

CONTROL BIOLÓGICO DE HONGOS FITOPATÓGENOS DEL SUELO

Carlos Manuel Acosta-Durán^{1*}, Denisse Acosta-Peñaloza¹, Luz María Nava-Gómez¹

¹Laboratorio de Producción Agrícola. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos.

Correo-e: acosta_duran@yahoo.com.mx

*Autor para correspondencia.

RESUMEN

En la búsqueda de métodos para aumentar la productividad agrícola se ha propiciado el aumento de poblaciones de otros organismos como insectos, bacterias y hongos, que limitan el rendimiento de los cultivos. Los hongos patógenos del suelo tienen particular importancia debido a que afectan una gran cantidad de especies de cultivo, además del amplio espectro de hospederos de cada una de las especies de hongos. Se han reportado un gran número de enfermedades causadas por hongos del suelo. Las especies causales pertenecen principalmente a los géneros: *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rizoctonia*, *Aphanomyces* y *Verticillium*. En este trabajo se analizan los principales mecanismos del control biológico y se describen los avances en la investigación en el manejo de la nutrición de cultivos y el uso de bacterias y hongos antagonistas de los hongos fitopatógenos del suelo con fines de utilizarlos como estrategias de control biológico.

Palabras clave: control biológico, hongos del suelo, mecanismos de acción.

ABSTRACT

In the looking for methods for arise the agricultural yield, new populations of insects, bacteria and fungi whose limit the agricultural yield have been generated. Pathogen fungi of soil have an special importance because affect many plant species, moreover of the wide spectra of hostess of each fungi species. A big number of soil fungi diseases have been reported. The principal causal agents are in the genera: *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rizoctonia*, *Aphanomyces* y *Verticillium*. In this work the main biological control mechanisms are analyzed. Moreover the research advances in plant nutrition management, use of antagonist bacteria and fungi to the plant pathogen fungi of soil are analyzed to make strategies of biological control.

Key words: biological control, soil fungi, action mechanisms.

INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de métodos que aumenten la productividad agrícola se ha propiciado el aumento considerable de poblaciones de otros organismos como insectos, bacterias y hongos, que limitan el rendimiento de los cultivos. Los hongos patógenos del suelo tienen particular importancia debido a que afectan a una gran cantidad de especies de cultivo, además del amplio espectro de hospederos de cada una de las especies de hongos.

Entre las enfermedades más comunes que causan los hongos del suelo están las pudriciones radicales y las pudriciones del cuello, afectando a la planta de diversas maneras entre las que podemos mencionar: el ahogamiento (damping off) por la obstrucción de los haces vasculares de las plántulas; la inutilización de sus tejidos, por el crecimiento de sus estructuras sobre o dentro de sus células; la promoción de la invasión de organismos como bacterias y otros, como efecto del ablandamiento de los tejidos, por la reducción de los tejidos de protección; o por la competencia o la limitación en la absorción de nutrientes, entre otras.

Se han reportado un gran número de enfermedades causadas por hongos del suelo. Las especies causales pertenecen principalmente a los géneros: *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rizoctonia*, *Aphanomyces* y *Verticilium*.

Muchas prácticas agronómicas promueven el incremento de poblaciones de diferentes organismos incluyendo por supuesto a los hongos. Se han desarrollado un gran número de métodos de control tratando de reducir los efectos contaminantes de los productos químicos usados como fungicidas, a pesar de ello no se ha logrado reducir considerablemente las pérdidas que causan estas enfermedades.

Mecanismos de control biológico

Se han descrito diferentes mecanismos de control incluyendo la hipovirulencia, la antibiosis, la competencia por nutrientes en sitios infectados, la resistencia inducida, la degradación de la epidermis, la producción de enzimas como antagonistas (Cassiolato, 2000), el micoparasitismo, la inhibición metabólica de la síntesis de micotoxinas (Luz *et al.*, 2003), la producción de antibióticos, competencia por sitios de infección, parasitismo y producción de sustancias tóxicas. Por lo general un microorganismo de este tipo presenta un solo mecanismo o a lo sumo dos de ellos (Krupa y Dommergues, 1979).

Para determinar los mecanismos de acción y las relaciones de la densidad de inóculo antagonista-patógeno, se evaluaron tres aislados de *Fusarium* spp. no patógenos que previamente mostraron reducción de la enfermedad en varios cultivos. Uno de los mecanismos más importantes de los observados fue la competencia por nutrientes, que redujo el crecimiento del patógeno saprofito en presencia de agentes de biocontrol. Los tres agentes de biocontrol mostraron algún grado de resistencia sistémica inducida en plantas de tomate y sandía pero variaron en la habilidad relativa para reducir la severidad de la enfermedad. La cepa CS-20 mostró el control más efectivo (39 - 53 % de reducción de la enfermedad) y la Fo47 mostró el menor control (23 -25 %) (Larkin y Favel, 1999).

Algunas estrategias de intervención biológica son dirigidas a destruir el pico de infección, como la aspersión de hongos dentro del pico de infección, desarrollo de la roya de las plántulas, sobrevivencia del hongo en residuos de cosecha o la producción de inóculo por el patógeno. Los agentes de control biológico o sus ingredientes activos pueden ser aplicados por tratamientos tópicos, colonización endofítica de las semillas o por

transformación genética de las plantas hospederas (Luz *et al.*, 2003). Los microorganismos pueden ser utilizados en el control de fitopatógenos y por lo tanto reducir el uso de pesticidas. Para lograr este tipo de control es necesario aislar del suelo microorganismos antagónicos y enfrentarlos al agente etiológico de la enfermedad, en ocasiones de cada 1000 aislamientos solo uno inhibe el desarrollo del patógeno *in vitro* (Krupa y Dommergues, 1979).

Los modos de acción del control biológico con micoparásitos en la agricultura son diversos, desde la interacción célula-célula hasta efectos que van más allá del sitio de contacto. Esto sugiere que los micoparásitos o los productos de sus genes pueden también mejorar la sensibilidad del patógeno meta a compuestos fungitóxicos causando el incremento en la absorción de fungicidas por la vía de la digestión de la pared celular (Boogert, 1999).

Los mecanismos relacionados con la reducción de la enfermedad causada por *R. solani* son una baja rápida en el potencial de inóculo y la supresión de la enfermedad en el suelo. La baja rápida en el potencial de inóculo esta estrechamente relacionada con un decremento en la densidad de población y en el decremento en la actividad saprofítica y parasítica de *Rhizoctonia*. La desaparición de la enfermedad se atribuye principalmente a una acumulación de la actividad microbiana en el suelo durante el monocultivo y a la sensibilidad de *Rhizoctonia* a esta condición de suelo. La calidad y cantidad de la actividad microbiana acumulada es diferente dependiendo de varios factores del suelo, métodos de cultivo, grado de desarrollo de la enfermedad y la fuente de inóculo de *Rhizoctonia*. La desaparición de la enfermedad en el suelo es el resultado de la presión competitiva aumentada de los microbios del suelo en contra de *Rhizoctonia* que en este caso causa la eliminación de la enfermedad. Estos dos

factores están íntimamente relacionados entre sí y afectan la infección potencial y como resultado, cambia la severidad de la enfermedad en monocultivo (Hyakumachi, 1999).

En experimentos de invernadero y en cámaras de crecimiento se evaluó, la influencia de la variación ambiental y de las condiciones de cultivo como la temperatura del día (22, 27 y 32 °C) y de la noche (16, 22 y 26 °C), la luz (500 y 250 micro mol m⁻²s⁻²), tipo de suelo, cepa del patógeno, raza y variedad de tomate en el control biológico de la marchites causada por *Fusarium oxisporum* mediante aislados no patogénicos de *Fusarium oxisporum* (CS-20, CS-24) y de *Fusarium solani* (CS-1). Se aplicaron suspensiones de esporas (10⁶/ml) de los aislados para el control biológico en macetas con mezclas sin suelo al momento de la siembra de semillas de tomate, dos semanas después las plántulas se trasplantaron en suelo infectado con el patógeno. Las temperaturas de 22 y 32 °C afectaron significativamente el desarrollo y los parámetros fisiológicos de la planta. El aislado CS-20 redujo significativamente la incidencia de la enfermedad en 59 -100 % con respecto a las plantas control. Los aislados CS-24 y CS-1 redujeron la incidencia de la enfermedad en invernadero y a temperaturas altas pero fueron menos efectivos cuando la temperatura fue óptima para el desarrollo de la enfermedad (27 °C). El crecimiento de plantas a la sombra afectó algunos parámetros pero no la eficacia del control biológico de los tres aislados. El aislado CS-20 redujo efectivamente la incidencia de la enfermedad (56 - 79 %) en cuatro diferentes suelos de campo que variaron en la textura (de arenosos a arcillosos) y en el contenido de materia orgánica (de 0 a 3.2 %). El aislado CS-1 redujo la enfermedad en un suelo franco-arenoso (49 - 66 %) pero no fue efectivo en suelo arcilloso pesado. La CS-1 y la CS-20 fueron igual de efectivas contra tres razas del patógeno así como para varios aislados de cada raza (48 - 66 %). También

redujeron la incidencia de la enfermedad de razas patogénicas 1, 2 y 3 en 8 diferentes variedades de tomate con diferentes niveles de resistencia. Los resultados muestran que los aislados sobre todo el CS-20 tienen la capacidad de controlar la enfermedad en diferentes condiciones ambientales y tienen capacidad para un mayor desarrollo (Larkin y Fravel, 2002).

Los acolchados pueden tener efectos positivos o negativos en el control de enfermedades cuando se aplican en plantas jóvenes de aguacate. El control de la pudrición de raíz es un proceso complicado que está regulado por factores como la resistencia del hospedero, la densidad de inóculo, la temperatura, la salinidad y el potencial de humedad del suelo. Los factores que afectan a corto plazo son la humedad del suelo y la regulación de la temperatura del suelo. A largo plazo afectan: los nutrientes minerales, la estructura del suelo y el drenaje, la actividad microbiana y la actividad de la enzima celulasa. El control biológico de *Phytophthora* en suelos acolchados está regulado parcialmente por la actividad enzimática de la celulasa (Dawner *et al.*, 2002).

Las prácticas culturales como el uso de suelo con buen drenaje, riegos ligeros, siembra bajo condiciones favorables para el cultivo, fertilización nitrogenada adecuada, y la rotación de cultivos ayudan al control de *Pythium* (Romero, 1993).

Sin embargo los fitopatógenos, entre los cuales destacan los hongos, presentan una enorme diversidad y diferentes comportamientos ecológicos aún tratándose de la misma especie (Garret, 1981). Por ejemplo, la costra negra de la papa, es una enfermedad del tubérculo que produce grandes pérdidas porque ataca los brotes y los seca. Se demostró que el agente etiológico *Rhizoctonia solani* presenta dos tipos de infección producidos por dos grupos de anastomosis (AG4 y AG3)

(Virgen *et al.*, 1996). Un grupo de anastomosis es aquel del cual las hifas de dos aislados diferentes del hongo pueden fusionarse si se les hace crecer en la misma caja de petri con medio nutritivo. A escala mundial, se han identificado 11 grupos de la misma especie del hongo. A simple vista las costras de la papa de cada grupo parecen iguales, pero cada uno mantiene una sensibilidad diferencial a los fungicidas y presentan un comportamiento diferente en su distribución espacial y temporal.

Otro caso es la incidencia de la pudrición blanca del ajo que se debe a la presencia de *Sclerotium cepivorum*, un hongo cuyos esclerocios producidos en número de miles en cada planta pueden permanecer viables hasta por 20 años y en los cuales se observó que diferentes aislados del hongo en un mismo campo de cultivo presentan patrones diferentes de sensibilidad a fungicidas (Pérez *et al.*, 1997). El conocimiento preciso de este comportamiento permitirá buscar de manera más efectiva los organismos antagónicos para el biocontrol o para establecer mejores estrategias de control químico (Olalde y Aguilera, 1998).

Ejemplos de la reducción de la severidad o de la eliminación de la enfermedad usando cepas no patogénicas o hipervirulentas han sido reportados para un número considerable de hongos patógenos de plantas como es el caso de *Fusarium oxysporum*, *Cryphonectria parasitica*, *Ceratocystis ulmi*, *Alternaria* spp., *Pythium* spp., *Septoria tritici*, *Penicillium funiculosum* y *Rhizoctonia* spp. Ciertos aislados no patogénicos son considerados y usados como agentes de control biológico. Aislados no patogénicos de *Rhizoctonia* (np-R) poseen la capacidad de proteger plántulas contra el ahogamiento causado por cepas virulentas de *Rhizoctonia* de diferentes grupos de anastomosis (AG's) y esta capacidad de control se encuentra entre diferentes grupos de anastomosis de especies de *Rhizoctonia* binucleadas o

multinucleadas. Esto sugiere que cepas np-R pueden diferir en su capacidad para proteger plantas, así como en los mecanismos involucrados en la protección. Hay relativamente pocos reportes del modo de acción de los np-R de los cuales algunos sugieren que el RNA está involucrado en la protección, pero esas cepas degeneran teniendo poca sobrevivencia y probablemente protegerán solo patógenos en el mismo AG's. Algunas cepas np-R inducen resistencia contra *R. solani*, *Pythium aphanidermatum* y *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* en plántulas de pepino, mientras que otras que protegen las plántulas contra damping-off no lo hacen. Algunos reportes especulan que las cepas np-R compiten por nutrientes pero esta aseveración no la respaldan con datos significativos. En un estudio realizado para determinar el modo de acción de cepas np-*R. solani* (aislado AG 4 y RS-521) no hubo indicios de antibiosis, hiperparasitismo, lisis, competencia de nutrientes o resistencia inducida (fitoalexinas), el uso de antibióticos selectivos o la desinfección de la superficie con hipoclorito de sodio para matar las hifas de colonización np-R, no invierten la protección. La única forma que pudo nulificar la protección fue obtenida por la remoción física de la hifa de la superficie de la plántula. Se encontró que esta cepa np-R colonizó intensamente la superficie de la raíz y del cuello y compitió con la cepa patógena por sitios de infección (Sneh, 1999).

Fusarium oxysporum f. sp. *ubense* es el agente causal de la marchitez del plátano. A la fecha no existe ningún método de control efectivo y económicamente rentable. Se ha demostrado que *Streptomyces violaceusniger* cepa G10 tiene efectos antagonistas contra diferentes hongos fitopatógenos incluyendo varias razas patogénicas de la marchitez por *Fusarium*. El modo de acción de antagonismo en la naturaleza consiste en una antibiosis de la cepa G10 que inhibe el crecimiento como en el medio de cultivo. Se

observó microscópicamente que el efecto consiste en el rompimiento de las hifas terminales en las colonias inhibidas. El cultivo de la cepa G10 en medio líquido produjo metabolitos que mostraron antagonismo contra el hongo *in vitro* produciendo hinchazones, distorsión y excesiva ramificación de las hifas, además de la inhibición de la germinación de las esporas. También se demostró la acción antibiótica de la cepa G10 en condiciones de suelo lo que demostró que la cepa G10 tiene buen potencial para control biológico de la marchitez del plátano (Getha y Vikineswary, 2002).

La nutrición como elemento de control biológico

La nutrición mineral de las plantas se considera un factor exógeno que puede manejarse fácilmente. Los nutrimentos influyen en el crecimiento y la supervivencia de los patógenos y en la predisposición, la tolerancia y la resistencia de las plantas. Las plantas enfermas desarrolladas con una nutrición balanceada pueden resistir más el efecto de los patógenos, lo cual se traduce en un mejor desarrollo y rendimiento de la propia planta. El manejo nutrimental a través de la fertilización es un control cultural importante de las enfermedades de las plantas y un componente integral de la producción agrícola (Huber, 1989; Fageria *et al.*, 1997). Las plantas que reciben una nutrición mineral balanceada son más tolerantes a las enfermedades, es decir, tienen mayor capacidad para protegerse de nuevas infecciones y de limitar las ya existentes, que cuando uno o más nutrimentos son abastecidos en cantidades excesivas o deficientes. Es evidente que la severidad de muchas enfermedades de las plantas puede reducirse mediante control químico, biológico y genético e incrementarse con la propia nutrición (Huber, 1989).

Se estudio el efecto del contenido de N en el suelo en el cultivo de papa orgánica en Alemania. Los resultados sugieren que en la producción de papa orgánica el tizón causado por *Phytophthora* tiene bajo impacto, en realidad la principal causa del bajo rendimiento en el crecimiento de tubérculos es la deficiencia de N. El tizón causa pérdidas importantes en suelos con alto contenido de N y con variedades de maduración tardía, solo en esos casos funciona el control biológico para incrementar el rendimiento. La combinación de variedades resistentes, precoces y una alta aportación de N aseguran un alto rendimiento (Moeller y Reents, 1998).

Las bacterias en el control biológico

Varios investigadores han evaluado bacterias que presentan potencial para el control biológico en la práctica con diferentes resultados. *Pseudomonas aeruginosa* PNA1 un aislado de la rizosfera del garbanzo en la India, protegió plantas de garbanzo y chícharo de la marchites que es causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* y *F. udum*. La inoculación con la cepa PNA1 redujo significativamente la incidencia de la marchites en garbanzo y el gandul en genotipos susceptibles y moderadamente resistentes. La colonización de la raíz fue mucho más baja en los genotipos susceptibles que en los genotipos moderadamente tolerantes, indicando que esta interacción planta-bacteria puede ser importante para suprimir la enfermedad en estas especies. La cepa PNA1 produce dos antibióticos de phenazina *in vitro* (Vanamala *et al.*, 2003).

Se aislaron sideróforos producidos por *Pseudomonas fluorescens* GL20 de la rizosfera de ginseng (*Panax pseudoginseng*) en medio de agar-cromo-azuro. *P. fluorescens* GL20 produjo una gran cantidad de pigmento fluorescente amarillo-verde cuando creció en medio sin

Fe. *P. fluorescens* GL20 inhibió considerablemente la germinación de esporas y el crecimiento micelial de *Fusarium solani* en dos cultivos. La producción de sideróforos fue la responsable de la inhibición del hongo en medio de crecimiento deficiente en Fe por competencia. En pruebas en maceta con frijol (*Phaseolus vulgaris*), *P. fluorescens* redujo la incidencia de la enfermedad en 94 %. El crecimiento de la planta aumentó en 1.6 % promoviendo la altura de la planta y el crecimiento de la raíz. Los resultados sugieren que *P. fluorescens* GL20 puede tener un papel importante en el control biológico de enfermedades de la rizosfera de plantas de siembra directa (Hoseong *et al.*, 1999). Praveen y Purohit (2002) probaron el efecto de *Pseudomonas fluorescens* para el control de *Fusarium solani* en chile (*Capsicum annuum*). Inocularon semillas con una suspensión de la bacteria y las sembraron en macetas con suelo conteniendo el patógeno. Se observó un incremento en el contenido de P, la producción de biomasa de la planta y en el rendimiento. La intensidad de la enfermedad se redujo en un 37 %.

En otro trabajo, se ensayaron *in vitro* organismos aislados de composta para inhibir el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *Fusarium culmorum* de la avena (*Avena sativa*), 11 de los aislados de bacterias inhibieron el crecimiento micelial y de estos 7 inhibieron también la germinación de los conidios (Boyd-Wilson *et al.*, 2000). En Korea, se aislaron patógenos de las hojas y de los bulbos de *Cymbidium* sp. cv. Anmitsu Hime afectados por una pudrición por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cattleyae* mostraron una fuerte patogenicidad en contra de la variedad. Se encontraron diferencias en la patogenicidad entre cinco variedades y cinco especies de *Cymbidium*, las especies del oriente fueron mucho más susceptibles que las del poniente. Se aislaron cepas de 64 muestras tomadas en la zona del hábitat

natural y de las zonas productoras de *Cymbidium*, de las que se escogieron 15 bacterias y 15 actinomicetos como candidatos antagonistas y se evaluó el espectro antifusarium en medios de cultivo de Tristona-soya-agar y en almidón-malta-agar. Se seleccionaron dos cepas de antagonistas en contra de la marchites por *Fusarium* en *Cymbidium* spp. llegando a un 73.3 y 67.7 % de inhibición en las cepas A12 y B10 respectivamente (Kim *et al.*, 2001).

En Turquía, se probaron 126 cepas de *Pseudomonas fluorescens* obtenidas de la rizosfera de más de 300 plantas sanas de melón, sandía y otras cucurbitáceas, de los cuales 64 aislados mostraron actividad inhibitoria contra *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (razas 1 y 2), 28 mostraron más del 50 % de inhibición por lo que se probaron para el control de *Fusarium* en plantas de melón crecidas en maceta, seis de esas cepas redujeron la severidad de la infección en 70.9 - 84.1 % por lo que se aplicaron suspensiones de estas cepas para controlar la marchites en plantas de melón infectados con *Fusarium* en campo, durante dos años, con buenos resultados.

En pruebas de campo se inoculó con *P. putida*, las cepas 30, 109 y 180 redujeron la severidad de la infección en 80, 82 y 84 % respectivamente. Estas cepas prometedoras de *P. putida* fueron seleccionadas para el desarrollo de varias formulaciones en polvo humectable. Las formulaciones que usaron como base el talco, fueron las mejores en largos periodos de sobrevivencia después de 180 días a 10 °C. Las formulaciones en talco de *P. putida* redujeron el porcentaje de marchites en 76.1 - 87.6 % y fueron más efectivas que el benomyl (Ozaktan y Bora, 2000).

En cultivo de clavel con sistema hidropónico se probó la inoculación de la bacteria *Pseudomonas aureofaciens* (*P. chlororaphis*), *P. chlororaphis*, *P. fluorescens* y *Xanthomonas maltophilia*

(*Stenotrophomonas maltophilia*) en la solución hidropónica, dicha inoculación causó una reducción significativa del número de plantas infectadas con *Fusarium*. La bacteria fue suficientemente viable en la rizosfera de las plantas para protegerlas en contra del patógeno, los mejores resultados se obtuvieron cuando las plantas se cultivaron en presencia de la bacteria antagonista (Sorokina *et al.*, 1999).

La inoculación con cepas quitinolíticas *Paenibacillus* sp 300 y *Streptomyces* sp 385 suprimieron la marchites de las cucurbitáceas (*Cucumis sativus*) causadas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* en medio de cultivo sin esterilizar y sin suelo, en contenedor. Una mezcla de las dos cepas en proporciones 1:1 y 1:4 dio un control significativo y mejor que usando cada cepa por separado o en otras proporciones. Para una respuesta significativa en el control de la enfermedad fue necesaria una dosis 6 g de formulación en base zeolita por Kg de medio en la maceta. Esta dosis fue suficiente para mantener una alta población de la bacteria en la rizosfera que fue requerida para el control de la enfermedad. Las bacterias producen las enzimas quitinasa y β -1-3 - gluconasa cuando crecen en un medio que contiene quitina (Singh *et al.*, 1999).

En suelos de Villa Guerrero Estado de México, se aislaron 10 cepas de *Bacillus* spp. y se evaluaron como agentes de control biológico en contra de *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora capsici* en jitomate. De las cepas probadas 3 presentaron mayor actividad antagonista contra *F. oxysporum* y solo una contra *P. capsici*. El efecto observado fue la reducción del crecimiento micelial en laboratorio y en pruebas en invernadero presentaron diferencia significativa en peso seco y volumen de raíz con respecto al testigo (Lagunas *et al.*, 1999).

Se probaron 209 aislados de 8 especies de *Pythium* por su sensibilidad a

diferentes concentraciones de metalaxyl. Se observó una gran variación en la sensibilidad, el 10 % crecieron a altas concentraciones (50 $\mu\text{g/ml}$) y el resto no creció a concentraciones de 0.5 $\mu\text{g/ml}$. Experimentos en maceta mostraron que *Pseudomonas* sp CR56 controló el ahogamiento de plántulas de pepino causado por *P. ultimum* ONCURO1 que creció a concentraciones de 50 $\mu\text{g/ml}$. La eficacia del biocontrol fue significativamente mejor que el control con metalaxyl y PCNB (BingGan *et al.*, 2001).

La epidemiología y el control biológico de la pudrición de la raíz por *Pythium* fue investigada en plantas de pepino creciendo en invernadero en sistema hidropónico a pequeña escala, con solución nutritiva recirculante. El sistema fue inoculado con *Pythium aphanidermatum* solo o con el patógeno más un aislado de *Pseudomonas fluorescens* o *P. chlororaphis*. En el sistema con *P. aphanidermatum* solo, la tasa de crecimiento, la cantidad de mucílago en la solución y la decoloración de la raíz osciló en patrones similares y sincronizados. La densidad de propágulo fue varias veces mayor en el mucílago que en la solución nutritiva y hubo una correlación positiva con la decoloración de las raíces y la presencia de hifas de *P. aphanidermatum* que sirven como alimento base para que el patógeno invada las raíces. Los agentes bacteriales redujeron el mucílago y la decoloración de las raíces. Deshacer el mucílago es una forma de control biológico de *P. aphanidermatum*. *P. fluorescens* fue más efectiva que *P. chlororaphis* pero no incremento la producción comercial. *P. chlororaphis* incremento la producción comercial de frutos. Las bacterias no afectaron la incidencia del patógeno en las raíces jóvenes. Estas bacterias tienen efecto en el manejo de mucílago y por lo tanto en la pudrición de raíz por *Pythium* (Zheng *et al.*, 2000).

Se probaron varios agentes de control biológico en contra de *Pythium aphanidermatum* en plantas de jitomate crecidas con la técnica de fibra nutritiva (NFT) y en lana de roca, en condiciones de invernadero y con un sistema hidropónico. Los agentes probados fueron: *Pseudomonas chlororaphis* (Pc) (un aislado de *Pseudomonas fluorescens*), BTM (composta comercial) que contiene *Rhizobium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter* y *Pseudomonas* spp. El agente de control biológico se mantuvo en poblaciones con una concentración de 10^5 ufc/ml en los contenedores con la solución nutritiva. En un experimento los tratamientos fueron 1) Control; 2) inoculado con *Pseudomonas chlororaphis*; 3) inoculado con BTM; 4) inoculado con Pc y BTM; 5) inoculado con *Pythium aphanidermatum*; 6) inoculado con Pa y Pc; 7) inoculado con Pa y BTM y; 8) inoculado con Pa, Pc y BTM. En otro experimento se comparó la cepa aislada de *Pseudomonas fluorescens* (Pf) contra *Pseudomonas chlororaphis*. Todos los tratamientos presentaron cierto nivel de efecto antagónico. La eficacia en la reducción de la severidad de la enfermedad de la pudrición de la raíz varió entre 5 y 35 %. La inoculación con Pc fue la más efectiva con 35 %, Pf fue moderadamente efectiva con 10-20 % y BTM fue la peor con 5-10 %. La lana de roca parece proveer a la planta de más aereación lo que redujo la severidad de la enfermedad comparado con el sistema nutritivo cerrado (NFT). Ninguno de los agentes probados mostró algún síntoma adverso en contra de la planta (Tu *et al.*, 2001).

Una colección de 53 aislados de *Streptomyces* productores de antibióticos de suelos de Minnesota, Nebraska y Washington, USA fueron evaluados por su habilidad para inhibir la patogenicidad de *Phytophthora medicaginis* y *P. sojae* *in vitro*. Ocho aislados presentaron la mayor inhibición del patógeno y se probaron por su capacidad de inhibir la pudrición de raíz en

alfalfa y soya en vermiculita estéril y suelo infectado naturalmente en campo. Los aislados de *Streptomyces* redujeron significativamente la incidencia de la enfermedad (Xiao *et al.*, 2002).

Pseudomonas aureofaciens PA 147-2 produce un antibiótico que inhibe el crecimiento de *Phytophthora megasperma* var. *sojae*, el agente causal de la pudrición de raíz del espárrago (*Asparagus officinalis*). Para establecer el uso potencial de PA 147-2 como un organismo de biocontrol, se hicieron aplicaciones en campo de PA 147-2 directamente a la corona del espárrago. Para determinar la capacidad de PA 147-2 en la supresión de la pudrición por *Phytophthora*, se plantaron coronas de espárrago inoculadas con la bacteria en un suelo franco arcillo-arenoso superficial, inoculado con *P. megasperma* var. *sojae*. Durante 6 meses la bacteria fue aislada de los puntos de inoculación con una frecuencia decreciente. La cosecha y el análisis de las plantas de espárrago reveló que la inoculación de las coronas con la bacteria resultó en un 55.8 % de incremento del peso seco del helecho en comparación con las plantas no tratadas. Los resultados de las pruebas preliminares de campo sugieren que la inoculación directa antes de la plantación causa un incremento estadísticamente significativo en el rendimiento del material vegetal en presencia de *P. megasperma* var. *sojae* (Godfrey *et al.*, 2000).

Se evaluó el potencial de control biológico de *Pseudomonas putida* aislado I-112, *Paenibacillus macerans* aislado G.V1, *Erwinia herbicola* (*Pantoea agglomerans*) aislado G-584 y una mezcla de las tres, en contra de la pudrición de la corona (*Phytophthora cactorum*) de la fresa. El objetivo fue evaluar la aplicación de rizobacterias en la enfermedad y en el crecimiento de la planta en suelos naturalmente infectados. Se lograron incrementos significativos en el crecimiento de la planta y en la reducción del porcentaje

de enfermedad con los tratamientos con las bacterias (Gulati *et al.*, 2001).

Se estudio la interacción de 29 aislados de *Rhizobium* con el crecimiento de tres cepas de *Phytophthora clandestina* para determinar su potencial en el control biológico de la pudrición de la raíz del trébol (*Trifolium subterraneum*). En evaluaciones *in vitro* y en invernadero se observó que 13 de las 29 aislados de *Rhizobium* redujeron significativamente el crecimiento de hifas de las cepas de *P. clandestina*. La inoculación de plántulas con *Rhizobium trifolii* redujo la severidad de la enfermedad en 14-58 %, lo que incrementó la producción de materia seca en 20- 73 %, por lo que considera que *Rhizobium* tiene potencial para controlar biológicamente la pudrición de la raíz del trébol (Simpfendorfer *et al.*, 1999).

Se prepararon macetas con mezcla de turba de Sphagnum de color oscuro, altamente descompuesta, de color claro menos descompuesta y corteza de pino composteada y colonizadas con microorganismos silvestres los cuales fallaron en el control del damping-off producido por *Rhizoctonia* del rábano, en la pudrición del cuello y de la raíz de la nochebuena. La inoculación de las mezclas con *Chryseobacterium gleum* (C₂₉₉R₂) y *Trichoderma hamatum* 382 (T₃₈₂) redujo significativamente la severidad de ambas enfermedades en la mezcla de composta de corteza de pino en la que ambos agentes de control biológico mantuvieron altas poblaciones a los 90 días. Estos microorganismos fueron menos efectivos en contra del ahogamiento en las mezclas de turba clara y oscura respectivamente en donde las poblaciones de C₂₉₉R₂ bajaron considerablemente. En contraste se suprimió la pudrición de la raíz y del cuello de nochebuena en las tres mezclas. Aplicaciones tardías de T₃₈₂ en las 3 mezclas durante el ciclo de cultivo podrían haber contribuido al control de la enfermedad (Krause *et al.*, 2001).

Bacterias formadoras de esporas aisladas de suelos de Nueva Zelanda fueron evaluadas para el control biológico de la pudrición de raíz del chícharo causada por *Aphanomyces euteiches*. En pruebas duales 31 de 704 aislados bacterianos suprimieron completamente el crecimiento micelial del patógeno. Siete aislados (cepas de *Bacillus* y *Paenibacillus*) también evitaron la germinación de zoosporas y del tubo germinal, cinco aislados de otras bacterias previamente caracterizadas como inhibidores de *A. euteiches*, fueron probados en un ensayo de invernadero para la eliminación de la enfermedad. Un aislado de cada uno de *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. mycoides* y dos aislados de *P. polymyxa* redujeron la pudrición de raíz y la formación de oosporas en el tejido del chícharo y fueron seleccionadas para otros ensayos. *B. mycoides* MW27 redujo en un 83 % la formación de oosporas en la raíz del chícharo. En un experimento de campo realizado en 1999 en Nueva Zelanda, cada uno de seis aislados bacterianos redujeron la pudrición de la raíz de chícharo (cv Whero) pero no a niveles estadísticamente significativos. Los resultados se confundieron con otra infección (por *Fusarium* spp.). En otra prueba de campo se probaron diferentes formas de aplicación de *B. myoides* MW27 y se observaron incrementos en la resistencia de la parcela de 9 % a 17 % (Wakelin *et al.*, 2002)

En Alemania, Kurze *et al.* (2001) evaluaron rizobacterias antagonistas en condiciones de campo para promover el crecimiento y la sanidad de fresa principalmente como control biológico de la marchites por *Verticillium*. Se inoculó con *Pseudomonas fluorescens* DSMZ 12501 y *Serratia plymuthica* DSMZ 12502 en suelos naturalmente infectados con *Verticillium* y se observó reducción significativa de la marchites por *Verticillium* con la aplicación de *P. fluorescens* del orden de 15 a 59 % en las parcelas tratadas con respecto a las control, el incremento en el rendimiento fue

de 24 a 174%. En el caso de la inoculación con *S. plymuthica* la reducción del porcentaje de marchites fue del orden de 7.5 a 54 y el rendimiento varió de 62 a 296 %.

Los hongos en el control biológico

La humedad del suelo es un factor determinante para la presencia de *Pythium*. Usando 36 unidades hidropónicas independientes se determinó el efecto de la humedad del suelo y se demostró que el manejo de la humedad con medios artificiales de crecimiento puede ayudar en el control de las pérdidas de producción causadas por *Pythium*. Plantas de lechuga que recibieron niveles óptimos de riego, no mostraron reducción significativa de rendimiento cuando se inocularon con *Pythium*, por otro lado, en las que se aplicó exceso o niveles bajos de riego, con la inoculación se causaron pérdidas significativas de producción. En ambos casos la inoculación con *Trichoderma* superó esos efectos negativos y registró niveles significativos del control de la enfermedad, pero fue más efectivo cuando la humedad fue alta.

El crecimiento se estimula cuando aumenta la humedad del suelo. Esto demuestra que el control de *Pythium* es mejor cuando se integra la aplicación de *Trichoderma* con niveles de humedad óptimos. Donde la humedad del suelo esta por arriba o por abajo del óptimo, *Trichoderma* sirve para minimizar los efectos negativos de la infección por *Pythium* proporcionando una capacidad amortiguadora para suelos con poca humedad. El pH de la solución nutritiva se uso efectivamente para mejorar el control biológico de *Pythium* con *Trichoderma*, ya que *Trichoderma* mostró preferencia por pH's más ácidos mientras que *Pythium* prefirió pH entre 6.0 y 7.0. Pruebas *in vitro* mostraron que *Trichoderma* registró el máximo control de *Pythium* en pH de 5.0 y

no controla cuando el pH es de 8.0. En pruebas de campo realizadas en Sudáfrica, la potogenicidad por *Pythium* y por tanto, las pérdidas de la producción fueron mayores en pH de 6.0 y 7.0 pero no hubo una reducción significativa a pH de 4.0. A la inversa, la actividad de control biológico de *Trichoderma* fue la más grande cuando el pH fue bajo, especialmente cuando fue de 5 (Newman y Laing, 2002).

Se evaluó en campo el control biológico del complejo de la enfermedad de *Pythium aphanidermatum* - *Meloidogyne incognita* en Chile (*Capsicum* sp.) (cv Co2), con mejoradores orgánicos (estiércol de granja y neem cake) combinados con antagonistas. Los antagonistas usados fueron *Trichoderma viride*, *T. harzianum* (en contra de *P. aphanidermatum*) y *Paecilomyces lilacinus* (en contra de *M. incognita*). La incidencia del ahogamiento del Chile se redujo significativamente con todos los tratamientos cuando se trató la semilla con el antagonista y cuando se aplicaron los mejoradores al suelo 15 días antes de la siembra. El peso seco del vástago y de la raíz aumentó significativamente y el número de nódulos se redujo considerablemente (Karthikeyan *et al.*, 1999; Karthikeyan *et al.*, 2001)

De un grupo de 30 aislados de especies de *Trichoderma* aislados de raíces de diferentes cultivos se seleccionó la cepa T₀₂₋₂₅, y se probó su actividad biológica en contra de *R. solani*, causante del tizón de plántulas de pimiento. Los métodos de ensayo consistieron en el tratamiento de esclerocios de *R. solani* con suspensión conidial de *Trichoderma* (10² ufc/ml) y esparciendo fibra de arroz con *Trichoderma* sobre el medio de crecimiento de la raíz del pimiento. Los resultados mostraron efectividad en contra de *R. solani* con los dos métodos de aplicación y su eficiencia de control fue de 82.7 y 78.0 % respectivamente (Wei Lin y Liang ZhiHuai, 2002).

Tres especies de *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. koningii*) aislados de suelos de la India, se evaluaron por su actividad antagonista contra un aislado de *R. solani* de *Cymbopogon* (*C. winterianus* y *C. khasianus*) *in vitro* y bajo invernadero. Entre los hongos probados *T. harzianum* suprimió efectivamente el crecimiento de *R. solani in vitro*. También se redujo el crecimiento y el desarrollo de esclerocios de *R. solani* en medio de cultivo de miel de maíz-avena (MSM) en presencia de *T. harzianum*. En condiciones de invernadero la incorporación del inoculo de *T. harzianum* en fibra de trigo, en suelo infectado por el patógeno redujo significativamente la enfermedad del tizón del *Cymbopogon* causado por *R. solani* (Tamuli y Boruah, 2002).

Se estudió el control biológico de *Rhizoctonia solani* usando semillas de *Phaseolus vulgaris*, se concluyó que a baja incidencia de *Rhizoctonia solani* los tratamientos de pregerminación de semillas con *Trichoderma koningii* (Th 11) aumentaron significativamente el porcentaje y la velocidad de germinación protegiendo al 82 % de la semilla de los síntomas de la enfermedad. También cuando una suspensión de conidios de *T. Koningii* fue aplicada al suelo, el vigor de la planta se incrementó significativamente (Rodríguez y Cotes, 1999).

Colonias de microorganismos silvestres presentes en macetas con mezcla de turba de *Sphagnum* de color oscuro (altamente descompuesta), de color claro (menos descompuesta) y corteza de pino composteada, no pudieron controlar consistentemente el damping-off producido por *Rhizoctonia* del rábano, la pudrición del cuello y de la raíz de la nochebuena. La inoculación de las mezclas con *Chryseobacterium gleum* (C₂₉₉R₂) y *Trichoderma hamatum* 382 (T₃₈₂) redujeron significativamente la severidad de ambas enfermedades en la mezcla de composta de corteza de pino en la que ambos agentes de

control biológico mantuvieron altas poblaciones a los 90 días. Estos microorganismos fueron menos efectivos en contra del ahogamiento en las mezclas de turba clara y oscura respectivamente en donde las poblaciones de C₂₉₉R₂ bajaron considerablemente. En contraste se suprimió la pudrición de la raíz y del cuello de nochebuena en las tres mezclas. Aplicaciones tardías de T₃₈₂ en las 3 mezclas durante el ciclo de cultivo podrían haber contribuido al control de la enfermedad (Krause *et al.*, 2001).

En una evaluación *in vitro* se usaron 90 cepas de actinomicetos aisladas de la rizosfera de papa de zonas productoras de Coahuila y Nuevo León, México. Para el cultivo de los hongos se usó medio Agar Czapek Dox donde se colocaron en cuatro puntos equidistantes, 4 explantes de cada cepa del actinomiceto. Un explante de micelio de *R. solani* fue colocado en el centro de la caja de petri. La evaluación del crecimiento se inicio 3 días después de la colocación de los explantes. Se estableció el % de inhibición comparando el diámetro de crecimiento contra la cepa de actinomiceto y contra el control, que consistió en explantes de *R. solani* en el centro de la caja. De las 90 cepas se seleccionaron 24 para una segunda evaluación por mostrar el mejor efecto inhibitorio. La cepa AC77 fue la mejor estadísticamente con 87 % de inhibición seguida de la cepa CA12 con 73.9 %. Todas las cepas seleccionadas inhibieron arriba del 35 % por lo que se considera que los actinomicetos aislados de la rizosfera de papa pueden ser una fuente de control biológico de *Rhizoctonia solani* (Castillo-Fabela *et al.*, 2001)

Recientemente se ha incrementado el uso de antagonistas fúngicos. *Gliocladium virens* es una de las especies antagónicas mas ampliamente estudiadas con miras a una aplicación práctica, se ha discutido la biología del hongo, los

mecanismos de antagonismo y su uso en el control biológico (Rispoli y Nicoletti, 1999).

Minuto *et al.* (2000) realizaron pruebas de control de *Fusarium oxysporum* en *Argyranthemum frutescens* en maceta. Obtuvieron buenos resultados con la aplicación de fungicidas al suelo lo mismo que con un *Fusarium* antagonista en una formulación comercial.

Se ensayaron *in vitro* organismos aislados de composta para la inhibición del crecimiento micelial y la germinación de conidios de *Fusarium culmorum* de la avena (*Avena sativa*), cinco aislados de hongos tuvieron efectos antagonistas contra el crecimiento micelial de *F. culmorum* y de esos, tres inhibieron la germinación de conidios (Boyd-Wilson *et al.*, 2000).

Dos cepas mutantes no patogénicas 4/4 y 15/15 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (raza 1 y 2) fueron aisladas para evaluar una técnica de inoculación seguida de una mutagénesis UV de un aislado de un tipo virulento silvestre. Después de la inoculación de plántulas de melón con la cepa 4/4, no se observaron síntomas de la enfermedad ni efectos detrimentales en las plantas. En contraste la inoculación con la cepa 15/15 causo alta mortalidad en las variedades susceptibles aunque en menor grado la mortalidad causada en las inoculadas con la cepa silvestre. La cepa 4/4 coloniza la rizosfera de varios cultivares de melón y de sandía y fue capaz de reducir significativamente la mortalidad de las plántulas causada por *F. oxysporum*. La generación de mutantes no patogénicos a partir de aislados silvestres para el control biológico de *Fusarium* spp. y otros hongos fitopatógenos puede ser muy benéfico porque las cepas que solo difieren en la patogenicidad pueden competir con mayor eficiencia que otros organismos de control biológico en contra de los patógenos de origen (Freeman *et al.*, 2002).

Mediante la técnica de la carnada (*P. parasitica* precolonizando en trigo) en varios tipos de suelo fueron aisladas cepas de *Trichoderma* spp. para el control de *Phytophthora parasitica* (*P. nicotiana* var. *parasitica*) en plántulas de cítricos. Los mejores cinco aislados fueron seleccionados por hiperparasitismo y pasados a otras dos pruebas *in vitro*: i) grado de inhibición del patógeno cultivado en PDA con *Trichoderma* y ii) producción de antibióticos en celofán. En un contenedor se colocó una mezcla de suelo-vermiculita que fue preparada con cinco aislados de *Trichoderma* formulando pelets de 2, 4 ó 6 g de harina de arroz. Después de tres meses la producción de raíz fue medida en el crecimiento de plántulas en la mezcla. El mejor crecimiento fue en el de los pelets de 2 g. La media del peso de raíz en esas plántulas fue del doble del peso de la raíz en las plantas testigo. Además *P. parasitica* no se pudo recuperar del medio por la técnica de la carnada (May y Kimati, 1999).

El tomate es el principal cultivo hortícola de Chile, entre las enfermedades más importantes esta el cáncer del tallo causado por *Phytophthora parasitica* (*P. nicotianae* var. *parasitica*) que afecta considerablemente el crecimiento en condiciones de monocultivo. Como una estrategia para reducir el uso de bromuro de metilo en el control de hongos del suelo se probó la efectividad de tres cepas de *Trichoderma harzianum* *in vivo* comparándolo con la fumigación tradicional. Se evaluaron dos formas de aplicación de *T. harzianum*. La primera consistió en la inoculación de plántulas al momento del trasplante y la segunda fue la inoculación del suelo mediante la aplicación de pelets conteniendo el antagonista. La inoculación de plántulas presentó el mismo nivel de infección que las plantas en suelo sin fumigación. La inoculación del suelo con pelets mostró resultados de infección iguales a las plantas en suelo fumigado con bromuro de metilo. Este resultado indica que es posible sustituir el uso del bromuro

de metilo por la inoculación con *T. harzianum* (Besoain et al., 2001).

Soesanto (2000) estudió la dinámica de *Verticillium dahliae*, agente causal de enfermedades de muchos cultivos entre los que se encuentran la papa, el algodón y el olivo. Como material biológico utilizó a *Arabidopsis thaliana* por ser una planta de ciclo muy corto y por su alta susceptibilidad a la infección por el hongo. Encontró que con la aplicación al suelo del hongo *Talaromyces flavus* se redujeron significativamente las poblaciones de *Verticillium dahliae* sobre todo a una temperatura de 25 °C lo que redujo considerablemente la muerte de *Arabidopsis thaliana* a causa de la enfermedad. También probó la aplicación de *Pseudomonas fluorescens* cepa P60 y otras dos cepas y encontró que inhibieron el crecimiento micelial *in vitro* de 20 aislados de *V. dahlia*, redujo la formación de microesclerotia en ambos (*in vitro* y en la planta) y retraso la senescencia de *A. thaliana* hasta la misma proporción de las plantas no inoculadas, concluyendo que *T. flavus* y *P. fluorescens* tiene la capacidad de controlar las poblaciones de *V. dahlia* en ambos ambientes, en suelo y en medio de cultivo.

LITERATURA CITADA

- Besoain X., Garcia R., Raggi C., Oyanedel E., Montealegre J., y Perez L.M. 2001. Biological control of *Phytophthora parasitica* in greenhouse tomatoes using *Trichoderma harzianum*. Bulletin OILB/SROP vol. 24 (3): 103-107.
- BingGan L., BingXin Z., LiQiang H., and Ryder M. 2001. Resistance to metalaxyl and biological control of *Pythium* spp. Acta Phytomycol Sinica 28 (1): 55-60.
- Boogert P.H.J.F. van den. 1999. Biological control of *Rhizoctonia* diseases. 3. Mycoparasitism and biocontrol of

Rhizoctonia solani. Summa
Phytopathologica 25 (2): 107-110.

Boyd-Wilson K.S.H., Magee L.J., Hackett J.K., and Walter M. 2000. Testing bacterial and fungal isolates for biological control of *Fusarium culmorum*. In: New Zealand Plant protection. Ed. Zydenbos S.M. Vol. 53: 71-73.

Cassiolato A.M.R. 2000. Biological control of *Rhizoctonia solani* using non-pathogenic or hypovirulent isolates of *Rhizoctonia* spp. Summa Phytopathologica 26 (1): 185-190.

Castillo-Fabela E., Gallegos-Morales G., Hernández-Castillo F.D., Cepeda-Siller M. y Zamora-Villa V.M. 2001. Efectividad de actinomicetos aislados de la rizósfera de papa sobre *Rhizoctonia solani* Khün *in vitro*. Revista Mexicana de Fitopatología 19 (2): 203-207.

Downer J., Faber B., and Menge J. 2002. Factors affecting roor rot control in mulched avocado orchards. HortTechnology 12 (4): 601-605.

Fageria, N.K., V.C. Baligar y Ch.A. Jones. 1997. Growth and mineral nutrition of fields crops. 2nd edition. Marcel Dekker, Inc. New York.

Freeman S., Zveibil A., Haim Vintal y Maymon M. 2002. Isolation of nonpathogenic mutants of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* for biological control fo *Fusarium* wilt in curcubits. Phytopathology vol. 92 (2): 164-168.

Getha, K. y Vikineswary, S. 2002. Antagonistic effects of *Streptomyces violaceusniger* G10 on *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 4: indirect evidence for the role of antibiosis in the antagonistic process. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, vol 28 (6): 303-310.

Godfrey S.A., Silby M.W., Falloon P.G., and Mahanty H.K. 2000. Biological control of

Phytophthora megasperma var. *sojae*, causal agent of *Phytophthora* rot of asparagus, by *Pseudomonas aureofaciens* PA 147-2: a preliminary field trial. New Zeland Journal of Crop and Horticultural Science 28 (2): 97-103.

Gulati, M.K., Koch, E., Sikora, R.A. and Zeller, W. 2001. Biological control of *Phytophthora* diseases on strawberry with rhizobacteria. Bulletin OILB/SROP, vol. 24: 51-55.

Huber, D.M. 1989. Introduction. pp. 1-8. In: A.W. Engelhard (ed.). Soilborne planta pathogen: management of disease with macro and microelemnts. APS Press. St. Paul, Minnesota.

Hyakumachi M. 1999. Biological control of *Rhizoctonia* diseases. Suppression and prevention: mechanisms involved in *Rhizoctonia* diseases decline. Summa Phytopathologica 25 (2): 99-102.

Karthikeyan G., Sabitha Duraisamy, and Sivakumar C.V. 1999. Biological control of *Pythium aphanidermatum*, *Meloidogyne incognita* disease complex in chilli with organic amendmets. Madras Agricultural Journal, 86 (4/6): 320-323.

Karthikeyan G., Sabitha Duraisamy, and Sivakumar C.V. 2001. Biological control of *Pythium aphanidermatum*, *Meloidogyne incognita* disease complex in brinjal with organic amendmets. Madras Agricultural Journal, 88 (1/3): 40-42.

KimDongWon, Do KiSuk, Choi SunWong, Choi KeeHyun, So InSup and Pak ChunHo. 2001. Antagonists search for biological control of fusarium wilt (*Fusarium oxisporum*) in *Cymbidium* genus. Journal of the Korean Society for Horticultural Science. 42 (5): 581-586.

Krause M.S., Madden L.V., and Hoitink H.A.J. 2001. Effect of potting mix microbial carrying capacity on biological control of

Rhizoctonia damping-off of radish and Rhizoctonia crown and root rot of poinsettia. *Phytopathology* 91 (11): 1116-1123.

Krupa, S.V. e Y.R. Dommergues. 1979. Ecology of root pathogens. Ed. Elsevier Scientific Publ. Co. Amsterdam, The Netherlands.

Kurze S., Sauerbrunn N., Bahl H., y Berg G. 2001. Effects of antagonistic rhizobacteria on plant health, yield and the bacterial rhizosphere community of strawberry. *Bulletin OILB/SROP VOL. 24* (3): 117-120.

Lagunas L. J., Zavaleta-Mejia E., Osada-Kawasoe S., Luna R.I. y Aranda O.S. 1999. *Bacillus* spp. Agentes de control biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* y *Phytophthora capsici* en jitomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). IFIT. COLPOS. Avances de investigación.

Larkin R.P., and Fravel D.R. 1999. Mechanisms of action and dose-response relationships governing biological control of *Fusarium* wilt of tomato by nonpathogenic *Fusarium* spp. *Phytopathology* 89 (12): 1152-1161.

Larkin R.P., and Fravel D.R. 2002. Effects of varying environmental conditions on biological control of *Fusarium* wilt of tomato by nonpathogenic *Fusarium* spp. *Phytopathology* 92 (11): 1160-1166.

HoSeong L., JungMok L., and SangDal K. 1999. Role of siderophore in biological control of *Fusarium solani* by *Pseudomonas fluorescens* GL20. *Bulletin of Institute for Comprehensive Agricultural Sciences, Kinki University* 7: 47-58.

Luz, W.C. da, Stockwell C.A., and Bergstrom G.C. 2003. Biological control of *Fusarium graminearum*. In: *Fusarium head blight of wheat and barley*. Ed. Leonard K.J. and Bushnell W.R. pp. 381-394.

May, L.L. and Kimati, H. 1999. Biological control of *Phytophthora parasitica* in citrus. *Fitopatologia Brasileira* 24 (1): 18-24.

Minuto G., Bertetti D., Gullino M.N. y Garibaldi A. 2000. Chemical and biological control of *Fusarium* wilt of *Argyranthemum frutescens*. *Atti, Giornate fitopatologiche, Perugia*. vol. 2: 323-328.

Moeller, K. and Reents, H.J. 1998. Impact and interaction of *Phytophthora* disease and nitrogen supply on tuber growth and yield in organic potato production. *Organic agriculture - the credible solution for the 21st Century*. Proceedings of the 12th International IFOAM Scientific Conference, Mar del Plata, Argentina, November 15-19, pp 196-199.

Newman B., and Laing M.D. 2002. Soil moisture and root zone pH as tools for enhancing biocontrol of *Pythium* by *Trichoderma*. *Bulletin OILB/SROP* 25 (10): 89-92.

Olalde P., V. y Aguilera G., L.I. 1998. Microorganismos y biodiversidad. *Terra* (16)3: 289-292.

Ozaktan H. y Bora T. 2000. Biological control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* by formulations of fluorescent pseudomonads. *Journal of Turkish Phytopathology* 29 (2/3) 133-149.

Pérez L., M., V. Olalde-Portugal, J.R. Sánchez P. y C. Castañeda C. 1997. Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium cepivorum* Berk a fungicidas comunmente usados para su control. *Revista Mexicana de Fitopatología* 15: 9-14.

Praveen G. y Purohit D.K. (2002). Biocontrol of *Fusarium* wilt of chilli through seed bacterization with *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Mycology and Plant Pathology* 32 (1): 133.

- Rispoli M. Y Nicoletti R. 1999. Fungal antagonists of *Rhizoctonia solani*. II. *Gliocladium virens*. Tabacco 7 (2): 1-7.
- Rodriguez R., F. Y Cotes, A.M. 1999. Control biológico de la producción radical del frijol (*Rhizoctonia solani* Kuhn) mediante pregerminación controlada en presencia de *Trichoderma koningii* Oudemans. ASCOLFI Informa 25 (1): 3-4.
- Romero C., S. 1993. Hongos Fitopatógenos. Ed. Universidad Autónoma de Chapingo, Dirección general del Patronato Universitario. México. 347 pp.
- Simpfendorfer S., Harden T.J. y Murria G.M. 1999. The *in vitro* inhibition of *Phytophthora clandestina* by some rhizobia and the possible role of *Rhizobium trifolii* in biological control of *Phytophthora* root rot of subterranean clover. Australian Journal of Agricultural Research vol. 50 (8): 1469-1473.
- Singh P.P., Shin YoungChul, Park Changseuk y Chung YoungRyun. 1999. Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber by chitinolytic bacteria. Phytopathology 89 (1): 92-99.
- Sneh B. 1999. Biological control of *Rhizoctonia* diseases. 2. Use of non-pathogenic isolates of *Rhizoctonia* in biological control. Summa Phytopathologica 25 (2): 102-106.
- Soesanto L. 2000. Ecology and biological control of *Verticillium dahlia*. Thesis. Wageningen University. Wageningen Netherlands. 120 pp.
- Sorokina T.A., Lipasova V.A., Andreeva N.B. y Khmel I.A. 1999. The use of bacterial antagonists for the biological control of *Fusarium* infection in the carnation plants growing in hydroponic solution. Biotekhnologiya 15 (4): 78-82.
- Tamuli P., and Boruah P. 2002. Biological control of *Rhizoctonia solani* Kunn in aromatic Cymbopogons by *Trichoderma* species. Plant Archives 2 (1): 77-80.
- Tu JiuChang, Zhang WeiZheng, Harwood B. and Ma Chun. 2001. Biological control of Pythium root rot of tomato. Bulletin OILB/SROP 24 (3): 89-92.
- Vanamala A., Cornelis P. and Koedam N. 2003. Effect of genotype and root colonization in biological control of fusarium wilt in pigeonpea and chickpea by *Pseudomonas aeruginosa* PNA1. Canadian Journal of Microbiology 49 (2): 85-91.
- Virgen-Calleros, G., V. Olalde-Portugal y R. Rocha. 1996. Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* Khurm in potato from Guanajuato state, México. Fitopatología 31:48.
- Wakelin S.A., Walter M., Jaspers M., and Stewart A. 2002. Biological control of *Aphanomyces euteiches* root-rot of pea with spore-forming bacteria. Australasian Plant Pathology 31 (4): 401-407.
- Wei Lin and Liang ZhiHuai. 2002. Study on biological control of *Rhizoctonia solani* via *Trichoderma*. Hunan Agricultural Science & Tecnology Newsletter 3 (2): 14-16.
- Xiao K., Kinkel L.L., and Samac D.A. 2002. Biological control of *Phytophthora* root rot on alfalfa and soybean with *Streptomyces*. Biological control 23 (3): 285-295.
- Zheng J., Sutton J.C., and Yu H. 2000. Interactions among *Pythium aphanidermatum*, roots, root mucilage, and microbial agents in hidroponic cucumber. Canadian Journal of Plant Pathology 22 (4): 379.