

FORO

## Control biológico en comunidades microbianas del suelo: un fenómeno de dependencia de sustrato<sup>1</sup>

HAJ Hoitink<sup>2</sup>  
MJ Boehm<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Gran parte del control biológico de enfermedades causadas por patógenos del suelo como *Pythium*, *Phytophthora*, y *Rhizoctonia solani* requiere la introducción o la presencia de fuentes edáficas de nutrientes orgánicos en el suelo, como sustento para los agentes de control biológico. El nivel de descomposición de la materia orgánica afecta críticamente la *taxa* bacteriana así como las poblaciones de estos agentes. La competencia, la antibiosis, el parasitismo y la resistencia sistémica inducida son afectados. Las fuentes de turba de esfagno estabilizadas adecuadamente fallan constantemente como apoyo para el sustento de control biológico, incluso cuando son inoculadas con agentes de control biológico. Los composts, por otro lado, pueden funcionar como una fuente ideal de alimentación para estos agentes y ofrecen la oportunidad para introducir y establecer en el suelo agentes específicos, los cuales logran un control sostenible basado en la actividad de las comunidades microbianas.

**Palabras clave:** Materia orgánica, Composición de especies bacterianas, Biomasa microbiana del suelo, Resistencia sistémica inducida.

**ABSTRACT. Biocontrol within the context of soil microbial communities: A substrate-dependent phenomenon.** Broad spectrum biological control of diseases caused by soilborne plant pathogens such as *Pythium*, *Phytophthora*, and *Rhizoctonia solani* requires the introduction into or presence of edaphic sources of organic nutrients in soil for sustenance of biocontrol agents. The decomposition level of organic matter critically affects the composition of bacterial *taxa* as well as the populations and activities of biocontrol agents. Competition, antibiosis, parasitism and systemic induced resistance are all affected. Highly stabilized sources of Sphagnum peat consistently fail to support sustained biological control, even when inoculated with biocontrol agents. Composts, on the other hand, can serve as an ideal food base for biocontrol agents and offer an opportunity to introduce and establish specific biocontrol agents into soils, which in turn leads to sustained biological control based on the activities of microbial communities.

**Key Words** Soil organic matter, Bacterial species composition, Fluorescein diacetate, Soil microbial biomass, Systemic induced resistance.

---

### Introducción

Durante los últimos 30 años, una gran diversidad de microorganismos del suelo han sido descritos, caracterizados, y evaluados como agentes de control biológico de enfermedades causadas por fitopatógenos del suelo. Se han desarrollado varias estrategias de control basadas en la introducción de agentes de con-

trol biológico, tanto de manera individual como en mezclas. Desafortunadamente, este enfoque de control de enfermedades no ha sido ampliamente adoptado por varias razones. Algunos de los microorganismos introducidos controlaron solo una de las enfermedades importantes de un cultivo. Otros proporcio-

<sup>1</sup> Publicado con permiso de The Annual Review of Phytopathology, volumen.37,1999 by Annual Reviews www.AnnualReviews.org

<sup>2</sup> The Ohio State University and Ohio Agricultural Research and Development Center, Ohio, USA. hoitink.1@osu.edu

Traducción al Español por Laura Rodríguez

nan solamente un control parcial de la enfermedad o simplemente no sobrevivieron el tiempo suficiente para tener un efecto significativo (Weller 1988).

Para solucionar estas limitaciones, se han estudiado los factores que regulan la habilidad de los agentes de control biológico para establecerse en las raíces. La competencia en la rizosfera es uno de esos factores (Harman 1992). Este enfoque, al menos en teoría, ubica los agentes de control biológico donde son más necesarios y donde las fuentes de nutrimentos (exudados de la raíz, mucílago, células desprendidas de la raíz, etc.) están disponibles. Otro enfoque es la incorporación de un suplemento alimenticio junto con el agente de control biológico para mantener su actividad sin estimular la de los patógenos (Lewis *et al.* 1998, Steinmetz y Schönbeck 1994). Un factor limitante es la calidad y cantidad del sustrato que debe incorporarse y la dificultad de hacer estos tratamientos económicamente atractivos a productores y usuarios finales.

Las enmiendas orgánicas, tales como estiércoles frescos, estiércoles fermentados, y composts pueden proporcionar esta base alimenticia y han sido ampliamente reconocidos como facilitadores del control cuando son aplicados mucho antes de la siembra (Baker y Cook 1974, Hodges y Scofield 1983, Lumsden *et al.* 1983). Estas prácticas de manejo fitosanitario pueden ser muy eficaces para el control de enfermedades causadas por muchos fitopatógenos del suelo, que van desde *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium* spp. hasta *Rhizoctonia solani*. Los microorganismos edáficos estimulados por esas enmiendas contribuyen a la actividad supresora de los suelos, mediante los cuatro mecanismos principales de control biológico: (a) competencia, (b) antibiosis, (c) parasitismo/depredación, y (d) resistencia sistémica inducida (Lockwood 1988). Este tipo de control está basado en la actividad de los agentes de control biológico dentro del contexto de comunidades microbianas y su respuesta al suelo y las reservas de energía incorporadas por la planta. La concentración y disponibilidad de nutrimentos (carbohidratos en sustancias lignocelulosa, quitina, lípidos, etc.) en la materia orgánica del suelo juega un rol clave en la regulación de estas actividades (Baker y Cook 1974, Cohen *et al.* 1998, Hoitink *et al.* 1997).

Los avances en agricultura generados a principios de este siglo, entre los cuales están la introducción de fertilizantes inorgánicos y de fungicidas sintéticos, las variedades resistentes a enfermedades y las prácticas

culturales mejoradas permitieron a los productores romper el vínculo entre las enmiendas orgánicas y la fertilidad del suelo. Como resultado, subproductos como estiércoles se convirtieron en desechos en lugar de recursos valiosos. Los patógenos de animales aumentaron en el entorno y se presentaron problemas de contaminación de aguas debido a prácticas inadecuadas de desecho (Bruns 1996, Concil for Agricultural... 1995, 1996, 1998). La materia orgánica del suelo mineralizada en el tiempo, la pérdida de la estructura del suelo, y numerosas enfermedades causadas por fitopatógenos del suelo, eventualmente se desarrollaron en proporciones epidémicas. Esto se dio especialmente en aquellos sistemas de cultivo en los cuales no había disponibilidad de prácticas de manejo adecuadas, como la resistencia genética del hospedante, la aplicación de fungicidas, o de prácticas culturales. La pudrición de la raíz del aguacate causada por *Phytophthora* es uno de los ejemplos más conocidos de este problema (Baker y Cook 1974). Situaciones similares se presentaron en plantas producidas en mezclas preparadas con turba como único componente orgánico, dado que la mayoría de las turbas, tal como los suelos altamente mineralizados, tienen bajas reservas de energía disponible y no suprimen estas enfermedades (Hoitink *et al.* 1991).

Actualmente, la creciente cantidad de desechos sólidos deben ser tratados, almacenados y usados de una manera correcta para evitar muchos tipos de problemas ambientales. La producción de compost tiene ventajas sobre otras prácticas de manejo y su popularidad está creciendo como proceso para el tratamiento de desechos que no afectan al ambiente (Brown *et al.* 1998, Hoitink y Keener 1993), y proporciona productos de calidad perdurable para la agricultura (de Bertoldi *et al.* 1996, Hoitink *et al.* 1991, Rynk 1992).

Un control biológico persistente y sostenible de enfermedades causadas por varios tipos de fitopatógenos del suelo puede lograrse al diferir en el medio de crecimiento las enmiendas de compost usadas, en tanto se controlen variables tales como la consistencia de la fuente del material orgánico, el nivel de humedad, la salinidad, la proporción de carbono a nitrógeno, y el control de los parámetros en el proceso de compost (Cohen *et al.* 1998, Hoitink *et al.* 1997, Quarles y Grossmann 1995). Actualmente, los viveros y la industria de la floricultura utilizan con éxito la enmienda de compost como medio de cultivo así como una alternativa al uso de bromuro de metilo o a la aplicación

rutinaria de fungicidas al suelo (Hoitink 1980, Quarles y Grossmann 1995). Craft y Nelson (1996) informaron sobre un éxito similar en la supresión de la pudrición de la raíz causada por *Pythium* en el césped que rodea el hoyo de un campo arenoso de golf. Resultados similares se han obtenido en suelos cultivados (Bruns *et al.* 1996, Sekiguchi 1977, Workneh y van Bruggen 1994b).

Una gran diversidad de microorganismos contribuye al control biológico provisto por composts (Alvarez *et al.* 1995, Boehm *et al.* 1997, Kwok *et al.* 1987, You y Sivasithamparam 1995). Sin embargo, la composición de la microflora activa en el control cambia a medida que la materia orgánica se descompone, la capacidad de carga microbiana de la enmienda se reduce y la supresión se pierde. En estos sustratos de enmiendas varios mecanismos de supresión de enfermedades pueden operar al mismo tiempo contra diferentes patógenos. Esta revisión se enfoca en parte a las contribuciones recientes a este campo complejo del control biológico.

En sustratos complejos o aquellos con enmiendas de compost, el análisis de como el consorcio microbiano interactúa entre sí, con el patógeno, o con el hospedante para facilitar la supresión de la enfermedad siempre ha sido un desafío. Los recientes avances sobre la naturaleza y la complejidad de las poblaciones microbianas, la química del sustrato, y las interacciones de esos dos componentes del sistema suelo han contribuido a un mejor entendimiento de estos sistemas dinámicos. La biomasa microbiana total, basada en la concentración de fosfato fosfolípido, y la actividad microbiana, conocida por la tasa de hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA) o la incorporación de  $^{14}\text{C}$ -acetato en los fosfolípidos, ha proporcionado una visión nueva y útil sobre los mecanismos por los cuales los microorganismos suprimen la actividad de los patógenos del suelo (Boehm *et al.* 1997, Bruns 1996, Chen *et al.* 1996, Chen y Hoitink 1988, Mandelbaum y Hadar 1990, Marull *et al.* 1997, Tunlid *et al.* 1989, Workneh *et al.* 1993, You y Sivasithamparam 1994). Además, aplicaciones novedosas en espectroscopía como la infrarroja de reflectancia difusa no destructiva transformada de Fourier (DRIF) y la resonancia magnética nuclear  $^{13}\text{C}$  de ángulo giratorio de polarización-mágica cruzado (CPMAS  $^{13}\text{C}$ -NMR), respectivamente, han permitido la caracterización de los cambios en la composición química de la materia orgánica del suelo. A medida que se incrementa la actividad de patógenos, la contribución del consorcio microbiano en el control biológico es menos activa y la enfermedad se

incrementa (Boehm *et al.* 1997, Hu *et al.* 1997, Stone *et al.* 1997). Aunque estos campos de la ciencia son aún incipientes, pueden hacerse algunas conclusiones generales sobre el papel de la disponibilidad de los sustratos para mantener los agentes de control biológico en el contexto de las comunidades microbianas, la discusión de esas conclusiones constituyen la base de esta revisión.

### **Visión general del proceso de compostaje y el desarrollo de una comunidad microbiana supresora de la enfermedad**

El proceso de compostaje comúnmente está dividido en tres fases (Golueke 1972). Durante la primera fase, las temperaturas se incrementa rápidamente entre 40-60 °C, cuando son utilizadas el azúcar y otras sustancias fácilmente biodegradables. Durante la segunda fase, cuando prevalece una temperatura entre 40-70 °C, las sustancias celulósicas y otras menos biodegradables son descompuestas (Chen y Inbar 1993). Las ligninas y otros componentes recalcitrantes se descomponen aún más despacio. Las sustancias húmicas se acumulan en cantidades siempre crecientes por la continua descomposición. Los patógenos de plantas, animales, y humanos, semillas de malezas y desafortunadamente, los microorganismos benéficos así como la fijación de nitrógeno y organismos de control biológico también son destruidos durante el periodo del tratamiento con calor (Bollen 1993, Hoitink y Fahy 1986). *Bacillus* spp. y otros facultativos termoresistentes sobreviven al proceso de altas temperaturas (Strom 1985). Recientemente, ha aumentado considerablemente el conocimiento de microorganismos que colonizan los composts a altas temperaturas (Beffa *et al.* 1996).

La tercera fase o fase curativa del proceso de compostaje se inicia cuando las concentraciones de materiales de fácil biodegradación comienzan a ser limitadas para la microflora presente en el compost. Como resultado, se reduce la actividad microbiana y la producción de calor. Después la temperatura se reduce hasta llegar a 40 °C, los microorganismos mesofílicos, algunos con capacidad para el control biológico colonizan el ahora semipasteurizado compost desde las capas exteriores con baja temperatura hacia el centro del montículo (Hoitink y Fahy 1986). Durante esta fase del proceso, el voltear frecuentemente el compost y mantener un nivel óptimo de humedad mejora la recolonización por los mesófilos y el desarrollo de la supresión natural de enfermedades (Hoitink *et al.* 1991).

Una gran diversidad de agentes de control biológico colonizan naturalmente los composts. Esto se da principalmente con microorganismos eficaces contra los Oomycetos, patógenos del suelo (Boehm *et al.* 1997, Hardy y Sivasithamparam 1995). La composición de géneros de hongos parece ser afectada por los compuestos químicos del material orgánico usado para preparar el compost. La preparación con sustancias lignocelulósicas, tales como corteza de árboles son colonizados principalmente por *Trichoderma* spp. (Kuter *et al.* 1983). En contraste, el bagazo de uva, el cual es bajo en sustancias celulósicas y alto en azúcares, es colonizado por *Penicillium* y *Aspergillus* spp. (Gorodecki y Hadar 1990). Por consiguiente, no es una sorpresa que se considere a *Trichoderma* spp. como un agente de control biológico especialmente eficaz para *R. solani* en composts preparados con desechos lignocelulósicos (Cohen *et al.* 1998, Grebus *et al.* 1994, Hardy y Sivasithamparam 1995, Kwok *et al.* 1987, Nelson *et al.* 1983). Por otro lado, *Aspergillus* y *Penicillium* son los parásitos fungosos predominantes en la erradicación de la podredumbre causada por *Sclerotium rolfsii* mediante composts de bagazo de uva como sustrato de enmienda (Hadar y Gorodecki 1991).

Géneros bacterianos copiotróficos recolonizan los composts más rápidamente (24-48 h) después del pico máximo de calor (Chen *et al.* 1988, Kwok *et al.* 1987). Los agentes de control biológico predominantes en este grupo incluyen cepas de *Bacillus*, *Pseudomonas*, y *Pantoea* spp. (Boehm *et al.* 1993, Cohen *et al.* 1998, Kwok *et al.* 1987). Las bacterias oligotróficas no llegan a su población máxima hasta 18-24 días en la fase curativa (Chen *et al.* 1988). Oligotróficos obligados parecen ser ineficaces para el control biológico del mal de talluelo causado por *Pythium* cuando son aplicados a las semillas después de ser aislados de composts supresores de la pudrición de la raíz causada por este hongo (Sugimoto *et al.* 1990). Sin embargo, su actividad a largo plazo en la parasitación de los propágulos inactivos de patógenos del suelo no ha sido aún bien definida. En contraste con los obligados, las cepas facultativas de oligotróficos tales como las pertenecientes al género *Pseudomonas* son muy eficaces cuando son utilizadas como tratamiento de semillas. Los Actinomicetos también contribuyen significativamente al control biológico provisto por los composts (Hardy y Sivasithamparam 1995, You y Sivasithamparam 1995). La interacción entre todas las cepas es necesaria para lograr la máxima eficacia en el control de un amplio ámbito de patógenos del suelo, como los hongos o

organismos similares a los hongos (Hardy y Sivasithamparam 1995, Kwok *et al.* 1987, Trillas-Gay *et al.* 1986).

En la práctica, los composts no son consistentemente colonizados por microorganismos muy diversificados como para inducir la supresión de enfermedades causadas por fitopatógenos del suelo. El análisis del espectro de control biológico proporcionado por sustratos con enmiendas de composts identificó tres niveles de especificidad. Más adelante examinaremos las evidencias de como la mayoría de los composts suprimen naturalmente las pudriciones de la raíz causadas por *Pythium* y *Phytophthora*. En contraste, solo un 20% de los composts evaluados suprimen el mal del talluelo causado por *Rhizoctonia* (Krause *et al.* 1997). Finalmente, muy pocos composts (< 10%) inducen resistencia sistémica en plantas (Zhang *et al.* 1996, 1998).

### Ejemplos de estrategias exitosas de control biológico mediante sustratos con enmiendas de composts

Muchos informes muestran que las podredumbres de la raíz causadas por *Pythium* y *Phytophthora* son rápidamente controladas por composts naturales, si son aplicados como cobertura al suelo (You y Sivasithamparam 1994), incorporados como enmiendas al suelo (Ellis *et al.* 1986, Lumsden *et al.* 1983, Schüler *et al.* 1989, 1993, Workneh y van Bruggen 1994a), o como un componente de mezclas para macetas (Hardy y Sivasithamparam 1991, Hoitink *et al.* 1977, Mandelbaum y Hadar 1990, Ownley y Benson 1991, Widmer *et al.* 1998) o en mezclas con arena para césped (Craft y Nelson 1996).

Muchos tipos de agentes de control biológico logran este efecto contra *Pythium* y *Phytophthora* spp. (Boehm *et al.* 1993, 1997, Hardy y Sivasithamparam 1991, 1995, Kim *et al.* 1997, You y Sivasithamparam 1994). Boehm *et al.* (1993) informaron que 20% de todas las cepas bacterianas recuperadas en agar de soya triptica al 0,1 (TSA) de la rizosfera de pepino sembrado en una mezcla para macetas a partir de enmienda de compost preparado con corteza de pino, indujeron el control biológico de mal del talluelo causado por *Pythium*, cuando este se aplicó como tratamiento de semilla. *Pseudomonas* fluorescentes *Pantoea* y *Bacillus* spp. fueron los más eficaces y también las especies más abundantes, tanto en la rizosfera como en la mezcla circundante no rizosférica (Boehm *et al.* 1997).

La supresión de la podredumbre de la raíz causada por *Phytophthora* mediante enmienda de compost, tanto en condiciones de campo como en mezcla para

macetas parece también ser resultado de interacciones entre muchos tipos de microorganismos (You y Sivasingh 1995). El fenómeno de supresión general *sensu* Gerlagh (1968) y discutido por Baker y Cook (1974), describe mejor este tipo de control biológico de podredumbres de raíz causadas por *Pythium* y *Phytophthora*.

### Supresión específica

El control con compost de enfermedades causadas por patógenos como *R. solani* es mucho más variable en la naturaleza (Kwok *et al.* 1987, Phae *et al.* 1990, Tuitert *et al.* 1998). Solo 20% de 71 lotes comerciales de mezclas con enmiendas de composts, producidas con corteza de pino, evaluadas en Estados Unidos lograron un control adecuado del mal del talluelo producido por *Rhizoctonia* en rábano, aunque con todas ellas se logró un control durable de *Pythium* (Krause 1997). La diferencia básica es que *R. solani* es controlado por un número menor de agentes de control biológico y esa microflora no coloniza consistentemente los composts (Grebus *et al.* 1994, Kuter *et al.* 1983, Kwok *et al.* 1987, Nelson *et al.* 1983). El parasitismo es crítico para el control biológico de *R. solani* y *Sclerotium rolfsii* en sustratos supresivos con enmiendas de compost (Gorodecki y Hadar 1990, Nelson *et al.* 1983).

Se ha informado de un control no consistente de *R. solani* mediante composts preparados con varios tipos de materia prima, incluso los usados en agricultura (Lumsden *et al.* 1983, Nelson *et al.* 1983, Tuitert *et al.* 1998). Este problema puede solucionarse curando los composts durante un tiempo largo (Kuter *et al.* 1988, Tuitert *et al.* 1998), incorporándolo al suelo varios meses antes de la siembra (Lumsden *et al.* 1983), o a través de la inoculación del compost con agentes de control biológico específicos durante o inmediatamente después del pico máximo de calor y antes de que ocurra una colonización sustancial por parte de otros microorganismos mesofílicos (Grebus *et al.* 1994, Hoitink *et al.* 1991, Kwok *et al.* 1987, Phae *et al.* 1990, Róckeboer *et al.* 1998). Un procedimiento de inoculación similar se ha descrito para el control de *R. solani* en remolacha azucarera mediante estiércoles de digestión anaeróbica (Kok *et al.* 1996).

El grado de control del mal de talluelo causado por *Rhizoctonia* obtenido con composts naturalmente supresivos no puede explicarse con base en la actividad de un solo agente de control biológico. Kwok *et al.* (1987) mostraron que un inóculo binario consistente en por lo menos una de varias cepas bacterianas y

de cualquiera de los aislamientos parasíticos de *Trichoderma harzianum* o de *T. hamatum* fue necesario para inducir un grado de supresión en mezclas con composts de corteza, equivalente al presente en la mayoría de los composts naturales. Se ha determinado que se requiere un inóculo binario similar para el control de la marchitez del rábano causado por *Fusarium* (Trillas-Gay *et al.* 1986).

Se conoce poco sobre como los composts inducen la resistencia sistémica en plantas. Tränkner (1992) fue el primero en informar que los composts inducen resistencia sistémica al mildew polvoso del trigo. Clulow *et al.* (1995) observó que cubrir los tubérculos con composts protege a la planta de papa del tizón tardío, con el uso de la técnica de raíz dividida. Zhang *et al.* (1996) demostró que al exponer una parte de la raíz de pino a una mezcla con enmiendas de compost supresivos de la podredumbre de la raíz causada por *Pythium*, se indujo la protección radical total a esta enfermedad. Además, ellos mostraron que el follaje de plantas de pepino producidas en algunos composts también puede ser protegido de la antracnosis en comparación con el de plantas sembradas en una mezcla de turba de esfagno (*Sphagnum*), predeciblemente favorable a varias enfermedades causadas por fitopatógenos del suelo (Boehm y Hoitink 1992, Hoitink y Fahy 1986).

Los lotes de composts eficaces incrementan la actividad de las proteínas relacionadas con la patogenésis, -1,3 glucanasa y peroxidasa en pepino y *Arabidopsis* pero la mayor parte del incremento de la actividad no ocurre hasta después de que la planta es infectada con el patógeno (Zhang *et al.* 1996, 1998). Esto ha llevado a la conclusión de que los lotes de composts activos parecen preparar a las plantas para defenderse mejor contra un patógeno dado.

Recientemente, Han *et al.* (1998) identificaron varios microorganismos en composts supresivos capaces de inducir resistencia sistémica en rábano y pepino. *T. hamatum* 382 y *Pantoea agglomerans* 278a, aplicados a las raíces de semilleros de rábano indujeron resistencia a la mancha bacteriana foliar causada por *Xanthomonas campestris* pv. *armoraceae*. Varios tipos de microorganismos de la rizosfera pueden inducir este efecto en plantas (van Loon *et al.* 1998). Desafortunadamente, menos del 10% de los lotes y tipos de composts evaluados parecen ser capaces de activar la respuesta de la resistencia sistémica inducida en plantas (Krause *et al.* 1998), lo cual sugiere la necesidad de estrategias de inoculación específicas para asegurar consistencia del producto.



## Calidad de la materia orgánica del suelo y su relación con la actividad de los agentes de control biológico

**Incremento de la enfermedad en enmiendas de materia orgánica fresca.** Siempre ha existido el desafío de caracterizar la calidad de la materia orgánica o la concentración en relación a la supresión de enfermedades. Las enmiendas orgánicas como los composts comúnmente poseen uno de tres efectos sobre los agentes de control biológico y, por consiguiente, sobre este tipo de control. Los composts inmaduros o estabilizados inadecuadamente no solo sirven como base alimenticia para los agentes de control biológico, sino que también benefician a los patógenos de plantas con alta capacidad de competencia saprofítica, y esto a menudo lleva al incremento de la enfermedad. En la siguiente fase durante su utilización, la materia orgánica es colonizada totalmente por microorganismos del suelo y los patógenos no pueden competir de manera eficaz por los recursos, este periodo se caracteriza por la supresión de la enfermedad. Durante la tercera fase, cuando la materia orgánica comienza a humedecerse mucho, su disponibilidad para los agentes de control biológico se vuelve limitada; durante este periodo el control biológico empieza a fallar. A continuación se describen las fases:

La materia orgánica fresca no colonizada totalmente por microorganismos del suelo capaces de inducir microbiostasis estimula no solamente a los microorganismos del suelo, sino también beneficia a los patógenos de las plantas, lo cual ocasiona el incremento de la enfermedad (Garrett 1955). Por ejemplo, la incorporación de arvejas al suelo como abono verde estimula a las poblaciones de *Pythium* spp. e incrementa el mal del talluelo causado por *Pythium* en lechuga, si el cultivo es sembrado inmediatamente después de la incorporación de la enmienda (Watson 1973). Poco tiempo después, cuando el abono verde incorporado ha sido colonizado adecuadamente por microorganismos del suelo para establecer microbiostasis, la enfermedad es suprimida aunque la población del patógeno sea elevada.

Chen *et al.* (1988a,1988b) desarrollaron un método directo para la evaluación de los efectos de los nutrientes de disponibilidad inmediata en composts para supresión de la pudrición de la raíz causada por *P. ultimum*. Ellos rastrearon la concentración de glu-

cosa libre en una mezcla para maceta que usaba como enmienda un compost maduro pero todavía con una temperatura alta (60°C). Concentraciones altas de glucosa libre fueron acumuladas después de que éstos composts se incubaran a bajas temperaturas, como resultado de la incapacidad de los termófilos de asimilar la celulosa a 25°C (McKinley y Vestal 1983). En las primeras 48 h después de que el sustrato es incubado a 25°C, las concentraciones de nutrientes disponibles disminuyen rápidamente a concentraciones cercanas a las de un hábitat oligotrófico, mientras los microorganismos mesofílicos colonizan la mezcla. Durante el corto periodo cuando prevalecen altas concentraciones de glucosa, la población de *P. ultimum* aumenta y se desarrolla el mal del talluelo causado por *Pythium*. Después de que la mezcla ha sido colonizada por mesófilos para establecer microbiostasis, la población de *P. ultimum* se estabiliza y la enfermedad es suprimida (Chen *et al.* 1988a).

**El papel de nutrientes libres en control biológico no exitoso.** En mezclas para macetas, la corteza fresca de madera dura, la cual es alta en sustancias celulósicas, no sólo estimula a *R. solani* sino también a las poblaciones de *Trichoderma*, aislamientos capaces de parasitar este patógeno (Chung *et al.* 1988). Aun así, el mal del talluelo causado por *Rhizoctonia* no es controlado con corteza fresca a pesar de las poblaciones elevadas de *Trichoderma* spp. (Nelson *et al.* 1983). En comparación, la corteza compostada, aunque son colonizados por poblaciones más bajas de aislamientos de *Trichoderma* ( $10^5$  en compost a diferencia de  $10^7$  cfu/g de peso seco en corteza fresca), logra el control y el patógeno es rápidamente erradicado. Cabe destacar que la enmienda con composts supresivos (colonizados por *Trichoderma*) más un suministro exógeno de celulosa, de concentración similar a la presente en la corteza fresca, hace al sustrato favorable a *Rhizoctonia*. Esto ocurre aunque la población del parásito se incrementa en dos veces su magnitud, por la celulosa exógena agregada (Chung *et al.* 1988).

La falta de control de *R. solani* por *Trichoderma* spp. tanto con corteza fresca como con compost de corteza enriquecida con celulosa puede explicarse mejor por la actividad transcripcional de las enzimas degradadoras de quitina (quitinasa, -1,3- y glucanasa -1,6-glucanasas, proteasas, y lipasas) de *Trichoderma* la cual se reprime en los sustratos con mayor can-

tividad de celulosa (Benhamou y Chet 1997, Cruz *et al.* 1993, 1995, Harman *et al.* 1993, Lorito *et al.* 1994, 1996, Ulhoa y Peberdy 1991). Durante el crecimiento y colonización en corteza fresca o en sustratos altos en celulosa, las poblaciones de ambos, el patógeno (*R. solani*) y el agente de control biológico (*T. hamatum*) se incrementan, posiblemente debido a la hidrólisis de la glucosa. Bajo estas condiciones, la síntesis de las enzimas líticas involucradas en el parasitismo de *R. solani*, probablemente es inhibida mediante la represión catabólica y este permanece activo como un patógeno. En la medida que la concentración de celulosa disponible en forma inmediata disminuye y el grado de competencia saprofitica aumenta, la represión de los genes que controlan la producción de quitinasa de *Trichoderma* son revertidos y la habilidad para parasitar *R. solani* se restablece, lo cual resulta en la restauración de la capacidad supresora del sustrato.

### Mantenimiento del control biológico en materia orgánica parcialmente precolonizada y descompuesta

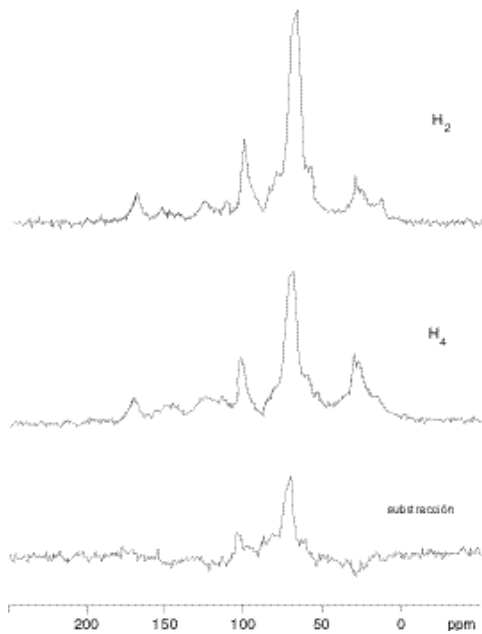
Después de que la materia orgánica ha sido estabilizada adecuadamente y la microbiostasis prevalece, la duración de la supresión es determinada por cualquiera de varios factores ambientales, y éstos a su vez regulan la capacidad microbiana relacionada con el control biológico (Boehm *et al.* 1997). Estos efectos de la materia orgánica del suelo sobre el patógeno y las poblaciones de agentes de control biológico y la severidad de la enfermedad han sido evaluadas de dos maneras. Algunos estudios comparan la severidad de la enfermedad entre fincas convencionales y orgánicas (Workneh *et al.* 1993), mientras que otros evalúan tendencias en el tiempo después de la aplicación de enmiendas en recipientes o en el suelo de plantaciones (Boehm *et al.* 1997, Stone *et al.* 1997, You y Sivasithamparam 1994). En ejemplos presentados en este artículo, también se analizó la química de la materia orgánica del suelo. Ambos enfoques han generado información similar sobre el papel de la materia orgánica del suelo en el control biológico, pero se analizan en forma individual.

La turba de esfagno utilizada en mezclas para macetas ha funcionado como un modelo ideal para el estudio de la sostenibilidad del control biológico. Por esta razón, la química de la turba es analizada en este artículo. La turba de esfagno recolectada bajo la su-

perficie de plantas vivas de esfagno en pantanos es clasificada como H<sub>2</sub> según la escala de descomposición de von Post (Puustjarvi y Robertson 1975). Esta turba, aunque baja en nutrimentos solubles libres, contiene una cantidad considerable de sustancias celulósicas y tiene un color claro. Después de la formulación en mezclas para macetas, cuando el pH de la turba supera 5,3, ésta se hace consistentemente supresiva a la pudrición de la raíz causada por *Pythium*, mientras es colonizada por microorganismos mesófilos. La turba de esfagno H<sub>3</sub>, según la escala de descomposición dada por von Post, está más descompuesta y contiene pocas sustancias celulósicas de degradación rápida, también llega a ser supresiva al inicio, pero entre 6 y 12 semanas después de colocada en los recipientes, pierde su capacidad para suprimir la pudrición de la raíz causada por *Pythium* (Boehm y Hoitink 1992, Tahvonen 1982, Wokffhechel 1988). La turba de esfagno H<sub>4</sub> recolectada de zonas pantanosas más profundas, aunque todavía clasificada como una turba liviana, tiene un color más oscuro, está más humedecida y presenta una concentración más baja de sustancias celulósicas de degradación rápida. Las mezclas para macetas preparadas con turba H<sub>4</sub> favorecen consistentemente la pudrición de raíz causada por *Pythium* en varios cultivos (Boehm y Hoitink 1992, Mandelbaum y Hadar 1990).

El espectro CPMAS - <sup>13</sup>C de NMR de la turba de esfagno (H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, y H<sub>4</sub>) refleja las diferencias en el nivel de descomposición (Hammond *et al.* 1985). La substracción del espectro para esas turbas cuantifica la diferencia en el contenido de carbohidratos (Fig. 1). El carbono en la fracción del carbohidrato está presente como sustancia celulósica protegida y, por consiguiente, de liberación lenta y esto lo convierte en un sustrato ideal para estudiar la actividad de consorcios microbianos en el control biológico.

La tasa de hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA), aparentemente simula el nivel de descomposición de la materia orgánica y el potencial supresor que poseen las mezclas para macetas o las enmiendas de materia orgánica en el suelo de cultivos para el control de enfermedades causadas por gran cantidad de fitopatógenos del suelo. Esta relación se ha establecido para la supresión de enfermedades de la raíz causadas por *Pythium* spp. (Bruns 1996, Chen *et al.* 1988a, 1988b, Cohen *et al.* 1998, Mandelbaum y Hadar 1990), *Phytophthora* spp. (Bruns 1996, Workneh *et al.* 1993, You y Sivasithampara 1994) *R. solani*, y *Pyrenochaeta*



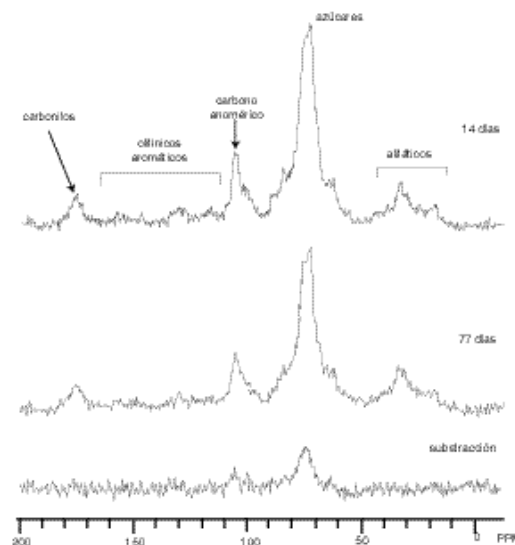
**Figura 1.** La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (CPMAS  $^{13}\text{C}$ NMR) revela las diferencias en el contenido de carbohidratos en fracciones de partículas finas (105-250  $\mu\text{m}$  de diámetro) de una turba de esfagno canadiense clara, ligeramente descompuesta ( $\text{H}_2$ ) y una descompuesta oscura ( $\text{H}_4$ ). El espectro de sustracción corresponde a la diferencia entre el espectro de la turba  $\text{H}_2$  menos la  $\text{H}_4$ .

*lycopersici* (Workneh *et al.* 1993) y también para varias enfermedades causadas por nematodos (Marull *et al.* 1997). Sin embargo, esta prueba, no es totalmente confiable, porque las sustancias húmicas absorben fluorescencia y así la actividad de FDA en algunos sustratos es subestimada, la cual hace identificar un suelo supresor como favorable para las enfermedades (Inbar *et al.* 1991). De manera similar, fuentes de materia orgánica no estabilizadas en forma adecuada, que estimulan a los patógenos y reprimen la actividad de control biológico, presentan valores FDA altos aunque ellos son favorables a las enfermedades.

La actividad de FDA disminuyó en la medida que la supresión de la pudrición de la raíz causada por *Pythium* disminuyó en una mezcla para maceta preparada con turba de esfagno  $\text{H}_3$ , donde la materia orgánica se descompone hasta alcanzar el umbral de 3,2  $\mu\text{g}$  el FDA hidrolizada/min/g de peso seco, el cual separa las mezclas supresivas de las conductivas (Boehm y Hoitink 1992). Por debajo de este nivel de actividad, la población de *P. ultimum* aumenta y se de-

sarrolla la pudrición de la raíz. Durante este periodo, cuando se pierde la supresión, la concentración de carbohidratos en la mezcla de turba  $\text{H}_3$ , como se determinó mediante espectroscopio de NMR (Fig. 2), también se reduce el nivel de la mezcla de turba  $\text{H}_4$ , predeciblemente conductiva y más descompuesta, la cual también tiene una actividad más baja en FDA de 3,2  $\mu\text{g}$  FDA/min/g de peso seco de la mezcla.

La dinámica de la relación negativa entre la actividad de FDA y la supresión también ha sido encontrada en el suelo de plantaciones de aguacate donde la supresión de la pudrición de la raíz causada por *Phytophthora* era favorecida por el uso de cobertura (You y Sivasithamparam 1994). Estos mismos autores informaron que la infección de la raíz causada por *Phytophthora cinnamoni* aumenta a medida que la actividad de FDA disminuye, hasta el eventual desarrollo de una pudrición severa de la raíz. Stone *et al.* (1997) demostraron que la actividad de FDA se reduce después de 500 días en una mezcla de compost de estiércol de vaca con arena, al tiempo que la composición del consorcio microbiano del suelo cambia y las poblaciones de *Pythium* aumentan y se desarrolla la



**Figura 2.** Espectros CPMAS  $^{13}\text{C}$ -NMR que muestra el volumen de carbohidratos dentro de fragmentos de partículas finas (105-250  $\mu\text{m}$  de diámetro) de muestras de turba  $\text{H}_3$ , recolectadas 14 y 77 días después de la siembra. La diferencia del espectro es del día 14 menos el espectro del día 77. La mezcla suprimió la pudrición de la raíz causada por *Pythium* el día 14 y conductiva el día 77.



putrición de la raíz. Con el uso de espectroscopía de DRIFT, ellos caracterizaron los cambios en la composición química de la fracción orgánica en el compost de camas de aserrín con estiércol de vaca, a medida que la capacidad supresiva disminuía. Se ha determinado que las concentraciones de celulosa y ligninas en compost de estiércol define la longevidad del efecto supresor.

En resumen, la actividad de FDA parece proporcionar una imagen de la cantidad y calidad de sustancias orgánicas de degradación biológica presentes en el suelo y requeridas para un control biológico sostenible. La hidrólisis del FDA se realiza a través de varias hidrolasas, incluyendo lipasas, esterases, y proteasas (Schnürer y Rosswall 1982). Lo que falta por determinar es cuales hidrolasas contribuyen a la actividad de FDA en suelos supresores, aunque una hipótesis es que, por lo menos en el sistema de la turba, puede ser una medida adecuada de la actividad microbiana de la celulosa, dada la similitud con las tendencias observadas por Boehm *et al.* (1997) en la FDA de la turba H<sub>3</sub> y en datos de CPMAS <sup>13</sup>C-NMR.

La actividad de FDA también afecta la biomasa microbiana del suelo y esto ha sido relacionado con la supresión de pudriciones de la raíz causadas por *Pythium* y *Phytophthora* spp. (Bruns *et al.* 1996, Chen *et al.* 1988a). Sin embargo, la biomasa microbiana y la actividad de FDA en conjunto predicen mejor el efecto supresor que cualquiera de los procedimientos en forma individual (Bruns 1996, Chen *et al.* 1988). Los composts preparados con materiales biodegradables rápidamente, con un alto contenido de biomasa microbiana y actividad de FDA, como los composts preparados con sedimentos de aguas residuales y estiércoles, inducen supresión en mezclas para maceta con una tasa volumétrica de enmienda baja (10—15%) (Chen *et al.* 1988a). En comparación, los composts que contienen más ligninas recalcitrantes (p.e. corteza de pino y corteza de árboles de madera dura), los cuales son bajos en biomasa microbiana y actividad de FDA, deben ser incorporados a concentraciones más altas (50%). Finalmente, una turba conductiva H<sub>4</sub> de esfagno bien estabilizada o ceniza de corteza de pino pirolicada, en la cual el carbono de rápida biodegradación ha sido destruido, están por debajo de la actividad de FDA y el nivel de biomasa requeridos para inducir la supresión del mal de talluelo causado por *Pythium*, incluso cuando no son usados en forma de enmiendas (Boehm y Hoitink 1992, Chen *et al.* 1988a). Otros in-

formes recientes han confirmado la importancia de la cantidad y actividad de la biomasa en la supresión (Hu *et al.* 1997a, 1997b, Stone *et al.* 1997).

La microbiostasis, la cual produce la competencia por nutrientes, es crítica para el control biológico en sistemas de enmiendas de residuos orgánicos (Lockwood 1988). Nosotros evaluamos nuevamente esto en bioensayos a largo plazo de pudrición de la raíz usando flor de pascua (*Euphorbia pulcherrima*) y *P. ultimum* en una mezcla para maceta de turba H<sub>3</sub> en la cual la supresión de la pudrición de raíz de esta planta causada por *Pythium* se redujo en un periodo de 80 días hasta que la pudrición de la raíz se desarrolla. Fue interesante observar que la tasa de incorporación de <sup>14</sup>C-acetato en fosfolípidos no se redujo cuando se perdió la supresión (Boehm *et al.* 1997). Sorprendentemente, la actividad microbiana específica (la captación de <sup>14</sup>C-acetato incorporado en fosfolípidos por unidad de biomasa) aumentó en la medida que la supresión se perdió. Dado que la concentración de biomasa sólo disminuyó ligeramente, se podría asumir que la mezcla también se volvería menos competitiva a medida que las poblaciones de *P. ultimum* aumentarían y la pudrición de la raíz se desarrollara. Sin embargo, esto no ocurrió, lo cual implica que la pérdida de la capacidad de supresión en este sistema no puede ser explicada por una falta de competencia por los nutrientes *per se*. Tampoco es probable que la disminución del parasitismo del patógeno por agentes de control biológico pueda explicar el colapso en la supresión de la enfermedad en este sistema, porque en general, poblaciones de *Pythium* y *Phytophthora* no se reducen rápidamente en turbas supresivas o en medios que contienen enmiendas de compost (Chen *et al.* 1988a, Hardy y Sivasithamparan 1991, Mandelbaum y Hadar 1990). Las observaciones anteriores sugieren que la falta de antibiosis o de resistencia inducida sistémica explica mejor la pérdida de la supresión de las poblaciones de *Pythium* en el sistema de turba H<sub>3</sub>. Liebman y Epstein (1992) coinciden en parte, al señalar que la inhibición causada por compuestos fungistáticos más que la competencia por nutrientes *per se* explica mejor la fungistasis del suelo. Un cambio en la composición de las especies de bacterias y una reducción en las poblaciones de agentes de control biológico explica mejor la pérdida de la supresión del mal del talluelo causado por *Pythium*, en la mezcla con turba H<sub>3</sub>.

## Cambios en la composición de agentes de control biológico y su relación con la calidad de la materia orgánica del suelo

El sistema de turba de esfagno H<sub>3</sub> descrito anteriormente ofrece una panorámica interesante sobre la dinámica de los cambios en las poblaciones de agentes de control biológico como supresores de la pudrición de la raíz de flor de pascua causada por *Pythium*, la cual se reduce en un periodo de 80 días (Boehm *et al.* 1997). Este cambio de la población se resume en el Cuadro 1. Las poblaciones del *taxa* bacterianos copiotróficos, principalmente recuperado en TSA 0,1 (*Pseudomonas* y *Pantoea* spp.), los cuales también fueron los agentes de control biológico más eficaces (para el mal de talluelo causado por *Pythium*) en la mezcla, disminuyeron a medida que las concentraciones de carbohidratos en la turba decrecieron y la supresión se perdió. Estos microorganismos podrían todavía ser recuperados en TSA 0,1; sin embargo, las poblaciones de *P. ultimum* empezaron a aumentar primero y se desarrolló la pudrición de la raíz. No fue hasta después de un largo tiempo (100 días) después donde una pudrición radicular severa se había desarrollado en las mezclas infestadas, que esta microflora benéfica finalmente se redujo hasta llegar a poblaciones muy bajas.

Bacterias supuestamente oligotróficas, aisladas en

un medio diluido (agar nutriente al 0,01), una microflora que como se mencionó anteriormente, no puede inducir el control biológico de la pudrición de la raíz causada por *Pythium* (Sugimoto *et al.* 1990), aumentó su población en la medida que se perdió la supresión. La *taxa* bacteriana recuperada en TSA 0,1 en ese momento fue similar a la obtenida de nichos de suelos muy mineralizados (Kanazawa y Filip 1986). Es interesante ver que la diversidad de especies bacterianas, basada en la riqueza y uniformidad de especies, no cambió. En conclusión, la composición del *taxon* cambió y la biomasa microbiana disminuyó al declinar la actividad de FDA y la concentración de sustancias celulósicas en la materia orgánica se redujo a medida que se perdió la supresión (Boehm *et al.* 1997).

Las poblaciones en el rizosfera fueron diferentes a las de la mezcla edáfica, pero los cambios en la composición del *taxon* dados con el tiempo, así como la descomposición de la materia orgánica y la pérdida de la supresión fue similar en las mezclas sin la influencia la rizosfera. Los productos de sedimentación de la rizosfera son, por consiguiente, inadecuados para mantener poblaciones de *taxa* bacterianos activos en control biológico.

Lo anterior sugiere que los agentes de control biológico cultivables todavía presentes en la mezcla, cuando la población de *P. ultimum* comenzó a incre-

**Cuadro 1.** La dinámica temporal en la composición de la especies bacterianas a media que la materia orgánica se descompono y la supresión colapsó, durante la producción de flor de pascua en un sustrato de turba con nivel de descomposición H<sub>3</sub>.

Grupo	Densidad relativa de la población <sup>a</sup>			
	8 Días <sup>b</sup>		172 Días <sup>c</sup>	
	Promedio	Rango	Promedio	Rango
<b>Rizosfera</b>				
Gram-	72	49-84	19	14-22****d
Gram+	7	0-17	16	4-36**
<i>Pseudomonas</i> spp.	38	23-61	6	5-6***
GC grupos similares <sup>e</sup>	13	5-23	47	34-54***
Péridos <sup>f</sup>	8	3-11	21	8-30**
<b>Mezcla de turba</b>				
Gram-	27	26-30	23	11-32
Gram+	13	10-16	7	4-10*
<i>Pseudomonas</i> spp.	8	4-13	11	7-13
GC grupos similares	53	49-60	65	54-79**
Péridos	7	2-10	8	4-13*

<sup>a</sup>La densidad relativa de la población de la *taxa* bacteriana en segmentos de raíces y muestras de turba se calcularon de la siguiente forma:  $100n_i/N$ , donde  $n_i$  es el número de cepas asignado a los  $i^{\text{th}}$  *taxon* y N es el total de cepas aisladas de un segmento de raíz dado o una muestra de turba

<sup>b</sup>Turba H<sub>3</sub> 8 días de colocada en recipientes, antes de la reducción en la supresión de la enfermedad.

<sup>c</sup>H<sub>3</sub> turba 172 días de colocada en recipientes, después de que la supresión de la enfermedad se presenta.

<sup>d</sup>Cepas con índice de valores similares <0,1 fueron incluidas en GC grupos similares

<sup>e</sup>Cepas perdidas durante el subcultivo.

<sup>f</sup>Cambio significativo en la frecuencia de cepas con un carácter dado (Gram+. etc) entre 8 y 172 días, según \*(P= 0,05), \*\*(P= 0,01), o \*\*\*(P= 0,001). [Reimpreso de Boehm *et al.* (1997) con permiso. De la Am. Soc. Microbiol.]

mentarse y se desarrolló la pudrición de la raíz, fueron incapaces de funcionar como agentes de control biológico en una mezcla de turba de baja actividad de FDA y más descompuesta. Este posible efecto del nivel de descomposición de la materia orgánica en la actividad de los agentes de control biológico fue evaluado primero con agentes de control biológico representantes de varias *taxa* bacterianas, incluyendo *Pseudomonas* y *Pantoea* spp. Estos fueron agregados a mezclas de turba de esfagno H<sub>2</sub> y H<sub>4</sub> como tratamientos de semilla de pepino en bioensayos para el control del mal de tallelo causado por *Pythium*. El nivel de descomposición de la turba afectó significativamente (P= 0,05) la eficacia, y la actividad fue mucho más baja en la mezcla de la turba H<sub>4</sub> (Boehm *et al.* 1997).

El impacto de la calidad de la materia orgánica en la eficacia de los agentes de control biológico fue evaluada con mayor detalle para el control de la pudrición de la raíz causada por *Pythium* en flor de pascua de cuatro meses, producidas en turba H<sub>2</sub>, turba H<sub>4</sub> y mezclas de enmiendas de compost de corteza de pino. Los agentes de control biológico *Flavobacterium balustinum* 299 y *Trichoderma hamatum* 382 (Kwok *et al.* 1987) lograron un control sostenible de la pudrición de la raíz causada por *Pythium* en la mezcla con enmienda de compost de corteza de pino (Krause *et al.* 1997). *Pythium* también fue controlado por la turba H<sub>3</sub> pero no con la mezcla de turba H<sub>4</sub>. La falta de control de la pudrición de la raíz por *Pythium* mediante la mezcla de turba H<sub>4</sub> puede explicarse por la no sobrevivencia de los agentes de control biológico *F. balustinum* 299 y otras bacterias copiotróficas.

Así, una reducción en la capacidad microbiana de la mezcla, principalmente debido a la pérdida de sustancias celulósicas en turba H<sub>3</sub>, lleva a un eventual cambio en las comunidades microbianas, una disminución en la actividad y población de agentes de control biológico, y, por último, una reducción de la capacidad supresora de la pudrición de la raíz causada por *Pythium*.

### Conclusiones y consideraciones futuras

Los agentes de control biológico requieren fuentes edáficas de materia orgánica para el control sostenible de pudriciones de la raíz causadas por *Pythium* y *Phytophthora*. Además, la literatura muestra que ambas, la calidad y la cantidad de materia orgánica son críticas para la supervivencia y eficacia de agentes bacterianos de control biológico como *Pseudomonas*

y *Pantoea* spp. Los productos de sedimentos de la rizosfera y exudados de la raíz no proveen las cantidades adecuadas de fuentes de energía biodegradables, de liberación lenta, para la introducción de agentes bacterianos de control biológico para el manejo sostenible de *Pythium* y *Phytophthora*. Un umbral mínimo en la cantidad de energía biodegradable, en forma de materia orgánica, aún con una inadecuada identificación, parece ser esencial para un control eficaz.

La tasa de hidrólisis de FDA ofrece una buena indicación de la supresividad de los suelos aunque no muy confiables. Aunque la competencia por nutrientes es requerida para la supresión, la medida de ésta a través de la tasa de incorporación de acetato <sup>14</sup>C en la biomasa microbiana, no parece ser un indicador. El tamaño de la biomasa microbiana en el suelo también parece ser un buen indicador de la capacidad supresora. Finalmente, la espectroscopia de CPMAS <sup>13</sup>C-NMR y DRIFT permiten realizar una mejor caracterización de los requerimientos de esta energía.

Los composts y las turbas usadas en mezclas para maceta sirven como modelos ideales para los estudios de control biológico comparados con el sistema más complejo de suelos de campo. El sistema de turba H<sub>3</sub> ofrece la oportunidad única de estudiar los requerimientos de energía, el estrés, señales, y otros aspectos relacionados al control biológico. En estudios futuros, donde se aprovechen los avances tecnológicos recientes en ecología microbiana molecular se deben incluir el uso *in situ* de genes como indicadores y detección con base en ácido nucleico y técnicas de identificación. Por último, sistemas de plantas indicadoras para genes de resistencia sistémica inducida también deben considerarse en estos estudios para establecer una mejor relación entre los requerimientos de calidad de la materia orgánica del suelo y el control biológico.

### Agradecimientos

Se reconoce el gran apoyo técnico ofrecido por Carol A Muselman y Matthew S Krause. Los salarios y el apoyo para la investigación fue cubierto parcialmente con fondos del Estado y Federales ofrecidos por Ohio Agricultural Research and Development Center, de Ohio State University.

### Literatura citada

- Alvarez, B; Gagné, S; Antoun, H. 1995. Effect of compost on rhizosphere microflora of the tomato and on the incidence of plant growth-promoting rhizobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:194-199.
- Baker, KF; Cook, RJ. 1974. Biological control of plant pathogens. *In The Biology of Plant Pathogens.* Kelman, A; Sequeira, L. San Francisco, USA, Freeman. 433 p.

- Beffa, T; Blanc, M; Marilley, L; Lott-Fischer, J; Lyon, P-F; Aragno, M. 1996. Taxonomic and metabolic microbial diversity during composting. *In The Science of composting*. London, Blackie. p. 149-161.
- Benhamou, N; Chet, I. 1997. Cellular and molecular mechanisms involved in the intersection between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:2095-2099.
- Boehm, MJ; Hoitink, HAJ. 1992. Sustenance of microbial activity in potting mixes and its impact on severity of *Pythium* root rot of poinsettia. *Phytopathology* 82:259-264.
- Boehm, MJ; Madden, LV; Hoitink, HAJ. 1993. Effect of organic matter decomposition level on bacterial species diversity and composition in relationship to *Pythium* damping-off severity. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:4171-4179.
- Boehm, MJ; Wu, T; Stone, AG; Kraakman, B; Iannotti, DA. 1997. Crosspolarized magic-angle spinning <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopic characterization of soil organic matter relative to culturable bacterial species composition and sustained biological control of *Pythium* root rot. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:162-68.
- Bollen, GJ. 1993. Factors involved in inactivation of plant pathogens during composting of crop residues. *In Hoitink, HAJ; Keener, HM. Ed. Science and Engineering of Composting: design, environmental, microbiological and utilization aspects*. Worthington, OH, Renaissance Publ. p. 301-318.
- Brown, S; Angle, JS; Jacobs, L. Eds. 1998. Beneficial Co-Utilization of Agricultural, Municipal and Industrial By-Products. Dordrecht, Kluwer. 430 p.
- Bruns, C. 1996. Suppressive Effekte von Komposten aus der getrennten Sammlung organischer Abfälle und von Rindermistkompost gegenüber bodenbürtigen Schaderregern. Thesis PhD. Germany, Univ. Kassel. 125 p.
- Bruns, C; Ahlers, S; Gattinger, A; Schüler, C; Vogtmann, H; Wolf, G. 1996. The suppressive effects of composted separately collected organic waste and yard waste compost on two important soilborne plant pathogens. *In The Science of composting*. London, Blackie. p. 1094-1095.
- Chen, W; Hoitink, HAJ; Madden, LV. 1988a. Microbial activity and biomass in container media for predicting suppressiveness to damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 78:1447-1450.
- Chen, W; Hoitink, HAJ; Schmitthenner, AF; Tuovinen, OH. 1988b. The role of microbial activity in suppression of damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 78:314-322.
- Chen, Y; Inbar, Y. 1993. Chemical and spectroscopical analyses of organic matter transformations during composting in relation to compost maturity. *In Hoitink, HAJ; Keener, HM. Ed. Science and Engineering of Composting: design, environmental, microbiological and utilization aspects*. Worthington, OH, Renaissance Publ. p. 551-600.
- Chung, YR; Hoitink, HAJ; Dick, WA; Herr, LJ. 1988. Effects of organic matter decomposition level and cellulose amendment on the inoculum potential of *Rhizoctonia solani* in hardwood bark media. *Phytopathology* 78:836-840.
- Clulow, SA; Stewart, HE; Dashwood, EP; Wastie, RL. 1995. Tuber surface microorganisms influence the susceptibility of potato tubers to late blight. *Ann. Appl. Biol.* 126:33-43.
- Cohen, R; Chefetz, B; Hadar, Y. 1998. Suppression of soil-borne pathogens by composted municipal solid waste. *In Brown, S; Angle, JS; Jacobs, L. Eds. 1998. Beneficial Co-Utilization of Agricultural, Municipal and Industrial By-Products*. Dordrecht, Kluwer. p. 113-130.
- Council for Agricultural Science and Technology. 1995. Waste Management and Utilization in Food Production and Processing. Ames, IA, Counc. Agric. Sci. Technol.
- Council for Agricultural Science and Technology. 1996. Integrated Animal Waste Management. Ames, IA, Counc. Agric. Sci. Technol.
- Council for Agricultural Science and Technology. 1998. Foodborne Pathogens. Review of Recommendations. Ames, IA, Counc. Agric. Sci. Technol.
- Craft, CM; Nelson, EB. 1996. Microbial properties of composts that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:1550-1557.
- Cruz, J; de la Rey, M; Lora, JM; Hidalgo-Gallego, A; Dominguez, F. *et al.* 1993. Carbon source control on  $\alpha$ -glucanases, chitinase and chitinase from *Trichoderma harzianum*. *Arch. Microbiol.* 159:3 16-22.
- Cruz, J; de la Pintor-Toro, JA; Benítez, T; Llobell, A; Romero, LC. 1995. A novel endo- $\alpha$ -1,3-glucanase BGN 13.1, involved in the mycoparasitism of *Trichoderma harzianum*. *J. Bacteriol.* 177:6937-6945.
- de Bertoldi, M; Sequi, P; Uemmes, B; Papi, T. Eds. 1996. The Science of Composting. London, Blackie. 1405 p.
- Ellis, MA; Ferree, DC; Madden, LV. 1986. Evaluation of metalaxyl and captafol soil drenches, composted hardwood bark soil amendments and graft union placement on control of apple collar rot. *Plant Dis.* 70:24-26.
- Garrett, SD. 1955. A century of root-disease investigation. *Ann. Appl. Biol.* 42:211-219.
- Gerlagh, M. 1968. Introduction of *Ophiobolus graminis* into new polders and its decline. *Neth. J Plant Pathol* 749(Suppl.2):1-97.
- Golueke, CG. 1972. Composting, the Studies of the Process and his Principles Emmaus, PA, Rodale Press. 110 p.
- Gorodecki, B; Hadar, Y. 1990. Suppression of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* in container media containing composted separated cattle manure and composted grape marc. *Crop Prot* 9:271-274.
- Grebus, ME; Watson, ME; Hoitink, HAJ. 1994. Biological, chemical and physical properties of composted yard trimmings as indicators of maturity and plant disease suppression. *Comp. Sci. Util.* 2:57-71.
- Hadar, Y; Gorodecki, B. 1991. Suppression of germination of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* in compost. *Soil Biol. Biochem.* 23:303-306.
- Hammond, TE; Cory, DG; Ritchy, WM; Morita, H. 1985. High resolution solid state <sup>13</sup>C NMR of Canadian peats. *Fuel* 64:1687-1695.
- Han, DY; Coplin, DL; Hoitink, HAJ. 1998. Partial characterization of systemic acquired resistance induced in radish by *Pantoea agglomerans* strain E278Ar. *Phytopathology* 88:S36 (Abstr.)
- Hardy, GESJ; Sivasithamparam, K. 1991. Sporangial responses do not reflect microbial suppression of *Phytophthora drechsleri* in composted eucalyptus bark mix. *Soil Biol. Biochem.* 23:756-765.
- Hardy, GESJ; Sivasithamparam, K. 1995. Antagonism of fungi and actinomycetes isolated from composted eucalyptus bark to *Phytophthora drechsleri* in a steamed and non-steamed

- composted eucalyptus bark amended container medium. *Soil Biol. Biochem.* 27:243-246.
- Harman, GE. 1992. Development and benefits of rhizosphere competent fungi for biological control of plant pathogens. *J. Plant Nutr.* 15:835-843.
- Harman, GE; Hayes, CK; Lorito, M; Broadway, RM; Di Pietro, A. *et al.* 1993. Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: purification of chitinobiosidase and endochitinase. *Phytopathology* 83:313-318.
- Hodges, RD; Scofield, AM. 1983. Effect of agricultural practices on the health of plants and animal produce: a review. *In Environmentally Sound Agriculture*, Lockeretz, W. Ed. New York, Praeger. p. 3-34.
- Hoitink, HAJ. 1980. Composted bark, a lightweight growth medium with fungicidal properties. *Plant Dis.* 64:142-147.
- Hoitink, HAJ; Fahy, PC. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24:93-114.
- Hoitink, HAJ; Inbar, Y; Boehm, MJ. 1991. Status of compost-amended potting mixes naturally suppressive to soilborne diseases of floricultural crops. *Plant Dis.* 75:869-73.
- Hoitink, HAJ; Keener, HM. Eds. 1993. *Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects.* Worthington, OH, Renaissance Publ. 728 p.
- Hoitink, HAJ; Stone, AG; Han, DY. 1997. Suppression of plant diseases by composts. *Hort. Science* 32:184-87.
- Hoitink, HAJ; VanDoren, DM; Schmitthenner, AF. 1977. Suppression of *Phytophthora cinnamomi* in a composted hardwood bark potting medium. *Phytopathology* 67:561-565.
- Hu, S; van Bruggen, AHC; Wakeman, RJ; Grünwald, NJ. 1997. Microbial suppression of *in vitro* growth of *Pythium ultimum* and disease incidence in relation to soil C and N availability. *Plant Soil* 195:43-52.
- Hu, S; Grünwald, NJ; van Bruggen, AHC; Gamble, GR; Drinkwater, LE; *et al.* 1997. Short-term effects of cover crop incorporation on soil carbon pools and nitrogen availability. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61:901-1011.
- Inbar, Y; Boehm, MJ; Hoitink, HAJ. 1991. Hydrolysis of fluorescein diacetate in sphagnum peat container media for predicting suppressiveness to damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Soil Biol. Biochem.* 23:479-83.
- Kanazawa, S; Filip, Z. 1986. Distribution of microorganisms, total biomass, and enzyme activities in different particles of brown soils. *Microb. Ecol.* 12:205-215.
- Kim, KD; Nemeč, S; Musson, G. 1997. Effects of composts and soil amendments on soil microflora and *Phytophthora* root and crown rot of bell pepper. *Crop Prot.* 16:165-172.
- Kok, CJ; Hageman, PEJ; Mass, PWT; Postma, J; Roozen, NJM; Van Vuurde, IWL. 1996. Processed manure as carrier to introduce *Trichoderma harzianum*: population dynamics and biocontrol effect on *Rhizoctonia solani*. *Biocontrol Sci. Technol.* 6:147-161.
- Krause, MS; Musselman, CA; Hoitink, HAJ. 1997. Impact of sphagnum peat decomposition level on biological control of *Rhizoctonia* damping-off of radish induced by *Flavobacterium balustinum* 299 and *Trichoderma hamatum* 382. *Phytopathology* 87:S55 (Abstr.).
- Krause, MS; De Custer, TJJ; Han, DY; Musselman, CA; Hoitink, HAJ. 1998. Systemic acquired resistance induced by composts: a highly specific phenomenon. *Phytopathology* 88:549 (Abstr.).
- Kuter, GA; Hoitink, HAJ; Chen, W. 1988. Effects of municipal sludge compost curing time on suppression of *Pythium* and *Rhizoctonia* diseases of ornamental plants. *Plant Dis.* 72:751-756.
- Kuter, GA; Nelson, EB; Hoitink, HAJ; Madden, LV. 1983. Fungal populations in container media amended with composted hardwood bark suppressive and conducive to *Rhizoctonia* damping-off. *Phytopathology* 73:1450-1456.
- Kwok, OCH; Fahy, PC; Hoitink, HAJ; Kuter, GA. 1987. Interactions between bacteria and *Trichoderma hamatum* in suppression of *Rhizoctonia* damping-off in bark compost media. *Phytopathology* 77:1206-1212.
- Lewis, JA; Larkin, RP; Rogers, DL. 1998. A formulation of *Trichoderma* and *Gliocladium* to reduce damping-off caused by *Rhizoctonia solani* and saprophytic growth of the pathogen in soilless mix. *Plant Dis.* 82:501-506.
- Liebman, JA; Epstein, L. 1992. Activity of fungistatic compounds from soil. *Phytopathology* 82:147-153.
- Lockwood, JL. 1988. Evolution of concepts associated with soilborne plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26:93-121.
- Lorito, M; Hayes, CK; Di Pietro, A; Woo, SL; Harman, GE. 1994. Purification, characterization, and synergistic activity of a glucan 1,3- $\beta$ -glucosidase and an N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase from *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 84:398-405.
- Lorito, M; Frakas, V; Rebuffat, S; Bodo, B; Kubicek, CP. 1996. Cell wall synthesis is a major target of mycoparasitic antagonism by *Trichoderma harzianum*. *J. Bacteriol.* 178:6382-6385.
- Lumsden, RD; Lewis, JA; Millner, PD. 1983. Effect of composted sewage sludge on several soilborne plant pathogens and diseases. *Phytopathology* 73:1543-1548.
- Mandelbaum, R; Hadar, Y. 1990. Effects of available carbon source of microbial activity and suppression of *Pythium aphanidermatum* in compost and peat container media. *Phytopathology* 80:794-804.
- Marull, J; Pinochet, J; Rodríguez-Kábana, R. 1997. Agricultural and municipal compost residues for control of root-knot nematodes in tomato and pepper. *Comp. Sci. Util.* 5:6-15.
- McKinley, VL; Vestal, JR. 1983. Biokinetic analyses of adaptation and succession: microbial activity in composting municipal sewage sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 47:933-941.
- Nelson, EB; Kuter, GA; Hoitink, HAJ. 1983. Effects of fungal antagonists and compost age on suppression of *Rhizoctonia* damping-off in container media amended with composted hardwood bark. *Phytopathology* 73:1457-1462.
- Ownley, BH; Benson, DM. 1991. Relationship of matric water potential and air-filled porosity of container media to development of *Phytophthora* root rot of rhododendron. *Phytopathology* 81:936-941.
- Phae, CG; Saski, M; Shoda, M; Kubota, H. 1990. Characteristics of *Bacillus subtilis* isolated from composts suppressing phytopathogenic microorganisms. *Soil Sci. Plant Nutr.* 36:575-586.
- Puustjarvi, V; Robertson, RA. 1975. Physical and chemical properties. *In Peat in Horticulture.* Larsen, FO; Joyner, BG. Ed. New York, Academic Press. p. 23-28.
- Quarles, W; Grossmann, J. 1995. Alternatives to methyl bromide in nurseries. *Disease suppressive media.* *IPM Pract.* 17:1-13.
- Röckeboer, JK; Deprins, K; Coosemans, J. 1998. Compost onderdrukt de kiemplantenschimmels *Pythium ultimum* en *Rhizoctonia solani*: Veredele compost doet beter! *Vlacovaria* 3:20-26.
- Rynk, R. Ed. 1992. *On-Farm Composting Handbook.* Ithaca, New York, NE Reg. Agric. Eng. Serv., NRAES-54. 187 p.

- Schnürer, J; Rosswall, T. 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Appl. Environ. Microbiol.* 43:1256-61.
- Schüler, C; Biala, J; Bruns, C; Gottschall, R; Ahlers, S; Vogtmann, H. 1989. Suppression of root rot on peas, beans, and beet roots caused by *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* through the amendment of growing media with composted organic household waste. *Phytopathology* 127:227-238.
- Schüler, C; Pikny, J; Nasir, M; Vogtmann, H. 1993. Effects of composted organic kitchen and garden waste on *Mycosphaerella pinodes* (Berk. et Blox) Vesterg., causal organism of foot rot on peas (*Pisum sativum* L.). *Biol. Agric. Hort.* 9:353-360.
- Sekiguchi, A. 1977. Control of *Fusarium* wilt on Chinese yam. *Ann. Rep. Dep. Plant Pathol. Entomol. Veg. Floric. Exp. Stn. Nagana (Japón)* 1:10-11.
- Steinmetz, J; Schönbeck, F. 1994. Conifer bark as growth medium and carrier for *Trichoderma harzianum* and *Gliocladium roseum* to control *Pythium ultimum* on pea. *J. Plant Dis. Prot.* 101:200-211.
- Stone, AG; Trama, SJ; Hoitink, HAJ. 1997. Changes in mass and chemical composition of a composted dairy manure during decomposition to relationship to the collapse of suppression to *Pythium* root rot. *Phytopathology* 87:S94 (Abstr.)
- Strom, PF. 1985. Effect of temperature on bacterial species diversity to thermophilic solid-waste composting. *Appl. Environ. Microbiol.* 50:899-905.
- Sugimoto, E; Hoitink, HAJ; Tuovinen, OH. 1990. Oligotrophic pseudomonads in the rhizosphere: suppressiveness to *Pythium* damping-off of cucumber seedlings (*Cucumis sativus* L.). *Biol. Fertil. Soils* 9:231-234.
- Tahvonen, R. 1982. The suppressiveness of Finnish light coloured sphagnum peat. *J. Sci. Agric. Soc. Finland* 54:345-356.
- Tränkner, A. 1992. Use of agricultural and municipal organic wastes to develop suppressiveness to plant pathogens. *In* Biological Control of Plant Diseases. Tjamos, EC Ed. New York: Plenum. p. 35-42.
- Trillas-Gay, MI; Hoitink, HAJ; Madden, LV. 1986. Nature of suppression of *Fusarium* wilt of radish in a container medium amended with composted hardwood bark. *Plant Dis.* 70:1023-1027.
- Tuitert, G; Szczech, M; Bollen, GJ. 1998. Suppression of *Rhizoctonia solani* to potting mixes amended with compost made from organic household waste. *Phytopathology* 88:764-773.
- Tunlid, A; Hoitink, HAJ; Low, C; White, DC. 1989. Characterization of bacteria that suppress *Rhizoctonia* damping-off to bark compost media by analysis of fatty acid biomarkers. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:1368-1374.
- Ulhoa, CJ; Peberdy, JF. 1991. Regulation of chitinase synthesis to *Trichoderma harzianum*. *J. Gen. Microbiol.* 137:2163-2169.
- van Loan, LC; Bakker, PAHM; Pieterse, CMJ. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-483.
- Watson, AG. 1973. Lutte biologique contre la fonte des semis de la laitue causée par *Pythium ultimum* Trow. *Rev. Suisse Vitic. Arboricul. Hort.* 5:93-96.
- Weller, DM. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26:379-407.
- Widmer, TL; Graham, JH; Mitchell, DJ. 1998. Composted municipal waste reduces infection of citrus seedlings by *Phytophthora nicotianae*. *Plant Dis.* 82:683-688.
- Wolffhechel, H. 1988. The suppressiveness of sphagnum peat to *Pythium* spp. *Acta Hort.* 221:217-222.
- Workneh, F; van Bruggen, AHC; Drinkwater, LE; Sherman, C. 1993. Variables associated with a reduction in corky root and *Phytophthora* root rot of tomatoes in organic compared to conventional farms. *Phytopathology* 83:581-589.
- Workneh, F; van Bruggen, AHC. 1994a. Microbial density, composition, and diversity in organically and conventionally managed rhizosphere soil in relation to suppression of corky root of tomatoes. *Appl. Soil Ecol.* 1:219-30.
- Workneh, F; van Bruggen, AHC. 1994b. Suppression of corky root of tomatoes in organically managed soil associated with soil microbial activity and nitrogen status of soil and tomato tissue. *Phytopathology* 81:688-694.
- You, MP; Sivasithamparam, K. 1994. Hydrolysis of fluorescein diacetate in an avocado plantation mulch suppressive to *Phytophthora cinnamomi* and its relationship with certain biotic and abiotic factors. *Soil Biol. Biochem.* 26:1355-361.
- You, MP; Sivasithamparam, K. 1995. Changes in microbial populations of an avocado plantation mulch suppressive to *Phytophthora cinnamomi*. *Appl. Soil Ecol.* 2:33-43.
- Zhang, W; Dick, WA; Hoitink, HAJ. 1996. Compost-induced systemic acquired resistance in cucumber to *Pythium* root rot and anthracnose. *Phytopathology* 86:1066-1070.
- Zhang, W; Han, DY; Dick, WA; Davis, KR; Hoitink, HAJ. 1998. Compost and compost water extract-induced systemic acquired resistance in cucumber and arabidopsis. *Phytopathology* 88:450-455.