

## SUELOS SUPRESIVOS A ENFERMEDADES RADICALES: “DECLINACIÓN DEL MAL DE PIE (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) EN TRIGO”, UN ESTUDIO DE CASO.

### ROOT DISEASE SUPPRESSIVE SOILS: “TAKE ALL DECLINE (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) IN WHEAT”, A CASE STUDY.

Herman A. Doussoulin Jara<sup>1,2</sup>, Ernesto A. Moya Elizondo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile. E-mail: hdoussoulin@gmail.com.

<sup>2</sup>Programa de Magister en Ciencias Vegetales, Universidad Austral de Chile.

<sup>3</sup>Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chillan, Chile. E-mail: emoya@udec.cl

#### ABSTRACT

**Key words:** Biological control, suppressive soils, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, Take all disease, *Pseudomonas fluorescens*.

Suppressive soils are a natural phenomena, they prevent or affect either the establishment of pathogens or the development of diseases affecting different crops. This review describes and discusses the bases behind this phenomenon, its global and local reports, the factors involved in the suppression and some agronomic practices that favor the development of these types of soils. Finally, we review the phenomenon of “Take all decline”, which has been described around the world and also in Chile, and it is induced in soils infected by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* after several years of wheat monoculture. It is associated with increasing *Pseudomonas fluorescens* populations able to produce the 2,4-diacetylphloroglucinol antibiotic.

#### RESUMEN

**Palabras claves:** Control biológico, suelos supresivos, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*; Mal del pie, *Pseudomonas fluorescens*.

Los suelos supresivos corresponden a un fenómeno natural, en cual algunos suelos no permiten o afectan el establecimiento de patógenos o el desarrollo de enfermedades que afectan a diferentes cultivos. Esta revisión describe y discute los fundamentos que sustentan este fenómeno, reportes realizados a nivel mundial y local, factores involucrados en la supresión y algunas prácticas agronómicas que favorecen el desarrollo de este tipo de suelos. Finalmente, se analiza el caso de la “declinación del Mal del pie” que es inducida en suelos infectados por el hongo *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* después de varios años de monocultivo de trigo y asociado al aumento de poblaciones de *Pseudomonas fluorescens* con capacidad de producir el antibiótico 2,4-diacetilfloroglucinol.

#### INTRODUCCION

Las enfermedades que ocurren a nivel de suelo, que incluyen, las pudriciones radicales y de la corona, marchiteces y caídas de plántulas, están entre los factores limitantes para alcanzar

el potencial de rendimiento de los cultivos agrícolas. La agricultura convencional depende en gran medida del uso de tratamientos químicos de semillas y del suelo, para controlar estos patógenos y para mejorar el rendimiento de los cultivos afectados por estas enfermedades. Por

otra parte, muchos tratamientos químicos no son del todo eficientes y encierran riesgos para la salud y el medioambiente. Esta situación ha dado lugar a un interés creciente en el control biológico como una prometedora alternativa o una forma complementaria de apoyo para reducir el uso de este tipo de tratamientos. El control biológico implica el uso de microorganismos benéficos para la protección de la planta y está siendo considerado como una alternativa viable para sustituir o reducir el uso de plaguicidas químicos (Pal y McSpadden, 2006). Una fuente para encontrar bioantagonistas para el control de enfermedades que ocurren a nivel del suelo está asociada a que existen algunos suelos en los cuales algunos microorganismos nativos protegen al cultivo de ciertos patógenos, y que se denominan como “suelos supresivos”, ya que no permiten o reducen notoriamente el desarrollo de este tipo de enfermedades. Un caso típico de este fenómeno son los suelos supresivos a Mal del pie del trigo, enfermedad causada por el hongo *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx & Olivier var. *tritici* Walter que han sido reportados a nivel mundial (Hornby, 1998 y Weller *et al.*, 2002), y en Chile (Campillo *et al.*, 2001, Andrade *et al.*, 2011, Arismendi *et al.*, 2012). Aunque el fenómeno es recurrente, los mecanismos involucrados en el fenómeno no son del todo entendidos. Por lo anterior, este artículo es una revisión de lo que se entiende por un suelo supresivo, además de describir cuáles son los factores involucrados y cuáles de ellos permiten manejar la supresión. Por otra parte se hace un análisis del fenómeno conocido como declinación del Mal del pie del trigo y se presentan algunos reportes de este fenómeno en Chile.

## SUELOS SUPRESIVOS.

El concepto de “suelos supresivos” ha sido descrito por Baker y Cook (1974), como aquellos suelos en los que la incidencia o severidad de una enfermedad sigue siendo baja, a pesar de que exista la presencia de un patógeno, el hospedero susceptible y las condiciones ambientales que favorecen su infección y posterior desarrollo de la enfermedad. Además Baker y Cook (1974) señalan que esta puede ser el resultado de distintos mecanismos: a)

incapacidad del patógeno para establecerse, b) se establecen pero no causan síntomas de la enfermedad en las plantas, y c) se establecen causando síntomas en plantas inicialmente, pero la gravedad de la enfermedad disminuye con el tiempo, a pesar de que exista el patógeno en el suelo. Alabouvette *et al.* (2006) señalan que esta definición no considera que en todos los suelos hay cierto grado de inhibición biológica que va en un continuo, desde suelos altamente supresivos a suelos altamente conductivos de una enfermedad. Un “suelo conductivo” corresponde a aquellos suelos que permiten el desarrollo de enfermedades, es decir todo lo opuesto a un suelo supresivo (Hass y Défago, 2005). Los suelos supresivos han sido descritos para un gran número de patógenos del suelo que incluyen a: *G. graminis* var. *tritici* (mal del pie del trigo) (Cook y Rovira, 1976); *Fusarium oxysporum* (marchiteces en varios cultivos) (Alabouvette, 1999); *Plasmidiophora brassicae* Woronin (hernia de las coles) (Murakami *et al.*, 2000); *Pythium* spp. y *Rhizoctonia solani* Khun (caída de plántulas y pudriciones radicales en varios cultivos) (Mazzola, 1999; Garbeva *et al.*, 2004); *Streptomyces scabies* Thaxter (sarna común de la papa) (Lorang *et al.*, 1995; Liu *et al.*, 1996); *Ralstonia solanacearum* Smith (marchitez bacteriana del tomate, tabaco, papa y otros cultivos) (Hayward, 1991) y nemátodos del género *Heterodera* (Kerry 1988).

Weller *et al.* (2002), distinguen entre los términos “suelo supresivo de patógeno” y “suelo supresivo de enfermedad”, el primero hace referencia a la capacidad del suelo para limitar la densidad de inóculo del patógeno y su actividad saprofítica, y el segundo a la capacidad del suelo para restringir el desarrollo de la enfermedad, incluso aunque existan las condiciones favorables para que esto ocurra. Es importante destacar que la supresión del patógeno y la supresión de la enfermedad podrían no ocurrir simultáneamente, y algunos suelos pueden ser supresivos al patógeno y no supresores de la enfermedad y viceversa (Hornby, 1983; Weller *et al.*, 2002; Höper y Alabouvette, 2006).

Dependiendo del número de microorganismos involucrados en la supresión, esta puede ser dividida en “general” y “específica” (Baker, 1987, Weller *et al.*, 2002). La supresión general es conocida también como “antagonismo no

específico” o “tampón biológico”. Este tipo de supresión está relacionado con la biomasa microbiana total del suelo, la cual compite con el patógeno por recursos o a través de otras formas de antagonismo (Weller *et al.*, 2002). Las características que deben cumplirse para que ocurra este tipo de supresión son: debe haber más de un microorganismo o grupo específico de microorganismos involucrado, no ser transferible a suelos conductivos, no ser eliminada con calor húmedo (60°C por 30 minutos), ser reducida pero no eliminada por la aplicación de fumigantes y además debe actuar a todas las temperaturas del suelo incrementándose sobre los 5°C (Hornby, 1983; Baker, 1987). Por el contrario, la supresión específica se asocia a un microorganismo específico o a un grupo de microorganismos que afectan a un patógeno específico, siendo a su vez transferible hacia otros suelos conductivos (Baker, 1987; Mazzola, 2002; Weller *et al.*, 2002), por lo que en algunos casos se les ha denominado también como “suelos transferibles” (Weller *et al.*, 2002). Además este tipo de supresión es eliminado por calor húmedo y fumigantes y actúa solo a temperaturas bajo los 20°C (Hornby, 1983; Baker, 1987).

En general, los suelos poseen una población microbiana diversa que incluye bacterias y hongos; por lo cual, algunos suelos son naturalmente supresivos a fitopatógenos, limitando su supervivencia o crecimiento. Por lo mismo, la supresión natural es el resultado del efecto combinado de la supresión general y específica, las cuales funcionan como un continuo en el suelo, aunque pueden verse afectados de manera diferente por factores abióticos (condiciones climáticas, edáficas y agronómicas) (Weller *et al.*, 2002).

De acuerdo a Hornby (1983) y Weller *et al.* (2002), los suelos supresivos pueden ser divididos en dos categorías: “Supresión de larga data” (natural) y “supresión inducida”, la supresión de larga data es una condición biológica natural asociada al suelo, su origen no es conocido y persiste aún en ausencia de plantas. En contraste la supresión inducida es iniciada y sostenida por el monocultivo, un ejemplo de esta última es la “declinación de Mal del pie” (“Take-all decline”, para su sigla en inglés), que se asocia a la reducción de la enfermedad causada por el hongo *G. graminis*

var. *tritici*, en producciones de trigo sometidas a monocultivo de trigo durante varios años (McSpadden y Weller, 2001). Este fenómeno, por lo general, sucede con un brote inicial severo de la enfermedad y posteriormente la enfermedad se reduce espontáneamente, lo que resulta en un mayor rendimiento (Weller *et al.*, 2002), este fenómeno es explicada en mayor detalle más adelante.

### **Factores involucrados en la supresión de enfermedades en ciertos suelos.**

Existe evidencia de que la supresión de enfermedades es un resultado directo o indirecto de la actividad de los microorganismos del suelo (Alabouvette, 1986; Murakami *et al.*, 2000; Mazzola, 2002; Weller *et al.*, 2002). La naturaleza biológica de la supresión es confirmada por el hecho de que: (i) la supresión se pierde al pasteurizar o esterilizar el suelo, y (ii) la supresión se puede transferir a suelos conductivos, a través de la adición de 0,1 a 10% de un suelo supresivos (Weller *et al.*, 2002). La actividad microbiana incluye la presencia de varias especies de bacterias (géneros *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Serratia*, y actinomicetes) y hongos (géneros *Trichoderma*, *Penicillium*, *Gliocladium*, *Fusarium* spp. no patogénicos entre otros) que han sido identificados como antagonistas de patógenos en suelos (Scher y Baker, 1980; Sivan y Chet, 1989; Weller *et al.*, 2002; Garveba, *et al.*, 2004; Mazurier *et al.*, 2009; Raaijmeaker *et al.*, 2009). Los mecanismo mediante los cuales estos microorganismos realizan su acción en suelos supresivos son principalmente: competición por nutrientes, producción de antibióticos, sideróforos, por competencia e inducción de resistencia sistémica (Baker, 1968; Hornby 1983; Garveba, *et al.*, 2004; Haas y Défago, 2005; Raaijmakers *et al.*, 2009). Uno de los grupos más importantes de microorganismos antagonistas es el de las *Pseudomonas fluorescens* (Weller *et al.*, 2002; Garveba, *et al.*, 2004; Weller *et al.*, 2007; Weller, 2007), que es un reconocido grupo de bacterias que actúa como biocontrolador de varios patógenos del suelo (Weller, 1988; Raaijmakers *et al.*, 2002; Haas y Défago, 2005); tales como: *G. graminis* var. *tritici*, *Fusarium* spp., *Thielaviopsis basicola* Berk. y Broome, y *Pythium* spp. (Stutz *et al.*, 1986; Raaijmakers, *et al.*, 2002; Weller,

2007 y Mazurier *et al.*, 2009). Se ha determinado que el principal mecanismo empleado por este grupo para suprimir patógenos del suelo es el de la producción de antibióticos como 2,4-diacetylfloroglucinol (2,4-DAPG), ácido fenazina-1-carboxílico (PCA), pirrolnitrina y pioluteorina (Raaijmakers *et al.*, 2002; Weller *et al.*, 2002; Hass y Défago, 2005; Weller 2007; Weller *et al.*, 2007).

Además, se ha demostrado que los factores abióticos (propiedades físico químicas) también poseen un rol en la supresión de enfermedades, al influenciar la actividad microbiana del suelo (Mazzola, 2002). Por ejemplo la hernia de las coles causada por *P. brassicae*, es suprimida al aumentar el pH del suelo (Murakami *et al.*, 2000), por otra parte Meng *et al.*, (2012), señalan que una disminución en el pH del suelo suprime la sarna común de la papa, causada por *S. scabies*. Supresión de naturaleza química o física es a menudo más fácil de identificar, en comparación con aquellos que son de naturaleza biológica en donde las interacciones entre los organismos son inevitables (Hornby, 1983; Weller *et al.*, 2002).

#### **Manejos agronómicos que benefician la supresión.**

La supresión natural e inducida es dependiente de los microorganismos nativos del suelo para lograr la supresión de enfermedades de plantas. La supresión natural no se ve afectada por la planta hospedera o secuencia de cultivo utilizada, y es probable que sea el resultado de las características generales físicas y químicas del suelo y sus efectos sobre las comunidades microbianas (Mazzola, 2002). En contraste, la supresión inducida no sólo depende de las características del suelo, sino también de las plantas cultivada en dicho suelo, la secuencia de cultivos y las estrategias de manejo, por lo cual, generalmente, requiere de una gestión activa para su mantenimiento (Mazzola, 2002; Kinkel *et al.*, 2011). Kinkel *et al.* (2011), señalan que el mejoramiento de la supresión en el suelo está relacionado con el enriquecimiento de las relaciones antagonistas o competitivas en uno o más componentes de la comunidad microbiana y que el manejo agrícola tiene un impacto sobre estos componentes.

Una alternativa puede ser el monocultivo durante varios años, el cual puede inducir la supresión en algunos suelos a una enfermedad determinada (Weller *et al.*, 2002). Por ejemplo, supresión a *F. oxysporum* Schlecht. f. sp. *melonis* Snyder y Hansen (Sneh *et al.*, 1987) y *F. oxysporum* Schlecht. f. sp. *niveum* Snyder y Hansen (Larkin *et al.*, 1993) fue inducida por monocultivo de melón y sandía respectivamente. Igualmente Wang *et al.* (2012), observaron una reducción de la densidad de los patógenos *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *vasinfectum* Snyder y Hansen, y *Verticillium dahliae* Klebahn luego de diez años de monocultivo de algodón. Uno de los mejores ejemplos de este mecanismo es el de los suelos supresivos a mal del pie causado por *G. graminis* var. *tritici* el cual se reduce espontáneamente después de algunos años de monocultivo y se mantiene siempre y cuando no se ingrese otro cultivo al sistema (Weller, 2002). Otra alternativa es la incorporación de materia orgánica, ya que mejora la actividad microbiana del suelo (Van Bruggen y Semenov, 2000; Weller *et al.*, 2002; Haas y Defago, 2005). Bonanomi *et al.*, (2007), señalan que la aplicación de materia orgánica al suelo ha resultado en una supresión a diferentes patógenos, entre los que destacan hongos de los géneros *Verticillium*, *Fusarium*, *Phytophthora*, y *Rhizoctonia*. Sin embargo, los resultados obtenidos por esta práctica muchas veces son inconsistentes, ya que en ocasiones se ha observado un aumento de la incidencia de enfermedades o fitotoxicidad en plantas, lo que estaría limitando su uso en el control de enfermedades (Bonanomi *et al.*, 2007). La utilización de otras alternativas de manejo como el empleo de abonos verdes, rotación de cultivos y mínima labranza pueden ser útiles. El uso de estas prácticas, como la rotación de cultivos es corroborado por Peters *et al.* (2003), quienes al evaluar tres años de rotación entre los cultivos de cebada y papa (cv. "Ruset Burbank), concluyeron que frente a distintos tipos de patógenos tales como *Fusarium* spp., *Helminthosporium solani* Dur & Mont y *Phytophthora erythroseptica* Pethybr., se incrementa la habilidad antagonista de bacterias endófitas y de la rizósfera, gracias a la rotación y mínima labranza.

## FENÓMENO DE DECLINACIÓN DEL MAL DEL PIE DEL TRIGO

El mal del pie del trigo causado por el hongo *G. graminis* var. *tritici* es la enfermedad de la raíz más importante del trigo a nivel mundial, y en Chile, la enfermedad se presenta con particular severidad en suelos trumaos (andisoles) en la zona sur de Chile, desde la Región del Bío Bío a la Región de Los Lagos (Campillo *et al.*, 2001). El mismo patógeno también afecta en menor magnitud a cebada (*Hordeum vulgare* L.), triticale (*Triticum aestivum* x *Secale cereale*) y centeno (*Secale cereale* L.) (Cook, 2003). Las plantas afectadas por esta enfermedad presentan clorosis, retraso del crecimiento, madurez temprana, formación de puntas blancas, granos estériles y deshidratados (Latorre, 2004).

Para el control de este patógeno se recomienda habitualmente desinfección de semillas y la fumigación del suelo con diversos productos químicos antifúngicos. Sin embargo, estos métodos no son satisfactorios debido a su alto costo o baja eficacia (Apablaza, 1999; Cook, 2003; Andrade, 2004). Por lo anterior, el único método efectivo de control es la rotación de cultivos (dos a tres años con hospederos no susceptibles); el cual reduce en gran medida el inóculo del patógeno en el suelo (Cook, 2003). Sin embargo, Campillo *et al.* (2001) señalan que la rotación no siempre es factible de realizar, debido a diversos aspectos técnicos y económicos, y su efecto varía bajo diversas condiciones de suelo y clima. Andrade (2004), añade que dado que en el sur de Chile existen pocos cultivos alternativos que no sean susceptibles a la enfermedad y que puedan ser usados en rotaciones con trigo, es muy probable que el Mal del pie persista y aumente su incidencia. Como se mencionó anteriormente, una alternativa efectiva de manejo es el uso de control biológico para el manejo de la enfermedad (Weller *et al.*, 2002). El fenómeno conocido como declinación del Mal del pie es un tipo de control biológico conservativo y se define como “la disminución espontánea de la incidencia y severidad del mal del pie luego de varios años de monocultivo de trigo u otros cultivos hospedantes susceptibles, posterior a uno o más brotes severos de la enfermedad” (Weller *et al.*, 2002).

De forma general se puede establecer que la

declinación del Mal del pie, se comporta como un fenómeno de supresión de suelo específico e inducido que requiere de tres componentes: monocultivo de un hospederos susceptible, el patógeno *G. graminis* var. *tritici*, y al menos un brote severo de mal del pie (Weller *et al.*, 2002). Estudios de campo muestran que el desarrollo de este fenómeno sigue un patrón similar en todas partes del mundo, y factores tales como el tipo de suelo y el historial de cultivos sólo parecen modular el alcance y la velocidad de su desarrollo (Weller *et al.*, 2002). El número de ciclos de cultivos de trigo o cultivos susceptibles requeridos antes de la aparición de la declinación de la enfermedad es de aproximadamente cuatro a seis; pero, esto puede variar considerablemente dependiendo de la ubicación del campo, el tipo de suelo, y las condiciones ambientales (McSpadden y Weller, 2001; Raaijmakers, *et al.*, 2008).

La declinación del Mal del pie es una forma de supresión inducida de tipo específica, dado que está comprobado que el fenómeno es transferible a otros suelos y es eliminado por pasteurización (60°C, 30 min), fumigación o tratando el suelo con algún producto antimicrobiano (Raaijmakers y Weller, 1998; Weller *et al.*, 2002; Haas y Défago, 2005).

Cambios en las poblaciones microbianas antagonistas a *G. graminis* var. *tritici* en el volumen de suelo y/o rizósfera ha sido el mecanismo más comúnmente reportado como responsable del fenómeno de declinación de la enfermedad causada por este patógeno (Weller *et al.*, 2002).

Los microorganismos involucrados en suelos que presentan declinación a la enfermedad pertenecen a varios grupos taxonómicos diferentes, y por último, el Mal del pie es sensible a una variedad de formas de antagonismo incluyendo la destrucción de hifas por amebas; lisis de hifas por un hongo rojo estéril, y antibiosis por actinomicetes, *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp., y *Pseudomonas* spp. Recientemente, Schreiner *et al.* (2010) trabajando con cebada en suelos que presentaban declinación del Mal del pie determinó, mediante el uso técnicas moleculares (TRFLP y microarreglos) sobre el gen 16S rARN de las poblaciones bacterianas presente en ese suelo, que la dinámica de dichas poblaciones varió de acuerdo al ciclo del cultivo habiendo un cambio en donde



primaron *Actinobacteria* en el primer ciclo vegetativo del cultivo, lo que fue seguido por poblaciones de *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Planctomycetes* y *Acidobacteria* en el momento en que la enfermedad fue más severa, para finalizar con una prevalencia de *Proteobacteria* en el ciclo en que se presentó el fenómeno de declinación de la enfermedad. Sin embargo, se ha demostrado que los principales microorganismos involucrados en la declinación del Mal del pie corresponden a especies de *Proteobacteria* como *Pseudomonas fluorescens* las cuales actúan mediante la producción de antibióticos 2,4-DAPG y/o PCA (Raaijmakers y Weller, 1998; Weller *et al.*, 2002; Haas y Défago, 2005; Yang *et al.*, 2012). La primera evidencia definitiva de que un antibiótico producido por *P. fluorescens* era el responsable de la supresión de una enfermedad en plantas fue realizada por Thomashow y Weller en 1988, quienes determinaron que PCA era el responsable del biocontrol ejercido por *P. fluorescens* 2-79. Esta cepa, originalmente aislada de la rizósfera de trigo es capaz de suprimir el mal del pie del trigo causado el hongo *G. graminis* var. *tritici*. Por su parte, el rol del antibiótico 2,4-DAPG en la supresión de enfermedades fue demostrado

tempranamente en experimentos con mutantes de *P. fluorescens* deficientes en la producción de 2,4 DAPG, entre los cuales la cepa F113 que es defectuosa en la producción de dicho compuesto fue incapaz de controlar la caída de plántulas causado por *Pythium ultimum* Trow., en remolacha azucarera (Fenton *et al.*, 1992).

Bacterias productoras de 2,4 DAPG han sido recuperadas de suelos y rizósfera de varios cultivos en el mundo (Raaijmakers y Weller, 1998; De la Fuente *et al.*, 2006a; Raudales *et al.*, 2009). Las poblaciones de estas bacterias son incrementadas durante el monocultivo de una variedad susceptible a Mal del pie y después de por lo menos un brote severo de la enfermedad (Weller *et al.*, 2002), lo cual después de cierto número de ciclos de cultivo se traduce en la disminución en el nivel de la enfermedad (Figura 1). Raaijmakers y Weller (1998), determinaron que un umbral poblacional de  $10^5$  UFC/g de raíz, de bacterias 2,4 DAPG era necesario para producir el control biológico de los suelos con declinación del Mal del pie, y además demostraron que este umbral se asoció con la población necesaria para que se desarrolle la supresión natural de la enfermedad.

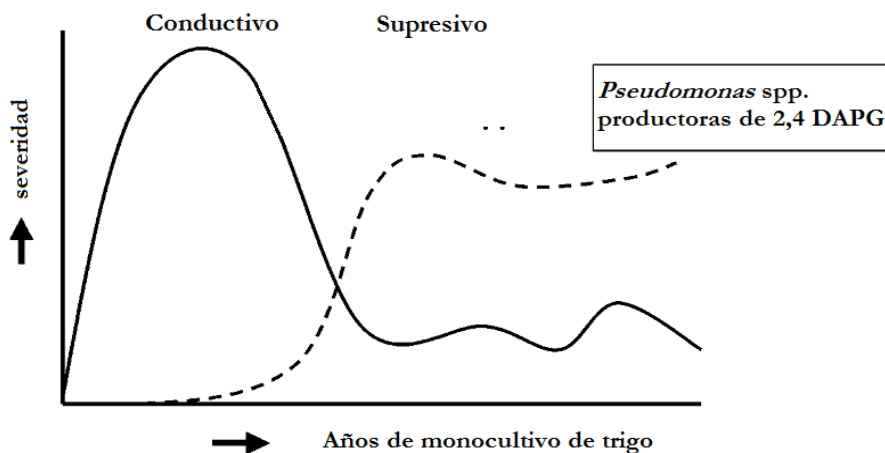


Figura 1: Variación poblacional de bacterias *Pseudomonas* spp. del grupo *fluorescens* productoras de 2,4 DAPG (línea discontinua) y su rol en la declinación del mal del pie (línea continua), luego de varios años de monocultivo con un hospedero susceptible a la enfermedad (Weller *et al.* 2002).

Figure 1 Population variation of *Pseudomonas* spp. of the *fluorescens* group, 2,4-DAPG producers (dashed line), and their role in take all decline (solid line), after several years of monoculture with a susceptible host.

Bacterias *Pseudomonas* spp. productoras de 2,4 DAPG, han sido estudiadas intensivamente durante el último tiempo, ya que se han sido asociadas con la disminución de enfermedades radiculares que afectan varios cultivos (Raaijmakers *et al.*, 1997; De la Fuente *et al.*, 2006a), ya sean causadas por diferentes bacterias fitopatógenas, hongos, pseudo-hongos y nemátodos (De la Fuente *et al.*, 2006a). Por ejemplo, la cepa *P. fluorescens* CHA0 suprime la podredumbre negra de la raíz del tabaco causada por *T. basicola*; la pudrición de la corona y pudrición de la raíz del tomate *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *radicilycopersicy* Jarvis y Shoemaker; pudriciones radiculares o caídas de plántulas causadas por *Pythium* en pepino, trigo y poroto, y el Mal del pie del trigo (Keel *et al.*, 1992; Duffy y Défago, 1999). *Pseudomonas* sp. cepa F113 suprime el nemátodo del quiste y la pudrición blanda de la papa causada por *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ( Ex *Erwinia carotovora*) y caídas de plántulas causadas por especies de *Pythium* en remolacha azucarera (Cronin *et al.*, 1997); mientras las cepas Q8r1-96 y SSB17 han actuado sobre Mal del pie del trigo (Pierson y Weller, 1994; Raaijmakers y Weller, 1998; De Souza *et al.*, 2003). Recientemente, se ha demostrado en *Arabidopsis thaliana* L. que 2,4-DAPG producido por *P. fluorescens* induce resistencia en las plantas (Weller *et al.*, 2012), y que la actividad antifúngica de este metabolito sobre los hongos estaría dado por su acción de disipación sobre el gradiente de protones que ocurre en la membrana mitocondrial lo que afecta la respiración celular (Troppens *et al.*, 2013).

*Pseudomonas* spp. productoras de 2,4-DAPG han sido aisladas a partir de numerosos cultivos que crecen bajo condiciones variables, por lo que se han establecidos diferencias genotípicas y fenotípicas (De La Fuente *et al.*, 2006b). Se ha logrado establecer la existencia de 22 grupos genéticos distintos en base al gen *phlD* para bacterias *P. fluorescens*, los cuales han sido determinados usando métodos moleculares y análisis filogenéticos, y que se describen con letras que van de la A a la T, más los grupos PfY y PfZ (McSpadden Gardener *et al.*, 2001; Mavrodi *et al.*, 2001; Raaijmakers y Weller, 2001; Landa *et al.*, 2002; McSpadden Gardener *et al.*, 2005; De la Fuente *et al.*, 2006b y Landa *et al.*, 2006).

La diversidad observada entre *Pseudomonas* productoras de 2,4 DAPG puede ser relevante al momento de establecer una estrategia de control biológico, ya que ciertas cepas pueden tener ventajas competitivas en relación a la colonización de las raíces (Mavrodi *et al.* 2001 Raaijmakers *et al.* 2001; Landa *et al.*, 2002,) o bien tener la capacidad de producir una mayor cantidad de antibióticos (Ramette *et al.* 2001). Adicionalmente, en el caso de la supresión del Mal del pie del trigo, Kwak, *et al.* (2012) sugieren que varios factores interconectados como la sensibilidad de *G. graminis* var. *tritici* a 2,4-DAPG, la variedad de trigo utilizada, las fluctuaciones en las poblaciones de bacterias productoras de 2,4-DAPG y la acumulación de antibióticos impactarían en la robustez de la supresión por estas bacterias en el campo.

#### **Declinación del mal del pie en suelos chilenos.**

En Chile suelos supresivos a Mal del pie han sido descritos en la Región de la Araucanía (Campillo *et al.*, 2001). Andrade *et al.* (2011), evaluaron en base a la transferencia de la supresión, veinte suelos colectados en diferentes áreas productoras de trigo del sur de Chile, identificando propiedades altamente supresivas hacia la enfermedad, en cinco de estos suelos, los cuales poseían un largo historial de monocultivo de trigo y rotaciones de trigo más praderas estas últimas por no más de dos a tres años, siendo este el primer reporte, sobre suelos supresivos a la pudrición radical del trigo en Chile (Cuadro 1).

Recientemente, Arismendi *et al.* (2012), realizaron un muestreo de 48 campos de trigo comercial entre la zona comprendida entre Collipulli (Región de la Araucanía) y Purranque (Región de los Lagos), con el objetivo de determinar la presencia de bacterias productoras de 2,4 DAPG, ya que a pesar de la existencia de la evidencia de suelos supresivos no existían antecedentes de la presencia de estas bacterias, 13 de los 48 campos analizados resultaron positivos para estas bacterias, determinando de esta forma que en el sur de Chile la supresión del mal del pie puede ser atribuida a bacterias productoras de 2,4-DAPG.

Finalmente, el conocimiento reciente de suelos supresivos y bacterias *Pseudomonas fluorescens* descritos en nuestro país, permite

**Cuadro 1. Ubicación, historial de cultivo y clasificación de suelo de cinco suelos supresivos a Mal del pie en la zona sur de Chile (Andrade et al., 2011).**

**Table 1. Location, crop history and soil classification of five take all suppressive soils in Southern Chile.**

Ubicación	Historial de cultivo	Clasificación de suelo
Danquenco – Niágara. La Araucanía	Trigo interrumpido por 1 año de praderas cada 3 años	Andisol
Cardas-Toscas (P. 126). Victoria, La Araucanía.	Monocultivo de trigo alrededor de 15 años.	Ultisol
Reducción Cahuín. Victoria, La Araucanía cada 3 años	Trigo interrumpido por 1 año de praderas cada 3 años	Andisol
Sector Pichiquiniño. Victoria, La Araucanía.	Trigo interrumpido por 1 año de praderas cada 2-3 años	Transicional
Quilaco-Niágara, 2. La Araucanía.	Trigo interrumpido por 1 año de praderas cada 3 años	Andisol

explicar algunos de los factores involucrados en dicho fenómeno. Sin embargo, aún es necesario, por ejemplo, determinar la presencia de suelos supresivos a otras enfermedades, así como caracterizar los factores bióticos y abióticos que lo afectan, junto con analizar las dinámicas de colonización de bacterias en la rizósfera y estudiar los mecanismos por los cuales los microorganismos suprimen a patógenos en el suelo. Si bien las tecnologías para identificar directamente los microorganismos involucrados son bien conocidas a nivel mundial, la incorporación de éstas en nuestro país es aún incipiente y debe ser desarrollada. Un profundo conocimiento del fenómeno, bajo condiciones locales, aumentaría nuestra capacidad para enfrentarnos a la diversidad microbiana del suelo y así poder ampliar el manejo de ésta en nuestro favor.

## CONCLUSIONES.

Suelos supresivos corresponden a aquellos

suelos en los cuales el patógeno a pesar de estar presente no consigue condiciones para establecerse o persistir dado la presencia de microorganismos o factores abióticos que impiden que este provoque daños o cause una enfermedad importante. Por lo mismo, este fenómeno ha sido ampliamente estudiado y descrito para varias enfermedades del suelo.

Los factores involucrados están principalmente asociados con la presencia de microorganismos tales como hongos y bacterias que utilizan diversos mecanismos para generar la supresión en el suelo. Entre estos la producción de compuestos como el 2,4-DAPG y PCA por parte de estos microorganismos bacterianos es el mejor documentado hasta la fecha.

La manipulación de las comunidades microbianas para inducir la supresión de una enfermedad es una herramienta potencial para el manejo de enfermedades del suelo, rotaciones de cultivo y enmiendas en función de mejorar la calidad de los suelos puede inducir en las comunidades microbianas y beneficiar la supresión de enfermedades.



El fenómeno de declinación del Mal del pie es un fenómeno mundialmente conocido y es inducido por monocultivo de trigo. En el sur de Chile se ha determinado que se presenta en monocultivos de trigo y rotaciones de trigo más praderas estas últimas por cortos períodos, en esta disminución de la severidad de la enfermedad estarían involucradas bacterias productoras de 2,4 DAPG y presencia han sido reportadas recientemente en el sur de Chile.

## AGRADECIMIENTOS

El presente artículo fue elaborado dentro del marco del proyecto FONDECYT de Iniciación N°11110105.

## BIBLIOGRAFÍA

- ANDRADE, R., CAMPILLO, R., PEYRELONGUE, A., BARRIENTOS, L. 2011. Soils suppressive against *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* identified under wheat crop monoculture in southern Chile. *Ciencia e Investigación Agraria* 38: 345-356.
- ALABOUVETTE, C. 1986. Fusarium wilt suppressive soils from the Chateauguay region: review of a 10-year study. *Agronomie* 6:273-84.
- ALABOUVETTE, C. 1999. Fusarium wilt suppressive soils: an example of disease-suppressive soils. *Australasian Plant Pathology* 28: 57-64.
- ALABOUVETTE, C., OLIVAIN, C., STEINBERG, C. 2006. Biological control of plant diseases: the European situation. *European Journal of Plant Pathology* 114:329-341.
- ANDRADE, O. 2004. Efectividad de diferentes desinfectantes de semilla sobre la pudrición radical (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) del trigo en el sur de Chile. *Agricultura Técnica* 64: 111-126.
- APABLAZA, G. 1999. Patología de cultivos. Epidemiología y control holístico. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago de Chile. 347 p.
- ARISMENDI, N., DOUSSOULIN, H., y MOYA, E. 2012. Determinación de *Pseudomonas* productoras de 2,4 diacetilfloroglucinol en cultivos de trigo en el sur de Chile. XXI Congreso Chileno de Fitopatología, 17-18-19 de octubre 2012, Puerto Varas Chile.
- BAKER, K. 1987. Evolving concepts of biological control of plant pathogens. *Annual Review Phytopathology* 25:67-85.
- BAKER, K., COOK, R. 1974. Biological control of plant pathogens. American Phytopathology Society. 433 p.
- BONANOMI, G., ANTIGNANI, V., PANE, C., SCALA, F. 2007. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. *Journal of Plant Pathology* 89:311-324.
- BRAZELTON, J., PFEUFER, E., SWEAT, T., MCSPADDEN GARDENER, B., COENEN, C. 2008. 2,4-Diacetylphloroglucinol Alters Plant Root Development Molecular Plant-Microbe Interactions 21(10) 1349-1358.
- CAMPILLO, R., ANDRADE, O., CONTRERAS, E. 2001. Variaciones en el contenido de Mn de dos suelos sometidos a esterilización y su efecto sobre la pudrición radical del trigo o "mal del pie". *Agricultura Técnica* 61:339-351.
- COOK, R. 2003. Take-all of wheat. *Physiology Molecular Plant Pathology* 62:73-86.
- COOK, R., ROVIRA, A. 1976. The role of bacteria in the biological control of *Gaeumannomyces graminis* by suppressive soils. *Soil Biology and Biochemistry* 8(4): 269-273.
- COOK, R., K. BAKER. 1989. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 539 p.
- CRONIN, D., MOENNE-LOCCHOZ, Y., FENTON, A., DUNNE, C., DOWLING, D., O'GARA, F. 1997. Role of 2,4 diacetylphloroglucinol in the interaction of the biocontrol pseudomonad strain F113 with the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Applied and Environmental Microbiology* 63:1357-61.
- DE LA FUENTE, L., LANDA, B., WELLER, D. 2006a. Host crop affects rhizosphere colonization and competitiveness of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 96(7):751-62.
- DE LA FUENTE, L., DMITRI V. MAVRODII, BLANCA B. LANDA2, LINDA S. THOMASHOW3 & DAVID M.WELLER. 2006b. pHiD-based genetic diversity and detection of genotypes of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens*. *FEMS Microbiology Ecology* 56 64-78.
- DE SOUZA J., ARNOULD, C., DEULVOT, C., LEMANCEAU, P., GIANINAZZI-PEARSON, V., RAAIJMAKERS, J. 2003. Effect of 2, 4-diacetylphloroglucinol on *Pythium*: cellular

- responses and variation in sensitivity among propagules and species. *Phytopathology* 93:966-975.
- DUFFY, B., DÉFAGO, G. 1999. Environmental factors modulating antibiotic and siderophore biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains. *Applied and Environmental Microbiology* 65:2429-38.
- FENTON, A., STEPHENS, P. M., CROWLEY, J., O'CALLAGHAN, M., O'GARA, F. 1992. Exploitation of gene(s) involved in 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthesis to confer a new biocontrol capability to a *Pseudomonas* strain. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 3873-3878.
- GARBEVA, P., VAN VEEN, J., VAN ELSAS, J. 2004. Microbial Diversity in Soil: Selection of Microbial Populations by Plant and Soil Type and Implications for Disease Suppressiveness. *Annual Review Phytopathology* 42: 243-270.
- HAAS, D., DÉFAGO, G. 2005. Biological Control of Soil-borne Pathogens by Fluorescent Pseudomonads. *Nature Review Microbiology* 13p.
- HAYWARD, A. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology* 29:65-87.
- HÖPER, H., ALABOUVETTE, C. 1996. Importance of physical and chemical soil properties in the suppressiveness of soils to plant diseases. *European Journal of Soil Biology* 32(1): 41-58.
- HORNBY, D. 1983. Suppressiveness Soils. *Annual Review Phytopathology* 21: 65-85.
- HORNBY, D. 1998. Take-all disease of cereals: a regional perspective. C.A.B International, Wallingford, Oxon, Inglaterra. 384p.
- KEEL, C., SCHNIDER, U., MAURHOFER, M., VOISARD C., BURGER, D. 1992. Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: Importance of the bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol. *Molecular Plant Microbe Interaction* 5:4-13.
- KERRY, B. 1988. Fungal parasites of cyst nematodes. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 24:293-95.
- KINKEL L., BAKKER G., SCHLATTER C. 2011. A coevolutionary framework for managing disease-suppressive soils. *Annual Review of Phytopathology* 49(1). 47p.
- KWAK, Y., BAKKER, P., GLANDORF, D., RICE, J., PAULITZ, T., WELLER, D. . 2009. Diversity, virulence, and 2,4-diacetylphloroglucinol sensitivity of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* isolates from Washington State. *Phytopathology* 99:472-479.
- KWAK, Y., BONSALE, R., OKUBARA, P.B, PAULITZ, T., THOMASHOW, L., WELLER, D. 2012. Factors impacting the activity of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* against take-all of wheat. *Soil Biology & Biochemistry* 54:48-56.
- LANDA, B., MAVRODI, O., RAAIJMAKERS, J., MCSPADDEN GARDENER, B., THOMASHOW, L., WELLER, D. 2002. Differential ability of genotypes of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* strains to colonize the roots of pea plants. *Applied and Environmental Microbiology*. 68:3226-3237.
- LANDA, B., MAVRODI, O., SCHROEDER, K., ALLENDE-MOLAR, R., WELLER, D. 2006. Enrichment and genotypic diversity of pHlD-containing fluorescent *Pseudomonas* spp. in two soils after a century of wheat and flax monoculture. *FEMS Microbiology Ecology*. 55:351-368.
- LARKIN, R., HOPKINS, D., MARTIN, F. 1993. Effect of successive watermelon plantings on *Fusarium oxysporum* and other microorganisms in soils suppressive and conducive to fusarium-wilt of watermelon. *Phytopathology* 83:1097-105.
- LATORRE, B. 2004. Enfermedades de las Plantas Cultivadas. Sexta ed. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 638 p.
- LIU, D., ANDERSON, N., KINKEL, L. 1996. Selection and characterization of strains of *Streptomyces* suppressive to the potato scab pathogen. *Canadian Journal of Microbiology* 42: 487-502.
- LORANG, J., LIU, D., ANDERSON, N., SCHOTTEL, J. 1995. Identification of potato scab inducing and suppressive species of *Streptomyces*. *Phytopathology* 85:261-68.
- MAVRODI, O., MAVRODI, D., THOMASHOW, L., WELLER, W. 2007. Quantification of 2,4-Diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* strains in the plant rhizosphere by Real-Time PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 73(17) 5531-5538.
- MAVRODI, O., MCSPADDEN GARDENER, B., MAVRODI, D., BONSALE, R., WELLER, D., THOMASHOW, L. 2001. Genetic diversity of pHlD from 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 91:35-43.
- MAZURIER S., CORBERAND T., LEMANCEAU P., RAAIJMAKERS J. 2009. Phenazine antibiotics produced by fluorescent pseudomonads contribute

- to natural soil suppressiveness to Fusarium wilt. The ISME Journal. 3:977-991.
- MAZZOLA, M. 1999. Transformation of soil microbial community structure and *Rhizoctonia*-suppressive potential in response to Apple roots. *Phytopathology* 89: 920-927.
- MAZZOLA, M. 2002. Mechanisms of natural soil suppressiveness to soilborne diseases. *Antonie van Leeuwenhoek* 81(1-4):557-64.
- MCSPADDEN GARDENER, B., WELLER D. 2001. Changes in populations of rhizosphere bacteria associated with take all of wheat. *Applied and Environmental Microbiology* 67:4414-25.
- MCSPADDEN GARDENER, B., GUTIERREZ, L., JOSHI, R., EDEMA, R., LUTTON, E. 2005. Distribution and biocontrol potential of phlD+ pseudomonads in corn and soybean fields. *Phytopathology* 95: 715-724.
- MENG, Q., YIN, J., ROSENZWEIG, N., DOUCHES, D., HAO, J. 2012. Culture based assessment of microbial communities in soil suppressive to potato common scab. *Plant Disease* 96:712-717.
- MURAKAMI, H., TSUSHIMA, S., SHISHIDO, Y. 2000. Soil suppressiveness to clubroot disease of Chinese cabbage caused by *Plasmodiophora brassicae*. *Soil Biology Biochemistry* 32:1637-1642.
- PAL, K., MCSPADDEN B. 2006. Biological Control of Plant Pathogens. The Plant Health Instructor DOI: 10.1094/PHI-A-2006-111702.
- PETERS, R., STURZ, A., CARTER, M., SANDERSON, J. 2003. Developing disease-suppressive soils through crop rotation and tillage management practices. *Soil and Tillage Research* 72: 181-192.
- PIERSON, A., WELLER, D. 1994. Use of mixtures of fluorescent pseudomonads to suppress take-all and improve the growth of wheat. *Phytopathology* 84:940-47.
- RAAIJMAKERS, J., WELLER, D. 1998. Natural plant protection by 2,4 diacetylphloroglucinol Producing *Pseudomonas* spp. in take-all decline soils. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 11 (2): 144-152.
- RAAIJMAKERS, J., WELLER, D. 2001. Exploiting genotypic diversity of 2,4 diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas* spp.: characterization of superior root-colonizing *P. fluorescens* strain Q8r1-96. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (6): 2545-2554.
- RAAIJMAKERS, J., VLAMI, M., DE SOUZA, J. 2002. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek* 81:537-547.
- RAAIJMAKERS J., PAULITZ T., STEINBERG C., ALABOUVETTE C., MOËNNE-LOCCOZ, Y. 2008. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and Soil* 321: 341-361.
- RAMETTE, A., MOËNNE-LOCCOZ, Y., DÉFAGO, G. 2001. Polymorphism of the polyketide synthase gene phlD in biocontrol fluorescent pseudomonads producing 2,4-diacetylphloroglucinol and comparison of PhlD with plant polyketide synthases. *Molecular Plant Microbe Interaction* 14:639-652.
- RAUDALES, R., STONE, E., MCSPADDEN GARDENER, B. 2009. Seed treatment with 2,4-diacetylphloroglucinol-producing pseudomonads improves crop health in low-pH soils by altering patterns of nutrient uptake. *Phytopathology* 99:506-511.
- ROTENBERG, D., JOSHI, R., BENITEZ, M., GUTIERREZ CHAPIN, L., CAMP, A., ZUMPETTA, C., OSBORNE, A., DICK, W., MCSPADDEN GARDENER, B. 2007. Farm management effects on rhizosphere colonization by native populations of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas* spp. and their contributions to crop health. *Phytopathology* 97:756-766.
- SCHREINER, K., HAGN, A., KYSELKOVA, M MOËNNE-LOCCOZ, Y., WELZL, G., MUNCH, J., SCHLOTTER, M. 2010 Comparison of barley succession and Take-all disease as environmental factors shaping the rhizobacterial community during Take-all decline. *Applied and Environmental Microbiology* 76(14) 4703-4712.
- SCHER, F., BAKER, R. 1980. Mechanism of biological control in a *Fusarium*-suppressive soil. *Phytopathology* 70:412-17.
- SIVAN, A., CHET, I. 1989. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. *Phytopathology* 79:198-203.
- SNEH, B., POZNIAK, D., SALOMON, D. 1987. Soil suppressiveness to Fusarium wilt of melon induced by repeated croppings of resistant varieties of melons. *Journal of Phytopathology* 120:347-54.
- STUTZ, E., DÉFAGO, G., KERN, H. 1986. Naturally occurring fluorescent pseudomonads involved in suppression of black root rot of tobacco. *Phytopathology* 76:181-85.
- THOMASHOW, L., WELLER, D. 1988. Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Journal of*

- Bacteriology 170:3499–508.
- TROPPENS, D., DMITRIEV, R., PAPKOVSKY, D., O'GARA, F., MORRISSEY, J. 2013. Genome-wide investigation of cellular targets and mode of action of the antifungal bacterial metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol in *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS Yeast Research 13 322–334.
- VAN BRUGGEN, A., SEMENOV, A. 2000. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. Applied. Soil Ecology 15:13-24.
- WANG, L., FENG, H., TENG, L., CHEN, X., DAN, H., LU, L., XU, J., ZHOU, L. 2012. Effects of long-term cotton plantations on *Fusarium* and *Verticillium* wilt diseases infection in China. African Journal of Agricultural Research 7(10): 1562-1565.
- YANG, M., MAVRODI, D., MAVRODI, O., BONSALE, R., PAREJKO, J., PAULITZ, T., THOMASHOW, L., YANG, H., WELLER, D. M., GUO, J. 2011. Biological control of take-all by fluorescent *Pseudomonas* spp. from Chinese wheat fields. Phytopathology 101:1481-1491.
- WELLER, D. 2007. *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: Looking back over 30 years. Phytopathology 97:250-256.
- WELLER, D., HOWIE, W., COOK, R. 1988. Relationship between in vitro inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and suppression of take-all of wheat by fluorescent pseudomonads. Phytopathology 78:1094–100.
- WELLER, D., LANDA, B., MAVRODI, O., SCHROEDER, K., DE LA FUENTE, L., BANKHEAD, S., MOLAR, R., BONSALE, R., MAVRODI, D., THOMASHOW, L. 2007. Role of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in plant defense. Plant Biology 9(1): 4-20.
- WELLER, D. M., MAVRODI, D. V., VAN PELT, J., PIETERSE, C., VAN LOON, L., BAKKER, P. A. 2012. Induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* by 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens*. Phytopathology 102:403-412.
- WELLER, D., RAAIJMAKERS, J., MCSPADDEN, B., THOMASHOW, L. 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. Annual Review Phytopathology 40: 309-348.