

CAPÍTULO . CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES DE LOS CULTIVOS

Victor Rubio Susan y Alberto Fereres Castiel

Centro de Ciencias Medioambientales (CCMA-CSIC). Dpto. Protección Vegetal.
Serrano 115 Dpdo. 28006 Madrid.

- 1. Introducción**
- 2. Bacterias y hongos protectores frente a hongos del suelo. Mecanismos de control microbiológico**
 - 2.1 Colonización e inoculo**
 - 2.2. Competencia**
 - 2.3. Antibiosis**
 - 2.4. Fungistasis**
 - 2.5. Micoparasitismo**
 - 2.6. Transmisión de hipovirus**
 - 2.7 Inducción de resistencia sistémica (ISR)**
 - 2.8 Mecanismos combinados**
- 3. Control de insectos fitófagos**
 - 3.1. Control de insectos por hongos**
 - 3.2. Control de insectos por bacterias**
 - 3.2.1. Ventajas del BT
 - 3.2.2. Desventajas del BT
 - 3.2.3. Métodos para retrasar la aparición de resistencias a BT
 - 3.3. Control de insectos por parasitoides y depredadores**
- 4. Conclusiones y perspectivas futuras**
- 5. Glosario**
- 6. Palabras clave**
- 7. Referencias**

1. Introducción

El control de las enfermedades y plagas de las plantas por métodos químicos continúa siendo imprescindible para mantener una agricultura económicamente rentable y rendimientos altos de cosecha. Recientemente se han desarrollado nuevas clases de plaguicidas con nuevos mecanismos de acción, como los fenilpirroles, anilino pirimidinas, fenoxiquinolinas, las estrobirulinas o los neonicotinoides e inhibidores de la síntesis de quitina y también nuevos compuestos (elicitores) que ponen en marcha los mecanismos de defensa de las plantas (1). El control de las enfermedades de las plantas mediante agentes químicos empezó de forma efectiva en 1882 cuando se introdujo la “mezcla de Burdeos” para combatir el mildu producido por *Plasmopora viticola* en los viñedos franceses (2). La protección de muchos cultivos se ha centrado principalmente a partir de 1950 en el desarrollo de plaguicidas obtenidos por síntesis orgánica, siendo el DDT el primero de ellos con el que se consiguió un control muy eficaz de las principales plagas. Sin embargo, los riesgos derivados del uso indiscriminado y sin limitaciones de los plaguicidas de síntesis fue puesto en evidencia por Rachel Carson en un libro que tuvo un gran impacto social titulado “Primavera silenciosa” (3). Por otro lado, los primeros productos naturales de origen microbiano de amplio uso comercial fueron los antibióticos blastidina S, kasuganamicina y validamicina A, desarrollados en Japón para controlar el quemado del arroz (*Magnaporthe grisea*) y la podredumbre de vaina de arroz (*Rhizoctonia solani*) (4).

Actualmente contamos con unos 113 ingredientes activos registrados como fungicidas en todo el mundo (5) a pesar de lo cual se necesitan nuevos agentes de control para conseguir un rendimiento y una calidad mejorados de acuerdo con la demanda.

Algunas enfermedades como la antracnosis, se controlan mal con los productos actualmente en el mercado. Se necesitan fungicidas con nuevos mecanismos de acción para combatir a los patógenos que han desarrollado resistencias o que presentan escasa sensibilidad

a los fungicidas actuales. Por otra parte el desarrollo reciente y de uso cada vez mayor de los programas de control integrado (Integrated Pest Management –IPM–) influye en la estrategia de búsqueda y desarrollo de nuevos plaguicidas (insecticidas, fungicidas y herbicidas entre otros) cada vez mas selectivos y respetuosos con el medio ambiente, que en muchos casos han de combinarse con otros métodos de control, como la solarización, la resistencia genética, practicas de cultivo incluyendo rotaciones, barreras físicas, agentes de control biológico y otros métodos biotecnológicos desarrollados por el hecho de que la efectividad de los fungicidas químicos esta decreciendo por el desarrollo en los patógenos de mecanismos de resistencia, una situación que cada día es mas alarmante, aunque no tanto, de momento, como lo que ocurre en clínica con el uso de antibióticos antibacterianos. Al final de la década de 1960, no había una literatura significativa respecto al desarrollo de resistencias (6) y al final de la década de 1980 (7) había identificados alrededor de 60 géneros de hongos en los que se ha detectado resistencia a doce grupos de fungicidas diferentes. Simultáneamente a esta situación, muchos plaguicidas están siendo retirados del mercado por razones de toxicidad, bien para la salud humana o animal o bien por razones de polución medioambiental (Food and Environment Protection Act, 1985 y Control of Pesticides Regulations, 1986).

Un problema con el que se encuentra la agricultura en la Europa Comunitaria es la supresión programada de plaguicidas que, por diversas razones, dejarán de estar en el mercado en un plazo breve, por ejemplo el bromuro de metilo, cuya desaparición del mercado español y europeo está prevista a corto plazo. La fumigación del suelo con bromuro de metilo a 50 g/m² es una practica común para el control de un amplio espectro de patógenos del suelo en muchas plantas. Sin embargo la preocupación con respecto al posible papel del uso de este fumigante en la desaparición de la capa de ozono (8) y las regulaciones para suprimir su consumo, plantean el problema de la búsqueda de métodos alternativos para combatir patógenos, hasta el presente controlados eficazmente con dicho fitosanitario. Hay trabajos que presentan protocolos de reducción de dosis, por ejemplo para combatir el marchitamiento de la patata producido por *Verticillium dahliae*, el uso de cubiertas impermeables a gas en lugar de las estándar de polietileno de baja densidad (LDPE), permite reducir la dosis a 25 g/m² con excelentes resultados (9).

La mayoría de las plagas y organismos fitopatógenos tienen antagonistas biológicos o enemigos naturales que se pueden emplear como estrategia de lucha en un programa de control biológico. El llamado control biológico clásico consiste en la potenciación o utilización de los enemigos naturales de una plaga para reducir su población. Esto se puede llevar a cabo introduciendo en una determinada zona o región los enemigos naturales propios del lugar de origen de la plaga (en el caso de ser una plaga introducida). También se pueden potenciar los propios enemigos naturales nativos presentes en el lugar donde la plaga se encuentra ya establecida. En un sentido restringido control biológico (o control microbiológico) es la introducción artificial de microorganismos antagonistas en un ecosistema determinado para controlar a un patógeno o una plaga. Este concepto deriva del usado por los entomólogos de introducir depredadores para controlar las plagas de insectos. Quizá la definición mas amplia y acertada de control biológico es la propuesta por uno de los pioneros en el tema, Paul Debach, que lo definió como “la acción de parásitos, depredadores y patógenos destinada a mantener la densidad poblacional de otro organismo a un nivel inferior al que se mantendría en su ausencia” (10). El control biológico de insectos fitófagos se remonta al año 324 AC en el que los chinos empleaban la hormiga Pharaon, *Monomorium pharaonis* para el control de plagas de grano almacenado.

Una de las motivaciones principales para el desarrollo actual de sistemas de control biológico es la reducción de la utilización de plaguicidas químicos de síntesis. La preocupación que comienza a existir actualmente sobre la salud, seguridad y medio ambiente, y los efectos negativos de los productos químicos utilizados por la agricultura en las aguas, suelos y alimentos, requieren una disminución en el uso de dichos plaguicidas. Además, el control biológico puede ser especialmente importante para su utilización en sistemas en los que el control químico no es económico o efectivo, y también puede reducir otros problemas asociados con determinados sistemas de control químico, como son el desarrollo de resistencias del patógeno, reducción de poblaciones de microorganismos beneficiosos y la creación de vacíos

ecológicos. El control biológico generalmente tiene efectos mas específicos que el control químico, y solo el microorganismo patógeno o la plaga clave se ve negativamente afectado, respetando a otros microorganismos beneficiosos y fauna útil (artrópodos que actúan como enemigos naturales de las plagas). En resumen el control biológico puede ser mas seguro para humanos, cosechas y medio ambiente, y tiene el potencial de ser mas estable y durar mas tiempo que otros métodos de control, siendo totalmente compatible con los conceptos y objetivos del control integrado y una agricultura sostenible.

Aunque el control biológico no pretende reemplazar completamente los sistemas de control químico, puede ser utilizado junto con otras técnicas de control como parte de un sistema integrado de control (IPM). Es necesario mencionar que el control biológico tiene un potencial enorme, pero se necesita una investigación mayor sobre este tema para lograr un control efectivo. No hay que olvidar que el control biológico tiene unas propiedades y requerimientos muy distintos a los métodos de control tradicionales, y ha de ser puesto en practica integrándolo con los métodos y con las estrategias de producción existentes actualmente. El control biológico depende de un funcionamiento efectivo del antagonista apropiado para cada ecosistema particular planta-patógeno. La identificación de aislados antagonistas apropiados es siempre el primer paso en este proceso. La pauta a seguir para cada cultivo y cada área dependerá de un estudio a fondo de cada situación particular. Algunos preparados basados en alguno de los mecanismos mencionados ya están disponibles comercialmente, mientras que otros solo han sido probados de manera experimental. En los últimos años se han lanzado al mercado un gran número de agentes de biocontrol. En 1996 existían mas de 40 productos de biocontrol, de los que 12 se utilizan actualmente en USA para controlar enfermedades fúngicas. En el caso del control biológico de plagas en Europa se ha producido un aumento espectacular en los últimos años en cuanto a la cantidad de agentes de biocontrol disponibles (parasitoides, depredadores y entomopatógenos) que actualmente superan las 125 especies diferentes (11). Dichos agentes son empleados especialmente para el control de plagas en cultivos bajo invernadero con resultados muy satisfactorios.

2. Bacterias y hongos protectores frente a hongos del suelo. Mecanismos de control biológico

Hay muchas formas en las que pueden operar los organismos antagonistas (12). Se ha demostrado en diversas especies de hongos y bacterias la protección frente al ataque de patógenos después de inocular las plantas con cepas o aislados de bacterias u hongos no patógenos (avirulentos) o poco virulentos (hipovirulentos). Los aislados protectores tienen unas características similares a los virulentos, excepto su incapacidad para producir los síntomas de enfermedad en la planta y, a veces, algunas características morfológicas o fisiológicas diferentes, tales como pigmentación reducida, crecimiento mas lento, producción de metabolitos secundarios o producción de determinados enzimas (13). Los mecanismos de protección no son iguales en todos los casos y un mismo aislado puede proteger simultáneamente por varios mecanismos, entre estos mecanismos cabe destacar: Capacidad de colonización y forma de inoculación; competencia en la colonización con los patógenos en el mismo nicho ecológico en la superficie de la planta (14), o competencia por nutrientes (como ejemplos estudiados están carbono y hierro) (15); producción de compuestos inhibidores o antibiosis (16); fungistasis (17); micoparasitismo (18); transmisión de virus (19) e inducción de mecanismos generales de resistencia en las plantas (20).

2.1. Colonización e inoculación

La colonización de una planta por microorganismos solo puede ocurrir por inóculos existentes en su medio ambiente o bien traídos por el viento, el agua, los animales o el hombre. El concepto de potencial de un inóculo es la suma de todos los factores que contribuyen a la energía necesaria para la infección de una planta por un patógeno. Este potencial determina la cantidad de enfermedad producida (21) y esta ligado en principio a la cantidad de un microorganismo existente en un sistema (unidades/gramo –u/g-), a mayor cantidad mas facilidad

para que la planta resulte infectada por un patógeno o protegida, si se trata de un agente de biocontrol. Se necesita un valor mínimo de inóculo para que la planta pueda ser infectada por un patógeno. Para salvar los sistemas de defensa de la planta en términos generales se necesitan varios ataques simultáneos en diferentes puntos o varios propágulos en el mismo punto de forma que por debajo de una cierta densidad de inóculo no hay infección y por encima de un valor umbral, la infección progresa rápidamente. El potencial del inóculo varía con el patógeno y con la planta, dependiendo de la virulencia y resistencia de ambos respectivamente. Estos valores pueden ser muy variables desde 0,005 a cerca de 10000 unidades de inóculo por gramo de suelo (u/g), estos valores están además influidos por factores ambientales y además por el vigor del inóculo, que depende también de si el propágulo ha estado inactivo por periodos de meses o incluso de años que hacen que su crecimiento inicial sea lento y consiguientemente no produzca suficiente cantidad de enzimas para lisar la pared celular de la planta. Cuando los microorganismos se introducen artificialmente en el sistema, como un agente de biocontrol, es mas fácil controlar el potencial del inóculo y por otra parte la inoculación se puede realizar en el lugar adecuado para la colonización (22). Un mismo microorganismo puede requerir un potencial de inóculo diferente para infectar distintas plantas, por ejemplo *Rhizoctonia solani* requiere un mínimo de 0,01 u/g para infectar remolacha y 0,07 u/g para infectar algodón. Un ejemplo de alta densidad de inóculo para producir infección es *Verticillium albo-atrum* que requiere de 50 a 400 u/g para infectar algodón dependiendo de diversos parámetros.

2.2. Competencia

La competencia surge cuando al menos dos organismos requieren la misma cosa y el uso por uno reduce la cantidad disponible para el otro. La competencia puede ser por los sitios de infección, donde la ocupación de dichos sitios por un microorganismo impide la colonización por otro o bien por determinados nutrientes. En la competencia por nutrientes o bien un microorganismo posee un mecanismo de absorción mejor o posee enzimas extracelulares mas activos, de forma que uno obtiene mas nutrientes y crece, mientras que el otro no obtiene nutrientes suficientes para crecer. Este mecanismo esta demostrado en cuanto a las fuentes de carbono y de nitrógeno, y también es posible para otros requerimientos como oxígeno, hierro y en el caso de autótrofos por la luz. Si hay un exceso del nutriente de forma que hay para todos no hay competencia. En sitios pobres la competencia es por los espacios reducidos donde es posible utilizar el nutriente, no por el espacio total, como ocurre en las hojas de las plantas en climas templados donde el espacio ocupado por microorganismos suele ser inferior al 1%. En raíces la cantidad de exudado producido permite el crecimiento de una cierta biomasa de microorganismos, independientemente de que sean uno o varios si usan el mismo nutriente. Un ejemplo es la competencia por carbono entre aislados saprotróficos de *Fusarium oxysporum* y aislados patógenos de la misma especie, el mayor desarrollo de los saprotróficos impide el crecimiento del patógeno en competencia por el carbono. También se ha demostrado el mecanismo de competencia entre bacterias nucleantes de hiello o no nucleantes en *Pseudomonas syringae*. Esta competencia reduce el número de bacterias nucleantes patógenas en la superficie de las hojas. Algunos patógenos utilizan estrategias, como un crecimiento saprotrófico en competencia con otros microorganismos saprotróficos, utilizando a la vez los recursos de los exudados de las plantas como patógenos, un buen ejemplo de esta estrategia es *Rhizoctonia solani*.

Con respecto al hierro cuando es escaso que es la situación normal, puede haber competencia por hierro férrico. Algunas cepas bacterianas usadas en biocontrol como *Pseudomonas fluorescens* producción compuestos quelantes del hierro, llamados sideróforos que tienen una gran afinidad por el hierro férrico. Esta situación se da normalmente en suelos calcáreos, que al tener un pH alto precipitan la mayor parte del hierro férrico como hidróxido. Los sideróforos los producen la mayoría de los microorganismos y difieren unos de otros en su afinidad por el hierro y por otros cationes. Los que tienen mayor actividad secuestrarán la mayoría del hierro disponible en estos suelos. La excepción es que a veces un microorganismo puede beneficiarse del sideróforo de otro porque sus sistemas de transporte de membrana son compatibles.

2.3. Antibiosis

La lisis celular debida a enzimas o metabolitos de otros organismos (exolisis) se puede producir por la producción por parte de un microorganismo competidor de antibióticos, que normalmente actúan a muy bajas concentraciones. Hay antibióticos volátiles y otros productos tóxicos también volátiles capaces de afectar el crecimiento de las células, como el etileno o el cianuro de hidrógeno que también actúan a bajas concentraciones, aunque estos productos no se consideran antibióticos en sentido estricto. Los antibióticos son el mecanismo mas estudiado de antagonismo entre microorganismos dada su importancia en medicina. La mayoría de los antibióticos han sido aislados de microorganismos del suelo, aunque también se han encontrado en microorganismos que viven en las hojas o en otras partes de las plantas. Parece obvio que los antibióticos deben de jugar un papel en el medio ambiente, aunque este punto todavía no se ha demostrado satisfactoriamente. Los antibióticos se producen industrialmente en medios ricos, y después de un crecimiento rápido a veces se requiere un periodo en medio pobre en nutrientes para inducir su producción. La mayoría de los habitat asociados a las plantas, incluyendo el suelo son medios pobres en carbono y los microorganismos están en estado latente y en estas condiciones no es probable que produzcan antibióticos. Cuando se corrige el contenido en carbono del suelo mediante compost se puede detectar la producción de antibióticos. Incluso si los antibióticos se producen en el medio ambiente en principio se adsorben a las arcillas o a coloides orgánicos, que pueden concentrar cantidades efectivas localmente, pero que no permite que se detecten en el suelo. Se piensa que las condiciones de crecimiento en medio rico y el cambio a un medio pobre y la adsorción a diferentes materiales puede ocurrir en situaciones naturales debido a la variación espacial a pequeña escala de los microambientes naturales.

Parece lógico pensar que la enorme cantidad de información genética necesaria para la síntesis de antibióticos, se habría perdido en términos de evolución si no tuvieran ninguna función natural. A pesar de todas estas consideraciones, se acepta generalmente que los antibióticos existen en ambientes naturales y que son activos y que pueden ser usados en control biológico. Un ejemplo de antibiosis es *Gliocladium virens* activo agente usado en biocontrol contra patógenos de suelo como *Pythium ultimum* y *Rhizoctonia solani*. *G. Virens* produce gliotoxinas y gliovirinas que son toxicas e inhiben el crecimiento de los patógenos. La cantidad de gliotoxinas detectadas en suelo se correlaciona con el nivel de supresión de las enfermedades producidas por los patógenos y mutantes que no producen gliotoxinas no protegen.

2.4. Fungistasis

Consiste en imponer condiciones de inactividad especialmente para las esporas de hongos por limitación en los nutrientes (17). Generalmente se emplea limitación en las fuentes de carbono. Muchos patógenos producen estructuras de supervivencia que se encuentran en el suelo a la espera de que exista una fuente de nutrientes para desarrollar las formas activas del microorganismo. Los elementos saprotrófos pueden reducir las fuentes de carbono e imponer la fungistasis a las esporas del patógeno impidiendo que germinen y que infecten a las plantas. La disponibilidad de carbono en forma asimilable permite la germinación de esporas y la adición de materia orgánica en forma de compost o similares estimula la actividad microbiana de los saprotrófos, de forma que se origina una intensa competencia, pudiendo producir limitación de carbono para las esporas y fungistasis. Solo cuando se añade carbono por encima de las necesidades de los saprotrófos las esporas germinan y se rompe la fungistasis. Un ejemplo de fungistasis es la competencia por carbono de diferentes especies de *Fusarium* en suelos donde los saprotrófos impiden la infección por los aislados patógenos.

2.5. Micoparasitismo

El antagonismo puede operar simplemente usando el patógeno como fuente de alimento, si el patógeno es un hongo y el antagonista un micoparásito normalmente es capaz de romper la pared celular del hospedador con quitinasa o glucanasas o bien si el patógeno es un oomiceto (*Pythium*, *Phytophthora* etc.) además necesita celulasas.

Los micoparásitos mejor conocidos son los del género *Trichoderma*, que algunos se están usando comercialmente contra muchos patógenos de suelo (18). Las hifas de *Trichoderma* penetran tanto las estructuras de supervivencia como esclerocios o hifas en estado de crecimiento.

Las hifas del micoparásito se enrollan alrededor del hospedador y en determinados puntos penetran en él atravesando la pared y membrana celulares, en otros casos el micoparásito se enrolla alrededor del hospedador y produce su muerte sin haber evidencia de que agujeree la pared celular. Los aislados de *Trichoderma* producen diferentes quitinasas y glucanasas en cultivo que degradan los componentes mayoritarios de la pared celular de los hongos patógenos.

Entre los micoparásitos no solo hay hongos, amebas que viven en el suelo particularmente de los géneros *Arachnula*, *Acanthamoeba* y amebas vampirelidas, que parasitan hifas y esporas haciendo agujeros en la pared celular, absorbiendo el contenido celular. Entre los protozoos también hay micófagos ciliados (género *Grossglockneria*) aunque no se ha estudiado aun su potencial como agentes de biocontrol.

Los micoparásitos requieren contacto o estar muy próximos al huésped para la inducción de la producción de enzimas necesarios para producir la lisis de la pared celular y por consiguiente es necesaria una masa considerable del hospedador por un periodo largo de tiempo y consecuentemente no se piensa que sean útiles para patógenos de crecimiento rápido o para los que pueden evadir el parasitismo creciendo para otra parte o hacia espacios donde el hongo o la ameba no pueden llegar. Sin embargo se pueden usar contra esporas, esclerocios o hifas creciendo sobre tejidos muertos del huésped donde están en grandes cantidades por algún tiempo.

2.6. Transmisión de hipovirus

Hay una gran abundancia de ARN de doble cadena (dsRNA) en la mayoría de los hongos donde se ha estudiado. Una parte de estas moléculas de dsRNA se consideran de origen viral (se ha aislado dsRNA de cápsidas virales purificadas, procedentes del citoplasma de los hongos). Los virus de hongos se llaman micovirus y el dsRNA contiene marcos de lectura abierta (ORF) para una RNA-polimerasa RNA dependiente y para la proteína de la cápsida del virus. Estos virus se caracterizan por carecer de un ciclo infectivo y se transmiten de hongo a hongo por anastomosis hifal (Figura 1). Como los reovirus poseen un genoma que contiene varias familias de segmentos, normalmente un grupo de segmentos grandes (12-9 kilobases, -kb-), otro grupo intermedio 6-4 kb y un grupo de segmentos pequeños 1 kb aproximadamente. Los micovirus se clasifican en totivirus, si los genes que codifican la polimerasa y la proteína de la cápsida están en el mismo segmento, partitivirus si dichos genes están en diferente segmento e hipovirus capaces de producir hipovirulencia en el hongo con respecto a su capacidad patogénica en plantas.

Figura 1. Microscopia electrónica de una anastomosis hifal. Hifas de *Rhizoctonia solani* compatibles vegetativamente.

Figura 1*

En el caso del dsRNA de *Cryphonectria parasitica* la hipovulencia que confiere un segmento particular de dsRNA es transmisible junto con la transferencia del segmento de dsRNA por anastomosis y por consiguiente la transmisión de dicho segmento puede ser un mecanismo de control. *Cryphonectria parasitica* es el agente causal del chancro del castaño, enfermedad causante de la desaparición de los castaños en USA, en una de las mayores pandemias conocidas. En la primera mitad del siglo XX, los castaños prácticamente han desaparecido del este de USA, siendo el segundo árbol mas abundante antes de que esto ocurriera. El origen de esta pandemia fue la importación de un castaño de Japón al Jardín Botánico de Nueva York a principios del siglo. Dicho castaño venía infectado con un aislado altamente patógeno de *Cryphonectria parasitica* que era incompatible con los aislados americanos, es decir incapaz de hacer anastomosis. La situación interna en USA de los castaños sin grandes problemas de chancro se mantenía por la transmisión de dsRNA entre los diferentes aislados de *Cryphonectria parasitica* americanos, pero el aislado japonés era altamente virulento e incapaz de convertirse en hipovirulento dado que no era compatible vegetativamente con los aislados americanos por lo que no había mecanismos naturales que impidieran el desarrollo de la enfermedad.

El segmento L-dsRNA de 12,7 kb, del aislado de *C. parasitica* EP713 posee una estructura génica con dominios muy similares al genoma de los potyvirus (virus de plantas con

genoma de una sola cadena de RNA de polaridad positiva), codifica por ejemplo una helicasa, una proteasa HC-Pro, y dos proteínas autocatalíticas codificadas por dos ORF diferentes y contiguas. Dicho segmento confiere hipovirulencia por transformación a aislados virulentos del hongo. Además transcritos del genoma completo introducidos por electroporación en aislados virulentos no solo de *Cryphonectria*, sino de hongos de géneros relacionados, como *Endothia*, también confieren hipovirulencia. Por ejemplo *Endothia gyrosa* produce chancro en roble y en esta especie de hongo nunca se ha encontrado dsRNA, sin embargo la transfección con el transcrito del dsRNA de *Cryphonectria* atenúa la virulencia del hongo. En cuanto al posible mecanismo que confiere hipovirulencia a los productos del dsRNA se ha visto que son capaces de regular los niveles de proteínas de unión guanina-nucleótido (proteínas G) ligadas a la transducción de señales que se sabe que juegan un papel muy importante en la regulación de la respuesta de los organismos eucarióticos a diferentes estímulos medio ambientales (23).

En otros hongos como *Rhizoctonia solani* el papel del dsRNA es más complejo. Entre los segmentos de tamaño medio hay un segmento de 6,4 kb que confiere virulencia. Contiene seis ORF, con semejanza a dominios helicasa y a los dominios de unión de ATP/GTP de bromovirus y al factor de ensamblaje del enzima citocromo c oxidasa. Otro segmento de 3,4 kb confiere hipovirulencia y la secuencia contiene información para una RNA polimerasa RNA dependiente y para un polipéptido análogo al polipéptido pentafuncional AROM que cataliza los pasos 2 al 6 de la ruta de biosíntesis del ácido siquímico en otros hongos. Este RNA presenta copia en el DNA nuclear del hongo. Estos estudios se han realizado con aislados pertenecientes al grupo de anastomosis 3 (AG 3) (24).

Existen otros hongos donde se piensa que el dsRNA juega un papel en la regulación de la virulencia como *Ophiostoma ulmi*, *Gaeumannomyces graminis* var. *Tritici*, y *Helminthosporium victoriae*.

2.7. Inducción de resistencia sistémica (ISR)

Consiste en la inducción del sistema de defensa que da resistencia al hospedador frente a patógenos por la interacción con un microorganismo no patógeno, el agente de biocontrol. Una vez puesto en marcha el mecanismo de resistencia es operativo ante el ataque de un patógeno. Cuando se induce la resistencia la planta expresa una serie de genes que confieren resistencia como 1,3-b-glucanasas, fitoalexinas, genes relacionados con el refuerzo de la pared celular como peroxidasas y la deposición de lignina, callosa y glicoproteínas ricas en hidroxiprolina y proteínas relacionadas con patogénesis, proteínas (PR). Este concepto es similar al concepto de vacuna en animales, aunque los mecanismos de defensa sean completamente diferentes. En principio el agente de biocontrol debe de ser filogenéticamente próximo al patógeno para confundir a los sistemas de defensa, aunque no necesariamente. Aunque se desconoce el mecanismo de ISR, se ha encontrado que el ácido salicílico induce la síntesis de proteínas PR e incrementa la resistencia a un gran número de patógenos. También se ha encontrado que lipopolisacáridos de la membrana externa de *Pseudomonas fluorescens* pueden actuar de elicitors en ISR.

Se ha demostrado la inducción de resistencia sistémica en la interacción pepino-*Colletotrichum lagenarium* y con *Rhizoctonia* binucleada (BNR) como mecanismo de control de la infección por *Rhizoctonia solani* en soja (20) y en judía, donde se ha encontrado una inducción de peroxidasa, 1,3-b-glucanasa y quitinasas después de la inoculación con BNR que confiere resistencia no solo a *Rhizoctonia solani* si no también a otros patógenos como *Colletotrichum lindemuthianum* (25).

2.8. Mecanismos combinados

Muchos microorganismos antagonistas utilizan varios mecanismos de acción simultáneamente frente a un patógeno. Por ejemplo, algunos micoparásitos como *Gliocladium virens* o *Trichoderma harzianum* utilizan además del micoparasitismo, competencia y antibiosis. Hay trabajos que demuestran en *Gliocladium virens* que mutantes que han perdido la capacidad de enrollarse alrededor de las hifas, continúan funcionando como agentes de biocontrol. Este hecho parece hacer dudar de la importancia del micoparasitismo en el biocontrol en términos generales.

Un ejemplo de posible combinación de inducción de resistencia sistémica y de competencia es el uso de formas o razas avirulentas del patógeno, que siendo similares ocupan el mismo nicho ecológico. Esto puede dar lugar a competencia o a la puesta en marcha de los mecanismos de defensa, por ejemplo la inoculación antes de la siembra con formas avirulentas de *Fusarium oxysporum* reduce la enfermedad producida por los aislados patógenos del hongo en los estados posteriores de crecimiento. No es necesario que el agente de biocontrol sea de la misma especie que el patógeno, por ejemplo en un experimento clásico de inducción de resistencia a antracnosis de las judías producida por *Colletotrichum lindemuthianum* se usó como agente protector tanto el patógeno atenuado por calor como *C. lagenarium*, que normalmente causa la enfermedad en calabaza pero no en judía (26).

Los suelos supresivos son aquellos en que la incidencia de una enfermedad es baja, independientemente del inoculo y de que se den las circunstancias favorables para el desarrollo de una enfermedad. La naturaleza de esta supresión parece claramente de origen microbiológico. Si suelos susceptibles se inoculan con aislados protectores no patogénicos, se convierten en suelos supresivos. En este proceso pueden influir la capacidad de colonización, la germinación de las clamidosporas y la dinámica de las poblaciones de los aislados.

3. Control de insecto fitófagos

El Control Microbiano de insectos fitófagos es el uso de microorganismos patógenos para los insectos, principalmente hongos y bacterias siendo una estrategia muy deseable dentro de los programas de Control Integrado de Plagas (CIP), ya que son capaces de reducir las poblaciones de plagas a niveles inferiores a las que causan un daño económico, con la consiguiente disminución del uso de insecticidas de síntesis y sus consecuencias negativas para el medio ambiente.

3.1. Control de insectos por hongos

Entre los insecticidas microbianos, los hongos entomopatógenos son los mas eficaces para el biocontrol de insectos picadores-chupadores, tales como los pulgones y mosca blanca (Orden: Homoptera) debido a que el modo de infección es por contacto con la cutícula del insecto. Entre los hongos que afectan a los pulgones destacan el orden entomophthorales y algunos hongos mitosporicos, entre los que destacan *Verticillium lecanii* y *Beauveria bassiana*, considerados los patógenos más efectivos en condiciones de campo e invernadero. Estos dos últimos hongos se están produciendo comercialmente y se usan como agentes de biocontrol.

Los hongos entomophthorales son un orden de zigomicetos que comprende numerosos géneros y muchas especies de estos hongos parasitan insectos. La mayoría de estos hongos presenta una alta especificidad de hospedador y son parásitos obligados y aunque desde este punto de vista son buenos candidatos para controlar insectos, presentan el problema de que son difíciles de cultivar a escala industrial por sus requerimientos nutritivos, que son bastante complejos. Los géneros mas importantes encontrados en campo atacando insectos son *Conidiobolus*, *Erynia* y *Entomophthora* (atacan pulgones), *Zoophthora* (pulgones, orugas y escarabajos) y *Entomophaga* (saltamontes y orugas). Ninguno de ellos, a pesar de su capacidad de causar epizootias, parece un buen candidato para convertirse en un producto comercial.

El ciclo de infección del insecto comienza con una espora del hongo o un conidio que aterriza en la cutícula del insecto, en condiciones favorables la espora germina, produciendo un tubo germinal que penetra la cutícula, una vez en la hemolinfa el hongo coloniza al insecto. Una colonización completa del insecto típicamente requiere de 7 a 10 días y el insecto muere. Algunos hongos producen toxinas peptídicas durante la colonización y en estos casos el insecto muere antes. En el insecto muerto, el micelio sale al exterior y forma nuevas esporas o conidios que infectan a nuevos insectos, completandose el ciclo.

Hace mas de un siglo que se ha intentado usar los hongos para controlar insectos, el primer intento se realizó en Rusia para controlar el abejorro *Anisoplia austriaca* con el hongo *Metarhizium anisopliae*. Desde entonces se han sucedido los esfuerzos por disponer de productos de biocontrol, con un éxito hasta el momento dudoso. En Rusia se usa el producto casi comercial

denominado Boverin, para controlar el escarabajo colorado de la patata, pero en USA este producto ha resultado ineficaz. Actualmente se están desarrollando nuevas estrategias de producción de hongos entomopatógenos en pequeñas industrias biotecnológicas y evaluándose resultados de campo.

Los géneros *Paecilomyces*, *Aschersonia* y *Verticillium* han sido encontrados causando infecciones naturales sobre *Bemisia tabaci*. Se ha observado que los estadios ninfales de esta especie son muy susceptibles a las infecciones por *V. lecanii*; mientras que el control es bajo sobre el estado de huevo y no ocasiona mortalidad en el estado adulto.

Por otro lado, en condiciones de laboratorio se ha encontrado que numerosas cepas aisladas de distintos huéspedes y regiones geográficas de los hongos *Paecilomyces* spp. y *Beauveria bassiana* son altamente virulentas para *Bemisia argentifolii*. En ensayos realizados en invernaderos comerciales de tomate y pimiento en Almería y Alicante se observó un aumento significativo de la mortalidad de *B. tabaci* y *T. vaporariorum* en las parcelas tratadas con una formulación de *V. lecanii* con respecto a las no tratadas. Además, se observó que la mortalidad causada por los insecticidas químicos no fue diferente de la producida en las parcelas no tratadas, lo que muestra el alto nivel de resistencia adquirida por la plaga a los insecticidas convencionales en el área de estudio, concluyendo que la utilización de *V. lecanii* es una excelente alternativa en el control de moscas blancas y una herramienta eficaz en los programas de manejo de resistencias.

Cuando se pretende utilizar a estos hongos entomopatógenos como bioinsecticidas, es necesario realizar una caracterización exhaustiva de aislados a fin de seleccionar aquellas que presenten alta virulencia y buenas condiciones para su aplicación en campo. En esta caracterización se incluyen estudios referidos al modo de infección y también hoy en día es importante realizar estudios sobre los determinantes moleculares y bioquímicos relacionados con la especificidad del hongo al huésped y el papel de la filogenia y la ecología en la expresión del rango de huéspedes por hongos patógenos.

3.2. Control de insectos por bacterias

La lucha microbiológica tiene un gran potencial futuro ya que algunos de los microorganismos entomopatógenos son más susceptibles de ser tratados industrialmente para su producción a gran escala. También pueden ser aplicados con la maquinaria habitual que el agricultor emplea para los tratamientos fitosanitarios. Sin duda, el mayor éxito en el control microbiano de insectos se ha conseguido mediante la bacteria *Bacillus thuringiensis*. Este bacilo es capaz de producir una endotoxina que ataca a numerosos insectos-plaga (27). Hay cepas específicas de algunos grupos importantes de plagas (i.e. BT *tenebrionis* específica de Coleopteros, BT *israeliensis* específica de Dípteros y la más usada es BT *kurstaki* específica de Lepidópteros).

Los cristales (Cry) que produce la bacteria *Bacillus thuringiensis* en condiciones de stress son agregados de una proteína de gran tamaño (130-140 kilo-Daltons, -kDa-) que en realidad no es activa por sí misma (es una protoxina) por ser insoluble. Cuando la protoxina se somete a condiciones muy básicas (pH superior a 9.5) como las existentes en el intestino de algunos insectos se solubiliza y se transforma por medio de las proteasas del insecto en una toxina activa de unos 60 kDa. Esta es la toxina que se conoce con el nombre de δ - endotoxina de BT. Actúa uniéndose a receptores de las células epiteliales del intestino del insecto produciendo poros y lisis osmótica de las células que finalmente provoca su muerte.

Actualmente, el gen responsable de la producción de esta endotoxina ha sido introducido en plantas de tabaco, maíz, tomate, algodón, patata, remolacha y colza entre otros cultivos. La gran aceptación de los cultivos transgénicos especialmente en Estados Unidos de Norteamérica han aumentado el rendimiento por Ha y los ingresos de los agricultores de estos países. El primer éxito logrado en este campo se obtuvo en 1987 cuando fue posible la producción de plantas transgénicas de tabaco capaces de producir por sí mismas una toxina de una bacteria (*Bacillus thuringiensis*) que tiene efectos letales para determinados insectos fitófagos. La mayor parte de los esfuerzos en incorporar genes útiles para el control de insectos mediante técnicas de ingeniería genética se han centrado en el gen responsable de la síntesis de la endotoxina de *B. thuringiensis*. El BT como bioinsecticida es poco estable porque las esporas y los cristales (endotoxinas) se inactivan fácilmente con la luz UV. La solubilización de los cristales (proteínas)

dependen del ambiente (especialmente pH) existente en el aparato digestivo del insecto diana. La gran selectividad ecológica de los insecticidas basados en BT se debe a que cada tipo de cristal solo es soluble y activo a determinado pH y por tanto ataca específicamente a un determinado grupo de insectos. En las plantas BT no es posible incorporar el transgen que codifica para la protoxina (por ser esta insoluble en las células de la planta, pH = 7,6), este problema se resolvió usando genes truncados que solo expresan la parte activa de la toxina (60KDa), consiguiéndose de esta forma mayor eficacia en el control pero menor selectividad.

3.2.1. Ventajas del BT

Las toxinas BT se han usado desde hace más de 40 años como insecticidas sin que se hayan detectado fenómenos de resistencia. Por otra parte, las toxinas BT son muy selectivas y actúan solo por ingestión (aunque este tipo de selectividad ecológica es menor en plantas BT). Además, en general son respetuosas con la fauna auxiliar, salvo algunas excepciones.

También son más respetuosas con el medio ambiente que los insecticidas convencionales de amplio espectro y se pueden usar solo cuando son necesarias, cuando se alcance umbral de intervención y se degradan fácilmente y no se acumulan en la cadena trófica (o al menos por largos periodos de tiempo), por consiguiente son totalmente compatibles con Programas IPM, aunque la compatibilidad es menor para plantas BT.

3.2.2. Desventajas del BT

La principal desventaja es la posible aparición de resistencias en periodos relativamente cortos de tiempo (debido a que la plaga está sometida a la presión selectiva de 1 o pocos genes y dicha presión se ejerce sobre una gran superficie de cultivo), una posible solución es respetar los refugios de la plaga sembrando un cultivar susceptible en una superficie reducida pero próxima al cultivo BT. De esa manera se puede mantener una población de insectos (taladros) fuera de la presión selectiva de BT y por tanto generar una reserva de genes de susceptibilidad. Existen algunos casos de resistencia a BT ya detectados (*Plutella xylostella*/repollo), que incluso pueden usar la toxina como fuente suplementaria de alimento.

3.2.3. Métodos para retrasar la aparición de resistencias a BT

Podemos separar métodos a corto, medio y largo plazo. A corto plazo, se puede utilizar la expresión de una alta concentración de toxina junto con la creación de refugios carentes de toxina para los insectos, en algodón se recomienda 4 Ha de no transgénico por cada 100 de transgénico, también ayuda el fomento de la presencia y la acción de fauna auxiliar y el seguimiento de las poblaciones del insecto diana para detectar rápidamente la posible aparición de insectos resistentes junto con la evaluación de posibles fallos en el control del insecto diana. A medio plazo (2-5 años) se debe continuar con las estrategias anteriores y combinar (piramidar) 2 genes cry diferentes que codifiquen proteínas Cry (formadoras de cristales) diferentes y con diferentes modos de acción o que se expresen en distintos tejidos. A largo plazo (> 5 años), se deben continuar las estrategias anteriores e incorporar otros genes naturales de resistencia para resistencia poligénica.

3.3. Control insectos por parasitoides y depredadores

Los enemigos naturales de las plagas pueden ser parasitoides, depredadores o parásitos. Los parasitoides (Figura 1) y depredadores (Figura 2) son insectos ó ácaros que se alimentan a expensas de artrópodos fitófagos. Los parasitoides son aquellos que completan su ciclo a expensas de una sola presa (Figura 3). En cambio, los depredadores necesitan alimentarse de varias presas para completar su desarrollo. El término parasitoide se emplea para diferenciarlo del parásito, que es cualquier agente entomopatógeno capaz de producir enfermedad en el organismo fitófago. Los parasitoides suelen ser artrópodos, mientras que los parásitos suelen ser hongos, nematodos, bacterias o virus. El control de fitófagos basado en el empleo de organismos parásitos se denomina control microbiológico (como se explica en el apartado 2 de este capítulo).

Figura 2. Colonia de pulgones de la lechuga, *Nasonovia ribisnigri*, parasitada por el himenoptero parasitoide *Aphidius hieraciorum*. Vease en el centro de la imagen la presencia de pulgones abombados de mayor tamaño (llamados momias) que albergan en su interior la larva de la avispa.

Figura 2*

Figura 3. Adulto del depredador *Coccinella septempunctata* alimentándose de una colonia de pulgones.

Figura 3*

Figura 4. Parasitoide afelínido *Encarsia tricolor* introduciendo su ovíscapo en el interior de una larva de *Aleyrodes proletella*, la mosca blanca de las crucíferas.

Figura 4*

La actividad y eficacia de los parasitoides y depredadores depende de una serie de factores ambientales, pero también depende de la cantidad de presas disponibles (28). La relación lineal existente entre la densidad de población del depredador y la densidad de la presa se denomina respuesta numérica. Cuanto mayor es la densidad de la presa, mayor cantidad de alimento esta disponible para el depredador y por lo tanto su densidad poblacional también aumenta (Figura 4). Ahora bien, todo depredador pierde gran parte de su tiempo y energía en localizar su fuente de alimento (la presa). Por lo tanto, cuanto mayor es la densidad poblacional de la presa el depredador necesita realizar menos esfuerzo para encontrar y alimentarse de la presa por lo que su tasa de crecimiento también aumenta hasta alcanzar un valor máximo. Por encima de una determinada densidad de presa el número de presas que pueden ser depredadas se mantiene constante, produciéndose un tipo de respuesta llamada funcional (Figura 4).

Figura 5. Respuesta numérica y funcional entre el depredador y su presa.

Figura 5*

El primer gran éxito a gran escala dentro de un programa de control biológico de plagas se produjo en el año 1888, cuando Riley realiza la primera importación de enemigos naturales desde Australia para controlar en California (USA) la cochinilla acanalada de los cítricos (*Icerya purchasi*) mediante el coccinélido *Rodolia (Novius) cardinalis*. El éxito fue tan espectacular que este insecto sigue siendo hasta la actualidad el principal agente de biocontrol de la plaga en todas las zonas cítricas del mundo. Desde entonces, se han sucedido muchos éxitos pero también fracasos en el control biológico de plagas. El último gran éxito a nivel mundial ha sido la introducción en Africa del parasitoide *Epidinocarsis lopezi* para el control de la cochinilla de la

mandioca. Este parasitoide se introdujo desde Paraguay en Nigeria y ha conseguido exterminar esta importante plaga en mas de 30 países del continente africano (29).

La utilización de control biológico en los programas de control integrado es aconsejable siempre que sea posible debido a las siguientes ventajas que presenta:

- a. Es un método duradero, ya que la existencia de depredadores y parasitoides puede llegar a autoperpetuarse año tras año siempre que exista presa (fitófago) disponible.
- b. Es un método seguro, ya que la mayor parte de los enemigos naturales son bastante específicos y por lo tanto no se ven afectados insectos no perjudiciales para los cultivos.
- c. Es relativamente económico, ya que una vez que los enemigos naturales se han establecido no suele ser necesaria la incorporación de más individuos.
- d. Es muy respetuoso con el medio ambiente ya que no introduce ningún producto contaminante en los ecosistemas.

Las maneras más viables de llegar a implementar los programas de control biológico son:

- a. Conservación y estímulo de enemigos naturales (EN) ya existentes en el agrosistema. Esto se puede conseguir mediante el empleo racional de plaguicidas selectivos, la obtención de EN resistentes a plaguicidas, evitando prácticas culturales adversas, buscando huéspedes alternativos de los EN y establecerlos en las proximidades del cultivo, aplicando sobre el cultivo compuestos atrayentes o sembrando especies vegetales que los atraigan o que suplementen su dieta. El control biológico por conservación ha tenido un auge importante en los últimos años y su aplicación práctica es factible especialmente si su puesta en práctica se realiza a nivel comarcal o regional.
- b. Importación de EN exóticos desde el país de origen de la plaga (cuidar sus lugares de hibernación, conseguir presas alternativas, buscar una climatología adecuada para realizar la suelta, conocer la repuesta funcional y numérica del EN a introducir).
- c. Aumentar y soltar los enemigos naturales criados en condiciones controladas (biofábricas) (métodos aumentativos). Las sueltas pueden ser de 3 tipos:

- i. Seltas periódicas o inoculativas. Este tipo de sueltas se realizan cada cierto tiempo (i.e. cada año) porque el EN no puede autoperpetuarse. Se reintroduce periódicamente porque el EN suele morir periódicamente. Su manera de utilización es semejante a la de un plaguicida, ya que cada cierto tiempo hay que aplicarlo sobre el cultivo.

- ii. Seltas suplementarias. Son sueltas que se realizan solo algunos años, solo cuando se considera necesario. Este es el caso de algunas plagas que no pueden ser controladas suficientemente por otros métodos y se recurre a suplementar el control empleando EN.

- iii. Seltas inundativas. Se emplean para suprimir la plaga de una forma drástica, de forma que no se requieran varias generaciones del entomófago para controlar la plaga. Se recurre a este sistema cuando se tiene constancia de que existe una elevada capacidad del entomófago para frenar rápidamente el desarrollo de la plaga. Este es el caso del endoparasitoide de huevos, *Trichogramma* spp., que tiene una alta capacidad para frenar el desarrollo de los huevos de la plaga *Heliothis* spp.. Los métodos inundativos se utilizan en la actualidad en una superficie importante en cultivos hortícolas bajo invernadero en toda Europa. En España, este método esta teniendo un gran auge y recientemente se han establecido varias biofabricas que comercializan un importante número de entomófagos que son empleados en sistemas productivos bajo la denominación de Producción Integrada y Agricultura Ecológica. Es previsible, que estos tipos de agricultura aumenten en superficie dada la actual política de la Unión Europea y la creciente demanda de la sociedad por obtener productos agrícolas mas saludables y con el mínimo nivel de residuos.

Como ejemplo práctico de un programa en el que se ha obtenido éxito utilizando control biológico se encuentra el control de la mosca blanca, *Trialeurodes vaporariorum*, mediante el afelinido *Encarsia formosa* en cultivo de tomate bajo invernadero. La mosca blanca se introduce cuando en el momento oportuno para poder mantener la población de la plaga siempre por debajo de limites perjudiciales (umbral económico de daños). Para conseguir el éxito

en programa de control biológico es necesario un conocimiento profundo de la ecología tanto de la plaga como del agente de biocontrol que se quiere emplear.

Otra manera de conseguir aumentar la eficacia de los enemigos naturales y su empleo como método suplementario de control es por selección de biotipos resistentes a determinados insecticidas (30). De esta forma se puedan emplear conjuntamente enemigos naturales e insecticidas para combatir una plaga, especialmente en lugares cerrados. Este es el caso de la selección de un biotipo resistente a carbaryl de *Chrisoperla carnea*, un depredador de pulgones, y del ácaro depredador *Metaseiulus occidentalis*, importante agente de biocontrol de ácaros que ocasionan cuantiosos daños a manzano y otros frutales resistente a carbaryl. En este sentido, hay que destacar que actualmente se considera muy importante la obtención de nuevos insecticidas que sean respetuosos con la fauna útil (EN), de manera que se puedan combinar aplicaciones puntuales de insecticidas con el control biológico. Tanto es así, que existe un grupo de trabajo de la Organización Internacional de Lucha Biológica (OILB) cuyo objetivo es desarrollar métodos fiables para la evaluación los efectos secundarios de los nuevos plaguicidas. Actualmente, el registro único europeo de productos fitosanitarios exige la evaluación del efecto que produce los nuevos compuestos sobre la fauna útil como las abejas, y ciertos depredadores y parasitoides.

4. Conclusiones y perspectivas futuras

Actualmente, existen varias empresas que comercializan enemigos naturales utilizables en programas de control biológico. Fundamentalmente se sitúan en Holanda, Francia, Italia, Gran Bretaña y Rusia. En 1970 solo existían 400 Ha en todo el mundo sometidas a control biológico, mientras que en 1988 se estima que ya existían 12000 Ha donde se implementan métodos de control biológico. La mayor parte de esta superficie es cultivo protegido, ya que el control biológico es mucho más eficaz en ambientes confinados al estar el agente de biocontrol en un entorno cerrado y en condiciones ambientales mas favorables para su desarrollo

En España, desde hace algunos años se están comercializando productos biológicos, especialmente los de la casa Koppert (Holanda) que son distribuidos por la propia empresa que recientemente ha establecido una biofábrica en Aguilas (Murcia). Actualmente existen bastantes productores en el levante español que utilizan el control biológico como una práctica habitual aunque en ocasiones combinan el control biológico con la aplicación de determinados plaguicidas respetuosos con los agentes de biocontrol. La puesta en práctica de la nueva Ley de Sanidad Vegetal pretende fomentar firmemente los programas de Control Integrado de Plagas (CIP) (Ley 43/2002 de 20 de noviembre de 2002, de sanidad vegetal, BOE num. 279), que incluyen el uso de agentes naturales de biocontrol. El nuevo reglamento de Producción Integrada también fomenta el uso de control biológico como principal pilar del control integrado de plagas. Este tipo de agricultura ocupa actualmente una superficie no despreciable y que esta en claro crecimiento especialmente en el sector hortofrutícola. .

Sin embargo, existen ciertas limitaciones a la hora de comercializar productos de biocontrol. Las más importantes son las siguientes:

- a. Dificultades con las patentes (los organismos vivos no se patentan aunque se puede patentar un uso específico de ellos, la dificultad reside en que suministrar un organismo vivo, como producto comercial facilita que cualquiera pueda usarlo como cultivo iniciador para multiplicar el producto y esto es muy difícil de controlar)
- b. Complicada producción en masa debido a que requiere una elevada mano de obra con el consiguiente encarecimiento del producto final. Esto hace que los agentes de biocontrol tengan en general un precio mayor que los plaguicidas y por tanto, resulten mas difícil su implantación a gran escala a pesar de sus ventajas medioambientales ya indicadas.
- c. Corta vida del producto dado que es difícil su estocaje y almacenamiento tanto por parte de las biofábricas como por parte de los agricultores
- d. Demasiado específico en algunos casos, lo que requiere el uso de varios agentes distintos de biocontrol para controlar las plagas que suelen aparecer. En cambio, los plaguicidas de síntesis suelen controlar a varias plagas al mismo tiempo.
- e. Complejo en su aplicación ya que requiere personal cualificado. En este sentido existen en España desde hace bastantes años las agrupaciones para tratamientos integrados en

agricultura (ATRIAS) que forman parte del Servicio de Sanidad Vegetal. Estas ATRIAS están formadas por técnicos especializados en cada cultivo(s) y que habitualmente asesoran a los agricultores en cuanto a la protección contra plagas y enfermedades. Los agricultores que siguen prácticas de Protección Integrada pueden ser asesorados por estos técnicos para incorporar estos nuevos métodos de control entre sus prácticas habituales de cultivo.

5. Glosario

Anamorfo: Forma no sexual de un hongo, los anamorfos son difíciles de identificar la mayoría se definen como hongos mitospóricos, antes llamados deuteromicetos.

***Bacillus thuringiensis*:** Bacteria capaz de esporular, productor de diferentes toxinas usadas comercialmente con éxito para el control de insectos.

***Colletotrichum*:** Género de hongos mitospóricos, son patógenos, cada especie con hospedadores específicos. Algunas especies no son patógenas y se han usado como elementos de biocontrol. Inducen resistencia sistémica.

Control Integrado de Plagas (IPM): Estrategia que busca en maximizar el efecto del control natural (enemigos naturales de las plagas), y utilizar otros métodos de control solo cuando sea necesario y con la menor alteración posible del medio ambiente.

***Cryphonectria*:** Agente causal del chancro del castaño. Los aislados hipovirulentos poseen genomas virales dsRNA, la hipovirulencia es transmisible junto con el dsRNA.

Depredador: Son aquellos que necesitan alimentarse de varias presas para completar su desarrollo.

Entomófago: Agente biótico que se alimenta de insectos.

Entomopatógeno: Agente biótico que es capaz de producir enfermedad y provocar la muerte de un insecto.

***Fusarium*:** Un género muy común de hongos patógenos mitospóricos, con algunas especies saprotrofas. En las especies patógenas se distinguen *formae speciales*, con diferente gama de huésped y síntomas de enfermedad.

***Gaeumannomyces*:** Género de hongos ascomicetos, causan la enfermedad conocida como "take-all" de los cereales.

***Gliocladium*:** Género de hongos mitospóricos. *G. roseum* es saprotrofo y ocasionalmente patógeno, coloniza semillas germinando en condiciones frías y de alta humedad con estrés de oxígeno. Es un micoparásito que se emplea de antagonista.

***Helminthosporium*:** Género de hongos mitospóricos, muchos saprotrofos, aunque *H. Solani* es patógeno de patata, muchas especies están siendo reclasificadas al género *Drechslera*.

Magnaporte: anamorfo: *Pyricularia*. Patógeno causante del quemado del arroz, también patógeno de cebada, avena, mijo y otras gramíneas.

Ophiostoma:

Parasitoides: Son aquellos que completan su ciclo a expensas de una sola presa.

Producción Integrada (IPM): Sistema de producción basado en la reducción del uso de insumos extendiendo los principios del control integrado a todas las prácticas de manejo del cultivo (riego, fertilización, poda, labores, etc.).

***Pseudomonas*:** Género de bacterias patógenas, como *P. glycinae* patógena de soja, *P. syringae* patógena de frutas, *P. solanacearum* patógena de muchas especies vegetales en regiones templadas, subtropicales y tropicales, *P. tolaasii* es patógena del champiñón. *P. fluorescens* es principalmente saprotrofa. Es el género más importante de bacterias que atacan a las plantas.

***Pythium*:** Género de hongos Oomicetos, patógeno importante especialmente en suelos húmedos, causando tumbado de plantas en emergencia.

***Rhizoctonia*:** Complejo de especies, basidiomicetos. *Rhizoctonia solani* anamorfo de *Thanatephorus cucumeris* es un patógeno importante que causa tumbado de plantas y otras muchas enfermedades. *Rhizoctonia* binucleada (BNR), generalmente aislados

pertenecientes al género *Ceratobasidium*, muchos aislados son elementos de biocontrol. Algunos aislados del complejo de especies forman la micorriza de las orquideas.

Teleomorfo: Hongos en los que se observan las formas sexuales. A veces tienen un nombre diferente del anamorfo correspondiente, por haberse identificado separadamente.

Trichoderma: Género de hongos mitospóricos saprofitos o micoparásitos de otros hongos. Se usa como agente de biocontrol (existen preparados comerciales) de *Rhizoctonia solani* y de otros patógenos como *Fusarium*, *Botrytis*, *Sclerotinia* etc. Todas las especies son muy frecuentes en suelo, pueden producir antibióticos y enzimas degradadores de polímeros de la pared (quitinasas, celulasas etc.).

Verticillium: Género muy común de hongos mitospóricos, la mayoría de los aislados son patógenos. Algunas especies se pueden emplear como agentes de biocontrol (*V. lecanii*, control de insectos, *V. biguttatum*, control de *Rhizoctonia solani*).

6. Palabras clave:

Hongos y bacterias entomófagos, parasitoide, depredador, antagonista, control integrado, producción integrada, plaguicida, entomopatógeno, enemigos naturales, fauna auxiliar

7. Referencias

1. Knight SC, Anthony VM, Brady AM, Greenland AJ, Heaney SP, Murray DC, Powell KA, Schulz MA, Spinks CA, Worthington PA y Youle D. 1997. Rationale and perspectives on the development of fungicides. *Annu. Rev. Phytopathol.* **35**: 349-372.
2. Brent KJ. 1985. One hundred years of fungicide use, pp. 11-22. En *Fungicides for crop protection, 100 years of progress*. (Smith IM, ed.). Monogr. N° 31, 1. Br. Crop Prot. Council, Croydon, UK.
3. Carson R. 1962. Silent Spring. Houghton Mifflin, New York, USA.
4. Worthington PA. 1988. Antibiotics with antifungal and antibacterial activity against plant diseases. *Nat. Prod. Rep.* **5**: 47-66.
5. McDougal J. 1996. Agrochemical Service, Wood Mackenzie, on line database. Edinburgh, UK.
6. Georgopoulos SG y Zarcovits C. 1967. Tolerance of fungi to organic fungicides. *Annu. Rev. Phytopathol.* **5**: 109-130.
7. Eckert JW. 1988. Historical development of fungicide resistance in plant pathogens, pp. 1-3. En *Fungicide resistance in North America*. (Delp CJ, ed.). APS Press, St. Paul, MN, USA.
8. Anonymous. 1995. Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer, UNEP 1994 Report of the Methyl bromide Bromide Technical Option Committee. UNEP, Kenya.
9. Gamliel A, Grinstein A, Peretz Y, Klein L, Nachmias A, Tsrur L y Livescu L. 1997. Reduced dosage of methyl bromide for controlling *Verticillium* wilt of potato in experimental commercial plots. *Plant Disease* **81**: 469-474.
10. De Bach P. 1964. Biological control of insect pests and weeds. Chapman and Hall, London, UK.
11. van Lenteren JC. 2003. Quality control and production of biological control agents. Theory and testing procedures. CABI Publishing, Wallingford, UK.
12. Elad Y. 1986. Mechanisms of interactions between rhizosphere micro-organisms and soil-borne plant pathogens, pp. 49-60. En *Microbial communities in soil* (Jensen V, Kjoller A, eds.). Elsevier. London, UK.
13. Nuss DL y Koltin Y. 1990. Significance of dsRNA elements in plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* **28**: 37-58.
14. Sneh B, 1998. Use of non-pathogenic or hypovirulent fungal strains to protect plants against closely related fungal pathogens. *Biotechnol. Adv.* **16(1)**:1-32.
15. Eparvier A y Alabouvette C. 1994. Use of ELISA and GUS-transformed strains to study competition between pathogenic and non-pathogenic *Fusarium oxysporum* for root colonization. *Biocontrol Sci. Technol.* **4**: 35-47.

16. Sesan T, Oprea M y Baicu T. 1993. Studies on the mycoparasitic fungus *Fusarium lateritium* Nees (Gibberella baccata (Wallr.) Sacc.): Biological control agent to be used against plant pathogenic fungi. *Stud. Cerac. Biol. Vegetal.* **44**: 85-192.
17. Lockwood JL. 1986. Soilborne plant pathogens: concepts and connections. *Phytopathology* **76**: 20-27.
18. Chet I y Henis Y. 1985. *Trichoderma* as a biocontrol agent against soilborne root pathogens, pp. 110-112. En *Ecology and management of soilborne plant pathogens*, (Parker CA, ed.). St. Paul, MN, USA.
19. Nuss DL. 1992. Biological control of chestnut blight: an example of virus-mediated attenuation of fungal pathogenesis. *Microbiol. Rev.* **56**: 561-576.
20. Poromarto SH, Nelson Bd y Freeman TP. 1998. Association of binucleate *Rhizoctonia* with soybean and mechanism of biocontrol of *Rhizoctonia solani*. *Phytopatology* **88(10)**: 1056-1067.
21. Garrett SD. 1970. Pathogenic root infecting fungi. Cambridge University Press. Cambridge, UK
22. Campbell R. 1989. Biological control of microbial plant pathogens. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
23. Gilman AG. 1987. G proteins: Transducers of receptor-generated signals. *Annu. Rev. Biochem.* **56**: 615-649.
24. Rubio V, Tavantzis SM y Lakshman DK. 1996. Extrachromosomal elements and degree of pathogenicity in *Rhizoctonia solani*, pp. 127-138. En *Rhizoctonia species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control*. (Sneh B, Jabaji Hare S, Neate S y Dijst G, eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Países Bajos.
25. Xue L, Charest PM y Jabaji-Hare SH. 1998. Systemic induction of peroxidases, 1,3- β -glucanases, chitinases, and resistance in bean plants by binucleate *Rhizoctonia* species. *Phytopathology* **88**: 359-365.
26. Kuc J. 1981. Multiple mechanisms, reaction rates and induced resistance in plants, pp. 259-272. En *Plant disease control*. (Staples RC y Toenniessen GH, eds.). John Wiley & Sons, New York, USA.
27. Federici BA. 1999. *Bacillus thuringiensis* in Biological Control, pp. 575-593. En *Handbook of Biological Control*. (Bellows TS y Fisher TW, eds.). Academic Press, New York, USA.
28. Koul O y Dhaliwal GS. 2003. Predators and Parasitoids. Taylor and Francis, London, UK.
29. Bellotti AC, Smith L y Lapointe SL. 1999. Recent advances in cassava pest management. *Annu. Rev. Entomol.* **44**: 343-370.
30. Hoy Ma. 1994. Parasitoids and predators in management of arthropod pests, pp. 129-198. En *Introduction to insect pest management*. (Metcalf RL y Luckmann WH, eds.). John Wiley & Sons, New York, USA.