
<i>Bacillus pumilus</i>	GB34 (sinónimo INR7)		YieldShield®
<i>Bacillus pumilus</i>	QST 2808		Sonata®
<i>Bacillus pumilus</i>	GHA 180		GHA 180
<i>Bacillus licheniformis</i>	SB3086		Eco-Guard® GreenReleaf® 710-140
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	MA 342	Cedomon® Cedress® Cerall®	
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>aurantiaca</i>	AFS009		Howler® Active Howler® Technical Howler® T&O
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	63-28		AtEze®
<i>Pseudomonas</i> sp.	DSMZ 13134	Proradix®	
Actinomicetes			
<i>Streptomyces</i> sp.	K61	Mycostop® WP	
<i>Streptomyces lydicus</i>	WYEC 108		Actinovate® AG

WG: gránulos humectables/dispersables en agua; WP: polvos humectables; SC: suspensión concentrada

Fuente: Adaptada de Anderson et al. (2018), Cawoy et al. (2011), EFSA (2018), EPA (2018) y Van Lenteren et al. (2018)

Los productos están constituidos por una sola cepa o por la mezcla de varios microorganismos compatibles, y se usan como una herramienta en el manejo integrado de cultivos. La mayoría de los hongos se formulan como gránulos y polvos mojables o dispersables, mientras que las bacterias se formulan en suspensiones concentradas. En cuanto a los hongos, la mayor parte de los productos registrados para el control de fitopatógenos del suelo están conformados por una cepa del género *Trichoderma*, dos formulaciones están conformadas por la mezcla de dos especies de este mismo género y tan solo una está formulada a base de *Clonostachys rosea* (EPA, 2017; EU, 2017) (tabla 2.2).

Nueve bioplaguicidas están basados en cuatro cepas diferentes de la especie *T. asperellum*, de los cuales, los productos T34[®], Biocontrol[®] y Asperello T34[®] están fabricados a partir de la cepa T34. Esta cepa se recomienda para la supresión de enfermedades de raíces causadas por *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, *Rhizoctonia*, *Pythium* y *Phytophthora*, con aplicación al momento de la propagación o siembra, antes del trasplante y en la preparación de sustrato antes de la siembra (EPA, 2011b; European Food Safety Authority [EFSA], 2012b). Otros productos a base de esta especie son Tusal[®] cepa T-25, con acción antagonista contra muchos hongos patógenos del suelo como *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp. y *Sclerotinia sclerotiorum*, el cual es recomendado para cultivos de tomate, pimienta, pepino y calabacín (EFSA, 2013c). Por su parte, Virisan[®] cepa TV1 está registrada para el control de *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. y *Fusarium* spp. (EFSA, 2013c), y la cepa ICC 012 — ingrediente activo de los productos Bioten WP, Tenet WP, Remedier WP y Tenet T&O— suprime diversos patógenos fúngicos como *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Sclerotinia* spp., *Sclerotium* spp., *Thielaviopsis basicola*, *Rhizoctonia* spp. y *Verticillium* spp. (EPA, 2010a; EFSA, 2013c).

A base de otras especies de *Trichoderma*, como *Trichoderma atroviride* (antes identificado como *Trichoderma harzianum*), se han registrado otros bioplaguicidas, cuyo producto se registró con el nombre de Trianum-P[®], formulado a base de las cepas ITEM 908, T-11 y T22. Este producto se recomienda como biofungicida preventivo para el control de *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. y *Fusarium* spp. en cultivos de tomate, céspedes y ornamentales. Se recomienda su

aplicación en semilleros, en el momento del trasplante de cualquier material vegetal propagativo, directamente en el surco o en sustratos de trasplante con protección para la raíz de la planta (EFSA, 2013e).

ICC 080: Remedier[®] es un producto a base de *T. gamsii*, con acción preventiva contra patógenos del suelo como *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Phytophthora* spp., *Phoma* spp., *Verticillium* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotinia* spp., *Sclerotium* spp. y *Thielaviopsis basicola*. Este debe ser aplicado antes o en el momento de la siembra o del trasplante de diferentes cultivos (EPA, 2010b; EFSA, 2013d). El bioplaguicida Incept[®], a base de *Trichoderma hamatum* cepa 382, controla enfermedades causadas por *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*. Este debe ser aplicado en el suelo y en el compost en viveros e invernaderos para la producción de plantas ornamentales y vegetales (EPA, 2010c).

También se han registrado dos formulaciones mixtas a base de *Trichoderma* spp. Una de ellas es Bioten[®] WP y sus cuatro nombres alternativos: Bio-Tam[®] 2.0, Tenet[®] WP, Remedier[®] WP y Tenet T&O[®]. Estos contienen una mezcla de *T. asperellum* (ICC 012[®]) y *T. gamsii* (ICC 080), cepas que de manera individual también constituyen bioplaguicidas. La otra mezcla es el producto Binab T[®], a base de *T. polysporum* (IMI 206039) y *T. atroviride* (IMI 206040), altamente efectivo contra *Fusarium* sp., *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia* sp., *Phomopsis* sp., *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp. y *Pythium* sp., en cultivos de bayas (arándano, fresa y frambuesa), melón, berenjena, sandía, tomate, papa, lechuga y espinaca (EPA, 2010a; EFSA, 2014b).

También se han registrado otros principios activos, como *Clonostachys rosea* (antes *Gliocladium catenulatum* cepa J1446) (Prestop[®], PreStop Mix[®]), el cual se usa para el control preventivo de enfermedades producidas por *Pythium*, *Phytophthora* y *Fusarium* spp. Su aplicación se recomienda en trigo, maíz, papa, cebolla y uva, así como para semillas y plántulas de vivero para fresa, pepino, melón, tomate, lechuga, pimienta, plantas ornamentales y flores de corte. Este principio activo también se usa en productos que necesitan ser almacenados, como semillas de papa y bulbos de flores (EPA, 2002; EFSA, 2017b).

De los productos a base de actinomicetes, solamente hay dos especies diferentes del género *Streptomyces*.

Una de ellas es *Streptomyces lydicus* cepa WYEC 108, con los productos Actinovate® y Actino-Iron®, contra hongos que causan pudrición de la raíz y volcamiento de plantas (*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Phymatotrichum*, *Aphanomyces*, *Monosporascus*, *Armillaria*, *Sclerotinia*, *Postia*, *Verticillium* y *Geotrichum*). Dichos productos se usan como agentes antifúngicos para recubrir semillas en viveros e invernaderos, con aplicación en céspedes y en suelo agrícola (EPA, 2005; EFSA, 2013a, 2014a). La otra especie es *Streptomyces* sp. cepa K61, como ingrediente activo de Mycostop®, el cual se recomienda para el control de *Alternaria*, *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Phymatotrichum* y *Armillaria* (EFSA, 2013b; EPA, 2010d).

En los últimos 30 años, también se han registrado ante la EPA o han sido aprobados por la EFSA varios bioplaguicidas a base de bacterias como *Pseudomonas* y *Bacillus*, lo que demuestra una larga historia de seguridad en su aplicación (Anderson et al., 2018; Cawoy et al., 2011; EFSA, 2017a; EPA, 2018). En todos los casos, los productos han sido formulados a base de una sola cepa como ingrediente activo, de los cuales se han registrado 23 bioproductos para el control de patógenos del suelo (tabla 2.2).

A base de *Bacillus* spp., se encuentran los productos Subtilex®, Biotak® e Integral® —este último a base de *Bacillus amyloliquefaciens* (antes *Bacillus subtilis*) cepa MBI 600—, los cuales son supresores de fitopatógenos que atacan las raíces y ocasionan marchitamientos y pudrición de cuello y de raíz (*Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Alternaria* y *Aspergillus*) en soya, canola, hortalizas, cucurbitáceas y ornamentales. Estos productos también se usan para el tratamiento de sustratos destinados a siembra y trasplante, y de forma preventiva en semillas de algodón, frijol, cebada, trigo, maíz, guisantes, maní y soya (EPA, 1999b). La cepa MBI 600 se usa, además, como bioinoculante (con las denominaciones de BioStacked®, HiStick® N/T, HiCoat® N/T S225 y Nodulator® N/T) para promover una más efectiva formación de nódulos en las raíces de leguminosas (como la soya) cuando esta cepa se combina de manera sinérgica con bacterias fijadoras de nitrógeno como *Bradyrhizobium japonicum*, lo que propicia la absorción de nutrientes y genera mayores rendimientos (EFSA, 2016).

Los productos CX-9030®, CX9032® y Double Nickel 55®, a base de *Bacillus amyloliquefaciens* subsp.

plantarum cepa D747, se recomiendan para el control de *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Verticillium* en hortalizas, frutales, bayas, nueces, especias, tabaco y ornamentales (EPA, 2011a). Así mismo, Taegro 2® (con *Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens* cepa FZB24 como ingrediente activo) es recomendado para suprimir enfermedades del suelo como *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Fusarium* y *Pythium* en cultivos de hortalizas de hoja, papa, ornamentales, hierbas y especias. Las aplicaciones de este se hacen de manera preventiva y en etapas iniciales de la enfermedad. También es usado para el crecimiento y fortalecimiento de las plantas en etapas de semillero y trasplante, en el manejo de tubérculos, bulbos, esquejes y cormos de plantas ornamentales y forestales (EPA, 2000). La cepa QST 713 de *B. subtilis* es el ingrediente activo de Rhapsody® ASO, producto de amplio espectro para la prevención, supresión y control de enfermedades transmitidas por patógenos del suelo como *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Fusarium* spp. y *Verticillium* spp., en una amplia variedad de plantas ornamentales, brasicáceas, frutales, hortalizas y céspedes, así como en viveros y plántulas de forestales tipo coníferas. En todas ellas, dicho producto mejora la germinación y el crecimiento de las plántulas (EPA, 2013). QST 713 también es el ingrediente activo de Serenade®, el cual se recomienda para el manejo de *Sclerotinia* en lechuga (EPA, 2006).

Otro producto cuyo principio activo es *Bacillus* spp. es Sonata®, a base de *Bacillus pumilus* (QST 2808), recomendado para el control de *Sclerotinia* en brasicáceas, ya que evita el establecimiento de patógenos desde el trasplante de la planta (EPA, 2004). *Bacillus pumilus* cepa GB34 como ingrediente activo de YieldShield® suprime enfermedades de la raíz causadas por *Rhizoctonia* y *Fusarium*, en soya, hortalizas y leguminosas, y se puede usar para el tratamiento de semillas (EPA, 2012). *Bacillus subtilis* cepa GB03, con el nombre de Kodiak®, se utiliza de manera preventiva para el control de enfermedades producidas por *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Fusarium* y *Aspergillus*, en plantas de cebada, trigo, bayas, algodón, cucurbitáceas, hortalizas, leguminosas, ornamentales, maní, soya, tomates, árboles y céspedes (EPA, 1999a). Las aplicaciones se deben dirigir al suelo y deben hacerse en el sustrato de siembra y en el riego, incluso en sistemas hidropónicos. El producto se usa también en pretratamientos de esquejes, tubérculos, semillas de flores, ornamentales, algodón, maní y soya (EPA, 1999a).

Por su parte, la cepa SB3086 de *Bacillus licheniformis* es el ingrediente activo de los productos Eco-Guard® y GreenReleaf® 710-140, que son aplicados en plantas ornamentales, coníferas y céspedes para prevenir las enfermedades causadas por *Phytophthora drechsleri* y *Rhizoctonia solani* (EPA, 2001b). *Bacillus pumilus* cepa GHA 180 se usa para el control de *Pythium*, *Fusarium* y *Rhizoctonia*, en cultivos de tabaco, ornamentales y en sustratos de cultivo en viveros para la germinación de semillas (EPA, 2012).

Así mismo, se han registrado varios bioplaguicidas a base de *Pseudomonas* spp. Uno de ellos lleva el nombre comercial de Proradix®, a base de la cepa DSMZ 13134 de *Pseudomonas* sp., cuyo uso se recomienda para el control de enfermedades del suelo causadas por *Rhizoctonia* en tubérculo semilla de papa, en semillas de flores ornamentales, lechuga, tomate y pepino (EFSA, 2012a). AtEze, cuyo ingrediente activo es *Pseudomonas chlororaphis* cepa 63-28, se recomienda para el control de *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*, en cultivos de hortalizas y ornamentales bajo condiciones de invernadero (EPA, 2001a). *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* cepa AFS009 es el ingrediente activo de los biofungicidas Howler® Active,

Howler® Technical y Howler® T&O, con acción preventiva y de larga duración contra enfermedades causadas por *Rhizoctonia* y *Pythium*. Estos productos pueden ser utilizados en las fases de producción inicial (invernadero, plantación, plantas tempranas y plantas en maduración) de cultivos de bayas, zanahorias, uvas, lechuga, cebollas, maní, pimientos, papas, espinacas, fresas, tabaco, tomate, céspedes y ornamentales (EPA, 2016; GPO, 2016). Los biofungicidas Cedomon®, Cedress® y Cerall®, con *Pseudomonas chlororaphis* cepa MA 342 como ingrediente activo, son usados para el tratamiento de enfermedades fúngicas transmitidas por semillas (*Drechslera graminea*, *Drechslera teres*, *Drechslera avenae*, *Tilletia caries*, *Ustilago avenae*, *Ustilago hordei*, *Fusarium* sp., *Stagonospora nodorum* y *Microdochium nivale*) en cultivos de monocotiledóneas (avena, centeno, trigo y cebada) (EFSA, 2017c).

En Colombia, la oferta de bioplaguicidas registrados es limitada y se restringe a ocho productos a base de *Trichoderma* (con al menos tres especies identificadas) y cinco a base de *Bacillus subtilis*. Estos se recomiendan para el control de algunos patógenos del suelo como *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Phytophthora* spp. (tabla 2.3).

Estudios de caso

En esta sección se presentan los modelos de patosistemas en los cuales el control biológico ha sido objeto de investigación y desarrollo de bioproductos; con una breve reseña de los fitopatógenos del suelo causantes de la enfermedad. Se incluyen los patosistemas *R. solani*-papa, *S. sclerotiorum*-soya y lechuga. También se presenta brevemente el modelo de bioplaguicida Tricotec® desarrollado por AGROSAVIA (antes Corpoica) como alternativa para el control de *F. oxysporum*, *R. solani* y *S. sclerotiorum* en Colombia.

Control biológico de *Rhizoctonia solani* en papa (Colombia)

En Colombia se cultivan cerca de 60 variedades de papa (unas más comercializadas que otras), producto básico

de la canasta familiar y eje fundamental de la economía del país, que genera alrededor de 66.913 empleos directos (García, 2017). Sin embargo, la sostenibilidad del cultivo se ve amenazada por la incidencia de varias enfermedades, incluido el cáncer del tallo y la costra de los tubérculos causada por *R. solani*.

Control biológico de *R. solani*

El cultivo de papa es uno de los que emplea mayor cantidad de agroquímicos en Colombia. El uso de insecticidas y fungicidas aporta el 25% de los costos directos de la producción, con 18% y 7% respectivamente (Borráez, 2011). A pesar de la aplicación de fungicidas, el control de *R. solani* no es totalmente satisfactorio, razón por la cual el control

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

Microorganismo biocontrolador	Patógenos objetivo	Compañía y departamento en el que se comercializa
<i>Bacillus subtilis</i> (Ehrenberg) Cohn	Nematodos y <i>Fusarium</i> sp.	Bayer S. A. Core Biotechnology S.A.S. (Val) Laverlam S. A. (Val) Mezfer de Colombia Ltda. (Cun) Semillas Valle S. A. (Val)
<i>Trichoderma atroviride</i> (Karsten) Bissett	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i>	Inproarroz Ltda. (Met)
<i>Trichoderma koningiopsis</i> (Samuels)	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i>	Corpoica (Cun)
<i>Trichoderma viride</i> (Pers) (incluye productos vendidos como <i>Trichoderma lignorum</i>)	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i>	Biocontrol (Val) Biocultivos (Tol) Laverlam S. A. (Val) Yaser S. A. S. (Val)
<i>Trichoderma</i> spp. (mezclas de diferentes especies)	<i>Phytophthora</i> spp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Rhizoctonia</i> spp.	Natural Control S. A. (Ant) Soluciones Microbianas del Trópico Ltda. (Cal)

Antioquia (Ant), Boyacá (Boy), Caldas (Cal), Casanare (Cas), Cauca (Cau), Cundinamarca (Cun), Magdalena (Mag), Meta (Met), Tolima (Tol), Valle del Cauca (Val)

Fuente: Adaptado del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) (2018a, 2018b)

biológico con microorganismos antagonistas es una alternativa con alto potencial para el patosistema *R. solani*-papa.

Varios géneros de hongos y de bacterias han sido identificados como potenciales agentes de control biológico contra las enfermedades causadas por *R. solani* en papa: *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. y *Streptomyces* spp., los cuales actúan mediante distintos mecanismos. Estos microorganismos son los que han ofrecido mejores resultados; algunos de ellos han sido registrados como productos comerciales en diferentes países de Europa y América: Trianum-G® (*T. harzianum*) (Wilson et al., 2008; Wilson et al., 2007), Root-Pro® (dos cepas de *T. harzianum*) (Tsrer et al., 2001), Prestop® (*Gliocladium catenulatum*) (Wilson et al., 2008), RootShield® (*T. harzianum*) (Brewer & Larkin, 2005), SoilGard® (*T. virens*) (Brewer

& Larkin, 2005), Kodiak® (*Bacillus subtilis* GB03) (Brewer & Larkin, 2005), *Pythium oligandrum* (Polyversum®) (Kurzawińska & Mazur, 2008), CX-9030 (*Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *Plantarum*), Proradix® (*Pseudomonas* sp.) (Moszczyńska et al., 2015), Actinovate® (*Streptomyces lydicus*) y Mycostop® (*Streptomyces griseoviridis*) (Wilson et al., 2008).

A continuación, se describen los estudios realizados en Colombia dirigidos al control de *Rhizoctonia* en papa, desde la selección *in vitro* de los biocontroladores hasta su evaluación en invernadero y en campo. Estos estudios demuestran el potencial de control de diferentes cepas de *Trichoderma* y *Pseudomonas*.

Chet y Baker (1981) reportaron en Colombia suelos supresivos de *R. solani* en los que encontraron que *T. hamatum* era el causante de este efecto en monocultivos de rábano. También encontraron que, en

suelos orgánicos de la sabana de Bogotá, la densidad de propágulos de *T. hamatum* (de 8×10^5 propágulos.g⁻¹) es extremadamente alta en suelos con bajo pH, condición que resulta favorable para el desarrollo de la supresividad de *R. solani* y el incremento del antagonismo de *T. hamatum*.

Beltrán Acosta et al. (2007) evaluaron cinco aislamientos nativos de *Trichoderma* spp. (Th002, Th003,

Th007, Th034, Th181) que presentaron eficiente actividad parasítica contra esclerocios de *R. solani*, de los cuales *T. koningiopsis* Th003 (antes *T. koningii*) —seleccionado previamente contra *R. solani* en tomate (Cotes et al., 2001)— y *T. asperellum* Th034 fueron los más eficientes. La actividad antifúngica de los aislamientos Th003 y Th034 fue evaluada contra *R. solani* en plántulas de papa (*Solanum tuberosum*) var.

Rhizoctonia solani

Rhizoctonia solani Kühn —teleomorfo: *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk (Domsch et al., 1980)— es un hongo habitante del suelo que afecta más de 250 especies de plantas como patógeno (Banville, 1989; Ogoshi, 1987). Es el agente causal del chancro o cáncer del tallo de estolones y de raíces, y de la sarna o costra negra cuando se presenta como esclerocios (estructuras de latencia) en la superficie de los tubérculos de la papa (figura 2.12). *R. solani* no produce esporas asexuales y persiste como micelio o como esclerocios en el suelo (Keijer, 1996), además, se encuentra tanto en la superficie como en estratos profundos del suelo (CIP, 1996).

De acuerdo con la virulencia sobre sus huéspedes, su morfología, características moleculares y bioquímicas, *R. solani* se subdivide en grupos de anastomosis (GA) genéticamente distintos (Carling et al., 2002; Sharon et al., 2006). Los GA asociados a la papa son GA-1, GA-2-1, GA-2-2, GA3, GA-4, GA-5, GA-7 y AG-9 (Banville, 1989; Champion et al., 2003; Tsrer, 2010). De este grupo, el GA-3 subgrupo PT es el más frecuentemente aislado de la papa y el que genera más síntomas de la enfermedad en la mayoría de las áreas del mundo (Ceresini et al., 2002; Justesen et al., 2004; Lehtonen et al., 2008).

Chavarro y Ángel (2011) analizaron 42 aislamientos de *R. solani* obtenidos de cultivos comerciales de papa de los departamentos de Boyacá, Antioquia y Cundinamarca (Colombia). Mediante la amplificación de secuencias transcritas internas (ITS) de *R. solani*, encontraron que el grupo GA-3 es predominante entre los aislamientos del patógeno (86%), mientras que los grupos GA2-1 y GA-1 representan el 9% y el 5% de los grupos presentes en las zonas de estudio. Posteriormente, en el trabajo realizado por Ferrucho et al. (2012) se encontró que, del 88% de los aislamientos de una colección de 433 cepas colectadas en las principales zonas productoras de papa de Colombia, el grupo GA-3PT es el principal patógeno asociado con las enfermedades del chancro del tallo y la sarna negra de la papa, seguido por el GA-2-1 (2,5%), mientras que los restantes correspondieron a cepas binucleadas de *R. solani* (GA-A, GA-E y GA-I).

Métodos de control de *R. solani*

La principal herramienta de control usada por los agricultores de papa es el control químico. Los fungicidas para el control de *R. solani* pueden dirigirse tanto al inóculo presente en los tubérculos como al suelo del cultivo. La aplicación de ingredientes activos como tiofanato-metilo, flutolanil, penicuron y azoxistrobin en tubérculo-semilla elimina en gran medida este inóculo (Champion et al., 2003; Errampalli et al., 2006; Wilson et al., 2008). Sin embargo, el control de *R. solani* en el suelo es variable y los fungicidas son menos eficaces cuando los niveles iniciales del patógeno son altos (Brewer & Larkin, 2005; Tsrer & Peretz-Alon, 2005).

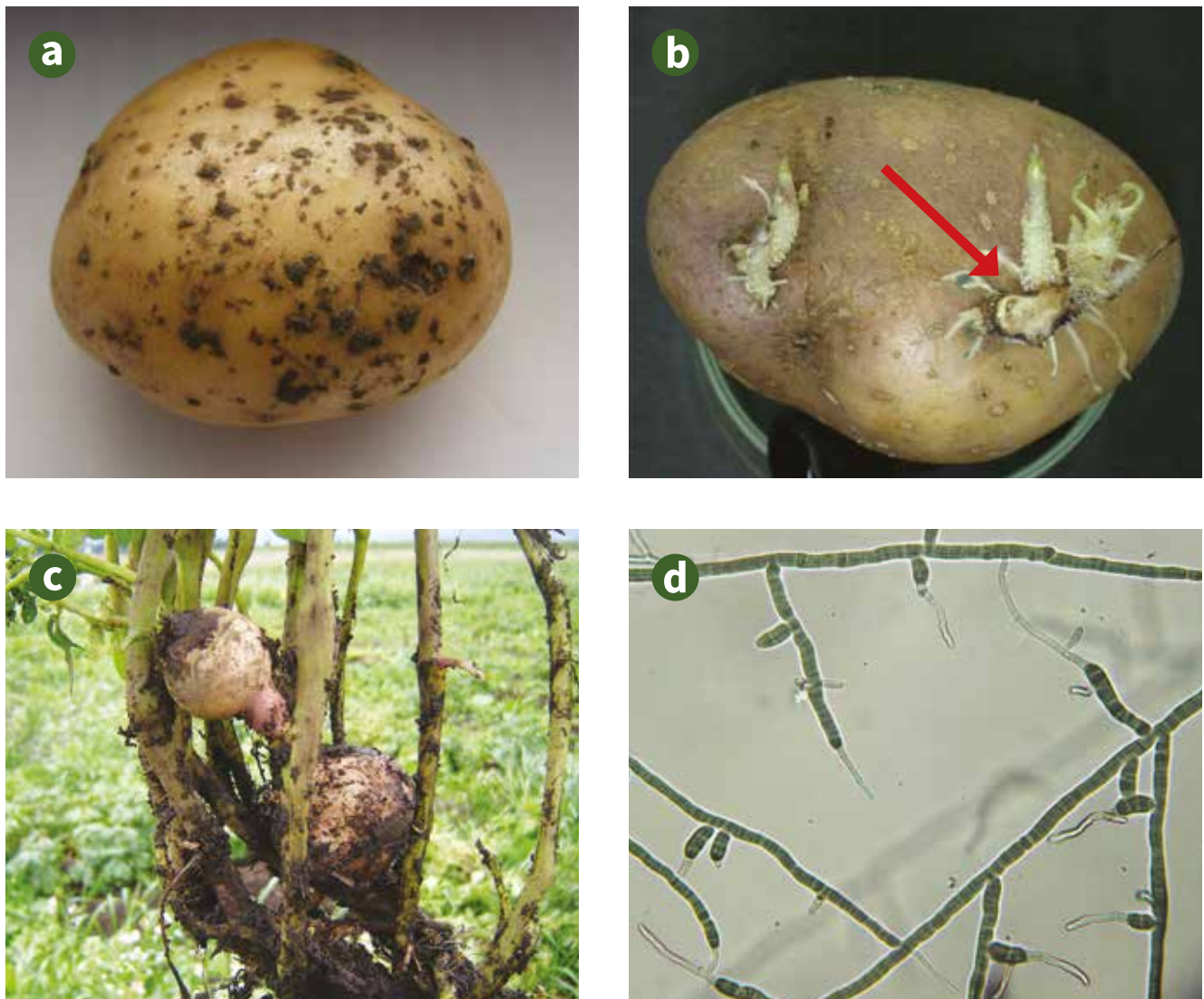


Foto: Camilo Beltrán y Carlos Andrés Moreno

Figura 2.12. Síntomas y signos de la enfermedad conocida como rizoctoniasis de la papa causada por *R. solani*. a. Esclerocios de *R. solani* formados en la superficie del tubérculo; b. La flecha indica la necrosis causada por *R. solani* en el ápice de los brotes de la semilla de papa; c. Tubérculos aéreos formados en plantas de papa var. Parda pastusa, uno de los síntomas típicos que se presentan en campo; d. Vista microscópica de las hifas de *R. solani*.

Parda pastusa, con lo cual se evidenció una alta actividad antagonista (reducción de la incidencia de 45% y 19%, respectivamente) y también efectos de promoción de crecimiento vegetal (Beltrán-Acosta, 2004; Beltrán Acosta et al., 2007).

En otros estudios, Bautista et al. (2007) seleccionaron seis cepas de *Pseudomonas fluorescens* que inhibieron el crecimiento *in vitro* de *R. solani*. Las cepas IBPf.33 e IBPf.63 mostraron mayor colonización de las raíces de plantas de papa (*Solanum phureja*) en presencia de *R. solani* en comparación con las plantas sin el patógeno. Todas las cepas de *Pseudomonas* evaluadas redujeron

significativamente la severidad de la enfermedad en comparación con el testigo patógeno, en el que se produjeron deformaciones severas y mayor formación de esclerocios en los tubérculos (Bautista et al., 2007).

Simultáneamente, las cepas de *P. fluorescens* aumentaron de forma importante el número y el peso de tubérculos en ausencia del patógeno, en comparación con el testigo no tratado. La cepa IBPf.63 presentó el mayor aumento del rendimiento: dos veces más en comparación con el testigo no tratado y con el testigo patógeno. Las cepas restantes presentaron menos producción de tubérculos comparadas con IBPf.63 (entre 25% y 48%) y menos

peso (entre 11 % y 74 %), pero fueron significativamente mayores que el control. La inoculación con cepas de *P. fluorescens* en presencia del patógeno evitó el desarrollo de tubérculos deformados y redujo significativamente el ataque de la enfermedad, que no expresó niveles severos en comparación con el testigo patógeno (Bautista et al., 2007). La promoción del crecimiento de las plantas de papa por algunas cepas de *Pseudomonas* sp. se correlacionó notablemente con la colonización, la supresión de la enfermedad y el rendimiento, lo que sugiere que la asociación de las cepas de *P. fluorescens* con la rizosfera de *S. phureja* y su capacidad antagónica frente a *R. solani* está influenciada por la capacidad de colonización de las bacterias (Bautista et al., 2007).

La producción de diferentes compuestos antagonistas de cada uno de los aislamientos proporciona una ventaja selectiva sobre la colonización de la rizosfera, incluso si son de la misma especie o de especies relacionadas (Mazzola, 1998; Raaijmakers et al., 1995). Uribe et al. (1999) encontraron que *P. fluorescens* fue la especie dominante en la rizosfera y el rizoplano tanto de *S. tuberosum* como de *S. phureja*. Otros estudios que usaron combinaciones compatibles de *P. fluorescens* han revelado los beneficios de esa estrategia para proporcionar un mayor control de diferentes fitopatógenos, cuyos resultados mejoran al expandir el espectro de metabolitos antifúngicos o los mecanismos más allá de los producidos individualmente (Mazzola, 1998; Pierson & Weller, 1994; Sindhu et al., 2002; Weller & Cook, 1983).

El grupo de investigación Control Biológico de Plagas Agrícolas de Corpoica desarrolló dos prototipos de formulación: polvo mojable (WP) y granulado dispersable (WG) a base de los antagonistas *T. koningiopsis* (Th003) y *T. asperellum* (Th034), cuya eficacia fue evaluada contra *R. solani* en plántulas de papa. Las formulaciones WP de ambos antagonistas fueron más eficaces en la reducción de la enfermedad (Beltrán-Acosta et al., 2010). Posteriormente, Th003 y Th034 fueron utilizados por Santos et al. (2011) como principios activos de dos prototipos de bioplaguicida formulados como polvos para espolvoreo, los cuales se aplicaron sobre tubérculos-semilla de papa criolla (*S. phureja*) var. Yema de huevo, que tenían una densidad de 8 a 10 esclerocios de *R. solani* por tubérculo y fueron almacenados durante 15 días antes de la siembra. Los dos bioplaguicidas

redujeron en 80 % la incidencia de *R. solani* en los brotes en comparación con la semilla de papa no tratada, en la cual la incidencia de la enfermedad fue del 100 % (figura 2.13a). Los brotes de la semilla tratada con los bioplaguicidas presentaron mayor vigor en términos de diámetro, longitud y peso, en comparación con los brotes de la semilla no tratada (figuras 2.13b - 2.13d).

Los tubérculos tratados se sembraron en suelo inoculado con *R. solani* y se evaluó la incidencia de la enfermedad y el peso seco de la planta. Se obtuvo, entonces, una eficacia de 86 % con Th003 y de 71 % con Th034 en comparación con el testigo patógeno, el cual presentó una incidencia del 100 % (Santos et al., 2011). Así mismo, se evidenció micoparasitismo de las cepas Th003 y Th034 sobre *R. solani*. Los prototipos de bioplaguicida a base de *T. koningiopsis* Th003 redujeron la formación de esclerocios en la superficie de minitubérculos de papa (*S. tuberosum*) (semilla élite) hasta en 62 % y aumentaron los rendimientos hasta en 26 % (Beltrán-Acosta et al., 2010).

Hasta donde conocemos, el último trabajo publicado sobre control biológico de *R. solani* en Colombia es el de Hoyos et al. (2012), quienes evaluaron cinco cepas de *Trichoderma* spp. aisladas de diferentes agroecosistemas de Cundinamarca, Boyacá y Cesar: la cepa T41 aislada del suelo, T51 de la rizosfera de plantas de papa criolla, T48 proveniente de suelo de potreros, T07 aislada de maracuyá y T96 proveniente de arena de río. Estos aislamientos en concentración de 1×10^5 conidios. g^{-1} de suelo se aplicaron 24 horas después de la siembra de tubérculos-semilla de papa criolla var. Colombia (*Solanum tuberosum* grupo phureja) y en el momento del aporque, en condiciones de invernadero y en presencia de inóculo artificial de *R. solani* en el sustrato de siembra. Se cuantificó el número total de tallos emergidos, la incidencia de rizoctoniasis y la longitud de la lesión causada por *R. solani* en el tallo. En poscosecha se evaluó el número, el peso y el tamaño de los tubérculos, así como la formación de esclerocios expresada como un porcentaje de severidad.

Los tratamientos T48, T07 y T51 redujeron la incidencia de la enfermedad en 85 %, 63 % y 58 %, respectivamente, comparados con el testigo no tratado. Los menores porcentajes de severidad en los tubérculos se obtuvieron con los tratamientos T51 y T48, seguidos por T41 y T07 (Hoyos et al., 2012). De forma

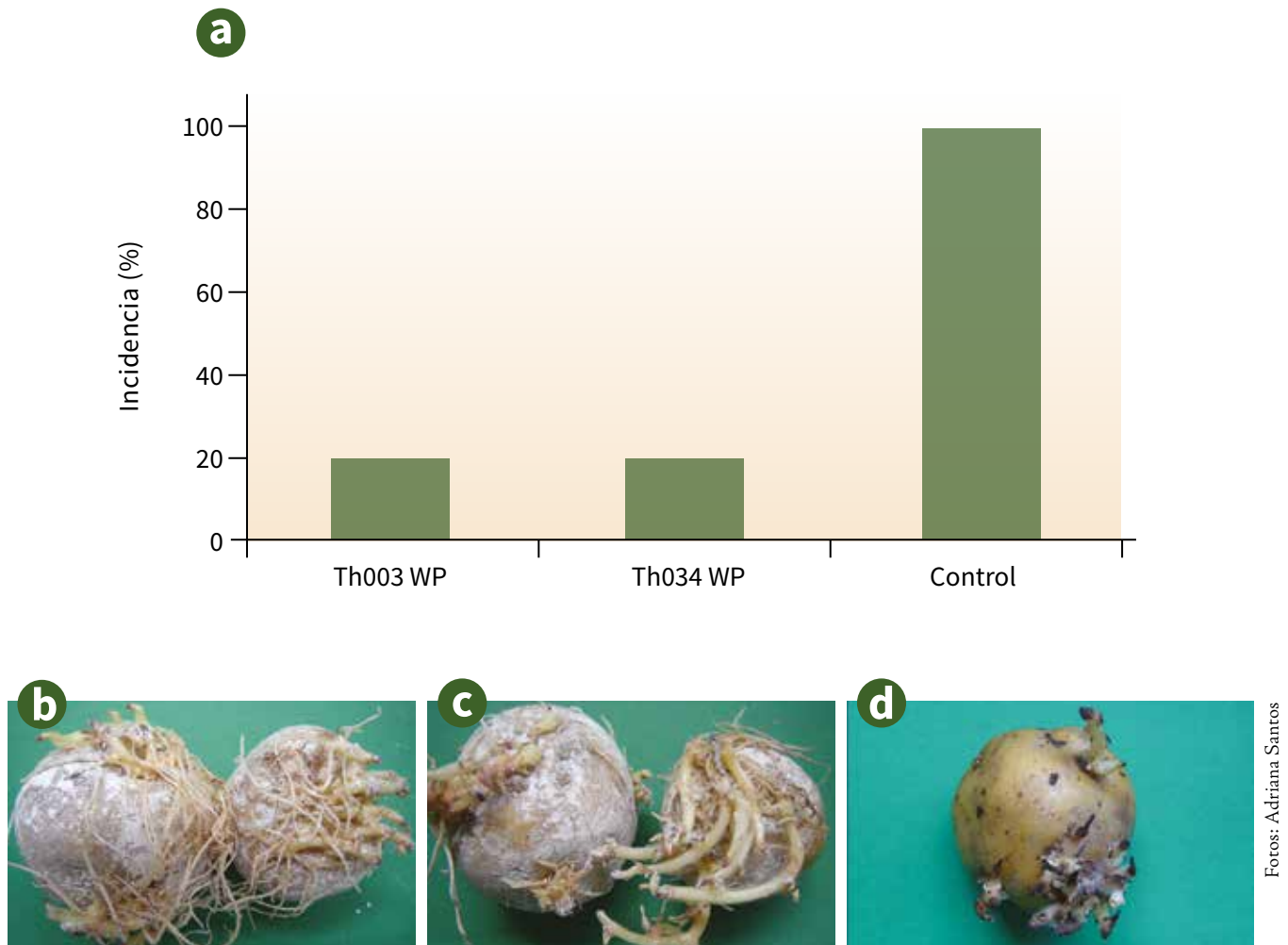


Figura 2.13. Efecto biocontrolador de *Trichoderma* spp. sobre *R. solani* en tubérculos de papa. a. Efecto de prototipos de bioplaguicida en polvos mojables (WP) a base de *T. koningiopsis* (Th003) y *T. asperellum* (Th034) sobre la incidencia de *R. solani* en semilla de papa criolla; b. Semilla tratada con el bioplaguicida a base de Th003; c. Semilla tratada con el bioplaguicida a base de Th034; d. Semilla de papa no tratada (control). Obsérvese la necrosis en los brotes y el poco desarrollo de raíces en las semillas no tratadas, en contraste con los brotes más desarrollados y las raíces de mayor longitud en las semillas tratadas con los bioplaguicidas.

Fuente: Santos et al. (2011)

general, los tratamientos T07, T48 y T51 mostraron los mejores resultados para las variables de sanidad y fisiología de la planta evaluada, además, fueron los más eficientes en el proceso de adaptación y colonización del sustrato frente a las cepas restantes, por lo tanto, tuvieron mejor actividad de control sobre rizoctoniasis y mejores indicadores en poscosecha. La capacidad antagonista de los aislamientos probados se correlacionó con su capacidad metabólica (producción de enzimas y antibióticos), con el micoparasitismo, la adaptación al medio y la afinidad con la planta (Hoyos et al., 2012).

Control biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* en soya (*Glycine max*) (Brasil)

Actualmente, la soya es el principal cultivo agrícola del Brasil. De acuerdo con el Instituto Brasileiro de Geografía e Estatística [IBGE] (2016) y Companhia Nacional de Abastecimento [Conab] (2016), el área cultivada con soya fue de 32,96 millones de hectáreas

en 2015, lo cual representa el 49 % del área del cultivo de granos en el país. La producción en ese año fue de 95 millones de toneladas. Estas cifras ubican la producción de soya como una de las actividades económicas que más crecieron en Brasil en los últimos años y la más importante en términos de exportación de productos básicos del país.

Entre las enfermedades que afectan la soya, el moho blanco —causado por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary— es una de las enfermedades más antiguas reportadas en este cultivo. La ocurrencia y los daños causados por este patógeno vienen aumentando, tanto en las áreas tradicionales de cultivo del sur y del sudeste brasileño como en las áreas más altas de la región de El Cerrado. La productividad de soya puede reducirse hasta en 70 % a causa de esta enfermedad, y se estima que el 23 % del área de producción brasileña de soya está infestada con el patógeno (Meyer et al., 2014). Este último está distribuido en las áreas de los principales países productores de soya —en las que se incluyen Estados Unidos, Argentina y Brasil (Wrather et al., 2001)— y presenta una amplia gama de plantas hospedero, lo que dificulta aún más su manejo. Otro factor que dificulta su control es la capacidad del patógeno para sobrevivir en el suelo por largos periodos, gracias a su estructura de resistencia: los esclerocios. Los esclerocios son los responsables de desencadenar nuevos ciclos de la enfermedad, pues, al germinar, originan los apotecios, que producen una gran cantidad de ascosporas, estructuras infectivas del patógeno.

El hongo puede atacar toda la parte aérea de la planta, como las hojas, el tallo y las vainas. También puede infectar cualquier parte de la planta, pero las infecciones inician con mayor frecuencia a partir de las inflorescencias, las axilas, los pecíolos y las ramas laterales. Una vez infectados los tejidos, se observa pudrición de ramas, vainas, hojas y tallo principal, incluso, se llega a la muerte de la planta. La formación de moho blanco sobre los tejidos infectados permite identificar fácilmente la enfermedad. Los esclerocios se forman en los tejidos enfermos, caen al suelo durante la cosecha y se convierten en fuente de inóculo para el cultivo subsiguiente. El hongo se beneficia con la alta humedad del suelo, temperatura entre 15 °C y 25 °C y poca incidencia de luz solar (Meyer et al., 2010).

Mediante un enfoque de metaanálisis —llevado a cabo para evaluar la relación entre la incidencia del moho blanco y la productividad de la soya, y la relación entre la incidencia de la enfermedad y la producción de esclerocios— Lehner, Pethybridge, Meyer y Del Ponte (2017) estimaron que, en ausencia de un manejo adecuado, las pérdidas brasileñas con el moho blanco son de aproximadamente 1,47 mil millones de dólares, anualmente. Para llegar a esos valores, los autores asumieron un promedio de 43 % de incidencia en el 22 % del área cultivada en el país. En el mismo trabajo, estos autores estimaron una reducción de 172,4 kg/ha en la producción de soya por cada 10 % de aumento en la incidencia del moho blanco. Otra estimación absolutamente importante obtenida por los autores es que se produce aproximadamente 1 kg de esclerocios/ha por cada 10 % de aumento de la incidencia de la enfermedad.

Estas estimaciones se basan en informaciones obtenidas en seis estados brasileños (Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso del Sur, Mato Grosso y Goiás), a partir de 35 trabajos en campo para establecer la relación entre la incidencia de la enfermedad y la productividad del cultivo, así como en 29 ensayos realizados para estudiar la relación entre la incidencia de la enfermedad y la producción de esclerocios. De acuerdo con Lehner et al. (2016), estos resultados destacan el impacto potencial que el moho blanco puede llegar a causar en la agricultura brasileña si no se maneja adecuadamente. Así, Lehner et al. (2016) sugieren la combinación de otras estrategias, además del uso de fungicidas, como las variedades resistentes, el control biológico y las prácticas culturales que ayuden a evitar o reducir los daños causados por la enfermedad en el cultivo de la soya.

La integración de las técnicas disponibles es fundamental para el manejo de la enfermedad. De esta forma, se recomienda el uso de semillas sanas, el uso de cobertura de paja originaria de gramíneas, la rotación de cultivos con especies no hospederas, el uso de fungicidas en el periodo de mayor vulnerabilidad de la planta (estadios R1 a R4), el uso de variedades precoces, el uso de densidades de siembra adecuadas a las cultivares y la limpieza de las máquinas para evitar la diseminación de esclerocios, entre otras. Finalmente, una de las recomendaciones que se vienen realizando en los últimos años es la introducción de antagonistas con

capacidad para controlar las estructuras del patógeno (Meyer et al., 2016). De esta forma, la recomendación de control biológico de la enfermedad se convirtió en un aspecto fundamental para el éxito del manejo del moho blanco en el cultivo de soya.

Entre los agentes de control biológico registrados por el Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento de Brasil (tabla 2.4) para el control del moho blanco de la soya, están *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus amyloliquefaciens* (Agrofit, 2017). Sin embargo, existen otros organismos que están disponibles en el mercado, pero aún no

debidamente registrados. Gorgen et al. (2010) estudiaron el control del moho blanco en soya con paja y *Trichoderma harzianum*, en cultivos comerciales en el estado de Goiás, entre 2006 y 2008. En este trabajo, los autores afirmaron que la formación de cobertura puede tornarse primordial para la utilización de control biológico, pues la actividad biocontroladora fue mayor en el ambiente formado por la paja. Con la aplicación de *Trichoderma* en dosis de 0,5 L/ha y 1 L/ha de un producto que contenía 2×10^9 esporas viables/mL, en ambiente con paja en el suelo, Gorgen et al. (2010) verificaron el aumento del número de esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* parasitados por *Trichoderma*,

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

Agente de control biológico	Número de productos registrados	Área tratada (hectárea)	Característica
Control biológico de enfermedades de plantas			
<i>Aspergillus flavus</i> NRRL21882	1		Biofungicida
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	2		Bionematicida
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1		Biofungicida
<i>Bacillus firmus</i>	3		Bionematicida
<i>Bacillus licheniformis</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	2		Bionematicida
<i>Bacillus methylotrophicus</i>	1		Bionematicida
<i>Bacillus pumilus</i>	1		Biofungicida
<i>Bacillus subtilis</i>	3		Biofungicida
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	1		Bionematicida
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	1		Bionematicida
<i>Trichoderma asperellum</i>	3	5.500.000	Biofungicida
<i>Trichoderma harzianum</i>	5		Biofungicida
<i>Trichoderma stromaticum</i>	1		Biofungicida
Para el control de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>			
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1	Cerca de 6.000.000 ha	
<i>Bacillus subtilis</i>	1		
<i>Trichoderma harzianum</i>	5		
<i>Trichoderma asperellum</i>	2		

Fuente: Elaboración propia

la reducción del número de apotecios formados/m², el aumento del rendimiento de la soya y la reducción de la incidencia del moho blanco.

Debido a la importancia del moho blanco de la soya y de la demanda de información para establecer las estrategias de control, un grupo de investigadores brasileños organizaron los “Ensayos cooperativos de control biológico de moho blanco en el cultivo de soya” (Meyer et al., 2016; Meyer et al., 2017; Meyer et al., 2014). De esta forma, de acuerdo con Meyer et al. (2016), se realizaron estudios en las cosechas de 2011/2012, 2012/2013, 2013/2014 y 2014/2015 en diversas localidades y con la participación de 14 instituciones brasileñas de investigación agropecuaria, 10 empresas y 17 investigadores. Se reportan, a continuación, algunos de los principales resultados presentados por Meyer et al. (2016) para las cosechas 2011/2012 y 2014/2015 y por Meyer et al. (2017) para la cosecha 2015/2016.

En la cosecha 2011/2012, se realizaron experimentos en ocho localidades brasileñas: Chapadão do Sul, MS; Goianira, GO; Capão Bonito, SP; Palmera, PR; San Miguel do Passa Quadro, GO; Montividiu, GO; Uberlândia, MG, y São Desidério, BA, en un sistema de siembra directa sobre paja de gramíneas. Las variedades de soya fueron las adecuadas para cada región y en los experimentos se aplicaron dos productos a base de *Trichoderma asperellum*, uno a base de *Trichoderma harzianum* (1 a 2 x 10⁹ ufc/mL o g de producto) y un producto a base de lignosulfonato en los estadios V2 y V4. También se incluyó un tratamiento con dos aplicaciones de fungicida (fluazinam + tiofanato de metilo) en los estadios R1 y 10 días después. En este ciclo de cultivo no hubo aplicación de fungicida en la floración conforme a la recomendación.

Se midió la incidencia del moho blanco, la densidad de esclerocios producidos y la productividad de la soya. El análisis conjunto de los datos evidenció los siguientes resultados: 1) incidencia del moho blanco del 31,4% en el tratamiento control; 2) todos los tratamientos con los biofungicidas diferían del tratamiento control en relación con la incidencia de la enfermedad, presentando una reducción en la incidencia entre 20,4% y 37,4%; 3) la eficacia del lignosulfonato a base de extracto vegetal fue del 39,4% y, con fungicidas, del 71,3%; 4) el aumento de la productividad estuvo entre

4,7% y 10,4% en los tratamientos con los biofungicidas, y 16,4% con los fungicidas (Meyer et al., 2016).

En la cosecha 2014/2015, se realizaron experimentos en diez localidades brasileñas: Silvânia, GO; Montividiu, GO; Chapadão do Sul, MS; Ponta Grossa, PR; Palmeira, PR; Goianira, GO; Rio Verde, GO; Jataí, GO; Uberlândia, MG, e Luiz Eduardo Magalhães, BA, también en sistema de siembra directa sobre paja de gramíneas. En este ciclo de cultivo, los productos biológicos (*Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus pumilus* y *Bacillus amyloliquefaciens*) se aplicaron en los estadios de desarrollo V2 y V4, y el fungicida fluazinam, en el estadio R1. También se evaluaron los tratamientos con y sin el fungicida en el estadio R1. Se midió la viabilidad de los esclerocios de *S. sclerotiorum*, la incidencia del moho blanco y la productividad de la soya. Para estudiar la viabilidad de los esclerocios, estos fueron colocados en bolsas de tela de nailon, distribuidos entre la superficie del suelo y la paja.

La recolección de los esclerocios se llevó a cabo después de la primera y la segunda aplicación de los microorganismos biocontroladores, justamente para evaluar el efecto de esos antagonistas sobre la germinación miceliogénica y carpogénica. En relación con la germinación carpogénica de los esclerocios de *Sclerotinia*, se observó que todos los tratamientos con los agentes de control biológico redujeron el porcentaje de apotecios formados en comparación con el testigo, cuya reducción fue del 49% al 75% con una aplicación de los bioagentes, y del 55% al 89% con dos aplicaciones de los biocontroladores.

Como resultado importante, también se evidenció que una aplicación de biofungicidas proporcionó aumento en la mortalidad de esclerocios (entre 32% y 51%) en relación con el testigo. En este ciclo, Meyer et al. (2016) observaron baja incidencia del moho blanco, pues ocurrió una escasez de lluvias en el periodo comprendido entre el prefloramiento y el inicio de la formación de granos. Así, los autores no encontraron diferencias estadísticamente significativas de productividad entre los tratamientos. Con base en estos resultados, los autores consideraron que la eficiencia del control biológico de moho blanco en soya depende de las condiciones de ambiente favorables a la colonización e infección de los esclerocios del patógeno, y que es prerequisite la cobertura del suelo con paja.

Meyer et al. (2017) realizaron experimentos en la cosecha 2015/2016 en trece localidades brasileñas: Silvânia, GO; Montividiu, GO; Chapadão do Sul, MS; Ponta Grossa, PR; Palmeira, PR; Goianira, GO; Rio Verde, GO (3 locais); Jataí, GO; Uberlândia, MG; Campo Verde, MT, e Luiz Eduardo Magalhães, BA, en el sistema de siembra directa de la soya sobre paja de gramíneas, para evaluar los efectos de cuatro productos biológicos a base de *Trichoderma asperellum* (dos a base de *Trichoderma harzianum*, uno a base de *Bacillus pumilus* y uno a base de *Bacillus subtilis*), todos aplicados en los estadios de desarrollo V2 y V4.

Con dos aplicaciones de los bioagentes, se observó una reducción en la germinación carpogénica en relación con el testigo (entre el 67% y el 100%); el 100% se obtuvo con la aplicación de *Bacillus pumilus*. La colonización de esclerocios por *Trichoderma* dependió del aislamiento, con una variación de 14% a 37,4%. En relación con el porcentaje de viabilidad de esclerocios, *Bacillus pumilus* y *Bacillus subtilis* presentaron valores de reducción de la viabilidad de 18,3% y 22,6%, respectivamente; mientras que con *Trichoderma* este valor estuvo entre el 9,1% y el 21,1%. Si se consideran los resultados de las trece localidades, los autores afirman que es posible reducir el potencial de inóculo de *S. sclerotiorum* en el suelo empleando los biofungicidas, aunque el desempeño de estos depende de las condiciones ambientales. Los autores también afirman que los biofungicidas inhibieron significativamente la capacidad de formación de apotecios, lo que es importante para la reducción de la incidencia de moho blanco en las plantaciones de soya.

El potencial de *Bacillus* spp. en inhibición de la germinación de ascosporas y la formación de esclerocios de *S. sclerotiorum* (Monteiro et al., 2013; Rahman et al., 2016; Vinodkumar et al., 2017) indica que sería importante el desarrollo de estudios en campo, en los cuales se integren los agentes de biocontrol que presentan diferentes mecanismos de acción, como *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. De esta forma, podría ocurrir el parasitismo de los esclerocios por *Trichoderma* y una potencial reducción en la viabilidad de las ascosporas por *Bacillus*. Si se tienen en cuenta los resultados obtenidos por Meyer et al. (2016), Meyer et al. (2017) y Lehner et al. (2016), se debería implementar la sugerencia de la integración de todas las estrategias disponibles —entre ellas, el biocontrol—

para el manejo del moho blanco de la soya, con el fin de evitar o reducir los daños causados por la enfermedad en este cultivo en Brasil.

Uso de *Trichoderma koningiopsis* Th003 en esquemas de manejo integrado del moho blanco de la lechuga y del marchitamiento vascular del tomate (Colombia)

El cultivo de lechuga en Colombia representa una actividad importante económicamente, porque genera empleo en varias zonas rurales del país. Sin embargo, los rendimientos de 22 t/ha⁻¹ están por debajo del promedio de los principales países productores. Esta pérdida en los rendimientos se debe principalmente a la incidencia de la enfermedad del moho blanco, que, como se conoce en Colombia y en muchos otros países, es causada por las especies de hongos *Sclerotinia sclerotiorum* y *S. minor* (Moreno et al., 2010; Subbarao, 1998), presentes en todas las regiones del mundo donde se produce lechuga. En California —la principal zona productora de lechuga de los Estados Unidos—, por ejemplo, se han registrado pérdidas del 60%, y se estima que debido a esta enfermedad se pierden anualmente cerca de 150 millones de dólares en el mundo (Davis, 2001).

En los municipios de la Sabana de Occidente, en el departamento de Cundinamarca, Colombia, se encontró que la incidencia de la enfermedad varía entre el 12% y el 33% para el caso de *S. sclerotiorum*, mientras que para *S. minor* puede variar entre el 25% y el 51%. Cuando los dos patógenos se presentan en una misma área, la enfermedad puede alcanzar un promedio de incidencia del 45%. A pesar del uso de los fungicidas recomendados para el control de *Sclerotinia* spp., en ningún caso se aprecia una estabilidad de la curva de progreso de la epidemia (figura 2.14). En la mayoría de los casos, los agricultores aplican los fungicidas Iprodione y Procimidona; en otros casos, emplean Captan y Validamicina, con 10 aplicaciones por ciclo de cultivo, lo cual representa en promedio el 17% de los costos totales de producción en una hectárea, incluyendo la mano de obra para realizar las aplicaciones (Moreno et al., 2010).

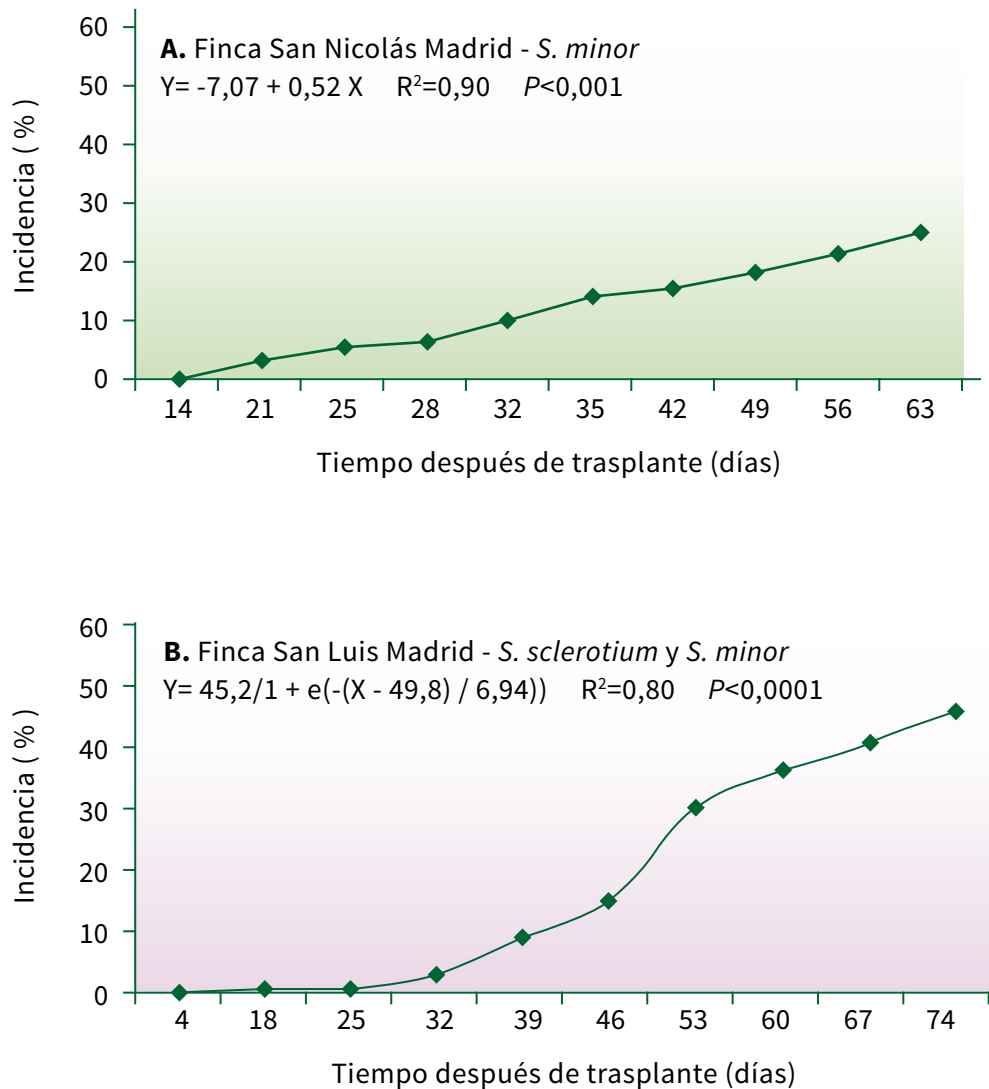


Figura 2.14. Curvas de progreso de la incidencia de la enfermedad del moho blanco de la lechuga en cultivos comerciales del municipio de Madrid, Cundinamarca. Durante el ciclo de cultivo, el agricultor aplicó fungicidas y realizó sus prácticas agronómicas de rutina; no obstante, los métodos de control convencionales no fueron satisfactorios, ya que el progreso de la enfermedad fue continuo durante el ciclo de cultivo.

Fuente: Moreno et al (2010)

Por sus excelentes atributos como agente de control biológico contra fitopatógenos, el hongo *Trichoderma koningiopsis* Th003 fue uno de los principales temas de investigación del grupo de investigación Control Biológico de Plagas Agrícolas de Corpoica entre 1994 y 2018. Esta cepa es el principio activo del bioplaguicida Tricotec® WP, desarrollado por Corpoica y registrado en el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) para el control de los fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum* en cultivos de tomate, lechuga y arroz. En condiciones controladas,

Tricotec® redujo la severidad de la enfermedad tizón de la vaina del arroz entre 40% y 60% y, en condiciones de campo, redujo la incidencia y la severidad de la enfermedad en 35% y 29%, respectivamente. La severidad del marchitamiento vascular del tomate (causado por *F. oxysporum*) fue reducida por Tricotec WP (1 g/L) en un 34%. La incidencia de la muerte de plántulas de tomate causada por *R. solani* fue reducida por Tricotec en 31%, y la incidencia del moho blanco de las plantas de lechuga fue reducida por Tricotec® en 34% en condiciones de campo.

S. sclerotiorum

Sclerotinia sp. es un hongo fitopatógeno que ocasiona la enfermedad del moho blanco en un amplio rango de huéspedes, lo que incluye cultivos de lechuga, tomate, frijol, girasol, soya y canola, entre otros (Ávila de Moreno & Velandia, 1992; Purdy, 1979; Ren et al., 2007). Es una de las enfermedades más destructivas a nivel mundial, que genera pérdidas por encima del 70 % en los cultivos (Davis, 2001). En Colombia, esta enfermedad es de gran importancia en el cultivo de lechuga, pues ha causado altas pérdidas económicas, que disminuyen entre el 30 % y el 50 % de la población de las plantas (Pérez et al., 2011).

Las especies *Sclerotinia minor* Jagger y *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary son los agentes causales de la enfermedad moho blanco. Estas especies se caracterizan por infectar principalmente las plantas cercanas a la madurez del cultivo (Abawi & Grogan, 1979; Davis, 2001). Las dos especies de *Sclerotinia* sp. producen formas de resistencia denominadas esclerocios o cuerpos latentes; estas estructuras mantienen inactivo al hongo por extensos periodos de tiempo en el suelo, incluso bajo condiciones desfavorables para su crecimiento (Adams & Ayers, 1979; Chet & Henis, 1975) (figura 2.15). Los esclerocios pueden germinar formando hifas vegetativas que se agrupan para conformar un micelio blanco algodonoso e infectar la corona y la raíz de la lechuga, produciendo lesiones de color café y ocasionando el marchitamiento de las hojas, las cuales luego caen planas sobre el suelo. Posteriormente, ocurre la colonización de los tejidos y su pudrición blanda acuosa hasta ocasionar la muerte de la planta (Adams & Tate, 1976; Marcum et al., 1977).

En el caso de *S. sclerotiorum*, a partir de la germinación carpogénica de los esclerocios se forma micelio y, a partir de este, se desarrollan apotecios (figura 2.15f) (solo bajo óptimas condiciones de humedad y temperatura), lo cual da lugar a otro tipo de infección por diseminación de las ascosporas contenidas dentro de estas estructuras. Las ascosporas se esparcen por el aire hasta llegar a plantas sanas lejanas u otro tipo de cultivos, para dar inicio nuevamente al ciclo de vida y ocasionar la enfermedad (Davis, 2001; Subbarao, 1998).

La tendencia con respecto al manejo de la enfermedad del moho blanco ha sido utilizar fungicidas de síntesis química. Benomil fue uno de los fungicidas más utilizados para el control de moho blanco (Torkewitz, 2008) en girasol, repollo, frijol (Ferreira & Boley, 1992) y lechuga. Otros ingredientes activos como el Iprodione y la Procimidona modificaron el manejo de la enfermedad, empleando otros tipos de moléculas que demostraron un aumento significativo en el control de la infección por *Sclerotinia* spp. (Subbarao, 1998).

Otro manejo que se ha implementado en el tratamiento de la enfermedad del moho blanco ha sido el control biológico. Varios estudios han demostrado el gran potencial que tiene el hongo *Coniothyrium minitans* como micoparásito de los esclerocios de *Sclerotinia minor* y *S. sclerotiorum*, mediante la producción de enzimas extracelulares y otros metabolitos, lo que lo hace óptimo para el control de las enfermedades ocasionadas por *Sclerotinia* (McQuilken et al., 2003).

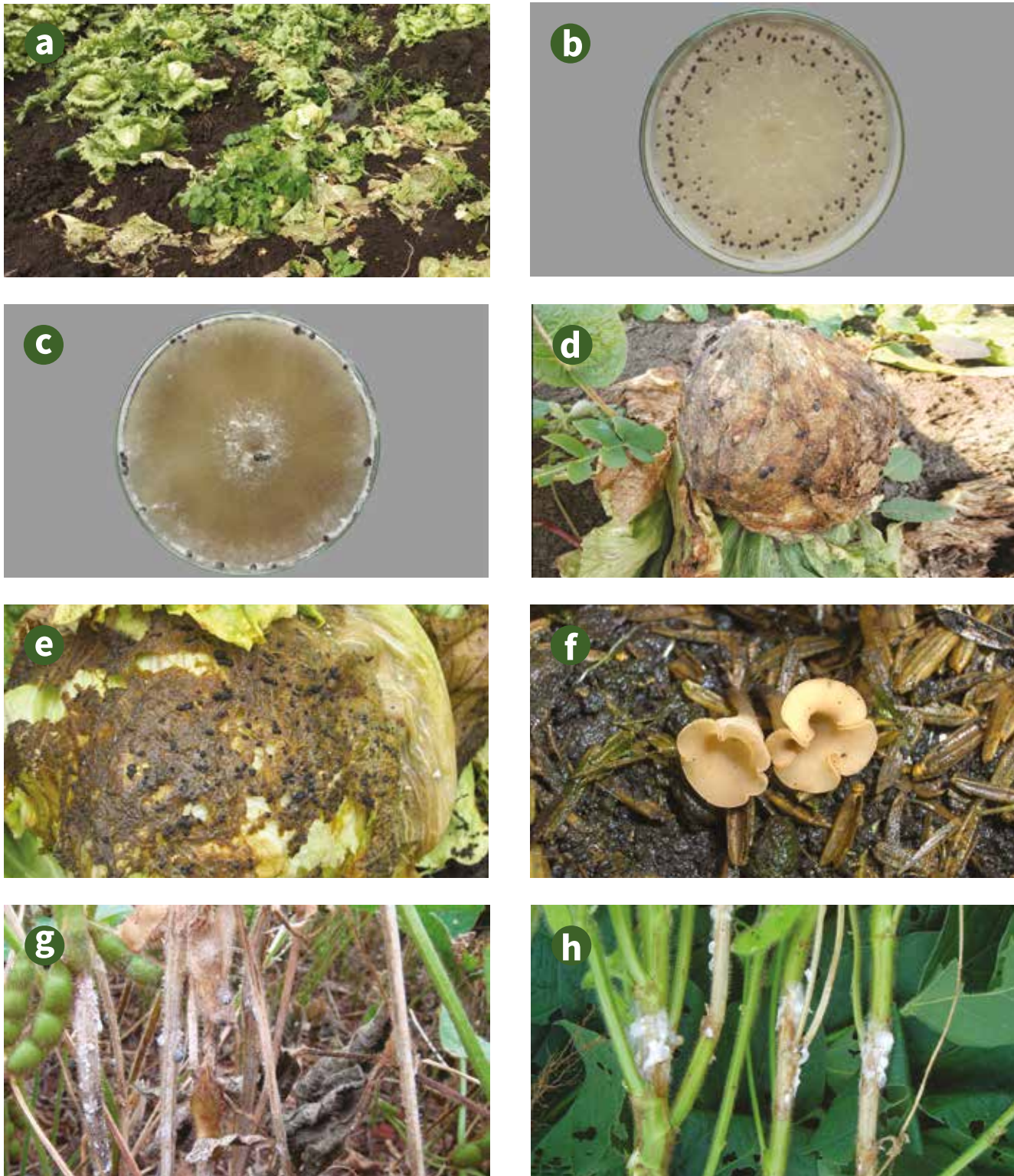


Figura 2.15. *S. sclerotiorum* y *S. minor* como patógenos de lechuga y soya. a. Residuos de cosecha y plantas de lechuga no cosechadas debido a la infección con *S. sclerotiorum*. Generalmente estos residuos no se retiran del suelo, sino que se incorporan cuando se hace la labranza del siguiente cultivo, quedando en el suelo un banco de esclerocios y micelios en los residuos vegetales y en el suelo; b. Colonias de *S. minor* en medio de cultivo PDA (potato dextrose agar); c. Colonias de *S. sclerotiorum* en medio de cultivo PDA; d. Esclerocios de *S. sclerotiorum* formados en la cabeza de la planta de lechuga; e. Esclerocios de *S. minor* formados en la cabeza de la planta de lechuga; f. Apotecios formados desde esclerocios de *S. sclerotiorum* inoculados artificialmente en suelo; g. Plantas de soya infectadas por *S. sclerotiorum*. Nótese el micelio algodonoso de color blanco y los esclerocios formados sobre las ramas de la planta; h. Estado avanzado de la enfermedad causada por *S. sclerotiorum* en plantas de soya.

F. oxysporum

Dada su importancia, *F. oxysporum* ha merecido gran atención de la comunidad científica, y se ha generado un volumen importante de conocimiento sobre este, que ha permitido entender su relación con los hospederos de mayor importancia económica o en plantas modelo, como *Arabidopsis thaliana* y *Solanum lycopersicum*. No obstante, debido a su alta variabilidad genética y a la relación particular que puede llegar a tener con cada hospedero, cada patosistema merece ser estudiado con el ánimo de manejar eficientemente la enfermedad. *F. oxysporum* es un patógeno de raíz hemibiótrofo, esto significa que actúa típicamente como biótrofo en estadios tempranos de su ciclo de vida, se alimenta de células vivas del hospedero y establece la infección antes de cambiar a una fase necrótrofa para completar su ciclo de vida (Brown & Ogle, 1997). Infecta alrededor de 100 especies de plantas cultivadas (Beckman, 1987) y, como habitante del suelo, puede sobrevivir por largos periodos de tiempo en ausencia del hospedero, en forma de clamidosporas principalmente (Agrios, 2015).

Los exudados de la raíz estimulan la germinación de las clamidosporas y el crecimiento hacia el hospedero por quimiotaxis (Steinkellner et al., 2005). Después de la germinación, el proceso de infección se divide en adherencia, penetración y colonización. La hifa infectiva se adhiere a la superficie de la raíz y penetra directamente (Mendgen et al., 1996), luego, el micelio avanza por la corteza intercelularmente hasta llegar a los vasos del xilema en donde ingresa. *F. oxysporum* f. sp. *niveum* tarda cinco días en llegar a los vasos del xilema, desde la adherencia a la epidermis de la raíz de la sandía (*Citrullus lanatus*) (Zhang et al., 2015). A través de estos vasos de conducción, el hongo coloniza el hospedero. Una vez allí, puede generar microconidios, los cuales pueden ser transportados hacia arriba a través del flujo de savia. Los microconidios transportados pueden germinar y colonizar el xilema en las partes superiores la planta. En estados severos de colonización, el hongo invade el parénquima y llega a esporular en la superficie del hospedero (Pietro et al., 2003).

F. oxysporum infecta a sus plantas hospederas estrictamente a través de las raíces (Pietro et al., 2003). Durante la penetración y colonización de la raíz, secreta una combinación de enzimas degradadoras de la pared celular, tales como poligalacturonasas, pectato liasas, xilanasas, cutinasas y lipasas, las cuales ayudan a obtener fuentes de carbono, a adherirse a la superficie de la raíz y a penetrar los tejidos del hospedero; estas enzimas también constituyen factores de virulencia (Bravo-Ruiz et al., 2013). La actividad de la proteína MAP quinasa es esencial para la patogenicidad de algunas cepas de *F. oxysporum*; así mismo, el ácido fusárico es un determinante parcial de su patogenicidad (Ding et al., 2015; Leslie & Summerell, 2008).

Como resultado del severo estrés por agua —debido principalmente a la obstrucción de los vasos del xilema por acumulación de micelio del hongo, por la producción de micotoxinas y por las respuestas de defensa del hospedero—, aparecen los síntomas típicos de marchitez en la planta (Pietro et al., 2003). Es típico observar el desarrollo de los síntomas externos de forma unilateral, desde la base del tallo hacia arriba. Los síntomas causados por *F. oxysporum* en las plantas comprenden enanismo, marchitamiento (pérdida de turgencia, amarillamiento, abscisión foliar) y finalmente la muerte de la planta. En cortes transversales del tallo, cerca de la base de la planta infectada, generalmente se presenta un anillo marrón en la zona de los haces vasculares (Nogués et al., 2002). Entre las respuestas de la planta ante la infección del patógeno, que obstruye los vasos colonizados, se encuentran la producción de gomas, geles y tilosas y la proliferación de células adyacentes del parénquima (Beckman, 1987).

Los daños fitosanitarios que causa *F. oxysporum* generalmente repercuten en el ámbito social, debido a las migraciones de cultivadores a nuevas áreas; en el económico, debido a los riesgos de la inversión; y en el ambiental, debido al elevado uso de plaguicidas. Por su naturaleza, *Fusarium* está entre los patógenos más difíciles de controlar (figura 2.16), y la ausencia de medidas de control alternativas hace más grave esta problemática. *F. oxysporum* ha desarrollado resistencia a muchos de los fungicidas utilizados para su control (Gordon & Martyn, 1997).

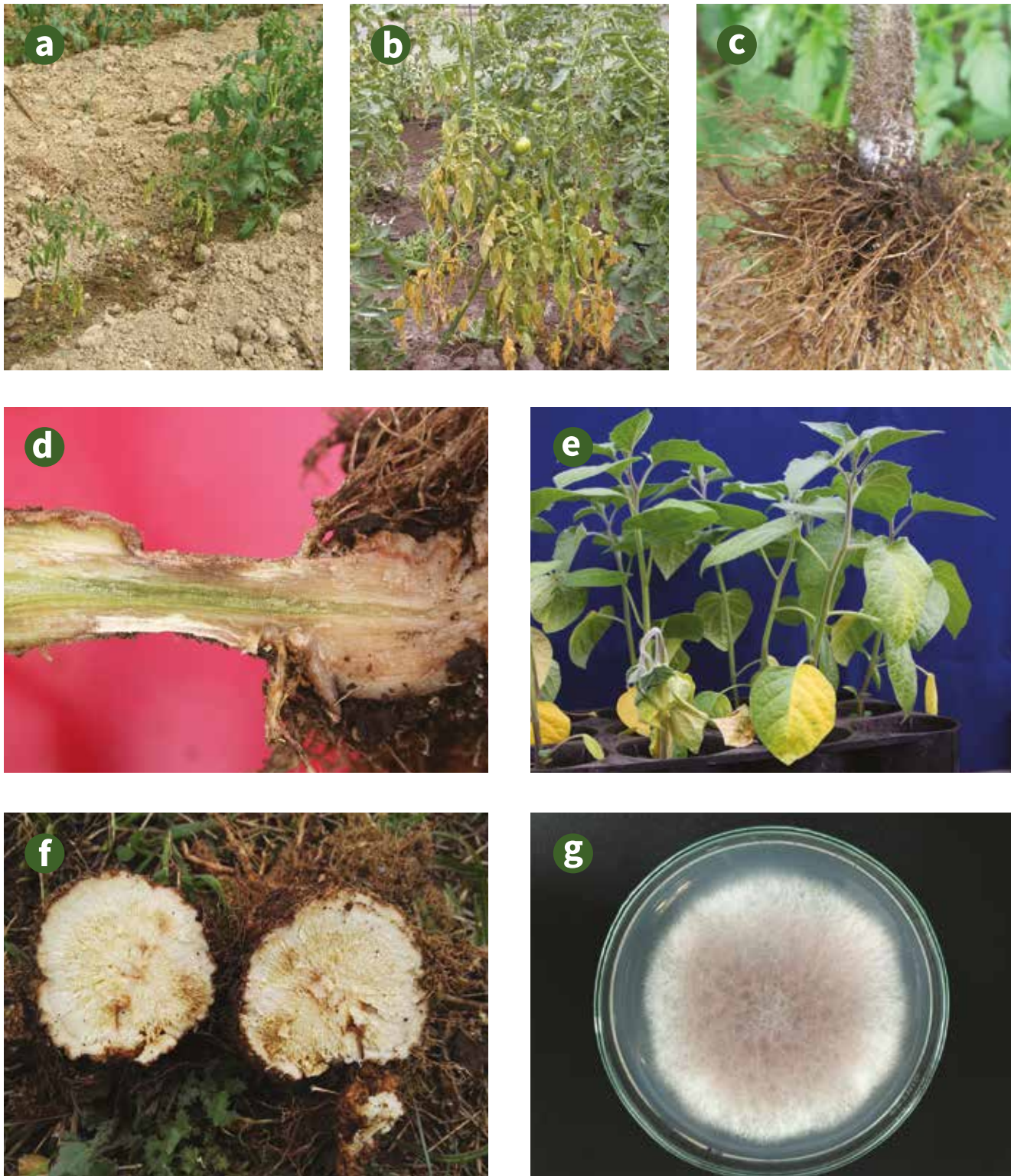


Figura 2.16. *Fusarium oxysporum* como patógeno de solanáceas. a. Cultivo de tomate bajo invernadero en estado vegetativo afectado por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Nótese el foco de plantas enfermas, con menor tamaño que las plantas cercanas sin síntomas; b. Plantas de tomate en estado reproductivo afectadas por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*; c. *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* esporulando en la superficie de la base del tallo de tomate; d. Corte transversal del tallo de una planta de tomate donde se observa la coloración parda de los haces vasculares causada por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*; e. Síntomas de marchitamiento vascular de plantas jóvenes de uchuva causado por *F. oxysporum* posible f. sp. *physali*. Nótese la marchitez, el doblamiento de la planta y la clorosis lateral de las hojas; f. Daños en el tallo de plantas adultas de uchuva causados por *F. oxysporum*; g. Colonia de *F. oxysporum* posible f. sp. *physali* aislado en medio de cultivo PDA.

Desarrollo del bioplaguicida Tricotec® para el control de fitopatógenos de suelo

El aislamiento nativo Th003 identificado como *Trichoderma koningiopsis* (antes *T. koningii*) (Cotes, 1993) se seleccionó por su alta actividad biocontroladora contra *Pythium splendens* en fríjol, en comparación con 12 aislamientos de *Trichoderma* spp. también nativos de Colombia (codificados de 1 a 12), con un aislamiento de referencia (codificado como 13) y con uno que constituye el principio activo de un producto registrado en el mercado internacional (codificado como 14). El efecto de este biocontrolador contra varios patógenos es atribuido a varios mecanismos, los cuales se ilustran a continuación. Cuando se aplicó *T. koningiopsis* (cepa Th003) en el suelo, se observó una correlación positiva entre la actividad de las enzimas exo-B-1,3-glucanasa y exoquitinasas producidas por Th003 y el control de *R. solani* en fríjol, lo que sugiere que las enzimas producidas por *T. koningiopsis* en el suelo juegan un rol importante en la degradación de las paredes celulares de los patógenos (Cotes et al., 1994).

En otros experimentos también se presentó una correlación positiva (coeficiente de correlación 0,7) entre el tiempo de pregerminación de las semillas en presencia del antagonista, la actividad de enzimas de origen vegetal de tipo endo- β -1,3-glucanansas y endoquitinasas y la protección conferida a las plantas de fríjol. Esto evidenció que *T. koningiopsis* puede estimular la producción de estas enzimas en el tejido vegetal, las cuales también podrían estar relacionadas con la degradación de las paredes celulares de los patógenos (Cotes et al., 1996). El efecto de las enzimas líticas de origen vegetal contra el patógeno fue posteriormente demostrado con esta misma cepa de *T. koningiopsis* en la interacción tomate-*F. oxysporum* (Clavijo & Cotes, 1998). Por otra parte, de las investigaciones llevadas a cabo sobre las interacciones pepino cohombro-*P. splendens* (Jacqmin et al., 1993), fríjol-*R. solani* (Mezui et al., 1994) y tomate-*R. solani*, la interacción tomate-*F. oxysporum* (Cotes et al., 2001) con esta cepa de *T. koningiopsis*, fue la que presentó, además de un control biológico efectivo ejercido contra dichos patógenos, el mejor fenómeno de inducción de crecimiento vegetal (figura 2.17).

La alta actividad biocontroladora que ha mostrado la cepa Th003 de *T. koningiopsis* frente a diferentes patógenos en diferentes especies vegetales ha estimulado el desarrollo de nuevas investigaciones para encontrar otros mecanismos de acción. Es así como al estudiar la interacción *T. koningiopsis*-fríjol-*P. splendens*, Cotes et al. (1996) demostraron que el control superior al 95 % ejercido contra el fitopatógeno —al fitoinvigorizar semillas mediante pregerminación controlada de semillas en matriz sólida durante 24 horas en presencia del biocontrolador— estuvo relacionado con varios fenómenos como la colonización de los tegumentos por parte de *T. koningiopsis*. En tal caso, la colonización estuvo mediada por la capacidad celulolítica de esta cepa, el consumo de los exudados de la semilla y la producción de enzimas líticas de origen microbiano del tipo celulasas, exoquitinasas y exo- β -1,3 glucanasas. Estas últimas demostraron su habilidad para degradar la pared celular del patógeno e inducir en el hospedero proteínas relacionadas gracias a la patogénesis del tipo endoquitinasas y endo- β -1,3 glucanasas que también demostraron su habilidad para degradar la pared celular del patógeno, lo que sugiere un fenómeno de inducción de resistencia (figura 2.18).

Con el propósito de comprobar el efecto de inducción de resistencia sistémica de *T. koningiopsis* Th003, en el patosistema tomate-*F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, Jaimes et al. (2009) utilizaron el modelo de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) con el sistema radical separado en dos porciones establecidas en vasos diferentes con sustrato para enraizamiento. En una de las porciones de la raíz se inoculó Th003, 96 h antes de inocular el fitopatógeno en la otra porción. Estos autores describieron un retraso significativo de la colonización de *F. oxysporum* en el interior del tallo de la planta, en comparación con las plantas control. Si se tiene en cuenta que el agente de control biológico y el fitopatógeno estuvieron separados físicamente, el trabajo de Jaimes et al. (2009) sugiere que *T. koningiopsis* Th003 estimuló respuestas sistémicas de defensa en la planta.

Las observaciones descritas por Jaimes et al. (2009) fueron comprobadas a nivel molecular por Moreno et al. (2009). En el trabajo de estos últimos, se demostró la habilidad de *T. koningiopsis* para promover el crecimiento vegetal. Mediante la metodología de microarreglos de tomate TOM1, se demostró que *T.*



Figura 2.17. Efecto promotor de crecimiento vegetal por *T. koningiopsis* Th003 en tomate. a. Semillas pregerminadas en ausencia del biocontrolador en semillero; b. Semillas pregerminadas en presencia del biocontrolador en semillero; c. Plántulas provenientes de semillas pregerminadas en ausencia del biocontrolador; d. Plántulas provenientes de semillas pregerminadas en presencia de *T. koningiopsis* Th003.

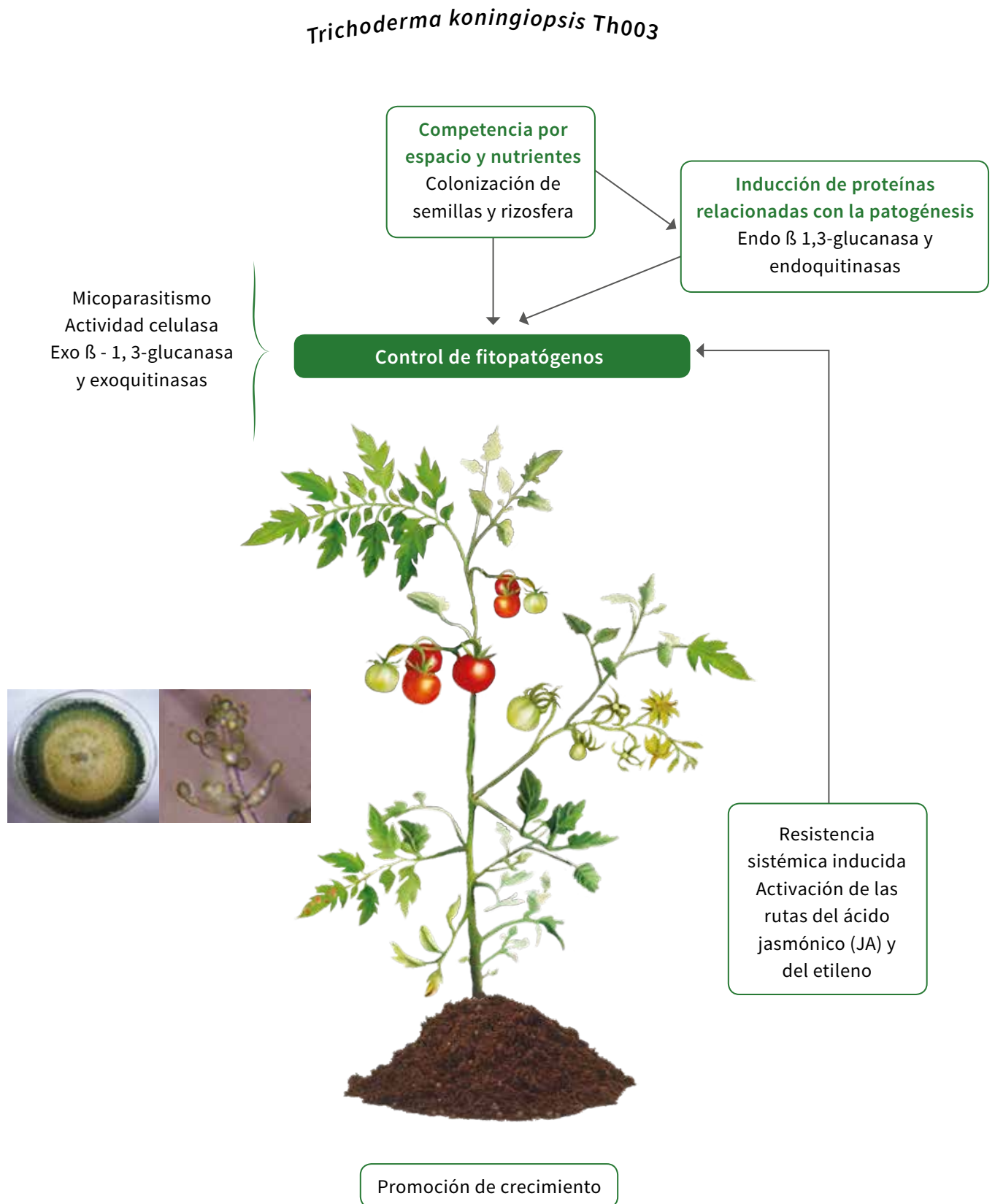


Figura 2.18. Modos de acción de *Trichoderma koningiopsis* Th003 definidos para la interacción frijol-*Pythium splendens*. La expresión génica mencionada en el esquema fue demostrada en la interacción *T. koningiopsis*-tomate-*F. oxysporum*.

Fuente: Elaboración propia

koningiopsis afectó los niveles de mRNA de 45 genes: 41 en raíces y 4 en hojas; aquí resulta de particular interés la inducción de genes involucrados en las rutas del ácido jasmónico y del etileno. La expresión de los genes seleccionados fue validada utilizando PCR en tiempo real, lo cual evidencia la correlación entre los dos métodos (Moreno et al., 2009). Todos los mecanismos definidos para Th003 se resumen en la figura 2.18.

El bioplaguicida Tricotec®, formulado a base del hongo biocontrolador *Trichoderma koningiopsis* (cepa Th003), se registró en Colombia en el año 2015 para el control de las enfermedades de volcamiento o adelgazamiento del cuello de las plantas (*R. solani*), marchitamiento vascular (*F. oxysporum*) y moho blanco (*S. sclerotiorum*), conocidas a nivel mundial por el severo impacto negativo que generan en los cultivos (figura 2.19). Tricotec® WP es una alternativa de control de estas enfermedades en los cultivos manejados convencionalmente y actúa como complemento de otros métodos. Es ideal para implementarse en cultivos orgánicos y en esquemas de manejo integrado de las enfermedades del suelo mencionadas. Tricotec® WP

también promueve el crecimiento de las plantas y logra reducir hasta cinco días el periodo de las plántulas en semillero, lo cual representa un costo de oportunidad para los plantuladores.

Pruebas *in vivo* mostraron que cuando los conidios del principio activo de Tricotec® permanecen en contacto con plaguicidas en la superficie de las plantas, este biocontrolador es medianamente compatible con los fungicidas Carbendazim (63-500 ppm), Benomil (88-350 ppm), Difenconazol (31-125 ppm), Oxiclóruo de cobre (3.150-12.600 ppm), Clorotalonil (180-720 ppm), Metil-tiofanato (175-700 ppm) y Azufre (360-2.520 ppm); compatible con los fungicidas Validacin (45 ppm), Tebuconazol (187 ppm) e Hidróxido cúprico (860 ppm); compatible con los insecticidas Lambda-cihalotrina (1 ppm), Imidacloprid (70 ppm), Avermectina (5 ppm) y Thiametoxam (141 ppm); y compatible con los fertilizantes líquidos Engru-S, Basfoliar, Nutrimins, Fertigo y Power-plex (García et al., 2010). En efecto, un esquema adecuado de rotaciones de estos productos con Th003 se podría considerar.

Limitantes del control biológico de fitopatógenos del suelo

La eficacia del control biológico sigue siendo baja, ya que en muchos casos no supera el 50%, y para el mercado resultan de interés solo aquellos productos con un 60% de eficacia, para bioplaguicidas, y un 85%, para fungicidas de síntesis química. Sin embargo, si se tiene en cuenta que aun con el control químico hoy en día se tienen pérdidas de entre el 20% y el 40% de los rendimientos de los cultivos por enfermedades (Lazarovits et al., 2014), el control biológico es una alternativa ideal para ser implementada contra un gran número de patosistemas, aunque este debe reconocerse y utilizarse como un componente de sistemas de manejo integrado de enfermedades. Algunas empresas productoras de flores de corte para exportación en Colombia realizan aplicaciones de bioplaguicidas a base de *Trichoderma* spp. y de *Bacillus* spp. para el control de patógenos del suelo, dentro de sus rotaciones habituales de productos fitosanitarios. Para estas empresas es importante contar con la eficacia que ofrecen los bioplaguicidas con el fin de sumar los

aportes de estos a la eficiencia de las demás alternativas de control; pero también ha sido importante para reducir la selección de poblaciones de fitopatógenos resistentes a los fungicidas de síntesis.

En la mayoría de los casos no se conoce la ecología y las interacciones específicas entre biocontrolador-hospedero-patógeno y ambiente; y dado que las interacciones pueden llegar a ser específicas, todavía hay un camino largo por recorrer. Se deben estudiar las interacciones en cada patosistema y en diferentes ambientes para conocer el rango de acción de los agentes de control biológico, y así generar indicaciones de uso más precisas, con el fin de diseñar estrategias que favorezcan su establecimiento y la expresión de sus modos de acción *in situ*.

Algunos aspectos que podrían generar una débil actividad biocontroladora o escepticismo por el uso del control biológico son la especificidad por el hospedero que se presenta en algunos casos —tanto en hongos

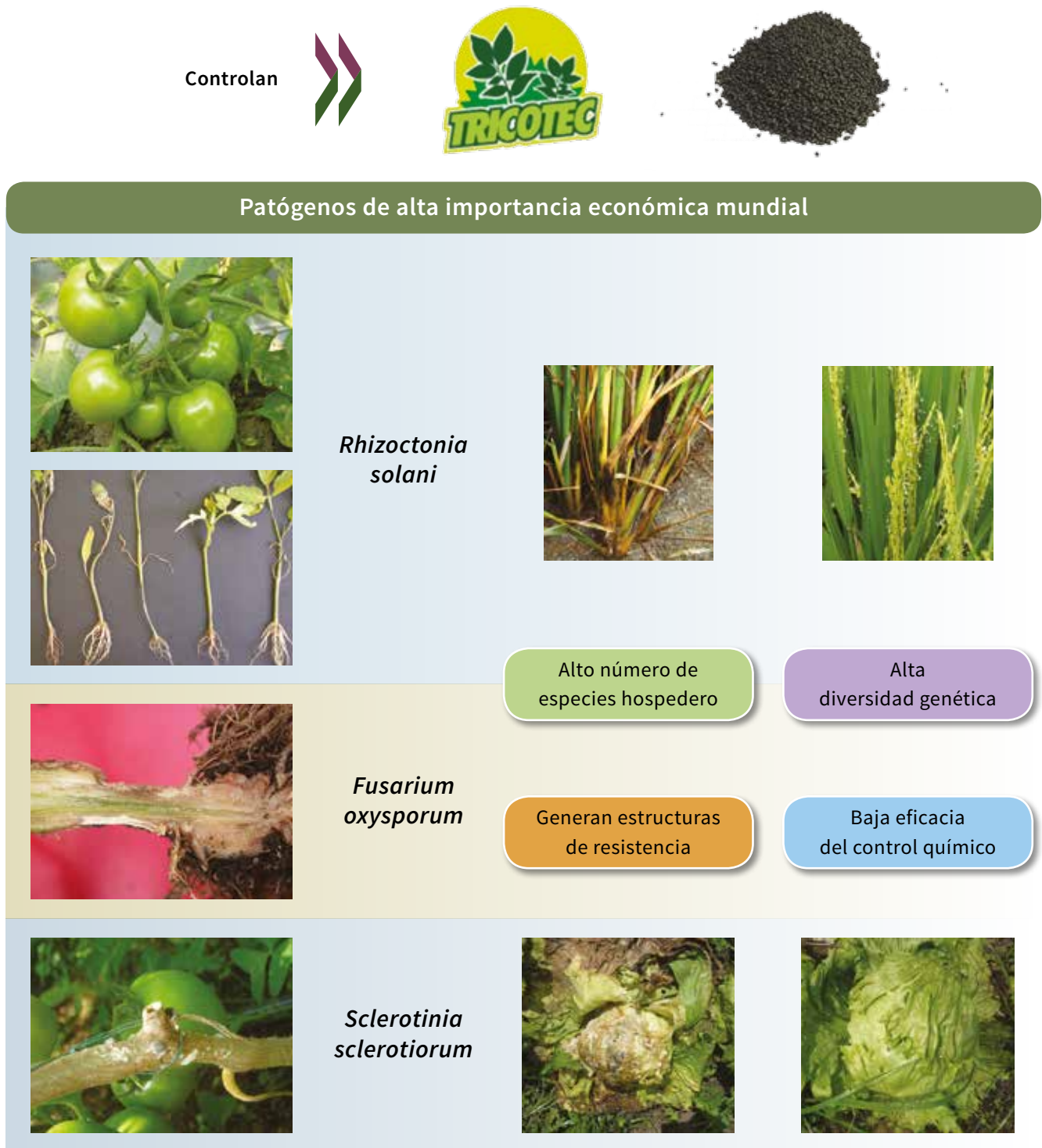


Figura 2.19. Patógenos objetivos para los cuales se encuentra registrado Tricotec® hasta marzo de 2018.

como en bacterias—, el uso de cepas con un solo modo de acción, la susceptibilidad a las condiciones ambientales (temperatura, pH, humedad y nutrientes) —tanto en el proceso de formulación como en sitio blanco—, los mecanismos de defensa de los fitopatógenos ante el ataque de los agentes de control biológico y la incompatibilidad con agroquímicos aplicados al suelo. No obstante, las empresas que manufacturan bioplaguicidas están

llamadas a desarrollar formulaciones de alta calidad. Esto significa, entre otras características, que cuenten con un principio activo altamente eficaz; que el producto tenga larga vida útil; que sea estable en sus propiedades físicas, fisicoquímicas y biológicas; que tenga alta pureza; que sea fácil de aplicar; y que sea compatible con las demás alternativas de control de enfermedades y prácticas agronómicas.

Consideraciones finales y perspectivas

Un agente de control biológico ideal debería tener actividad contra un amplio rango de fitopatógenos, en distintas condiciones ambientales y durante el tiempo en el cual los fitopatógenos tienen potencial para causar enfermedad. El agente de control biológico necesita, por tanto, tener características potenciales como las siguientes:

- Los modos de acción que el agente de biocontrol utilice contra un fitopatógeno blanco deben efectuarse lo suficientemente rápido para evitar que el patógeno cause daños en la raíz.
- Debe presentar resistencia inducida (un modo de actividad biocontroladora interesante contra varios fitopatógenos).
- El rápido aprovechamiento de los nutrientes de la raíz por parte del biocontrolador debería afectar a los patógenos que requieran nutrientes de la rizosfera para causar infección o a los patógenos para los cuales la nutrición constituye un factor limitante para su crecimiento.
- Una vez seleccionado un agente de control biológico eficiente, el estudio de los mecanismos empleados por esta cepa microbiana es esencial no solo para ayudar a entender el fenómeno, sino para poderlo aplicar a la producción, a la formulación del biocontrolador y al manejo de las enfermedades en campo. Este conocimiento ayudaría a comprender las limitaciones del ACB y a plantear estrategias para favorecer su establecimiento y la expresión de sus rasgos de biocontrol de forma eficiente. Las tecnologías implementadas para optimizar el proceso de producción de un bioplaguicida (producción masiva, formulación y almacenamiento) no resultarán en vano si los mecanismos de acción del agente de control biológico logran potencializarse en condiciones de su aplicación práctica.
- Como las condiciones físicas tienden a cambiar durante el día y durante el periodo de susceptibilidad a la enfermedad, el ACB ideal debería poseer condiciones de tolerancia a los cambios de temperatura, niveles de humedad, niveles de sequía y la presencia de varios tipos de iones y químicos.
- Un ACB necesita sobrevivir a condiciones adversas cuando su periodo de actividad es largo. Por ejemplo, necesita estar activo durante los periodos de sobrevivencia y actividad de un fitopatógeno, así como en los periodos de susceptibilidad de los tejidos vegetales.

- Un ACB también puede tener antagonistas en el suelo, entre los miembros de la microflora nativa. Por esto, un ACB ideal también necesita ser resistente a la actividad antagonista de estos microorganismos en el suelo, incluyendo las respuestas de defensa de los fitopatógenos a su ataque.
- La formulación de un agente de biocontrol en un producto comercial puede ayudar a hacer más larga la vida útil de este y a favorecer su actividad durante mucho tiempo en condiciones ambientales variables.
- Para que el desarrollo comercial de un agente de biocontrol sea atractivo para una empresa, el tamaño del mercado y el precio del bioproducto deben ser razonables para obtener beneficios económicos.

Finalmente, se debe tener presente que el encadenamiento entre las instituciones de investigación y desarrollo de tecnología con las compañías que escalan la producción de los bioproductos y los distribuidores hasta llegar a los agricultores es clave para manejar los mismos conceptos técnicos. Se debe entender que los bioproductos contienen organismos vivos, que su eficacia está sujeta a su actividad biológica, que son totalmente diferentes de los plaguicidas de síntesis química y que constituyen una herramienta de control fitosanitario.

Agradecimientos

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



Referencias

- Abawi, G. S., & Grogan, R. G. (1979). Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, 69(8), 899-904.
- Abawi, G. S., & Widmer, T. L. (2000). Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. *Applied Soil Ecology*, 15(1), 37-47. doi:10.1016/S0929-1393(00)00070-6.
- Adams, P., & Ayers, W. (1979). Ecology of *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, 69(8), 896-899.
- Adams, P. B., & Tate, C. J. (1976). Mycelial germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* on soil. *Plant Disease Reporter*, 60, 515-518.
- Agrios, G. N. (2015). *Plant pathology* (5.ª ed.). Londres, Reino Unido: Elsevier.
- Agrofit. (2017). *Sistema de agrotóxicos fitosanitarios*. Recuperado de http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.
- Ahmad, J. S., & Baker, R. (1987). Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 77(2), 182-189. doi:10.1094/Phyto-77-182.
- Akpa, E., Jacques, P., Wathélet, B., Paquot, M., Fuchs, R., Budzikiewicz, H., & Thonart, P. (2001). Influence of culture conditions on lipopeptide production by *Bacillus subtilis*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 91(1-9), 551-561. doi:10.1385/abab:91-93:1-9:551.
- Al-Rawahi, A. K. & Hancock, J. G. (1998). Parasitism and biological control of *Verticillium dahliae* by *Pythium oligandrum*. *Plant Disease*, 82(10), 1100-1106. doi:10.1094/PDIS.1998.82.10.1100.
- Alabouvette, C. (1986). Fusarium-wilt suppressive soils from the Châteaurenard region: review of a 10-year study. *Agronomie*, 6(3), 273-284. doi:10.1051/agro:19860307.
- Alabouvette, C., Olivain, C., Migheli, Q., & Steinberg, C. (2009). Microbiological control of soil-borne phytopathogenic fungi with special emphasis on wilt-inducing *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist*, 184(3), 529-544. doi:10.1111/j.1469-8137.2009.03014.x.
- Alabouvette, C., Schippers, B., Lemanceau, P., & Bakker, P. (1998). Biological control of Fusarium wilts toward development of commercial products. En G. J. Boalnd & L. D. Kuykendall (Eds.), *Plant microbe interactions and biological control* (pp. 15-36). Nueva York, EE. UU.: Marcel Dekker Inc.
- Aliferis, K. A., & Jabaji, S. (2010). Metabolite composition and bioactivity of *Rhizoctonia solani* sclerotial exudates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(13), 7604-7615. doi:10.1021/jf101029a.
- Aluko, M. O., & Hering, T. F. (1970). The mechanisms associated with the antagonistic relationship between *Corticium solani* and *Gliocladium virens*. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(2), 173-179. doi:10.1016/S0007-1536(70)80001-8.
- Amellal, N., Burtin, G., Bartoli, F., & Heulin, T. (1998). Colonization of wheat roots by an exopolysaccharide-producing *Pantoea agglomerans* strain and its effect on rhizosphere soil aggregation. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 3740-3747.
- Anderson, J. A., Staley, J., Challender, M., & Heuton, J. (2018). Safety of *Pseudomonas chlororaphis* as a gene source for genetically modified crops. *Transgenic Research*, 27(1), 103-113. doi:10.1007/s11248-018-0061-6.
- Atanasova, L., Druzhinina, I., & Jaklitsch, W. M. (2013). Two hundred *Trichoderma* species recognized on the basis of molecular phylogeny. En P. K. Mukherjee, B. A. Horwitz, U. S. Singh, M. Mukherjee, & M. Schmoll (Eds.), *Trichoderma: biology and applications* (pp. 10-42). Oxfordshire, Reino Unido: CAB International.
- Ávila, C., & Velandia, J. (1992). Enfermedades de algunas especies hortícolas y su manejo. En *Primer curso nacional de hortalizas de clima frío* (Vol. 18) [Conferencias]. Mosquera, Colombia: Instituto Colombiana Agropecuario (ICA).
- Bae, H., Roberts, D. P., Lim, H.-S., Strem, M. D., Park, S.-C., Ryu, C.-M., ... Bailey, B. A. (2010). Endophytic *Trichoderma* isolates from tropical environments delay disease onset and induce resistance against *Phytophthora capsici* in hot pepper using multiple mechanisms. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 24(3), 336-351. doi:10.1094/MPMI-09-10-0221.

- Bais, H. P., Fall, R., & Vivanco, J. M. (2004). Biocontrol of *Bacillus subtilis* against Infection of arabidopsis roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant Physiology*, 134(1), 307-319. doi:10.1104/pp.103.028712.
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 233-266. doi:10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159.
- Baker, K. F. (1987). Evolving concepts of biological control of plant pathogens. *Annual Review Phytopathology*, 25(1), 67-85. doi:10.1146/annurev.py.25.090187.000435.
- Banat, I. M., Makkar, R. S., & Cameotra, S. S. (2000). Potential commercial applications of microbial surfactants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(5), 495-508. doi:10.1007/s002530051648.
- Banville, G. J. (1989). Yield losses and damage to potato plants caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. *American Potato Journal*, 66(12), 821-834. doi:10.1007/BF02853963.
- Bautista, G., Mendoza, H., & Uribe, D. (2007). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* in native potato (*Solanum phureja*) plants using native *Pseudomonas fluorescens*. *Acta Biológica Colombiana*, 12(1), 19-32.
- BccResearch. (2017). *Global markets for biopesticides*. Recuperado de <https://www.bccresearch.com/market-research/chemicals/biopesticides-global-markets-report-chm029f.html>.
- Beckerich, A., & Hauduroy, P. (1922). Le bactériophage dans le traitement de la fièvre typhoïde. *Comptes Rendus Biologies*, 86, 168-170.
- Beckman, C. H. (1987). *The nature of wilt diseases of plants*. Saint Paul, EE. UU.: APS Press.
- Beltrán-Acosta, C. R. (2004). *Selección de aislamientos de Trichoderma spp. con potencial biocontrolador de Rhizoctonia solani Kühn en papa bajo condiciones de casa de malla (trabajo de pregrado)*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Beltrán-Acosta, C. R., Moreno-Velandia, C. A., Blanco, P., Villamizar, L., & Cotes, A. M. (2010). Biological control of *Rhizoctonia solani* and growth promotion activity of *Trichoderma koningiopsis* Th003 and *Trichoderma asperellum* Th034 formulations in potato (*Solanum tuberosum*). *IOBC/WPRS Bulletin*, 78, 223-227.
- Beltrán Acosta, C., Cotes, A. M., & Becerra, A. P. (2007). Selection of isolates of *Trichoderma* spp. with biocontrol activity over *Rhizoctonia solani* in potato. *IOBC WPRS Bulletin*, 30, 55-58.
- Benhamou, N., Le Floch, G., Vallance, J., Gerbore, J., Grizard, D., & Rey, P. (2012). *Pythium oligandrum*: an example of opportunistic success. *Microbiology*, 158(Pt. 11), 2679-2694. doi:10.1099/mic.0.061457-0.
- Benhamou, N., Rey, P., Chérif, M., Hockenhull, J., & Tirilly, Y. (1997). Treatment with the mycoparasite *Pythium oligandrum* triggers induction of defense-related reactions in tomato roots when challenged with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology*, 87(1), 108-122. doi:10.1094/PHYTO.1997.87.1.108.
- Benhamou, N., Rey, P., Picard, K., & Tirilly, Y. (1999). Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction between the mycoparasite *Pythium oligandrum* and soilborne plant pathogens. *Phytopathology*, 89(6), 506-517. doi:10.1094/PHYTO.1999.89.6.506.
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7(4), 249-260.
- Benizri, E., Baudoin, E., & Guckert, A. (2001). Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. *Biocontrol Science and Technology*, 11(5), 557-574. doi:10.1080/09583150120076120.
- Berg, G., Opelt, K., Zachow, C., Lottmann, J., Götz, M., Costa, R., & Smalla, K. (2006). The rhizosphere effect on bacteria antagonistic towards the pathogenic fungus *Verticillium* differs depending on plant species and site. *FEMS Microbiology Ecology*, 56(2), 250-261. doi:10.1111/j.1574-6941.2005.00025.x.
- Berg, G., & Smalla, K. (2009). Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 68(1), 1-13. doi:10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x.
- Berg, G., Zachow, C., Lottmann, J., Götz, M., Costa, R., & Smalla, K. (2005). Impact of plant species and site on rhizosphere-associated fungi antagonistic to *Verticillium dahliae* Kleb. *Applied Environmental Microbiology*, 71(8), 4203-4213. doi:10.1128/aem.71.8.4203-4213.2005.
- Bertin, C., Yang, X., & Weston, L. A. (2003). The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant Soil*, 256(1), 67-83. doi:10.1023/a:1026290508166.
- Biraghi, A. (1951). Caratteri di resistenza in *Castanea sativa* nei confronti di *Endothia parasitica*. *Bolletino della Staz Patologia Vegetale*, 8, 167-171.
- Bliss, D. E. (1951). The destruction of *Armillaria mellea* in citrus soils. *Phytopathology*, 41, 665-683.
- Blum, B., Nicot, P. C., Köhl, J., & Ruocco, M. (2011). Chapter 7: Identified difficulties and conditions for field success of biocontrol. 3. Economic aspects: cost analysis. En P. C. Nicot (Ed.), *Classical and augmentative biological control against diseases and pests: critical status analysis and review of factors influencing their success* (pp. 58-61). Zürich, Suiza: International Organisation for Biological and Integrated Control (IOBC)/West Palaearctic Regional Section (WPRS).
- Bonmatin, J.-M., Laprevote, O., & Peypoux, F. (2003). Diversity among microbial cyclic lipopeptides: Iturins

- and surfactins. Activity-structure relationships to design new bioactive agents. *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening*, 6(6), 541-556. doi:10.2174/138620703106298716.
- Borráz, A. (2011, octubre 7). Detectan exceso de químicos en cultivos de papa. *Unperiodico*. Recuperado de <http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/articulo/detectan-exceso-de-quimicos-en-cultivos-de-papa.html>.
- Borriss, R. (2011). Use of plant-associated *Bacillus* strains as biofertilizers and biocontrol agents in agriculture. En D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacteria in agrobiology: Plant growth responses* (pp. 41-76). Berlín, Alemania: Springer Berlin. doi:10.1007/978-3-642-20332-9_3.
- Borriss, R. (2015). *Bacillus*, a plant-beneficial bacterium. En B. Lugtenberg (Ed.), *Principles of plant-microbe interactions: Microbes for sustainable agriculture* (pp. 379-391). Nueva York, EE. UU.: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-08575-3_40.
- Bradshaw-Smith, R. P., Whalley, W. M., & Craig, G. D. (1991). Interactions between *Pythium oligandrum* and the fungal footrot pathogens of peas. *Mycological Research*, 95(7), 861-865. doi:10.1016/S0953-7562(09)80050-6.
- Bravo-Ruiz, G., Ruiz-Roldán, C., & Roncero, M. I. G. (2013). Lipolytic system of the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 26(9), 1054-1067. doi:10.1094/MPMI-03-13-0082-R.
- Brewer, M. T., & Larkin, R. P. (2005). Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. *Crop Protection*, 24(11), 939-950. doi:10.1016/j.cropro.2005.01.012.
- Broadbent, P., & Baker, K. (1974). Behaviour of *Phytophthora cinnamomi* in soils suppressive and conducive to root rot. *Australian Journal of Agricultural Research*, 25(1), 121-137. doi:10.1071/AR9740121.
- Brown, J. F., & Ogle, H. J. (Eds.). (1997). *Plant pathogens and plant diseases*. Armidale, Australia: Rockvale Publications.
- Brunner, K., Omann, M., Pucher, M. E., Delic, M., Lehner, S. M., Domnanich, P., ... Zeilinger, S. (2008). *Trichoderma* G protein-coupled receptors: functional characterisation of a cAMP receptor-like protein from *Trichoderma atroviride*. *Current Genetics*, 54(6), 283-299. doi:10.1007/s00294-008-0217-7.
- Brunoghe, R., & Maisin, J. (1921). Essais de therapeutique au moyen du bacteriophage du staphylocoque. *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie*, 85, 1029-1121.
- Burke, D. (1965). *Fusarium* root rot of beans and behavior of the pathogen in different soils. *Phytopathology*, 55(10), 122-121.
- Campion, C., Chatot, C., Perraton, B., & Andrivon, D. (2003). Anastomosis groups, pathogenicity and sensitivity to fungicides of *Rhizoctonia solani* isolates collected on potato crops in France. *European Journal of Plant Pathology*, 109(9), 983-992. doi:10.1023/B:EJPP.000003829.83671.8f.
- Carling, D. E., Baird, R. E., Gitaitis, R. D., Brainard, K. A., & Kuninaga, S. (2002). Characterization of AG-13, a newly reported anastomosis group of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 92(8), 893-899. doi:10.1094/PHYTO.2002.92.8.893.
- Carrillo, C., Teruel, J. A., Aranda, F. J., & Ortiz, A. (2003). Molecular mechanism of membrane permeabilization by the peptide antibiotic surfactin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1611(1-2), 91-97. doi:10.1016/S0005-2736(03)00029-4.
- Cawoy, H., Bettiol, W., Fickers, P., & Ongena, M. (2011). *Bacillus*-based biological control of plant diseases. En InTech (Ed.), *Pesticides in the modern world-pesticides use and management* (pp. 273-302). doi:10.5772/17184.
- Cawoy, H., Debois, D., Franzil, L., De Pauw, E., Thonart, P., & Ongena, M. (2015). Lipopeptides as main ingredients for inhibition of fungal phytopathogens by *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens*. *Microbial biotechnology*, 8(2), 281-295. doi:10.1111/1751-7915.12238.
- Cawoy, H., Mariutto, M., Henry, G., Fisher, C., Vasilyeva, N., Thonart, P., ... Ongena, M. (2013). Plant defense stimulation by natural isolates of *Bacillus* depends on efficient surfactin production. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 27(2), 87-100. doi:10.1094/MPMI-09-13-0262-R.
- Centro Internacional de la Papa (CIP). (1996). *Principales enfermedades, nematodos e insectos de la papa*. Lima, Perú: CIP.
- Ceresini, P. C., Shew, H. D., Vilgalys, R. J., & Cubeta, M. A. (2002). Genetic diversity of *Rhizoctonia solani* AG-3 from potato and tobacco in North Carolina. *Mycologia*, 94(3), 437-449. doi:10.1080/15572536.2003.11833209.
- Chandler, D., Bailey, A. S., Tatchell, G. M., Davidson, G., Greaves, J., & Grant, W. P. (2011). The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366(1573), 1987-1998.
- Chavarro, E., & Ángel, J. E. (2011). Caracterización molecular y análisis de la variabilidad genética de *R. solani*. En C. R. Beltrán Acosta, C. A. Moreno Velandia, & A. M. Cotes Prado (Eds.), *Trichoderma koningiopsis Th003, alternativa biológica para el control de Rhizoctonia solani en el cultivo de papa* (pp. 16-31). Mosquera, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Chaverri, P., & Samuels Gary, J. (2013). Evolution of habitat preference and nutrition mode in a cosmopolitan fungal genus with evidence of interkingdom host jumps and major shifts in ecology. *Evolution*, 67(10), 2823-2837. doi:10.1111/evo.12169.
- Chet, I. (1987). *Trichoderma*: application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne plant

- pathogenic fungi. En I. Chet (Ed.), *Innovative approaches to plant disease control* (pp. 137-160). Nueva York, EE. UU: John Wiley and Sons Press.
- Chet, I., & Baker, R. (1981). Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 71(3), 286-290. doi:10.1094/Phyto-71-286.
- Chet, I., & Henis, Y. (1975). Sclerotial morphogenesis in fungi. *Annual Review of Phytopathology*, 13(1), 169-192. doi:10.1146/annurev.py.13.090175.001125.
- Chin-A-Woeng, T. F. C., Bloemberg, G. V., Mulders, I. H. M., Dekkers, L. C., & Lugtenberg, B. J. J. (2000). Root colonization by phenazine-1-carboxamide-producing bacterium *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 Is essential for biocontrol of tomato foot and root rot. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13(12), 1340-1345. doi:10.1094/MPMI.2000.13.12.1340.
- Chitarra, G. S., Breeuwer, P., Nout, M. J. R., Van Aelst, A. C., Rombouts, F. M., & Abee, T. (2003). An antifungal compound produced by *Bacillus subtilis* YM 10-20 inhibits germination of *Penicillium roqueforti* conidiospores. *Journal of Applied Microbiology*, 94(2), 159-166. doi:10.1046/j.1365-2672.2003.01819.x.
- Chowdhury, S. P., Hartmann, A., Gao, X. W., & Borriss, R. (2015). Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 – a review. *Frontiers in Microbiology*, 6, 780. doi: 10.3389/fmicb.2015.00780.
- Clavijo, A., & Cotes, A. (1998). Evaluación de la actividad quitinasa en procesos de control biológico de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en tomate, mediante fitoinvigorización de semillas en presencia de *Trichoderma koningii*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 1(2), 58-66. doi:10.15446/rev.colomb.biote.
- Cochrane, S. A., & Vederas, J. C. (2016). Lipopeptides from *Bacillus* and *Paenibacillus* spp.: A gold mine of antibiotic candidates. *Medicinal Research Reviews*, 36(1), 4-31. doi:10.1002/med.21321.
- Companhia Nacional de Abastecimento (Conab). (2016). *Acompanhamento da safra brasileira: safra* (Vol. 3). Recuperado de <https://goo.gl/zDqv0s>.
- Compant, S., Clément, C., & Sessitsch, A. (2010). Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(5), 669-678. doi:10.1016/j.soilbio.2009.11.024.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., & Barka, E. A. (2005). Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied Environmental Microbiology*, 71(9), 4951-4959. doi:10.1128/aem.71.9.4951-4959.2005.
- Cook, J. R. (1993). Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 31, 53-80. doi:10.1146/annurev.py.31.090193.000413.
- Coons, G. H., & Kotila, J. E. (1925). The transmissible lytic principle (bacteriophage) in relation to plant pathogens. *Phytopathology*, 15, 357-370.
- Cotes, A., Cárdenas, A., & Pinzón, H. (2001). Effect of seed priming in the presence of *Trichoderma koningii* on seed and seedling disease induced in tomato by *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *IOBC WPRS Bulletin*, 24, 259-264.
- Cotes, A. M. (1993). *Study of common bean protection against damping-off by treatment of seeds with Trichoderma koningii Oudemans* (tesis de grado). Universidad de Gembloux, Gembloux, Bélgica.
- Cotes, A. M. (2011). Registry and regulation of biocontrol agents on food commodities in South America. *Acta Horticulturae*, 905, 301-306. doi:10.17660/ActaHortic.2011.905.33.
- Cotes, A. M., Lepoivre, P., & Semal, J. (1996). Correlation between hydrolytic enzyme activities measured in bean seedlings after *Trichoderma koningii* treatment combined with pregermination and the protective effect against *Pythium splendens*. *European Journal of Plant Pathology*, 102(5), 497-506. doi:10.1007/BF01877144.
- Cotes, A. M., Thonart, P., & Lepoivre, P. (1994). Relationship between the protective activities of several strains of *Trichoderma* against damping-off agents and their ability to produce hydrolytic enzymes activities in soil or in synthetic media. *Mededelingen van de Faculteit landbouwwetenschappen - Rijksuniversiteit Gent*, 59, 931-941.
- Couillerot, O., Prigent-Combaret, C., Caballero-Mellado, J., & Moënne-Loccoz, Y. (2009). *Pseudomonas fluorescens* and closely-related fluorescent pseudomonads as biocontrol agents of soil-borne phytopathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 48(5), 505-512. doi:10.1111/j.1472-765X.2009.02566.x.
- Czarnes, S., Hallett, P. D., Bengough, A. G., & Young, I. M. (2000). Root- and microbial-derived mucilages affect soil structure and water transport. *European Journal of Soil Science*, 51(3), 435-443. doi:10.1046/j.1365-2389.2000.00327.x.
- Darrah, P. R. (1993). The rhizosphere and plant nutrition: a quantitative approach. *Plant and Soil*, 155(1), 1-20. doi:10.1007/bf00024980.
- Davis, R. M. (2001). *Plagas y enfermedades de la lechuga*. Madrid, España: Mundi-Prensa.
- De Weger, L. A., Van der Bij, A. J., Dekkers, L. C., Simons, M., Wijffelman, C. A., & Lugtenberg, B. J. J. (1995). Colonization of the rhizosphere of crop plants by plant-beneficial pseudomonads. *FEMS Microbiology Ecology*, 17(4), 221-227. doi:10.1111/j.1574-6941.1995.tb00146.x.

- Debois, D., Fernandez, O., Franzil, L., Jourdan, E., de Brogniez, A., Willems, L., ... Ongena, M. (2015). Plant polysaccharides initiate underground crosstalk with bacilli by inducing synthesis of the immunogenic lipopeptide surfactin. *Environmental Microbiology Reports*, 7(3), 570-582. doi:10.1111/1758-2229.12286.
- Debois, D., Jourdan, E., Smargiasso, N., Thonart, P., De Pauw, E., & Ongena, M. (2014). Spatiotemporal monitoring of the anti-biome secreted by *Bacillus* biofilms on plant roots using MALDI mass spectrometry imaging. *Analytical Chemistry*, 86(9), 4431-4438. doi:10.1021/ac500290s.
- Degenkolb, T., Fog Nielsen, K., Dieckmann, R., Branco-Rocha, F., Chaverri, P., Samuels Gary, J., ... Brückner, H. (2015). Peptaibol, secondary-metabolite, and hydrophobin pattern of commercial biocontrol agents formulated with species of the *Trichoderma harzianum* complex. *Chemistry and Biodiversity*, 12(4), 662-684. doi:10.1002/cbdv.201400300.
- Delgado-Sánchez, P., Ortega-Amaro, M. A., Jiménez-Bremont, J. F., & Flores, J. (2010). Are fungi important for breaking seed dormancy in desert species? Experimental evidence in *Opuntia streptacantha* (Cactaceae). *Plant Biology*, 13(1), 154-159. doi:10.1111/j.1438-8677.2010.00333.x.
- DeZwaan, T. M., Carroll, A. M., Valent, B., & Sweigard, J. A. (1999). *Magnaporthe grisea* Pth11p is a novel plasma membrane protein that mediates appressorium differentiation in response to inductive substrate cues. *The Plant Cell*, 11(10), 2013-2030. doi:10.1105/tpc.11.10.2013.
- Di Pietro, A., Lorito, M., Hayes, C., Broadway, R., & Harman, G. (1993). Endochitinase from *Gliocladium virens*: isolation, characterization, and synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. *Phytopathology*, 83(3), 308-313.
- Dijksterhuis, J., Veenhuis, M., Harder, W., & Nordbring-Hertz, B. (1994). *Nematophagous fungi*: Physiological aspects and structure-function relationships. *Advances in Microbial Physiology*, 36, 111-143. doi:10.1016/S0065-2911(08)60178-2.
- Ding, Z., Li, M., Sun, F., Xi, P., Sun, L., Zhang, L., & Jiang, Z. (2015). Mitogen-activated protein kinases are associated with the regulation of physiological traits and virulence in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *PLoS One*, 10(4), e0122634. doi:10.1371/journal.pone.0122634.
- Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T. H. (1980). *Compendium of soil fungi* (Vol. 1). Londres, Reino Unido: Academic Press.
- Druzhinina, I. S., & Kubicek, C. P. (2014). Ecological genomics of *Trichoderma*. En F. Martin (Ed.), *The ecological genomics of fungi* (pp. 89-116). Hoboken, EE.UU.: Wiley Blackwell. doi:10.1002/9781118735893.ch5.
- Druzhinina, I. S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B. A., Kenerley, C. M., Monte, E., ... Kubicek, C. P. (2011). *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology*, 9(10), 749. doi:10.1038/nrmicro2637.
- Egamberdieva, D. (2016). *Bacillus* spp.: A potential plant growth stimulator and biocontrol agent under hostile environmental conditions. En M. T. Islam, M. Rahman, P. Pandey, C. K. Jha, & A. Aeron (Eds.), *Bacilli and agrobiotechnology* (pp. 91-111). Cham, Suiza: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-44409-3_5.
- Elad, Y., Chet, I., & Henis, Y. (1982a). Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Canadian journal of microbiology*, 28(7), 719-725. doi:10.1139/m82-110.
- Elad, Y., Kalfon, A., & Chet, I. (1982b). Control of *Rhizoctonia solani* in cotton by seed-coating with *Trichoderma* spp. spores. *Plant Soil*, 66(2), 279-281. doi:10.1007/bf02183987.
- Emmert, E. A. B. & Handelsman, J. (2006). Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiology Letters*, 171(1), 1-9. doi:10.1111/j.1574-6968.1999.tb13405.x.
- Environmental Protection Agency (EPA). (1999a). *Bacillus subtilis* GBO3 (129068) Fact Sheet. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-129068_01-Nov-99.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA). (1999b). *Bacillus subtilis* MBI 600 (129082) Fact Sheet. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-129082_01-Nov-99.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2000). *Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens* strain FZB24 (006480) Fact Sheet. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-006480_01-May-00.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2001a). *Pseudomonas chlororaphis* strain 63-28 (006478) Fact sheet. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-006478_01-Apr-01.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2001b). *Bacillus licheniformis* strain SB3086 (PC Code 006492). Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-006492_1-Feb-01.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2002). *Gliocladium catenulatum* strain J1446 (PC Code 021009). Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-021009_12-Nov-02.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2004). *Bacillus pumilus* strain QST 2808 (PC Code 006485). Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-006485_16-Nov-04.pdf.

- Environmental Protection Agency (EPA). (2005). *Streptomyces lydicus strain WYEC108* (PC Code 006327). Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-006327_15-Feb-05.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2006). *Bacillus subtilis strain QST 713* (PC Code 006479). Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-006479_9-Aug-06.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2010a). *Trichoderma asperellum strain ICC 012* PC Code: 119208. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-119208_4-Mar-10.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2010b). *Trichoderma gamsii strain ICC 080* PC Code: 119207. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-119207_4-Mar-10.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2010c). *Trichoderma hamatum isolate 382*. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-119205_13-Jul-10.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2010d). *Streptomyces Strain K61 proposed registration review decision*. Recuperado de <https://www.regulations.gov/document?D=EPA-HQ-OPP-2009-0509-0005>.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2011a). *Trichoderma asperellum strain T34* PC Code: 119209. Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-119209_14-Oct-11.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2011b). *Bacillus amyloliquefaciens strain D747 Pesticide chemical* (PC Code: 016482). Recuperado de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-016482_08-Dec-11.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2016). *Pesticide product registration; receipt of applications for new active ingredients*. Recuperado de <https://www.federalregister.gov/documents/2016/05/25/2016-12359/pesticide-product-registration-receipt-of-applications-for-new-active-ingredients>.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2017). *Pesticides*. Recuperado de <https://www.epa.gov/pesticides>.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2018). *Biopesticide active ingredients and products containing them*. Recuperado de http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/product_lists.
- Errampalli, D., Peters, R. D., MacIsaac, K., Darrach, D., & Boswall, P. (2006). Effect of a combination of chlorine dioxide and thiophanate-methyl pre-planting seed tuber treatment on the control of black scurf of potatoes. *Crop Protection*, 25(12), 1231-1237. doi:10.1016/j.cropro.2006.03.002.
- European Commission (EU). (2017). *Health and food safety*. Recuperado de <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=EN>.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2012a). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Pseudomonas* sp. strain DSMZ 13134. *EFSA Journal*, 10(12), 2954. doi:10.2903/j.efsa.2012.2954.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2012b). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Trichoderma asperellum* strain T34. *EFSA Journal*, 10(5), 2666. doi:10.2903/j.efsa.2012.4668.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2013a). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Streptomyces lydicus* WYEC 108. *EFSA Journal*, 11(11), 3425. doi:10.2903/j.efsa.2013.3425.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2013b). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Streptomyces* K61 (formerly *Streptomyces griseoviridis*). *EFSA Journal*, 11(1), 3061. doi:10.2903/j.efsa.2013.3061.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2013c). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Trichoderma asperellum* strains ICC012, T25 and TV1. *EFSA Journal*, 11(1), 3036. doi:10.2903/j.efsa.2013.3036.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2013d). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Trichoderma gamsii* ICC080. *EFSA Journal*, 11(1), 3062. doi:10.2903/j.efsa.2013.3062.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2013e). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Trichoderma harzianum* Rifai strains T-22 and ITEM-908. *EFSA Journal*, 11(10), 3055. doi:10.2903/j.efsa.2013.3055.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2014a). *Streptomyces lydicus strain WYEC 108 SANCO/11427/2014*. Recuperado de <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=2256>.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2014b). *Trichoderma asperellum (formerly T. harzianum) ICC012 SANCO/1842/08*. Recuperado de <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1979>.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2016). *Bacillus amyloliquefaciens strain MBI 600 SANTE/10008/2016*.

- Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=active_substance.detail&language=EN&selectedID=2325.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2017a). *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB24 SANTE/12037/2016. Recuperado de http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=active_substance.detail&language=EN&selectedID=2324.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2017b). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Clonostachys rosea* strain J1446 (approved in Regulation (EU) No 540/2011 as *Gliocladium catenulatum* strain J1446). *EFSA Journal*, 15(7), 4905. doi:10.2903/j.efsa.2017.4905.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2017c). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Pseudomonas chlororaphis* strain MA 342. *EFSA Journal*, 15(1), 4668. doi:10.2903/j.efsa.2017.4668.
- Faure, D., Vereecke, D., & Leveau, J. H. J. (2009). Molecular communication in the rhizosphere. *Plant and Soil*, 321(1-2), 279-303. doi:10.1007/s11104-008-9839-2.
- Ferreira, S. A., & Boley, R. A. (1992). *Sclerotinia sclerotiorum*. Recuperado de http://www.extento.hawaii.edu/KBASE/crop/type/s_scler.htm.
- Ferrucho, R. L., Cifuentes, J. M., Ceresini, P., & García-Domínguez, C. (2012). *Rhizoctonia solani* AG-3PT is the major pathogen associated with potato stem canker and black scurf in Colombia. *Agronomía Colombiana*, 30(2), 204-213.
- Flores, A., Chet, I., & Herrera-Estrella, A. (1997). Improved biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* by over-expression of the proteinase-encoding gene *prb1*. *Current Genetics*, 31(1), 30-37. doi:10.1007/s002940050173.
- Foley, M. F., & Deacon, J. W. (1985). Isolation of *Pythium oligandrum* and other necrotrophic mycoparasites from soil. *Transactions of the British Mycological Society*, 85(4), 631-639. doi:10.1016/S0007-1536(85)80257-6.
- Fravel, D. (1999). *Commercial biocontrol products for use against soilborne crop diseases*. Recuperado de <http://www.barc.usda.gov/psi/bpdl/bpdlprod/bioprod.html>.
- Fravel, D. R. (2005). Commercialization and implementation of biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, 43, 337-359. doi:10.1146/annurev.phyto.43.032904.092924.
- Frey, P., Prior, P., Marie, C., Kotoujansky, A., Trigalet-Demery, D., & Trigalet, A. (1994). Hrp- Mutants of *Pseudomonas solanacearum* as potential biocontrol agents of tomato bacterial wilt. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(9), 3175-3181.
- Friedl, M. A., & Druzhinina, I. S. (2012). Taxon-specific metagenomics of *Trichoderma* reveals a narrow community of opportunistic species that regulate each other's development. *Microbiology*, 158(Pt. 1), 69-83. doi:10.1099/mic.0.052555-0.
- García, A. M. (2017). *Inicia investigación oficial sobre Dumping en importaciones de papa congelada*. Recuperado de <http://fedepapa.com/inicia-investigacion-oficial-sobre-dumping-en-importaciones-de-papa-congelada-2-2/>.
- García, M., Santos, A., García, A., Villamizar, L., & Cotes, A. M. (2010). Compatibilidad de *Trichoderma koningiopsis* Th003 con plaguicidas químicos. En C. A. Moreno-Velandia, & A. M. Cotes (Eds.), *Desarrollo de un bioplaguicida a base de Trichoderma koningiopsis Th003 y uso en el cultivo de lechuga para el control del moho blanco (Sclerotinia sclerotiorum y Sclerotinia minor)* (pp. 55-60). Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Gerbore, J., Benhamou, N., Vallance, J., Le Floch, G., Grizard, D., Regnault-Roger, C., & Rey, P. (2014). Biological control of plant pathogens: advantages and limitations seen through the case study of *Pythium oligandrum*. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(7), 4847-4860. doi:10.1007/s11356-013-1807-6.
- Giczey, G., Kerényi, Z., Fülöp, L., & Hornok, L. (2001). Expression of *cmg1*, an exo- β -1,3-glucanase gene from *Coniothyrium minitans*, increases during sclerotial parasitism. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(2), 865-871. doi:10.1128/aem.67.2.865-871.2001.
- Gong, X., Fu, Y., Jiang, D., Li, G., Yi, X., & Peng, Y. (2007). l-Arginine is essential for conidiation in the filamentous fungus *Coniothyrium minitans*. *Fungal Genetics and Biology*, 44(12), 1368-1379. doi:10.1016/j.fgb.2007.07.007.
- Gordon, T. R., & Martyn, R. D. (1997). The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology*, 35, 111-128. doi:10.1146/annurev.phyto.35.1.111.
- Gorgen, C. A., Da Silveira Neto, A. N., Carneiro, L. C., Ragagnin, V., & Junior, M. L. (2010). Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(12), 1583-1590. doi:10.1590/S0100-204X2009001200004.
- Government Publishing Office (GPO). (2016). *Federal register*. Recuperado de <https://www.federalregister.gov/agencies/government-publishing-office>.
- Grady, E. N., MacDonald, J., Liu, L., Richman, A., & Yuan, Z.-C. (2016). Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. *Microbial Cell Factories*, 15(1), 203. doi:10.1186/s12934-016-0603-7.
- Grayston, S. J., & Campbell, C. D. (1996). Functional biodiversity of microbial communities in the rhizospheres of hybrid larch (*Larix eurolepis*) and Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree physiology*, 16(11-12), 1031-1038. doi:10.1093/treephys/16.11-12.1031.
- Grossbard, E. (1945). Control of plant diseases by microbial antagonism. *Rep. exp. Res. Sta. Cheshunt*, 31, 55.
- Grossbard, E. (1946). The control of plant diseases by microbial antagonism. *Rep. exp. Res. Sta. Cheshunt*, 32, 41.
- Grossbard, E. (1947). The control of plant diseases by microbial antagonism. *Rep. exp. Res. Sta. Cheshunt*, 33, 29.

- Grossbard, E. (1948a). Investigations on microbial antagonism and antibiotic substances. *Rep. exp. Res. Sta. Cheshunt*, 34, 37.
- Grossbard, E. (1948b). Production of an antibiotic substance on wheat straw and other organic materials and in soil. *Nature*, 161(4094), 614. doi:10.1038/161614a0.
- Grossbard, E. (1949). Investigations on microbial antagonism and antibiotic substances. *Rep. exp. Res. Sta. Cheshunt*, 35, 38.
- Grossbard, E. (1952). Antibiotic production by fungi on organic manures and in soil. *Journal of General Microbiology*, 6(3-4), 295-310. doi:10.1099/00221287-6-3-4-295.
- Haas, D., & Défago, G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent Pseudomonads. *Nature Reviews. Microbiology*, 3(4), 307. doi:10.1038/nrmicro1129.
- Hadar, Y., Harman, G., & Taylor, A. (1984). Evaluation of *Trichoderma koningii* and *T. harzianum* from New York soils for biological control of seed rot caused by *Pythium* spp. *Phytopathology*, 74(1), 106-110. doi:10.1094/Phyto-74-106.
- Haichar, F. Z., Marol, C., Berge, O., Rangel-Castro, J. I., Prosser, J. I., Balesdent, J., ... Achouak, W. (2008). Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. *The Isme Journal*, 2(12), 1221. doi:10.1038/ismej.2008.80.
- Han, Q., Wu, F., Wang, X., Qi, H., Shi, L., Ren, A., ... Tang, C. (2015). The bacterial lipopeptide iturins induce *Verticillium dahliae* cell death by affecting fungal signalling pathways and mediate plant defence responses involved in pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity. *Environmental Microbiology*, 17(4), 1166-1188. doi:10.1111/1462-2920.12538.
- Hanson, L. E., & Howell, C. R. (2004). Elicitors of plant defense responses from biocontrol strains of *Trichoderma virens*. *Phytopathology*, 94(2), 171-176. doi:10.1094/PHYTO.2004.94.2.171.
- Harman, G., Chet, I., & Baker, R. (1980). *Trichoderma hamatum* effects on seed and seedling disease induced in radish and pea by *Pythium* spp. or *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 70(12), 1167-1172. doi:10.1094/Phyto-70-1167.
- Harman, G. E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, 84(4), 377-393. doi:10.1094/PDIS.2000.84.4.377.
- Harman, G. E., Chet, I., & Baker, R. (1981). Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seeds as a biocontrol agent. *Phytopathology*, 71(6), 569-572. doi:10.1094/Phyto-71-569.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species — opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews. Microbiology*, 2(1), 43. doi:10.1038/nrmicro797.
- Hartley, C. (1921). *Damping-off in forest nurseries* (Vol. 934). Washington, EE. UU.: US Department of Agriculture.
- Hartmann, A., Rothballer, M., & Schmid, M. (2008). Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant and Soil*, 312(1), 7-14. doi:10.1007/s11104-007-9514-z.
- Henry, A. W. (1931). The natural microflora of the soil in relation to the foot-rot problem of wheat. *Canadian Journal of Research*, 4(1), 69-77. doi:10.1139/cjr31-006.
- Henry, G., Deleu, M., Jourdan, E., Thonart, P., & Ongena, M. (2011). The bacterial lipopeptide surfactin targets the lipid fraction of the plant plasma membrane to trigger immune-related defence responses. *Cellular Microbiology*, 13(11), 1824-1837. doi:10.1111/j.1462-5822.2011.01664.x.
- Hermosa, R., Cardoza, R. E., Rubio, M. B., Gutiérrez, S., & Monte, E. (2014). Chapter 10 - Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. En M. S. Herrera- Estrella, R. S. U. Druzhinina, & M. G. Tuohy (Eds.), *Biotechnology and biology of Trichoderma* (pp. 125-137). Amsterdam, Holanda: Elsevier. doi:10.1016/B978-0-444-59576-8.00010-2.
- Hiltner, L. (1904). Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. *Arbeiten der Deutschen Landwirtschafts Gesellschaft*, 98, 59-78.
- Hinsinger, P. (1998). How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. *Advances in Agronomy*, 64, 225-265.
- Hinsinger, P. (2001). Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil*, 237(2), 173-195. doi:10.1023/a:1013351617532.
- Hinsinger, P., Gobran, G. R., Gregory, P. J., & Wenzel, W. W. (2005). Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. *The New Phytologist*, 168(2), 293-303. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01512.x.
- Hinsinger, P., Plassard, C., & Jaillard, B. (2006). Rhizosphere: A new frontier for soil biogeochemistry. *Journal of Geochemical Exploration*, 88(1-3), 210-213. doi:10.1016/j.gexplo.2005.08.041.
- Hinsinger, P., Plassard, C., Tang, C., & Jaillard, B. (2003). Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. *Plant and Soil*, 248(1), 43-59. doi:10.1023/a:1022371130939.
- Hoitink, H., & Boehm, M. (1999). Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. *Annual Review of Phytopathology*, 37, 427-446. doi:10.1146/annurev.phyto.37.1.427.
- Hoitink, H. A. J., Madden, L. V., & Dorrance, A. E. (2006). Systemic resistance induced by *Trichoderma* spp.: Interactions between the host, the pathogen, the biocontrol agent, and soil organic matter quality. *Phytopathology*, 96(2), 186-189. doi:10.1094/PHYTO-96-0186.

- Hornby, D. (1983). Suppressive soils. *Annual Review of Phytopathology*, 21(1), 65-85. doi:10.1146/annurev.py.21.090183.000433.
- Howell, C. (1982). Effect of *Gliocladium virens* on *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, and damping-off of cotton seedlings. *Phytopathology*, 72(5), 496-498. doi:10.1094/Phyto-72-496.
- Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87(1), 4-10. doi:10.1094/PDIS.2003.87.1.4.
- Howell, C. R. (2006). Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. *Phytopathology*, 96(2), 178-180. doi:10.1094/PHYTO-96-0178.
- Howell, C. R., & Puckhaber, L. S. (2005). A study of the characteristics of "P" and "Q" strains of *Trichoderma virens* to account for differences in biological control efficacy against cotton seedling diseases. *Biological Control*, 33(2), 217-222. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.02.003.
- Hoyos, L., Galvis, F., & Rodríguez, D. (2012). Aislamientos nativos y foráneos de *Trichoderma* para el control de Rizoctonias en papa criolla. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 29(1), 5-15.
- Humphris, S. N., Bengough, A. G., Griffiths, B. S., Kilham, K., Rodger, S., Stubbs, V., ... Young, I. M. (2005). Root cap influences root colonisation by *Pseudomonas fluorescens* SBW25 on maize. *FEMS Microbiology Ecology*, 54(1), 123-130. doi:10.1016/j.femsec.2005.03.005.
- Hutchinson, C. M. (1999). *Trichoderma virens*-Inoculated composted chicken manure for biological weed control. *Biological Control*, 16(2), 217-222. doi:10.1006/bcon.1999.0759.
- Ihrmark, K., Asmail, N., Ubhayasekera, W., Melin, P., Stenlid, J., & Karlsson, M. (2010). Comparative molecular evolution of *Trichoderma* chitinases in response to mycoparasitic interactions. *Evolutionary Bioinformatics*, 6, EBO.S4198. doi:10.4137/EBO.S4198.
- Ikeda, S., Shimizu, A., Shimizu, M., Takahashi, H., & Takenaka, S. (2012). Biocontrol of black scurf on potato by seed tuber treatment with *Pythium oligandrum*. *Biological Control*, 60(3), 297-304. doi:10.1016/j.biocontrol.2011.10.016.
- Inbar, J., & Chet, I. (1996). The role of lectins in recognition and adhesion of the mycoparasitic fungus *Trichoderma* spp. To its host. En I. Kahane, & I. Ofek (Eds.), *Toward anti-adhesion therapy for microbial diseases* (pp. 229-231). Boston, EE. UU.: Springer us. doi:10.1007/978-1-4613-0415-9_27.
- Inderbitzin, P., Bostock, R. M., Davis, R. M., Usami, T., Platt, H. W., & Subbarao, K. V. (2011). Phylogenetics and taxonomy of the fungal vascular wilt pathogen *Verticillium*, with the descriptions of five new species. *PLoS One*, 6(12), e28341. doi:10.1371/journal.pone.0028341.
- Inès, M., & Dhouha, G. (2015). Lipopeptide surfactants: Production, recovery and pore forming capacity. *Peptides*, 71, 100-112. doi:10.1016/j.peptides.2015.07.006.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). (2016). *Levantamento sistemático da produção agrícola - LSPA*. Recuperado de <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistemático-da-produção-agrícola.html?=&t=o-que-e>.
- Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2018a). *Productos registrados bioinsumos abril de 2018*. Recuperado de <http://www.ica.gov.co/getdoc/2ad9e987-8f69-4358-b8a9-e6ee6dcc8132/PRODUCTOSBIOINSUMOS-MAYO-13-DE-2008.aspx>.
- Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). (2018b). *Empresas registradas bioinsumos - abril de 2018*. Recuperado de <http://www.ica.gov.co/Areas/Agricola/Servicios/Fertilizantes-y-Bio-insumos-Agrícolas/Listado-de-Bioinsumos/2009/EMPRESAS-REGISTRADAS-BIOINSUMOS-JULIO-8-DE-2008.aspx>.
- Iriarte, F. B., Obradović, A., Wernsing, M. H., Jackson, L. E., Balogh, B., Hong, J. A., ... Vallad, G. E. (2012). Soil-based systemic delivery and phyllosphere *in vivo* propagation of bacteriophages. *Bacteriophage*, 2(4) 215-224. doi:10.4161/bact.23530.
- Jacqmin, B., Cotes, A., Lepoivre, P., & Semal, J. (1993). Effect of the combination of seed priming and *Trichoderma* treatment on incidence of damping-off agents. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen (Rijksuniversiteit te Gent)*, 58(3b), 1321-1328.
- Jagnow, G., Höflich, G., & Hoffmann, K.-H. (1991). Inoculation of non-symbiotic rhizosphere bacteria: possibilities of increasing and stabilizing yields. *Journal of applied botany = Angewandte Botanik*, 65(26), 97-126.
- Jaklitsch, W. M. (2011). European species of *Hypocrea* part II: species with hyaline ascospores. *Fungal Diversity*, 48(1), 1-250. doi:10.1007/s13225-011-0088-y.
- Javaid, A., & Ali, S. (2011). Herbicidal activity of culture filtrates of *Trichoderma* spp. against two problematic weeds of wheat. *Natural Product Research*, 25(7), 730-740. doi:10.1080/14786419.2010.528757.
- Ji, P., Campbell, H. L., Kloepper, J. W., Jones, J. B., Suslow, T. V., & Wilson, M. (2006). Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. *Biological Control*, 36(3), 358-367. doi:10.1016/j.biocontrol.2005.09.003.
- Jones, D. L., Hodge, A., & Kuzyakov, Y. (2004). Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. *New Phytologist*, 163(3), 459-480. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01130.x.
- Jones, R. W., & Hancock, J. G. (1987). Conversion of viridin to viridiol by viridin-producing fungi. *Canadian Journal of Microbiology*, 33(11), 963-966. doi:10.1139/m87-169.

- Lynch, J. M. (1990). Introduction: some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil. En *The rhizosphere* (pp. 1-10). Chichester, Inglaterra: John Wiley and Sons Ltd.
- Ma, Z., Hua, G. K. H., Ongena, M., & Höfte, M. (2016). Role of phenazines and cyclic lipopeptides produced by *Pseudomonas* sp. CMR12a in induced systemic resistance on rice and bean. *Environmental Microbiology Reports*, 8(5), 896-904. doi:10.1111/1758-2229.12454.
- Maget-Dana, R., & Peypoux, F. (1994). Iturins, a special class of pore-forming lipopeptides: biological and physicochemical properties. *Toxicology*, 87(1-3), 151-174. doi:10.1016/0300-483X(94)90159-7.
- Malamud, O. S. (1989). Research progress on *Verticillium dahliae* Kleb. En Centro Internacional de la Papa (CIP), *Fungal Diseases of the Potato. Report of planning conference on fungal diseases of the potato* (pp. 139-157). Lima, Perú: CIP.
- Malfanova, N., Franzil, L., Lugtenberg, B., Chebotar, V., & Ongena, M. (2012). Cyclic lipopeptide profile of the plant-beneficial endophytic bacterium *Bacillus subtilis* HC8. *Archives of Microbiology*, 194(11), 893-899. doi:10.1007/s00203-012-0823-0.
- Maloy, O. C., & Lang, K. J. (2003). Carl Freiherr Von Tubeuf: Pioneer in biological control of plant diseases. *Annual Review of Phytopathology*, 41(1), 41-52. doi:10.1146/annurev.phyto.41.052002.095444.
- Mallmann, W., & Hemstreet, C. (1924). Isolation of an inhibitory substance from plants. *Agricultural Research*, 28(6), 599-602.
- Mandimba, G., Heulin, T., Bally, R., Guckert, A., & Balandreau, J. (1986). Chemotaxis of free-living nitrogen-fixing bacteria towards maize mucilage. *Plant and Soil*, 90(1-3), 129-139. doi:10.1007/bf02277392.
- Marcum, D. B., Grogan, R. G., & Greathead, A. S. (1977). Fungicide control of lettuce drop caused by *Sclerotinia sclerotiorum* 'minor'. *Plant Disease Reporter*, 61, 555-559.
- Marschner, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants* (2.^a ed.). Londres, Reino Unido: Academic Press. doi:10.1111/j.1365-3040.1988.tb01130.x.
- Marshall, D. (1982). Effect of *Trichoderma harzianum* seed treatment and *Rhizoctonia solani* inoculum concentration on damping-off of snap bean in acidic soils. *Plant Disease*, 66(9), 788-789. doi:10.1094/PD-66-788.
- Martin, F., & Hancock, J. (1986). Association of chemical and biological factors in soils suppressive to *Pythium ultimum*. *Phytopathology*, 76(11), 1221-1231. doi:10.1094/Phyto-76-1221.
- Mastouri, F., Björkman, T., & Harman, G. E. (2010). Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. *Phytopathology*, 100(11), 1213-1221. doi:10.1094/PHYTO-03-10-0091.
- Mavrodi, D. V., Parejko, J. A., Mavrodi, O. V., Kwak, Y.-S., Weller, D. M., Blankenfeldt, W., & Thomashow, L. S. (2013). Recent insights into the diversity, frequency and ecological roles of phenazines in fluorescent *Pseudomonas* spp. *Environmental Microbiology*, 15(3), 675-686. doi:10.1111/j.1462-2920.2012.02846.x.
- Mazzola, M. (1998). The potential of natural and genetically engineered fluorescent *Pseudomonas* spp. as biological control agents. En N. S. Subba & Y. R. Dommergues (Eds.), *Microbial Interactions in agriculture and forestry* (Vol. 1, pp. 193-217). Enfield, EE. UU.: Science Publishers, Inc.
- McClure, T. T. (1951). *Fusarium* foot rot of sweet potato sprouts. *Phytopathology*, 41, 72-77.
- McKinney, H. H. (1929). Mosaic diseases in the Canary Islands, West Africa and Gibraltar. *Journal of Agricultural Research*, 39(8), 577-578.
- McQuilken, M. P., Gemmell, J., Hill, R. A., & Whipps, J. M. (2003). Production of macrosphelide A by the mycoparasite *Coniothyrium minitans*. *FEMS Microbiology Letters*, 219(1), 27-31. doi:10.1016/S0378-1097(02)01180-1.
- Mendes, R., Kruijt, M., de Bruijn, I., Dekkers, E., Van der Voort, M., Schneider, J. H., ... Raaijmakers, J. M. (2011). Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science*, 332(6033), 1097-1100. doi:10.1126/science.1203980.
- Mendgen, K., Hahn, M., & Deising, H. (1996). Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*, 34(1), 367-386. doi:10.1146/annurev.phyto.34.1.367.
- Menzies, J. D. (1959). Occurrence and transfer of a biological factor in soil that suppresses potato scab. *Phytopathology*, 49, 648-652.
- Meyer, M., Campos, H., Godoy, C., & Utiama, C. (2016). Ensaios cooperativos de controle biológico de mofo branco na cultura da soja - safras 2012 a 2015. *Documentos*, 368, 19-46. doi:10.13140/RG.2.1.3074.9842.
- Meyer, M., Campos, H., Godoy, C., Utiama, C., Silva, L. H. C. P., Goussain, M., ... Juliatti, F. C. (2017). Ensaios cooperativos de controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja: resultados sumarizados da safra 2015/2016. *Circular Técnica*, 124, 1-5.
- Meyer, M. C., Campos, H. D., Godoy, C. V., & Utiama, C. M. (2014). Ensaios cooperativos de controle químico de mofo branco na cultura da soja: safras 2009 a 2012. *Documentos*, 345, 1-101.
- Meyer, M. C., Campos, H. D., Henning, A. A., Machado, A. Q., Utiama, C. M., Pimenta, C. B., ... Venancio, W. S. (2015). Eficiência de fungicidas para controle de mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2009/2010 – resultados sumarizados e individuais dos ensaios cooperativos. *Circular Técnica*, 109, 1-24.
- Mezui, J. C., Cotes, A. M., Lepoivre, P., & Semal, J. (1994). Evaluation of seed priming and *Trichoderma* treatment for the biological control of damping-off agents. En

- Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) (Ed.), *Diseases and insects in forest nurseries* (Vol. 68, pp. 189-196). Dijon, Francia: INRA.
- Millard, W. A., & Taylor, C. B. (1927). Antagonism of microorganisms as the controlling factor in the: Inhibition of scab by green-manuring. *Annals of Applied Biology*, 14(2), 202-216. doi:10.1111/j.1744-7348.1927.tb07076.x.
- Mohamed, N., Lherminier, J., Farmer, M. J., Fromentin, J., Béno, N., Houot, V., ... Blein, J. P. (2007). Defense responses in grapevine leaves against *Botrytis cinerea* induced by application of a *Pythium oligandrum* strain or its elicitor, oligandrin, to roots. *Phytopathology*, 97(5), 611-620. doi:10.1094/PHYTO-97-5-0611.
- Monaci, L., Quintieri, L., Caputo, L., Visconti, A., & Baruzzi, F. (2016). Rapid profiling of antimicrobial compounds characterising *B. subtilis* TR50 cell-free filtrate by high-performance liquid chromatography coupled to high-resolution Orbitrap™ mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 30(1), 45-53. doi:10.1002/rcm.7408.
- Mongkolthananuk, W. (2012). Classification of *Bacillus* beneficial substances related to plants, humans and animals. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(12), 1597-1604.
- Monteiro, F. P., Ferreira, L. C., Pacheco, L. P., & Souza, P. E. (2013). Antagonism of *Bacillus subtilis* against *Sclerotinia sclerotiorum* on *Lactuca sativa*. *Journal of Agricultural Science*, 5(4), 214-223. doi:10.5539/jas.v5n4p214.
- Montero, M., Sanz, L., Rey, M., Llobell, A., & Monte, E. (2007). Cloning and characterization of *bgn16-3*, coding for a β -1,6-glucanase expressed during *Trichoderma harzianum* mycoparasitism. *Journal of Applied Microbiology*, 103(4), 1291-1300. doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03371.x.
- Moore, E. S. (1926). D'Herelle's bacteriophage in relation to plant parasites. *South African Journal of Science*, 23(12), 306.
- Moreno-Velandia, C. A. (2017). *Interactions between Bacillus amyloliquefaciens Bs006, Fusarium oxysporum Map5 and cape gooseberry (Physalis peruviana)* (tesis doctoral). Universidad Nacional, Bogotá, Colombia.
- Moreno, C., Castillo, F., González, A., Bernal, D., Jaimes, Y., Chaparro, M., ... Cotes, A. (2009). Biological and molecular characterization of the response of tomato plants treated with *Trichoderma koningiopsis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 74(2), 111-120. doi:10.1016/j.pmp.2009.10.001.
- Moreno, C. A., Cotes, A. M., Smith, A., Beltrán, C., Villamizar, L., Gómez, M., ... Santos, A. (2010). *Desarrollo de un bioplaguicida a base de Trichoderma koningiopsis Th003 y uso en el cultivo de lechuga para el control del moho blanco Sclerotinia sclerotiorum y Sclerotinia minor*. Bogotá, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Moszczyńska, E., Pytlarz-Kozicka, M., & Grzeszczuk, J. (2015). The impact of applying biological treatment on the infection of potato tubers by the fungus *Rhizoctonia solani* and the bacterium *Streptomyces scabiei*. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 60(4), 46-50.
- Mukherjee, M., Horwitz, B. A., Sherkhane, P. D., Hadar, R., & Mukherjee, P. K. (2006). A secondary metabolite biosynthesis cluster in *Trichoderma virens*: evidence from analysis of genes underexpressed in a mutant defective in morphogenesis and antibiotic production. *Current Genetics*, 50(3), 193-202. doi:10.1007/s00294-006-0075-0.
- Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., & Kenerley, C. M. (2012). Secondary metabolism in *Trichoderma* – A genomic perspective. *Microbiology*, 158(Pt 1), 35-45. doi:10.1099/mic.0.053629-0.
- Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Singh, U. S., Mukherjee, M., & Schmoll, M. (2013). *Trichoderma* in agriculture, industry and medicine: an overview. En P. K. Mukherjee, B. A. Horwitz, U. Singh, M. Mukherjee, & M. Schmoll (Eds.), *Trichoderma biology and applications* (pp. 1-9). Nagpur, India: CAB International.
- Mukherjee, P. K., Latha, J., Hadar, R., & Horwitz, B. A. (2003). TmkA, a mitogen-activated protein kinase of *Trichoderma virens*, is involved in biocontrol properties and repression of conidiation in the dark. *Eukaryotic Cell*, 2(3), 446-455. doi:10.1128/ec.2.3.446-455.2003.
- Nihorimbera, V., Cawoy, H., Seyer, A., Brunelle, A., Thonart, P., & Ongena, M. (2012). Impact of rhizosphere factors on cyclic lipopeptide signature from the plant beneficial strain *Bacillus amyloliquefaciens* S499. *FEMS Microbiology Ecology*, 79(1), 176-191. doi:10.1111/j.1574-6941.2011.01208.x.
- Nogués, S., Cotxarrera, L., Alegre, L., & Trillas, M. I. (2002). Limitations to photosynthesis in tomato leaves induced by *Fusarium* wilt. *New Phytologist*, 154(2), 461-470. doi:10.1046/j.1469-8137.2002.00379.x.
- Notenboom, V., Boraston, A. B., Williams, S. J., Kilburn, D. G., & Rose, D. R. (2002). High-resolution crystal structures of the lectin-like xylan binding domain from *Streptomyces lividans* xylanase 10a with bound substrates reveal a novel mode of xylan binding. *Biochemistry*, 41(13), 4246-4254. doi:10.1021/bi015865j.
- Ogoshi, A. (1987). Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Annual Review of Phytopathology*, 25(1), 125-143. doi:10.1146/annurev.py.25.090187.001013.
- Omann, M., & Zeilinger, S. (2010). How a mycoparasite employs G-protein signaling: Using the example of *Trichoderma*. *Journal of Signal Transduction*, 2010, 123-126. doi:10.1155/2010/123126.
- Omann, M. R., Lehner, S., Escobar Rodríguez, C., Brunner, K., & Zeilinger, S. (2012). The seven-transmembrane receptor Gpr1 governs processes relevant for the antagonistic interaction of *Trichoderma atroviride* with its host. *Microbiology*, 158(Pt 1), 107-118. doi:10.1099/mic.0.052035-0.

- Ongena, M., Henry, G., & Thonart, P. (2009). The roles of cyclic lipopeptides in the biocontrol activity of *Bacillus subtilis*. En U. Gisi, I. Chet, & M. L. Gullino (Eds.), *Recent developments in management of plant diseases* (pp. 59-69). Dordrecht, Holanda: Springer. doi:10.1007/978-1-4020-8804-9_5.
- Ongena, M., & Jacques, P. (2008). *Bacillus lipopeptides*: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*, 16(3), 115-125. doi:10.1016/j.tim.2007.12.009.
- Pal, K. K., & Gardener, B. M. (2006). Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor*, 2, 1117-1142. doi:10.1094/PHI-A-2006-1117-02.
- Papapostolou, I., & Georgiou, C. D. (2010). Superoxide radical induces sclerotial differentiation in filamentous phytopathogenic fungi: a superoxide dismutase mimetics study. *Microbiology*, 156(Pt 3), 960-966. doi:10.1099/mic.0.034579-0.
- Papavizas, G., Lewis, J., & Moity, T. (1982). Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology*, 72(1), 126-132.
- Patel, H., Tscheka, C., Edwards, K., Karlsson, G., & Heerklotz, H. (2011). All-or-none membrane permeabilization by fengycin-type lipopeptides from *Bacillus subtilis* QST713. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1808(8), 2000-2008. doi:https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.04.008.
- Pennock, D., & McKenzie, N. (2016). *Estado mundial del recurso suelo*. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i5126s.pdf>.
- Pérez-García, A., Romero, D., & De Vicente, A. (2011). Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture. *Current Opinion in Biotechnology*, 22(2), 187-193. doi:10.1016/j.copbio.2010.12.003.
- Pérez, S. L., Piedrahíta, W., & Arbeláez, G. (2011). Patogénesis de la pudrición blanda de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) en la sabana de Bogotá causada por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary y *Sclerotinia minor* Jagger. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 3(2), 262-274. doi:10.17584/rcch.2009v3i2.1217.
- Pertot, I., Puopolo, G., Hosni, T., Pedrotti, L., Jourdan, E., & Ongena, M. (2013). Limited impact of abiotic stress on surfactin production in planta and on disease resistance induced by *Bacillus amyloliquefaciens* S499 in tomato and bean. *FEMS Microbiology Ecology*, 86(3), 505-519. doi:10.1111/1574-6941.12177.
- Picard, K., Ponchet, M., Blein, J.-P., Rey, P., Tirilly, Y., & Benhamou, N. (2000). Oligandrin. A proteinaceous molecule produced by the mycoparasite *Pythium oligandrum* induces resistance to *Phytophthora parasitica* infection in tomato plants. *Plant Physiology*, 124(1), 379-396. doi:10.1104/pp.124.1.379.
- Pierson, E. A., & Weller, D. M. (1994). Use of mixtures of fluorescent *Pseudomonads* to suppress take-all and improve the growth of wheat. *Phytopathology*, 84(9), 940-947.
- Pieterse, C. M. J., Van Pelt, J. A., Verhagen, B. W., Ton, J., Van Wees, A. C. M., Léon-Kloosterziel, K. M., & Van Loon, L. C. (2003). Induced systemic resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Symbiosis*, 35(1-3), 39-54.
- Pietro, A. D., Madrid, M. P., Caracuel, Z., Delgado-Jarana, J., & Roncero, M. I. G. (2003). *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. *Molecular Plant Pathology*, 4(5), 315-325. doi:10.1046/j.1364-3703.2003.00180.x.
- Purdy, L. H. (1979). *Sclerotinia sclerotiorum*: History, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. *Phytopathology*, 69(8), 875-880. doi:10.1094/Phyto-69-875.
- Raaijmakers, J. M., De Bruijn, I., Nybroe, O., & Ongena, M. (2010). Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(6), 1037-1062. doi:10.1111/j.1574-6976.2010.00221.x.
- Raaijmakers, J. M., Paulitz, T. C., Steinberg, C., Alabouvette, C., & Moëgne-Loccoz, Y. (2009). The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and Soil*, 321(1-2), 341-361. doi:10.1007/s11104-008-9568-6.
- Raaijmakers, J. M., Van der Sluis, L., Bakker, P. A. H. M., Schippers, B., Koster, M., & Weisbeek, P. J. (1995). Utilization of heterologous siderophores and rhizosphere competence of fluorescent *Pseudomonas* spp. *Canadian Journal of Microbiology*, 41(2), 126-135. doi:10.1139/m95-017.
- Raaijmakers, J. M., & Weller, D. M. (1998). Natural plant protection by 2,4-Diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas* spp. in take-all decline soils. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11(2), 144-152. doi:10.1094/MPMI.1998.11.2.144.
- Rahman, M. M. E., Hossain, D. M., Suzuki, K., Shiiya, A., Suzuki, K., Dey, T. K., ... Harada, N. (2016). Suppressive effects of *Bacillus* spp. on mycelia, apothecia and sclerotia formation of *Sclerotinia sclerotiorum* and potential as biological control of white mold on mustard. *Australasian Plant Pathology*, 45(1), 103-117. doi:10.1007/s13313-016-0397-4.
- Ravensberg, W. J. (2015). Commercialisation of microbes: Present situation and future prospects. En: B. Lugtenberg (Ed.), *Principles of plant-microbe interactions: Microbes for sustainable agriculture* (pp. 309-317). Cham, Alemania: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-08575-3_32.
- Reinking, O. A., & Manns, M. M. (1933). Parasitic and other fusaria counted in tropical soils. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 6(1), 23-75. doi:10.1007/bf02121421.
- Reino, J. L., Guerrero, R. F., Hernández-Galán, R., & Collado, I. G. (2008). Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry Reviews*, 7(1), 89-123. doi:10.1007/s11101-006-9032-2.
- Reithner, B., Ibarra-Laclette, E., Mach, R. L., & Herrera-Estrella, A. (2011). Identification of mycoparasitism-related

- genes in *Trichoderma atroviride*. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(13), 4361-4370. doi:10.1128/aem.00129-11.
- Ren, L., Li, G., Han, Y. C., Jiang, D. H., & Huang, H.-C. (2007). Degradation of oxalic acid by *Coniothyrium minitans* and its effects on production and activity of β -1,3-glucanase of this mycoparasite. *Biological Control*, 43(1), 1-11. doi:10.1016/j.biocontrol.2007.06.006.
- Rey, P., Le Floch, G., Benhamou, N., & Tirilly, Y. (2008). *Pythium oligandrum* biocontrol: its relationships with fungi and plants. En E. Ait Barka, & C. Clément (Ed.), *Plant-Microbe Interactions* (pp. 43-57). Kerala, India: Research Signpost.
- Roberts, W. (1873). Studies on biogenesis. *Proceedings of the Royal Society of London*, 22(148-155), 289-291. doi:10.1098/rspl.1873.0045.
- Romão-Dumaresq, A. S., De Araújo, W. L., Talbot, N. J., & Thornton, C. R. (2012). RNA interference of endochitinases in the sugarcane endophyte *Trichoderma virens* 223 reduces its fitness as a biocontrol agent of pineapple disease. *PLoS One*, 7(10), e47888. doi:10.1371/journal.pone.0047888.
- Romero, D., De Vicente, A., Olmos, J. L., Dávila, J. C., & Pérez-García, A. (2007). Effect of lipopeptides of antagonistic strains of *Bacillus subtilis* on the morphology and ultrastructure of the cucurbit fungal pathogen *Podosphaera fusca*. *Journal of Applied Microbiology*, 103(4), 969-976. doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03323.x.
- Rotblat, B., Enshell-Seijffers, D., Gershoni Jonathan, M., Schuster, S., & Avni, A. (2002). Identification of an essential component of the elicitation active site of the EIX protein elicitor. *The Plant Journal*, 32(6), 1049-1055. doi:10.1046/j.1365-313X.2002.01490.x.
- Rovira, A. D. (1956). Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. *Plant and Soil*, 7(2), 178-194. doi:10.1007/BF01343726.
- Ruocco, M., Lanzuise, S., Vinale, F., Marra, R., Turrà, D., Woo, S. L., & Lorito, M. (2009). Identification of a new biocontrol gene in *Trichoderma atroviride*: The role of an ABC transporter membrane pump in the interaction with different plant-pathogenic fungi. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22(3), 291-301. doi:10.1094/MPMI-22-3-0291.
- Ryan, P. R., Delhaize, E., & Jones, D. L. (2001). Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52, 527-560. doi:10.1146/annurev.arplant.52.1.527.
- Ryu, C.-M., Farag, M. A., Hu, C.-H., Reddy, M. S., Wei, H.-X., Paré, P. W., & Kloepper, J. W. (2003). Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(8), 4927-4932. doi:10.1073/pnas.0730845100.
- Sammer, U. F., Reiher, K., Spitteller, D., Wensing, A., & Völksch, B. (2012). Assessment of the relevance of the antibiotic 2-amino-3-(oxirane-2,3-dicarboxamido)-propanoyl-valine from *Pantoea agglomerans* biological control strains against bacterial plant pathogens. *MicrobiologyOpen*, 1(4), 438-449. doi:10.1002/mbo3.43.
- Sanford, G. B., & Broadfoot, W. C. (1931). Studies of the effects of other soil-inhabiting micro-organisms on the virulence of *Ophiobolus graminis* Sacc. *Scientific Agriculture*, 11(8): 512-528. doi:10.4141/sa-1931-0056.
- Santos, A., Beltrán, C., García, M., Cotes, A. M., & Villamizar, L. (2011). Control de *Rhizoctonia solani* en semilla de papa criolla con *T. koningiopsis* (Th003) y *T. asperellum* (Th034). En C. R. Beltrán Acosta, C. A. Moreno Velandia, & A. M. Cotes (Eds.), *Trichoderma koningiopsis Th003, alternativa biológica para el control de Rhizoctonia solani en el cultivo de papa* (pp. 32-42). Mosquera, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica).
- Schäfer, T., & Adams, T. (2015). The importance of microbiology in sustainable agriculture. En B. Lugtenberg (Ed.), *Principles of plant-microbe interactions: Microbes for sustainable agriculture* (pp. 5-6). Cham, Alemania: Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-319-08575-3_2.
- Scher, F. M., & Baker, R. (1980). Mechanism of biological control in a *Fusarium*-suppressive soil. *Phytopathology*, 70(5), 412-417. doi:10.1094/Phyto-70-412.
- Schirmböck, M., Lorito, M., Wang, Y. L., Hayes, C. K., Arisan-Atac, I., Scala, F., ... Kubicek, C. P. (1994). Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(12), 4364-4370.
- Seidl, V. (2008). Chitinases of filamentous fungi: a large group of diverse proteins with multiple physiological functions. *Fungal Biology Reviews*, 22(1), 36-42. doi:10.1016/j.fbr.2008.03.002.
- Seidl, V., Song, L., Lindquist, E., Gruber, S., Koptchinskiy, A., Zeilinger, S., ... Kubicek, C. P. (2009). Transcriptomic response of the mycoparasitic fungus *Trichoderma atroviride* to the presence of a fungal prey. *BMC Genomics*, 10, 567. doi:10.1186/1471-2164-10-567.
- Serrano-Carreón, L., Hathout, Y., Bensoussan, M., & Belin, J.-M. (1993). Metabolism of linoleic acid or mevalonate and 6-pentyl- α -pyrone biosynthesis by *Trichoderma* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(9), 2945-2950.
- Sharon, E., Bar-Eyal, M., Chet, I., Herrera-Estrella, A., Kleifeld, O., & Spiegel, Y. (2001). Biological control of the root-knot nematode *meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 91(7), 687-693. doi:10.1094/PHYTO.2001.91.7.687.
- Sharon, M., Sneh, B., Kuninaga, S., & Hyakumachi, M. (2006). The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping. *Mycoscience*, 47(6), 299-316. doi:10.1007/S10267-006-0320-X.

- Shipton, P. J. (1977). Monoculture and soilborne plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 15(1), 387-407. doi:10.1146/annurev.py.15.090177.002131.
- Shoresh, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology*, 48, 21-43. doi:10.1146/annurev-phyto-073009-114450.
- Sindhu, S. S., Suneja, S., Goel, A. K., Parmar, N., & Dadarwal, K. R. (2002). Plant growth promoting effects of *Pseudomonas* sp. on coinoculation with *Mesorhizobium* sp. Cicer strain under sterile and "wilt sick" soil conditions. *Applied Soil Ecology*, 19(1), 57-64. doi:10.1016/S0929-1393(01)00176-7.
- Singh, P., & Cameotra, S. S. (2004). Enhancement of metal bioremediation by use of microbial surfactants. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 319(2), 291-297. doi:10.1016/j.bbrc.2004.04.155.
- Sivasithamparam, K., & Ghisalberti, E. (1998). Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. En C. P. Kubicek & G. E. Harman (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium basic biology taxonomy and genetics* (Vol. 1, pp. 139-191). Londres, Reino Unido: Taylor and Francis Ltd.
- Smalla, K., Sessitsch, A., & Hartmann, A. (2006). The Rhizosphere: 'soil compartment influenced by the root'. *FEMS Microbiology Ecology*, 56(2), 165-165. doi:10.1111/j.1574-6941.2006.00148.x.
- Srivastava, S., Sinha, V., Vaishnavi, A., Kunwar, T., & Tigga, R. S. (2012). Regulation of antibiotics production in biocontrol strains of *Pseudomonas* spp. En T. Satyanarayana & B. N. Johri (Eds.), *Microorganisms in sustainable agriculture and biotechnology* (pp. 197-225). Dordrecht, Holanda: Springer. doi:10.1007/978-94-007-2214-9_11.
- Steinberg, C., Whipps, J. M., Wood, D., Fenlon, J., & Alabouvette, C. (1999). Mycelial development of *Fusarium oxysporum* in the vicinity of tomato roots. *Mycological Research*, 103(6), 769-778. doi:10.1017/S0953756298007710.
- Steinkellner, S., Mhammerler, R., & Vierheilig, H. (2005). Microconidia germination of the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* in the presence of root exudates. *Journal of Plant Interactions*, 1(1), 23-30. doi:10.1080/17429140500134334.
- Stotzky, G., & Rem, L. T. (1966). Influence of clay minerals on microorganisms: I. Montmorillonite and kaolinite on bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 12(3), 547-563. doi:10.1139/m66-078.
- Stotzky, G., & Torrence Martin, R. (1963). Soil mineralogy in relation to the spread of *Fusarium* wilt of banana in central America. *Plant and Soil*, 18(3), 317-337. doi:10.1007/bf01347232.
- Subbarao, K. V. (1998). Progress toward integrated management of lettuce drop. *Plant Disease*, 82(10), 1068-1078. doi:10.1094/PDIS.1998.82.10.1068.
- Summers, W. C. (2005). Bacteriophage research: early history. En E. Kutter & A. Sulakvelidze (Eds.), *Bacteriophages: Biology and applications* (pp. 5-27). Boca Ratón, EE. UU.: CRC Press.
- Szabó, M., Csepregi, K., Gálber, M., Virányi, F., & Fekete, C. (2012). Control plant-parasitic nematodes with *Trichoderma* species and nematode-trapping fungi: The role of chi18-5 and chi18-12 genes in nematode egg-parasitism. *Biological Control*, 63(2), 121-128. doi:10.1016/j.biocontrol.2012.06.013.
- Szekeres, A., Leitgeb, B., Kredics, L., Antal, Z., Hatvani, L., Manczinger, L., & Vágvölgyi, C. (2005). Peptaibols and related peptaibiotics of *Trichoderma*. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 52(2), 137-168. doi:10.1556/AMicr.52.2005.2.2.
- Takenaka, S., Nakamura, Y., Kono, T., Sekiguchi, H., Masunaka, A., & Takahashi, H. (2006). Novel elicitin-like proteins isolated from the cell wall of the biocontrol agent *Pythium oligandrum* induce defence-related genes in sugar beet. *Molecular Plant Pathology*, 7(5), 325-339. doi:10.1111/j.1364-3703.2006.00340.x.
- Takenaka, S., Sekiguchi, H., Nakaho, K., Tojo, M., Masunaka, A., & Takahashi, H. (2008). Colonization of *Pythium oligandrum* in the tomato rhizosphere for biological control of bacterial wilt disease analyzed by real-time PCR and confocal laser-scanning microscopy. *Phytopathology*, 98(2), 187-195. doi:10.1094/PHYTO-98-2-0187.
- Thomas, R. C. (1935). A bacteriophage in relation to Stewart's disease of corn. *Phytopathology*, 25(3), 371-372.
- Tijerino, A., Elena Cardoza, R., Moraga, J., Malmierca, M. G., Vicente, F., Aleu, J., ... Hermosa, R. (2011). Overexpression of the trichodiene synthase gene *tri5* increases trichodermin production and antimicrobial activity in *Trichoderma brevicompactum*. *Fungal Genetics and Biology*, 48(3), 285-296. doi:10.1016/j.fgb.2010.11.012.
- Tisdale, S. L., Havlin, J., Beaton, J., & Nelson, W. L. (1975). *Soil fertility and fertilizers*. Nueva York, EE. UU.: Pearson Education. doi:10.2307/1292062.
- Tomprefa, N., Hill, R., Whipps, J., & McQuilken, M. (2011). Some environmental factors affect growth and antibiotic production by the mycoparasite *Coniothyrium minitans*. *Biocontrol Science and Technology*, 21(6), 721-731. doi:10.1080/09583157.2011.575211.
- Tomprefa, N., McQuilken, M. P., Hill, R. A., & Whipps, J. M. (2009). Antimicrobial activity of *Coniothyrium minitans* and its macrolide antibiotic macrosphelide A. *Journal of Applied Microbiology*, 106(6), 2048-2056. doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04174.x.
- Torkewitz, R. (2008). *Chronology of fungicides*. Recuperado de https://www.apsnet.org/about/history/Documents/Chronology_of_Fungicides.pdf.
- Torres, H. (2002). *Manual de las enfermedades mas importantes de la papa en el Perú*. Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP).

- Torres, M. J., Brandan, C. P., Petroselli, G., Erra-Balsells, R., & Audisio, M. C. (2016). Antagonistic effects of *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* and *B. amyloliquefaciens* against *Macrophomina phaseolina*: SEM study of fungal changes and UV-MALDI-TOF MS analysis of their bioactive compounds. *Microbiological Research*, 182, 31-39. doi:10.1016/j.micres.2015.09.005.
- Tsror, L. (2010). Biology, epidemiology and management of *Rhizoctonia solani* on potato. *Journal of Phytopathology*, 158(10), 649-658. doi:10.1111/j.1439-0434.2010.01671.x.
- Tsror, L., Barak, R., & Sneh, B. (2001). Biological control of black scurf on potato under organic management. *Crop Protection*, 20(2), 145-150. doi:10.1016/S0261-2194(00)00124-1.
- Tsror, L., & Peretz-Alon, I. (2005). The influence of the inoculum source of *Rhizoctonia solani* on development of black scurf on potato. *Journal of Phytopathology*, 153(4), 240-244. doi:10.1111/j.1439-0434.2005.00962.x.
- Twort, F. W. (1915). An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. *The Lancet*, 186(4814), 1241-1243. doi:10.1016/S0140-6736(01)20383-3.
- Uribe, D., Ortiz, E., Portillo, M., Bautista, G., & Cerón, J. (1999). Diversidad de *Pseudomonas fluorescences* en cultivos de papa de la region cundiboyacense y su actividad antagonista in vitro sobre *Rhizoctonia solani*. *Revista Colombiana Biotecnología*, 2(1), 50-58.
- Van Breemen, N., Driscoll, C. T., & Mulder, J. (1984). Acidic deposition and internal proton sources in acidification of soils and waters. *Nature*, 307, 599-604. doi:10.1038/307599a0.
- Van Elsas, J. D., & Heijnen, C. E. (1990). Methods for the introduction of bacteria into soil: A review. *Biology and Fertility of Soils*, 10(2), 127-133. doi:10.1007/BF00336248.
- Van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J., & Urbaneja, A. (2018). Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, 63(1), 39-59. doi:10.1007/s10526-017-9801-4.
- Van Veen, J. A., Van Overbeek, L. S., & Van Elsas, J. D. (1997). Fate and activity of microorganisms introduced into soil. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61(2), 121-135.
- Vanittanakom, N., Loeffler, W., Koch, U., & Jung, G. (1986). Fengycin-a novel antifungal lipopeptide antibiotic produced by *Bacillus subtilis* F-29-3. *The Journal of Antibiotics*, 39(7), 888-901.
- Velivelli, S. L. S., De Vos, P., Kromann, P., Declercq, S., & Prestwich, B. D. (2014). Biological control agents: from field to market, problems, and challenges. *Trends in Biotechnology*, 32(10), 493-496. doi:10.1016/j.tibtech.2014.07.002.
- Verma, M., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Surampalli, R. Y., & Valéro, J. R. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*, 37(1), 1-20. doi:10.1016/j.bej.2007.05.012.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 1-10. doi:10.1016/j.soilbio.2007.07.002.
- Vinodkumar, S., Nakkeeran, S., Renukadevi, P., & Malathi, V. G. (2017). Biocontrol potentials of antimicrobial peptide producing *Bacillus* species: Multifaceted antagonists for the management of stem rot of carnation caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Frontiers in Microbiology*, 8, 446. doi:10.3389/fmicb.2017.00446.
- Viterbo, A., & Horwitz, B. A. (2010). Mycoparasitism. En K. Borkovich & D. J. Ebbole (Eds.), *Cellular and molecular biology of filamentous fungi* (pp. 676-693). Washington, EE. UU.: American Society of Microbiology. doi:10.1128/9781555816636.ch42.
- Walker, J. C., & Snyder, W. C. (1933). *Pea wilt and root rots*. Madison, EE. UU.: University of Wisconsin
- Wang, M., Zhang, M., Li, L., Dong, Y., Jiang, Y., Liu, K., ... Fang, X. (2017). Role of *Trichoderma reesei* mitogen-activated protein kinases (MAPKs) in cellulase formation. *Biotechnology for Biofuels*, 10, 99. doi:10.1186/s13068-017-0789-x.
- Wasson, D. L. (2017). *Virgil*. Recuperado de <https://www.ancient.eu/virgil/>.
- Watson, R. T., Albritton, D. T., Anderson, S. O., & Lee-Bapty, S. (1992). *Methyl Bromide: Its Atmospheric Science, Technology and Economics*. Nairobi, Kenya: United Nations Environmental Program.
- Wei, W., Zhu, W., Cheng, J., Xie, J., Jiang, D., Li, G., ... Fu, Y. (2016). Nox complex signal and MAPK cascade pathway are cross-linked and essential for pathogenicity and conidiation of mycoparasite *Coniothyrium minitans*. *Scientific Reports*, 6, 24325. doi:10.1038/srep24325.
- Weindling, R. (1932). *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopathology*, 22, 837-845.
- Weindling, R. (1934). Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. *Phytopathology*, 24(11), 1153-1179.
- Weindling, R. (1941). Experimental consideration of the mold toxins of *Gliocladium* and *Trichoderma*. *Phytopathology*, 31(11), 991-1003.
- Weindling, R., & Emerson, O. (1936). The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. *Phytopathology*, 26, 1068-1070.
- Welbaum, G. E., Sturz, A. V., Dong, Z., & Nowak, J. (2004). Managing soil microorganisms to improve productivity of agro-ecosystems. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 23(2), 175-193. doi:10.1080/07352680490433295.
- Weller, D. M. (1988). Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 26(1), 379-407. doi:10.1146/annurev.py.26.090188.002115.

- Weller, D. M. (2007). *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: Looking back over 30 years. *Phytopathology*, 97(2), 250-256. doi:10.1094/PHYTO-97-2-0250.
- Weller, D. M. (2015). Take-All Decline and Beneficial *Pseudomonads*. En B. Lugtenberg (Ed.), *Principles of plant-microbe interactions* (pp. 363-370). Cham, Suiza: Springer. doi:10.1007/978-3-319-08575-3_38.
- Weller, D. M., & Cook, R. J. (1983). Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent *Pseudomonads*. *Phytopathology*, 73(3), 463-469. doi:10.1094/Phyto-73-463.
- Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Gardener, B. B., & Thomashow, L. S. (2002). Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 40, 309-348. doi:10.1146/annurev.phyto.40.030402.110010.
- Weller, D. M., & Thomashow, L. (2016). Contribution of biocontrol agents to sustainable agriculture: Do insights from microbiome research and vCA "omics" pay off. *IOBC Bulletin*, 117, 2-6.
- Wells, H. D., Bel, B. K., & Jaworski, C. A. (1972). Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology*, 62, 442-447. doi:10.1094/Phyto-62-442.
- Whilthite, S., Lumsden, R., & Straney, D. (1994). Mutational analysis of gliotoxin production by the biocontrol fungus *Gliocladium virens* in relation to suppression of *Pythium* damping-off. *Phytopathology*, 84(8), 816-821.
- Whipps, J. M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52(Suppl. 1): 487-511. doi:10.1093/jexbot/52.suppl_1.487.
- Whipps, J. M., & Gerlagh, M. (1992). Biology of *Coniothyrium minitans* and its potential for use in disease biocontrol. *Mycological Research*, 96(11), 897-907. doi:10.1016/S0953-7562(09)80588-1.
- Whipps, J. M., Hand, P., Pink, D., & Bending, G. D. (2008). Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype. *Journal of Applied Microbiology*, 105(6), 1744-1755. doi:10.1111/j.1365-2672.2008.03906.x.
- Wilson, P. S., Ahvenniemi, P. M., Lehtonen, M. J., Kukkonen, M., Rita, H., & Valkonen, J. P. T. (2008). Biological and chemical control and their combined use to control different stages of the *Rhizoctonia* disease complex on potato through the growing season. *Annals of Applied Biology*, 153(3), 307-320. doi:10.1111/j.1744-7348.2008.00292.x.
- Wilson, P. S., Ketola, E. O., Ahvenniemi, P. M., Lehtonen, M. J., & Valkonen, J. P. T. (2007). Dynamics of soilborne *Rhizoctonia solani* in the presence of *Trichoderma harzianum*: effects on stem canker, black scurf and progeny tubers of potato. *Plant Pathology*, 57(1), 152-161. doi:10.1111/j.1365-3059.2007.01706.x.
- Wise, C., Falardeau, J., Hagberg, I., & Avis, T. J. (2014). Cellular lipid composition affects sensitivity of plant pathogens to fengycin, an antifungal compound produced by *Bacillus subtilis* strain CU12. *Phytopathology*, 104(10), 1036-1041. doi:10.1094/PHYTO-12-13-0336-R.
- Wood, R. K. S., & Tveit, M. (1955). Control of plant diseases by use of antagonistic organisms. *Botanical Review*, 21(8), 441-492.
- Wrather, J. A., Anderson, T. R., Arsyad, D. M., Tan, Y., Ploper, L. D., Porta-Puglia, A., ... Yorinori, J. T. (2001). Soybean disease loss estimates for the top ten soybean-producing countries in 1998. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 23(2), 115-121. doi:10.1080/07060660109506918.
- Wright, J. M. (1954). The production of antibiotics in soil. *Annals of Applied Biology*, 41(2), 280-289. doi:10.1111/j.1744-7348.1954.tb01121.x.
- Wright, J. M. (1956). The production of antibiotics in soil. *Annals of Applied Biology*, 44(4), 461-466. doi:10.1111/j.1744-7348.1956.tb02140.x.
- Yeaman, M. R., & Yount, N. Y. (2003). Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacological Reviews*, 55(1), 27.
- Yedidia, I., Benhamou, N., & Chet, I. (1999). Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(3), 1061-1070.
- Yedidia, I., Shoshani, M., Kerem, Z., Benhamou, N., Kapulnik, Y., & Chet, I. (2003). Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7343-7353. doi:10.1128/aem.69.12.7343-7353.2003.
- Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., & Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma* – chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30(2), 74-90. doi:10.1016/j.fbr.2016.05.001.
- Zeng, F., Gong, X., Hamid, M. I., Fu, Y., Jiatao, X., Cheng, J., ... Jiang, D. (2012). A fungal cell wall integrity-associated MAP kinase cascade in *Coniothyrium minitans* is required for conidiation and mycoparasitism. *Fungal Genetics and Biology*, 49(5), 347-357. doi:10.1016/j.fgb.2012.02.008.
- Zeng, L. M., Zhang, J., Han, Y. C., Yang, L., Wu, M. d., Jiang, D. H., ... Li, G. Q. (2014). Degradation of oxalic acid by the mycoparasite *Coniothyrium minitans* plays an important role in interacting with *Sclerotinia sclerotiorum*. *Environmental Microbiology*, 16(8), 2591-2610. doi:10.1111/1462-2920.12409.
- Zhang, B., Dong, C., Shang, Q., Han, Y., & Li, P. (2013). New insights into membrane-active action in plasma membrane of fungal hyphae by the lipopeptide antibiotic bacillomycin L. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1828(9), 2230-2237. doi:10.1016/j.bbmem.2013.05.033.
- Zhang, J., Howell, C. R., & Starr, J. L. (1996). Suppression of *Fusarium* colonization of cotton roots and *Fusarium* wilt by seed treatments with *Gliocladium virens* and *Bacillus subtilis*. *Biocontrol Science and Technology*, 6(2), 175-188. doi:10.1080/09583159650039377.