



Departamento de Agronomía

Escuela Superior de Ingeniería

Universidad de Almería

Evaluación de *Paecilomyces variotii* Pae10773 como agente de control biológico (ACB) y hongo promotor del crecimiento de plantas (HCP)

Tesis Doctoral

Autor: Alejandro Moreno Gavira

Director: Dr. Fernando José Diánez Martínez

Codirector: Dra. Milagrosa Santos Hernández

Programa de doctorado: Agricultura protegida

Almería, abril de 2022



Agronomy Department
Higher School of Engineering
University of Almería

**Evaluation of *Paecilomyces variotii* Pae10773 as
biological control agent (BCA) and Plant Growth-
Promoting fungi (PGPF)**

Ph.D. Dissertation

Author: Alejandro Moreno Gavira

Director: Dr. Fernando José Diánez Martínez

Codirector: Dra. Milagrosa Santos Hernández

Doctoral Program: Protected Agriculture

Almería, April 2022

Sólo podemos dominar la naturaleza si la obedecemos.

Francis Bacon

AGRADECIMIENTOS

Tras tantos años en la Universidad de Almería uno deja atrás un sinfín de personas a las que agradecer todo lo aprendido y conseguido a lo largo de esta dura, aunque maravillosa, etapa de mi vida. Todos aquellos profesores que me han guiado con infinita paciencia y dedicación, técnicos de laboratorio los cuales me han facilitado enormemente el trabajo en las instalaciones, a todos los alumnos que, con trabajo y dedicación, han realizado sus proyectos con nosotros, y en general a cualquier trabajador de la universidad, que, con su amabilidad, haya hecho este largo camino un poco más fácil.

En primer lugar, agradecer a mis directores de tesis Mila Santos y Fernando Diánez por la oportunidad brindada. No solo durante estos tres años, sino por haber confiado en mí desde el grado, pasando por el máster. El trabajo a vuestro lado siempre resulta más fácil. Gracias por el apoyo en los momentos en los que todo parecía más negro, por haberme animado a continuar cuando las cosas no salían bien, y ante todo por marcarme el camino correcto en todo momento. Por vuestros consejos, las charlas despreocupadas, las risas y ante todo por la profesionalidad transmitida. Sin duda me habéis permitido crecer tanto a nivel profesional como personal. Por orientar mi futuro tras esta etapa me gusta considerarlos como mis padres académicos. Eterna gratitud y reconocimiento por vuestra labor encomiable. De igual modo, agradecer el apoyo de mi compañera Brenda, parte fundamental de esta extraña familia. Por todas las horas de laboratorio y campo, por todos esos descansos en la cafetería, y en especial por aguantarme durante estos tres años, lo cual añade más valor si cabe a tu estancia de doctorado en España. El camino ha estado lleno de vicisitudes, pero recorrerlo con tres personas como vosotros ha hecho que merezca la pena y ha sido un verdadero placer.

No podría dejar fuera de los agradecimientos a los integrantes de la empresa Entonova. Francisco, Vicente, Pilar, Isabel, Cristian, Yoon, Mariágeles y Javier, a todos y cada uno de ellos. Desde el primer momento me acogieron como a uno más de la empresa. En Entonova he encontrado el ambiente de trabajo propicio para comenzar mi andadura en la vida profesional. No solo por la financiación de mi proyecto, sino por todo el apoyo y ayuda brindados, y por todo el cariño y respeto recibido, en buena parte son también responsables de este importante momento de mi vida.

Reconocer finalmente a mi familia, mis padres Francisco Javier y María del Carmen, y mis hermanos Javier y Cristina, como los principales responsables de todos los logros alcanzados. No solo durante esta última etapa, sino a lo largo de toda una vida. Su apoyo, a todos los niveles, me ha permitido ser la persona que soy, y me han acompañado hasta alcanzar este momento. En especial a mis padres que siempre han estado ahí, y que los considero el mejor espejo donde mirarse para ser día a día mejor persona. La educación, el sacrificio y la responsabilidad inculcados desde pequeño han supuesto la primera piedra en el camino para alcanzar todas las metas propuestas. Sin ellos nada de esto hubiese sido posible ni tendría sentido. A toda mi familia sevillana que, aún lejos, me han hecho llegar todo su cariño y afecto, celebrando cada éxito como suyo. Por suerte somos una gran familia, por lo que no puedo incluir todos los nombres que me gustaría, pero sin su apoyo incondicional en cada momento nada hubiera sido igual.

CONTRIBUCIONES CIENTÍFICAS DERIVADAS EN LA TESIS DOCTORAL

Artículos publicados incluidos en la Tesis Doctoral

Moreno-Gavíra, A., Huertas, V., Diánez, F., Sánchez-Montesinos, B., & Santos, M. *Paecilomyces* and its importance in the biological control of agricultural pests and diseases. *Plants* **2020**, 9(12), 1746. <https://doi.org/10.3390/plants9121746>. JCR impact factor: 2,762. Quartile: Q1.

Moreno-Gavíra, A., Diánez, F., Sánchez-Montesinos, B., & Santos, M. *Paecilomyces variotii* as a plant-growth promoter in horticulture. *Agronomy* **2020**, 10(4), 597. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040597>. JCR impact factor: 2,603. Quartile: Q1.

Moreno-Gavíra, A., Diánez, F., Sánchez-Montesinos, B., & Santos, M. Biocontrol effects of *Paecilomyces variotii* against fungal plant diseases. *Journal of Fungi* **2021**, 7(6), 415. <https://doi.org/10.3390/jof7060415>. JCR impact factor: 5,816. Quartile: Q1.

Otros artículos no incluidos derivados de la actividad investigadora

Sánchez-Montesinos, B., Diánez, F., **Moreno-Gavíra, A.**, Gea, F. J., & Santos, M. Plant growth promotion and biocontrol of *Pythium ultimum* by saline tolerant *Trichoderma* isolates under salinity stress. *International journal of environmental research and public health* **2019**, 16(11), 2053. <https://doi.org/10.3390/ijerph16112053>. JCR impact factor: 2,468. Quartile: Q1.

Santos, M., Diánez, F., **Moreno-Gavíra, A.**, Sánchez-Montesinos, B., & Gea, F. J. *Cladobotryum mycophilum* as potential biocontrol agent. *Agronomy* **2019**, 9(12), 891. <https://doi.org/10.3390/agronomy9120891>. JCR impact factor: 2,603. Quartile: Q1.

Sánchez-Montesinos, B., Diánez, F., **Moreno-Gavíra, A.**, Gea, F. J., & Santos, M. Role of *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* as plant-growth promoter in horticulture. *Agronomy* **2020**, 10(7), 1004. <https://doi.org/10.3390/agronomy10071004>. JCR impact factor: 2,603. Quartile: Q1.

Sánchez-Montesinos, B., Santos, M., **Moreno-Gavíra, A.**, Marín-Rodulfo, T., Gea, F. J., & Diánez, F. Biological control of fungal diseases by *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* and its compatibility with fungicides. *Journal of Fungi* **2021**, 7(8), 598. <https://doi.org/10.3390/jof7080598>. JCR impact factor: 5,816. Quartile: Q1.

Santos, M., Cesanelli, I., Diánez, F., Sánchez-Montesinos, B., & **Moreno-Gavíra, A.** Advances in the role of dark septate endophytes in the plant resistance to abiotic and biotic stresses. *Journal of Fungi* **2021**, 7(11), 939. <https://doi.org/10.3390/jof7110939>. JCR impact factor: 5,816. Quartile: Q1.

Resumen

Para el año 2050 se prevé un incremento de la población mundial pudiendo alcanzar los 10 mil millones de individuos. Además, el cambio climático agrava problemas tan importantes para la producción agrícola como son la salinidad y la sequía. Esto se traduce en una reducción de las tierras agronómicamente aptas para el cultivo. Todo ello, nos conduce a un escenario de déficit de alimentos surgiendo la necesidad de incrementar el rendimiento de los cultivos. Para tal fin, tradicionalmente se ha recurrido al empleo de agroquímicos. Sin embargo, su uso indiscriminado ha generado la aparición de problemas tanto desde el punto de vista medioambiental (contaminación ambiental, pérdida de biodiversidad, efectos sobre la fertilidad de las tierras de cultivo, etc.) como para la salud humana (reducción de la fertilidad, problemas de hipertensión o desarrollo de diferentes tipos de cánceres, etc.). La creciente sensibilización medioambiental requiere el empleo de técnicas agrícolas más sostenibles. La incorporación de microorganismos en la producción de cultivos es la estrategia más prometedora para mantener la productividad agrícola y reducir el uso de fertilizantes inorgánicos y pesticidas. La presente Tesis se centrará en la utilización de formulados microbianos como alternativa viable al empleo de insumos de origen químico. De esta forma, el objetivo general es contribuir al desarrollo de un nuevo formulado microbiano (*Paecilomyces variotii*) de uso en la agricultura, tanto para la promoción del crecimiento vegetal como para la protección contra enfermedades. Para ello se realizaron tres trabajos independientes: Capítulo 1. El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas. Se realizó una revisión sobre el género *Paecilomyces*, compuesto por especies con elevadas tasas de crecimiento y producción de esporas sobre numerosos sustratos, asegurando la producción de formulaciones comerciales viables, asequibles y eficientes para uso agrícola. *Paecilomyces* es conocido principalmente por su capacidad nematófaga, pero también ha sido descrito como parásito de insectos y agente de control biológico de varios hongos y bacterias fitopatógenas a través de diferentes mecanismos de acción. Esta revisión incluye toda la información sobre el género *Paecilomyces* como agente de control biológico de plagas y enfermedades. Capítulo 2. *Paecilomyces variotii* como agente promotor del crecimiento vegetal en hortícolas. Para ello, se estudió el efecto del hongo endófito *P. variotii* sobre la germinación de semillas y la promoción del crecimiento de plántulas de tomate y pimiento. La evaluación se realizó mediante ensayos en laboratorio y ensayos en condiciones de semillero e invernadero. Nuestro aislado mostró una alta capacidad para producir sideróforos y AIA, pero una baja capacidad para solubilizar fósforo. Además, su aplicación sobre semillas hortícolas mejoró los valores de porcentaje de germinación, vigor y longitud de raíces y brotes. Las aplicaciones de *P. variotii* mejoraron la mayoría de los parámetros de crecimiento evaluados, para ambos cultivos hortícolas, con los mejores resultados en el desarrollo de plántulas de pimiento. La aplicación de una dosis mayor de *P. variotii* mejoró la mayoría de los parámetros morfológicos y el valor DQI en plántulas y plantas de tomate. El establecimiento del hongo como endófito en la raíz permitió que sus efectos continuaran después del trasplante sin ninguna aplicación adicional. Capítulo 3. Efecto biocontrol de *Paecilomyces variotii* frente a enfermedades fúngicas en plantas. Se analizó la actuación como antagonista *in vitro* e *in vivo* de *P. variotii* frente a siete fitopatógenos, y examinamos su compatibilidad con 24 fungicidas comerciales. *P. variotii* se aplicó en los siguientes patosistemas: *B. cinerea*, *M. melonis*, y *P. aphanidermatum* - melón; *F. solani* y *P. xanthii* - calabacín; *Sclerotinia sclerotiorum* - pimiento; y *R. solani* - tomate. Los resultados mostraron elevadas reducciones del índice de gravedad de la enfermedad en un 78 % y un 76 %, para *M. melonis* y *P. xanthii* respectivamente. La reducción en los otros patosistemas osciló entre el 29 % y el 44 %. Sin embargo, la aplicación de metabolitos no provocó ningún efecto significativo sobre el crecimiento micelial, a excepción de *F. solani*, donde se observó hasta un 12 % de inhibición *in vitro* cuando se aplicó el extracto a una

concentración del 15 % en el medio. Por último, *P. variotii* fue compatible con la mayoría de los fungicidas probados. De los 24 productos estudiados a la dosis máxima autorizada, 6 actuaron como fungicidas, 4 como fungistáticos y los restantes mostraron tasas de inhibición que oscilaron entre 18,2% y 95,8%. Por lo tanto, podemos concluir que *P. variotii* es un potencial agente tanto para la promoción vegetal como para el control biológico frente a enfermedades, por lo que debe integrarse en las estrategias modernas de fertiriego y manejo de enfermedades.

Abstract

By 2050, is expected an increase in the world population to reach 10 billion. In addition, climate change aggravates such important problems for agricultural production as salinity and drought. This results in a reduction of agronomically suitable for cultivation lands. All of this, leads us to a scenario of food deficit, giving rise to increase crop yields. For this, agrochemicals has traditionally been used. However, its indiscriminate use has generated the appearance of environmental problems (environmental pollution, biodiversity loss, effects on the fertility of farmland, etc.) and human health problems (reduced fertility, hypertension problems or development of different types of cancer, etc.). The growing environmental awareness requires the use of sustainable agricultural techniques. Incorporating microorganisms in crop production is the most promising strategy for maintaining agricultural productivity and reducing the use of inorganic fertilizers and pesticides. This Thesis will focus on the use of microbial formulations as a viable alternative to chemical products inputs. Therefore, the general objective is development a new microbial formulation (*Paecilomyces variotii*) for use in agriculture, both for plant growth promoting and diseases protection. For this, three independent works were carried out: Chapter 1. *Paecilomyces* and its importance in the biological control of agricultural pests and diseases. A review of the genus *Paecilomyces*, composed by species with high growth rates and spore production in numerous substrates ensures the production of viable, affordable and efficient commercial formulations for agricultural use. *Paecilomyces* is mainly known for its nematophagous capacity, but it has also been described as an insect parasite and a biological control agent of several phytopathogenic fungi and bacteria through different mechanisms of action. This review includes all the information on the genus *Paecilomyces* as a biological control agent for pests and diseases. Chapter 2. *Paecilomyces variotii* as a plant-growth promoter in horticulture. To do this, *P. variotii* was tested to determine the effect on the growth promotion of tomato and pepper seeds and seedlings. The evaluation was carried out through laboratory tests and tests under nursery and greenhouse conditions. Our isolate showed a high ability to produce siderophores and IAA, but low ability to solubilize phosphorus. In addition, its application on horticultural seeds improved the values of germination percentage, vigor and length of roots and shoots. *P. variotii* applications resulted in improved most of the growth parameters evaluated, for both horticultural crops, with the best results in the development of pepper seedlings. The application of a higher dose of *P. variotii* improved most of the morphological parameters and the DQI value in tomato seedlings and plants. The establishment of the fungus as an endophyte in the root allowed to continue its effects after transplantation without any additional application. Chapter 3. Biocontrol effect of *Paecilomyces variotii* against fungal plant diseases. The *in vitro* and *in vivo* antagonistic capacity of *P. variotii* against seven phytopathogens, and its compatibility with 24 commercial fungicides was analyzed. *P. variotii* was applied to the following pathosystems: *B. cinerea*, *M. melonis*, and *P. aphanidermatum* - melon; *F. solani* and *P. xanthii* - zucchini; *Sclerotinia sclerotiorum* - pepper; and *R. solani* - tomato. The results showed high reductions in the disease severity index by 78% and 76%, for *M. melonis* and *P. xanthii*, respectively. The reduction in the other pathosystems ranged from 29% to 44%. However, application of metabolites did not cause any significant effect on mycelial growth, apart from *F. solani*, in which up to 12% inhibition was observed *in vitro* when the extract was applied at a concentration of 15% in the medium. Finally, *P. variotii* was compatible with most of the tested fungicides. Of the 24 products studied at the maximum authorized dose, 6 acted as fungicides, 4 as fungistatics, and the remaining showed inhibition rates ranging from 18.2% to 95.8%. Therefore, we can conclude that *P. variotii* is a potential agent for both plant promotion and biological control against diseases, thus it should be integrated into modern fertigation and disease management strategies.

LISTA DE ABREVIATURAS

A

A: Avena

ABA: Ácido Abscísico

ACB: Agentes de Control Biológico

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

AG: Ácido Giberélico

AIA: Ácido Indol-3-Acétilo

AJ: Ácido Jasmónico

ANA: Ácido Naftalenacético

As: Arsénico

AS: Ácido Salicílico

B

Bot: *Botrytis cinerea*

C

C: Carbono

Ca²⁺: Ión calcio

CAS: Chrome-azurol S

CB: Control Biológico

Cd: Cadmio

CE: Conductividad Eléctrica

CECT: Colección Española de Cultivos Tipo

CK: Citoquininas

C/N: Relación carbono - nitrógeno

Cr: Cromo

Cu: Cobre

D

D: Diámetro del tallo

DDE: p-Diclorodifenildicloroetileno

DDT: Diclorodifeniltricloroetano

E

EE.UU: Estados Unidos

ERO: Especies Reactivas de Oxígeno

ESO: Endofíticos Septados Oscuros

ET: Etileno

F

Fe: Hierro

FeCl₃: Cloruro de Hierro (III)

FS: *Fusarium solani*

f. sp.: Forma Especializada

G

GEI: Gases de Efecto Invernadero

GIP: Gestión Integrada de Plagas

GPB: *Glucose Peptone Broth*

H

HClO₄: Ácido perclórico

HMA: Hongos Micorrizicos Arbusculares

HPCP/PGPF: Hongos Promotores del Crecimiento de Plantas

HR: Humedad Relativa

I

ICD: Índice de Calidad de Dickson

IVS: Índice de Vigor de la Semilla

K

K: Potasio

K⁺: Ión potasio

L

LB: Longitud del Brote

LMR: Límites Máximos de Residuos

LSD: *Least Significant Difference*

M

Mg²⁺: Ión magnesio

MPV: Microorganismos Probióticos Vegetales

MO: Materia Orgánica

Mym: *Mycosphaerella melonis*

N

N₂O: Óxido nitroso

N₂: Nitrógeno atmosférico

N: Nitrógeno

NaOCl: Hipoclorito de Sodio

NBRIP: *National Botanical Research Institute's Phosphate growth medium*

NCBI: *National Centre for Biotechnology Information*

NH₃: Amoníaco

NH₄⁺: Ión amonio

O

ODS: Objetivos de Desarrollo Sostenible

OICB: Organización Internacional para el Control Biológico

OMG: Organismos Modificados Genéticamente

P

P: Fósforo

PAC: Política Agraria Común

PAE: *Paecilomyces variotii*

Pb: Plomo

PDA: *Potato Dextrose Agar*

PDB: Potato Dextrose Broth

PICM: Porcentajes de Inhibición del Crecimiento del Micelio

PNCG: Parque Natural Cabo de Gata

PSB: Peso Seco del Brote

PSR: Peso Seco de la Raíz

PST: Peso Seco Total

pv: Patovar

PVK: Pikovskaya

Px: *Podosphaera xanthii*

Pya: *Pythium aphanidermatum*

R

RFA: Radiación Fotosintéticamente Activa

RPCP/PGPR: Rizobacterias Promotoras del Crecimiento de Plantas

RSA: Resistencia Sistémica Adquirida

RSI: Resistencia Sistémica Inducida

Rz: *Rhizoctonia solani*

S

Scle: *Sclerotinia sclerotiorum*

T

TS: Trigo Sarraceno

V

VMT: Virus del Mosaico del Tabaco

W

WG: *Watable Granules*

Z

Zn: Zinc

ZNC: ZhiNengCong

ÍNDICE

Contribuciones científicas derivadas en la tesis doctoral	V
Resumen.....	VII
Abstract.....	IX
Lista de abreviaturas	XI
Justificación y Objetivos de la Tesis	2
1. Contextualización y situación actual	4
2. Efectos negativos derivados del empleo de agroquímicos	6
2.1. Efectos adversos de los agroquímicos en la salud humana.....	7
2.2. Alteraciones medioambientales como consecuencia del empleo de agroquímicos	8
2.3. Productos químicos prohibidos en España	13
3. Tendencia actual para la reducción de los químicos sintéticos en la agricultura	15
3.1. Alternativas basadas en prácticas culturales y físicas al empleo de agroquímicos.....	18
3.2. Alternativas biológicas frente al empleo de agroquímicos	25
3.3. Productos biológicos a base de microorganismos comercializados actualmente en España	34
4. Objetivos de la Tesis	36
Referencias:.....	36
CAPITULO 1: El género <i>Paecilomyces</i> y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas.	67
Resumen.....	69
1. Introducción	69
2. Mecanismos de control biológico del género <i>Paecilomyces</i>	71
2.1. Parasitismo	72
2.2. Competencia.....	72
2.3. Antibiosis	73
2.4. Resistencia inducida en las plantas	73
3. Control biológico de enfermedades causadas por bacterias fitopatógenas.....	74
4. Control biológico de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos	74
6. Control biológico de enfermedades causadas por artrópodos	80
7. Conclusiones	83
Referencias.....	83
CAPITULO 2: <i>Paecilomyces variotii</i> como agente promotor del crecimiento vegetal en hortícolas.....	105
Resumen.....	107

1. Introducción.....	107
2. Materiales y métodos	108
2.1. Aislamiento de <i>P. variotii</i> de raíces de plantas.....	108
2.2. Análisis de los atributos promotores del crecimiento de las plantas.....	109
2.3. Producción masiva de <i>P. variotii</i> sobre sustratos sólidos	110
2.4. Análisis de los efectos de <i>P. variotii</i> sobre la germinación de semillas en condiciones de laboratorio.....	110
2.5. Análisis de los efectos promotores de <i>P. variotii</i> en plántulas de pimiento y tomate: Experimento 1.....	111
2.6. Análisis de los efectos de la aplicación de diferentes dosis de <i>P. variotii</i> en tomate: Experimento 2.....	111
2.7. Análisis estadístico	112
3. Resultados.....	112
3.1. Producción masiva de <i>P. variotii</i> sobre sustratos sólidos	113
3.2. Características de <i>P. variotii</i> que promueven el crecimiento de las plantas: producción de sideróforos, AIA y solubilización de P	115
3.3. Efectos de la inoculación de <i>P. variotii</i> sobre la germinación de semillas de tomate y pimiento	116
3.4. Efectos promotores de aislamientos de <i>P. variotii</i> en plántulas de tomate y pimiento: Experimento 1.....	116
3.5. Efectos de la dosis de aplicación de aislamientos de <i>P. variotii</i> en plántulas de tomate y plantas trasplantadas: Experimento 2.....	117
4. Discusión	118
5. Patentes	121
Referencias	121
CAPITULO 3: Efecto biocontrol de <i>Paecilomyces variotii</i> frente a enfermedades fúngicas en plantas.....	127
Resumen	129
1. Introducción.....	129
2. Materiales y métodos	131
2.1. Aislados de hongos	131
2.2. Bioensayos de cultivo dual	131
2.3. Efectos de los metabolitos no volátiles de <i>P. variotii</i> sobre patógenos fúngicos	132
2.4. Bioensayo de compuestos orgánicos volátiles antifúngicos	132
2.5. Ensayo de hojas desprendidas.....	133
2.6. Compatibilidad de <i>P. variotii</i> con fungicidas	133

2.7. Evaluación en invernadero de <i>P. variotii</i> sobre la gravedad de la enfermedad de siete fitopatógenos	134
2.8. Análisis estadístico	136
3. Resultados	136
3.1. Antagonismo <i>in vitro</i> de <i>P. variotii</i>	136
3.2. Efectos <i>in vitro</i> del filtrado libre de células y compuestos volátiles antifúngicos de <i>P. variotii</i> sobre el crecimiento micelial de fitopatógenos	137
3.3. Compatibilidad para el uso de <i>P. variotii</i> con fungicidas	138
3.4. Hojas desprendidas.....	140
3.5. Efectos supresores <i>in vivo</i> de <i>P. variotii</i> sobre enfermedades causadas por hongos fitopatógenos	141
4. Discusión.....	142
5. Conclusiones	145
Referencias.....	145
Conclusiones generales	151
Anexos	155
Anexo I: Sustancias activas excluidas del Anexo I de la Directiva 91/414/CEE.....	157
Anexo II: Productos a base de microorganismos comercializados en España.....	160
Anexo III: Preparación de los medios de cultivo empleados en los ensayos	176

ÍNDICE DE IMAGENES, GRÁFICAS Y TABLAS

Gráfico 1. Uso de pesticidas (herbicidas, insecticidas, fungicidas y otros) a nivel global (Fuente: Modificado de De et al. [18]).....	4
Gráfico 2. Aumento acumulativo de: nº de especies resistentes a uno o más insecticidas (azul); nº de insecticidas que han mostrado resistencia en uno o más especies (morado); nº de rasgos de OMG para los que han aparecido resistencias (rojo) (Fuente: Modificado de Sparks et al. [39])....	6
Imagen 1. Proceso de eutrofización de masas de agua debido a la proliferación de: (a) <i>Cladophora</i> sp.; y (b) cianobacterias (Fuente: Wurtsbaugh et al. [118])	10
Tabla 1. Sustancia activa, función y fecha de caducidad de las sustancias excluidas en los últimos 5 años en España (Fuente: [170])	14
Imagen 2. 17 ODS propuestos por las Naciones Unidas incluidas en la Agenda 2030 (Fuente: [178])	16
Imagen 3. Nueve objetivos específicos propuestos en la PAC 2023 (Fuente: [183])	17
Imagen 4. Cultivo intercalado en franjas de soja-maíz (Fuente: Chen et al. [188]).....	18
Imagen 5. Comparación de plantas de tomate (tipo salvaje o WT, izquierda, y variedades resistentes o slmlo1, derecha) inoculadas con <i>Oidium neolycopersici</i> (Fuente: Nekrasov et al. [270])	22
Imagen 6. Colocación del film plástico para la bio-desinfección tras aportar MO (Fuente: Domínguez et al. [287]).....	22
Imagen 7. Ensayo de promoción del crecimiento vegetal in vivo de plantas de tomate inoculadas (I) con cuatro cepas de <i>T. harzianum</i> (a, b, c y d) frente a plantas control (C) no inoculadas (Fuente: Bader et al. [397]).....	27
Imagen 8. Mecanismos fúngicos de control biológico (Fuente: Modificado de Latz et al. [468])	30
Imagen 9. Fotografías tomadas con microscópio electrónico de barrido de: a) Hifas de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i> sanas; b) Hifas y conidióforos de <i>T. koningiopsis</i> ; c) y d) Daños producidos (flechas amarillas) por el micoparasitismo de <i>T. koningiopsis</i> sobre el patógeno (Fuente: Sreenayana et al. [445])	32
Imagen 10. Biofungicida Trianum-P (izquierda, Fuente: [498]), bioinsecticida Belthirul (centro, Fuente: [499]) y biofertilizante Bioradis Sol (derecha, Fuente: [500]).....	34
Tabla 2. Especies microbianas comercializadas en España como fitosanitarios (Fuente: [501]) ..	34
Tabla 3. Especies microbianas comercializadas en España como biofertilizantes y abonos (Fuente: [502])	35
Imagen 11. Mapa de red de matriz de co-ocurrencia para los 486 documentos publicados en la investigación de <i>Paecilomyces</i> . Se utilizó el software VOSviewer (versión 1.6.15, Universidad de Leiden, Países Bajos) para mapear la frecuencia de las redes de coocurrencia de palabras clave. Las diferencias en el tamaño de fuente implican diferencias en la relevancia. Los diferentes colores se refieren a los grupos o grupos formados	71
Imagen 12. Método de hoja desprendida para evaluar <i>P. variotii</i> como agente de control biológico contra <i>B. cinerea</i> . (A) Hojas control cuatro días después de la infección con <i>B. cinerea</i> ; (B) Hoja inoculada con esporas <i>B. cinerea</i> y <i>P. variotii</i> . Las fotografías se tomaron cuatro días después de la incubación en una cámara húmeda a 20 °C bajo luz blanca continua. (C) Ensayo de cultivo dual para la inhibición <i>in vitro</i> del crecimiento micelial de <i>B. cinerea</i> por <i>P. variotii</i>	75

Tabla 4. Control de hongos fitopatógenos por especies de <i>Paecilomyces</i>	76
Tabla 5. Nematodos controlados por especies del género <i>Paecilomyces</i>	79
Tabla 6. Control biológico de plagas mediante <i>Paecilomyces</i>	81
Imagen 13. Conidióforo de <i>Paecilomyces variotii</i> y aspecto de la morfología de la colonia en medio PDA.....	109
Imagen 14. Plantas de tomate cultivadas bajo semillero comercial (A) y ensayo de campo, 30 (B) y 60 (C) días después del trasplante	112
Tabla 7. Efectos de los medios sólidos sobre la multiplicación en masa de <i>P. variotii</i> a diferentes porcentajes de sustratos (v/v) y contenidos de agua (v/v). TS: trigo sarraceno; A: avena	113
Imagen 15. Producción en masa de conidios de <i>P. variotii</i> en una proporción de 70 + 30 % de trigo sarraceno y avena, respectivamente, + 20 % agua (arriba) y 80 + 20 % con 10 % agua (abajo)	113
Imagen 16. Morfología de colonias de hongos endófitos de raíces y suelo del Parque Nacional Cabo de Gata (PNCG).....	114
Imagen 17. Formación de halos de color naranja debido a la producción de sideróforos por parte de <i>P. variotii</i> (A). Efectos de <i>P. variotii</i> sobre la solubilización de fosfato en caldo NBRIP que contiene fosfato de calcio tribásico (10 g). Los resultados se muestran como el promedio de las tres repeticiones, en g L ⁻¹ (B)	115
Tabla 8. Efectos del aislado de <i>P. variotii</i> sobre la germinación de semillas de tomate y pimiento, 7 y 10 días después del tratamiento, respectivamente	116
Tabla 9. Parámetros morfológicos e índice de calidad de plántulas de pimiento y tomate tratadas con el aislado de <i>P. variotii</i>	117
Tabla 10. Parámetros morfológicos de plántulas y plantas de tomate tratadas con diferentes dosis de <i>P. variotii</i> [10 ⁴ , 10 ⁵ y 10 ⁶ conidios planta ⁻¹ , (D1, D2, D3, respectivamente)]	118
Imagen 18. Micelio y conidióforos de <i>P. variotii</i> colonizando raíces de tomate (A) y pimiento (B).	120
Imagen 19. Ejemplo de la escala de gravedad de la enfermedad para <i>M. melonis</i> . 0 = planta sana; 1 = síntomas iniciales; 2 = síntomas moderados (25%); 3 = planta afectada (50%); 4 = planta severamente afectada (75%); 5 = planta muerta	134
Imagen 20. A) Hojas de calabacín con síntomas de oido causado por <i>P. xanthii</i> . B) Aplicación de agua estéril para enjuagar las esporas. C) Pulverización de esporas sobre plántulas sanas previamente tratadas con <i>P. variotii</i> (PAE) o agua (T0). D) Disposición de las hojas para determinar el área foliar afectada. E) y F) Distribución de plántulas durante los diferentes ensayos	135
Imagen 21. Efectos antagónicos in vitro de <i>P. variotii</i> sobre <i>F. solani</i> (A), <i>M. melonis</i> (B), <i>S. sclerotiorum</i> (C) y <i>B. cinerea</i> (D) en placas Petri de 9 cm. Zona de inhibición entre <i>P. variotii</i> y los fitopatógenos <i>M. melonis</i> (E) y <i>F. solani</i> (F) (Imágenes aumentadas un 75 %)	136
Gráfico 4. Efectos antagónicos de <i>P. variotii</i> (PAE) sobre <i>B. cinerea</i> (Bot), <i>S. sclerotiorum</i> (Scle), <i>F. solani</i> (FS), <i>P. aphanidermatum</i> (Pya), <i>R. solani</i> (Rz) y <i>M. melonis</i> (Mym) en cultivo dual en medio PDA. El porcentaje de inhibición del micelio se calculó como PICM = [(R1-R2) / R1] x 100, donde PCRM es el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio del patógeno, R1 es el crecimiento radial del patógeno en placas de control y R2 es crecimiento radial del	

patógeno en cultivos duales. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (test de diferencia mínima) según un análisis de varianza ($p > 0,05$).....137

Gráfico 5. Efecto del filtrado libre de células del cultivo de *P. variotii* sobre el crecimiento micelial de *F. solani*. Tiempo de incubación: 1, 2 y 3 semanas (S); 1, 2 y 3 meses (M). T0, T5, T10, T15: % de extractos incorporados y mezclados con PDA enfriado a 0 (Control), 5, 10 y 15 % (v/v). Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (prueba de diferencia mínima) según un análisis de varianza137

Gráfico 6. Efecto de los metabolitos volátiles de *P. variotii* sobre el crecimiento micelial de *M. melonis* y *F. solani*. L1, L2 y L3: mediciones realizadas cada dos días. Los datos se analizaron mediante la prueba t de Student138

Tabla 11. Efecto de diferentes fungicidas sobre el crecimiento micelial de *P. variotii* a diferentes dosis (D1-D4).139

Gráfico 7. Síntomas visuales de infección por *B. cinerea* (A, B y C), *M. melonis* (D, E y F) y *S. sclerotiorum* (G, H y J) en hojas desprendidas tratadas con *P. variotii* (A, D y G) o fungicida (B, E y H). Control (C, F y J): síntomas visuales sin *P. variotii* ni fungicida. Número de hojas con síntomas en cada tratamiento (K)140

Gráfico 9. Control de *P. xanthii* mediante aspersión de plantas de calabacín con *P. variotii*. A) Porcentaje medio del área foliar con síntomas de oídio por planta. B) Porcentaje del número de hojas con síntomas por planta. C) Porcentaje del número de pecíolos con cenicilla. Px: Aplicación de *P. xanthii*. Px-PAE: Aplicación de *P. variotii* tres días antes de la aplicación de *P. xanthii*. Los datos se probaron utilizando la prueba t de Student142

Justificación y Objetivos de la Tesis

Justificación y Objetivos de la Tesis

1. Contextualización y situación actual

Cada vez es más evidente el cambio de paradigma surgido en torno a la gestión y el manejo de las explotaciones agrícolas. Debido al aumento previsible de la población mundial para el año 2050, pudiendo alcanzar los 10 mil millones de individuos, surge la imperiosa misión de incrementar la producción de alimentos [1-3]. Además, el crecimiento poblacional se encuentra íntimamente ligado con una mayor industrialización y reducción de las tierras de cultivo en detrimento de zonas urbanas [4]. Todo esto se traducirá en un importante déficit de alimentos, siendo el empleo de fertilizantes de origen químico el sistema actualmente empleado para paliar dicho déficit [5]. A esto debemos añadir el enorme desperdicio de alimentos que se producen en los países desarrollados. Kumar y Kalita [6] cifran estos datos en una pérdida de aproximadamente un tercio de los alimentos durante su manipulación poscosecha, aumentando este valor hasta el 50 - 60% en el caso de los cereales (base de la alimentación a nivel mundial).

Además el cambio climático, consecuencia directa de lo expuesto en el párrafo anterior, exacerba problemas tan importantes para la producción agrícola como la salinidad y la sequía en mayor medida, al igual que el resto de estreses abióticos [7]. Cada año la salinidad transforma entre un 1 - 2% de tierras agronómicamente aptas para el cultivo en zonas carentes de productividad [8]. De esta forma se considera que un 20% de la superficie cultivable actual presentan graves problemas de salinidad dificultando la producción sobre las mismas [9]. La sequía, por su parte, se considera uno de los principales impedimentos para alcanzar producciones suficientes para el incremento de la población [10-12]. De nuevo el empleo de fertilizantes químicos destaca como la solución más utilizada para maximizar rendimientos [1,7].

Otro desafío al que se enfrentan diariamente los productores de todo el mundo son los problemas asociados a los estreses bióticos debido a las adventicias, las plagas y las enfermedades de los cultivos. A nivel mundial se estiman unas reducciones de los rendimientos del 34%, 18% y 16%, respectivamente [13,14]. El calentamiento global añade el reto adicional de la llegada de nuevas plagas y enfermedades resultado de la ampliación de los rangos de supervivencia de estos organismos desde el ecuador hacia los polos [15]. Al igual que para incrementar las producciones agrícolas, el método comúnmente empleado en la agricultura actual es la aplicación de químicos sintéticos [16,17]. De esta forma, el mercado de fitosanitarios genera anualmente más de 2.000 millones de kilogramos [16,18] por valor de 40 mil millones de dólares americanos a escala mundial [19]. Estos productos se emplean para paliar unas pérdidas estimadas en 470 mil millones [20].

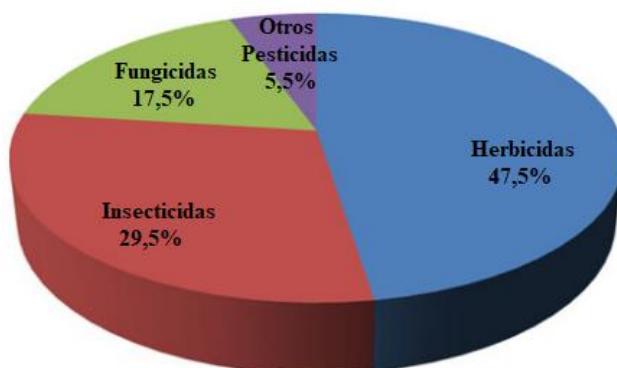


Gráfico 1. Uso de pesticidas (herbicidas, insecticidas, fungicidas y otros) a nivel global (Fuente: Modificado de De et al. [18])

Justificación y Objetivos de la Tesis

Sin embargo, el empleo desmesurado de este tipo de productos químicos conlleva al incremento de la salinidad, acidificación y compactación del suelo, la absorción deficiente de nutrientes o la pérdida de biodiversidad y biomasa edáfica, reduciendo la calidad del suelo para el uso agrícola [21]. Los efectos adversos consecuencia de las tensiones ambientales mencionadas están disminuyendo enormemente la productividad de los cultivos [5], por lo que debemos plantearnos si el empleo de este tipo de productos es la solución o por el contrario son parte del problema. Así el correcto funcionamiento del suelo en términos de calidad y fertilidad suponen el sistema más efectivo para incrementar los rendimientos, necesarios para alimentar el exceso de población [1]. Por lo tanto, debemos cambiar el enfoque actual sobre la aplicación de fertilizantes, insecticidas, herbicidas y fungicidas [22], siendo evidente la necesidad de desarrollar sistemas más resilientes a las presiones antrópicas para mantener una adecuada seguridad alimentaria [17].

Como mencionamos anteriormente, la aplicación de insumos químicos es actualmente el principal responsable de mantener la productividad y sanidad en las explotaciones agrícolas [23,24] permitiendo un suministro adecuado de alimentos para la población creciente [1,5]. Sin embargo, desde el siglo pasado el incremento de este tipo de inputs ha aumentado sustancialmente [16,25], convirtiendo a día de hoy la agricultura en un sistema altamente intensivo no solo desde el punto de vista agronómico, sino también en capital y uso de químicos [1]. Considerando los problemas socio-económicos y ambientales del uso de pesticidas, los efectos beneficiosos de los mismos quedan en un segundo plano [1,16,23]. Pimentel y Burgess [26] estimaron el valor de estos problemas en 9,6 mil millones de dólares, siendo los más relevantes los impactos sobre la salud pública, incremento de la demanda debido al desarrollo de resistencias y la desaparición de la fauna auxiliar, problemas asociados a la polinización, pérdida de especies silvestres, etc.

Además de mantener la sanidad vegetal *in situ*, en ocasiones las exportaciones de productos vegetales requieren de un periodo de cuarentena para evitar la diseminación de plagas y enfermedades foráneas, durante el cual se realizan tratamientos con sustancias químicas [27]. Generalmente las concentraciones de este tipo de productos no exceden los niveles permitidos legalmente [28-31]. No obstante, los Límites Máximos de Residuos (LMR) establecidos por cada legislación suelen obviar el riesgo real de este tipo de productos al subestimar el efecto sinérgico que puede suponer la presencia de dos o más materias activas a la vez [23,32]. De esta forma nos encontramos frente a la necesidad de mejorar los métodos de evaluación asociados a los riesgos derivados de las mezcla de químicos, pero sobre todo se necesita un mayor compromiso por parte de la sociedad y los gobiernos [33]. Cada vez más la población demanda productos alimentarios con residuo cero [27]. Esta es la razón de que muchos países hayan desarrollado modelos para identificar riesgos y así poder reducirlos [34,35].

2. Efectos negativos derivados del empleo de agroquímicos

En los últimos años la preocupación acerca de los efectos negativos de los químicos agrícolas ha arraigado en la sociedad [27]. Aunque el uso racional y justificado de los fertilizantes y pesticidas no supone un elevado riesgo [25] el modo actual de aplicación, desmesurada e indiscriminada, se traduce en graves problemas de contaminación ambiental (incluyendo el medio terrestre, los recursos hídricos y el aire), pérdida de biodiversidad y afecciones humanas al influir sobre la seguridad alimentaria [16,27,36]. Los efectos de los pesticidas y fertilizantes pueden producir variaciones pasajeras y a corto plazo, pero sobre todo dan lugar a fluctuaciones irreversibles y a largo plazo [1]. Todos estos efectos negativos se desarrollarán con más detalle a continuación.

Algunas de las consecuencias más notables del uso irresponsable de los pesticidas son la aparición de resistencias, la potenciación de las plagas secundarias y la reducción de los enemigos naturales u organismos no objetivo [24,37]. La aparición de estas resistencias a productos tales como los fungicidas, insecticidas o herbicidas conlleva a un incremento en el número y dosis de aplicación, multiplicando los costes ambientales y económico [13,38]. En este sentido se han reportado aproximadamente 16.000 casos relativos al desarrollo de resistencias a insecticidas incluyendo más de 600 especies de artrópodos [39] y más de 200 especies vegetales consideradas como adventicias frente a herbicidas químicos [38]. Por lo tanto es necesario una regulación de la dosis y frecuencia de pesticidas para reducir los riesgos asociados a su aplicación [40].

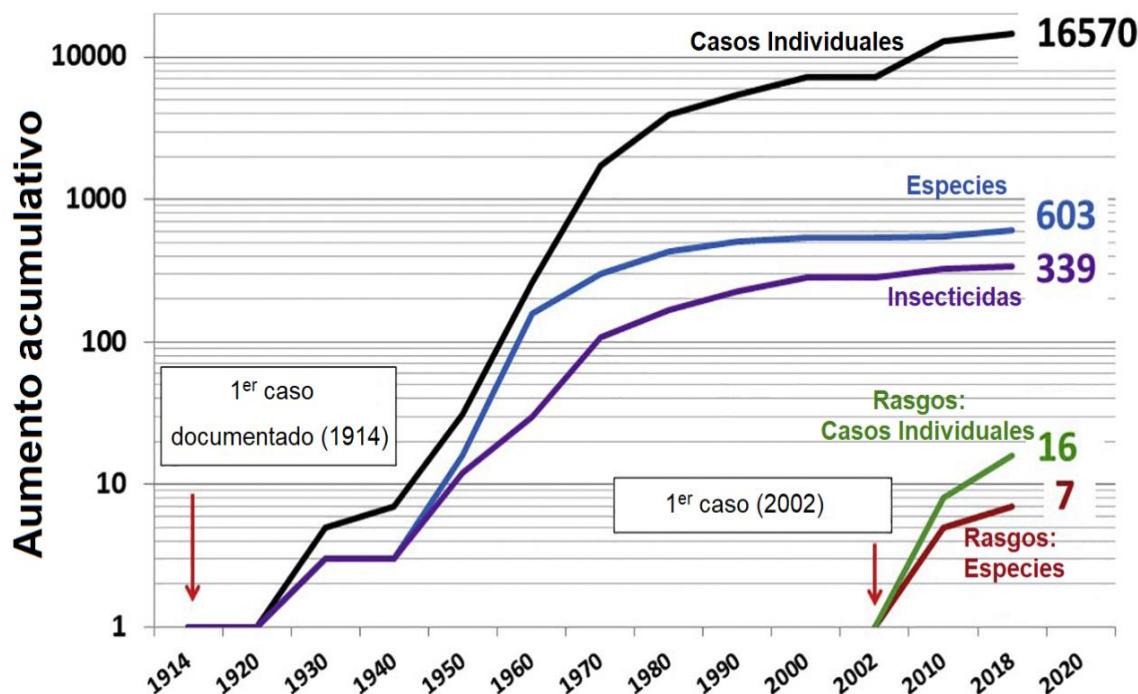


Gráfico 2. Aumento acumulativo de: nº de especies resistentes a uno o más insecticidas (azul); nº de insecticidas que han mostrado resistencia en uno o más especies (morado); nº de rasgos de OMG para los que han aparecido resistencias (rojo) (Fuente: Modificado de Sparks et al. [39])

Justificación y Objetivos de la Tesis

Debido a su formulación y composición los fitosanitarios de origen químico se consideran sustancias tóxicas por definición, razón por la cual la Unión Europea regula su uso [27]. Los plaguicidas se diferencian de otros contaminantes químicos en que su liberación al ambiente es deliberada. Es decir, son sustancias ubicas por lo que la mayoría de la población está expuesta a sus efectos [41]. El empleo en grandes cantidades de pesticidas y fertilizantes en los cultivos produce el almacenamiento de sustancias residuales en los mismos que pasan directa o indirectamente a la cadena alimentaria afectando tanto a los seres humanos como al resto de animales [17,25]. Estos problemas de salud son más evidentes en los agricultores y aplicadores como consecuencia de una exposición más frecuente y prolongada [42]. Su exposición puede producirse vía respiratoria, ingestión o por contacto. Sus efectos dependen de varios factores como son el tipo de producto, el tiempo y la forma de exposición, así como factores propiamente biológicos como la edad, sexo o estado hormonal [41].

2.1. Efectos adversos de los agroquímicos en la salud humana

En relación al tipo de pesticida encontramos los organoclorados entre los que se incluyen la dieldrina, el endosulfán, el heptacloro, el dicofol, el metoxicloro, y sobre todo el diclorodifeniltricloroetano o DDT [23]. Este último se considera un pesticida ampliamente extendido por todos los ecosistemas. Tanto es así que se cree que puede encontrarse trazas de DDT (o de su metabolito DDE, p-diclorodifenildicloroetileno) almacenadas en el tejido adiposo de casi cualquier organismo vivo [43,44]. Los pesticidas organoclorados se consideran sustancias de alta persistencia ambiental y biológica (puede transmitirse a través de la leche materna y la sangre) pudiendo transmitirse a la descendencia incluso aunque esta no esté en contacto directo [45, 46]. Es por esto que se incluye dentro del listado de sustancias prohibidas desde la convención de Estocolmo en 2001 [47].

Algunos de los efectos adversos, derivados del uso de los pesticidas organoclorados, reportados sobre la salud humana son: alteraciones del sistema endocrino [48,49]; deterioro del desarrollo embrionario, incluyendo abortos, reducción de la fertilidad y ralentización del desarrollo neurológico en prenatales [45,50-52]; alteraciones de las vías enzimáticas de glúcidos, lípidos y proteínas [53,54]; obesidad y diabetes tipo 2 al inhibir el metabolismo del tejido adiposo, así como la reducción en la secreción de insulina [53]; riesgos de hipertensión [55] y/o alteraciones hematológicas y hepáticas, reduciendo la concentración de hemoglobina y eritrocitos o el incremento de bilirrubina [56,57]. Además la exposición a pesticidas organoclorados se ha descrito como agente promotor de diferentes tipos de cánceres [58-60], incluyendo cáncer de mama [61,62], ovarios [63], hepático [64] o colorectal [65]; aunque muchos de estos estudios no son del todo concluyentes.

Dentro de los pesticidas organofosforados destaca el glifosato, aunque también se incluyen otros como el dimetoato, clorpirifós, malatión, metamidofos o paratión [23,66]. Se ha incrementado notablemente el volumen de aplicación de este tipo de pesticidas debido a que, a diferencia de los organoclorados, son menos persistentes en el ambiente, con altas tasas de degradación, y su toxicidad es más reducida [66,67]. Sin embargo, debido a su elevada solubilidad en agua la intoxicación debida a los pesticidas organofosforados provoca daños agudos en la salud humana, incluyendo mareos, vómitos, dolores de cabeza o dolor abdominal [25,68]. Siendo los hombres, por lo general, más susceptibles a sufrir problemas de salud debido a los organofosforados que las mujeres [69].

Dentro de los problemas sanitarios relacionados con este tipo de pesticidas encontramos: disrupción endocrina [70,71] y enzimática, por ejemplo de la insulina [72]; cambios metabólicos asociados a glúcidos, lípidos y proteínas [53,73]; alteración del correcto funcionamiento mitocondrial, relacionado con el estrés oxidativo a nivel celular [74-76]; genotoxicidad [77]; afecciones cardíacas [78,79]; problemas asociados al sistema reproductor masculino, recudiendo la calidad seminal o produciendo alteraciones hormonales [80,81] o la gestación y desarrollo neurológico prenatal [82]; y alteración del sistema nervioso, incluyendo el Parkinson [83,84] y la demencia [85]. Al igual que el grupo anterior, numerosos estudios también han relacionado la exposición a organofosforados con determinados cánceres como linfoma no Hodgkin [86] o cáncer de mama [87].

Otro grupo de pesticidas ampliamente utilizados en agricultura son los carbamatos, incluyendo el aldicarb, carbofurano y ziram [23]. Este tipo de químicos sintéticos se ha asociado con el desarrollo de enfermedades tales como: trastornos inmunitarios [88] y reproductivos [80,89]; alteración metabólica celular y mitocondrial [53,90]; afectan al correcto funcionamiento del sistema nervioso [91], incluyendo mayor propensión al desarrollo de demencia [85]; e induce el desarrollo de determinados tipos de tumores [92] y cánceres como el linfoma no Hodgkin [93]. Por su parte, los piretroides (fenvalerato, permetrina y sumitrina) y las triazinas (ametrina, atrazina y simazina) también han reportados efectos deletéreos para la salud humana como: estrés oxidativo e inhibición de la señalización a nivel hormonal [94,95]; modificación genética a nivel espermático y reducción de la fertilidad masculina [96,97]; o hipoactividad y disfunción motriz, consecuencia de alteraciones neuroquímicas [98].

2.2. Alteraciones medioambientales como consecuencia del empleo de agroquímicos

Además de los innumerables efectos adversos para la salud humana derivados del uso de productos químicos en la agricultura, los efectos sobre el medio ambiente no son menos numerosos. Estos productos suponen un elevado coste para nuestros ecosistemas, encontrándose presente en el aire, el agua, el suelo [25]. Los químicos liberados en los agro-ecosistemas han supuesto una disminución más que evidente en la diversidad ecológica de las especies silvestres [99]. Los pesticidas químicos ponen en riesgo a casi la totalidad de las especies, consideradas como no objetivo, incluyendo artrópodos, aves, peces y plantas [1,25].

Los sistemas agrícolas actuales son los responsables de al menos el 25% de los gases de efecto invernadero (GEI) de origen antrópico a nivel mundial. Este porcentaje puede aumentar hasta un tercio del total de emisiones si se consideran la manipulación, el procesamiento y el transporte [100]. El principal contaminante del aire derivado a la actividad agrícola es el NH₃. La principal fuente de emisión de este GEI se debe a la actividad ganadera, 66%, seguida de la fertilización nitrogenada, 33% restante [101]. Aunque la cría y procesado del estiércol suponen la principal fuente de contaminación, la agricultura contribuye mediante la quema de restos de cosecha, las emisiones de la maquinaria asociada al proceso productivo, así como el transporte de los productos [102]. Otro GEI de gran importancia es el N₂O siendo la agricultura el principal emisor [103]. De esta forma en Europa, EE.UU. y China los niveles de pequeñas partículas en suspensión debido a la agricultura suponen un problema cada vez más evidente [104].

Justificación y Objetivos de la Tesis

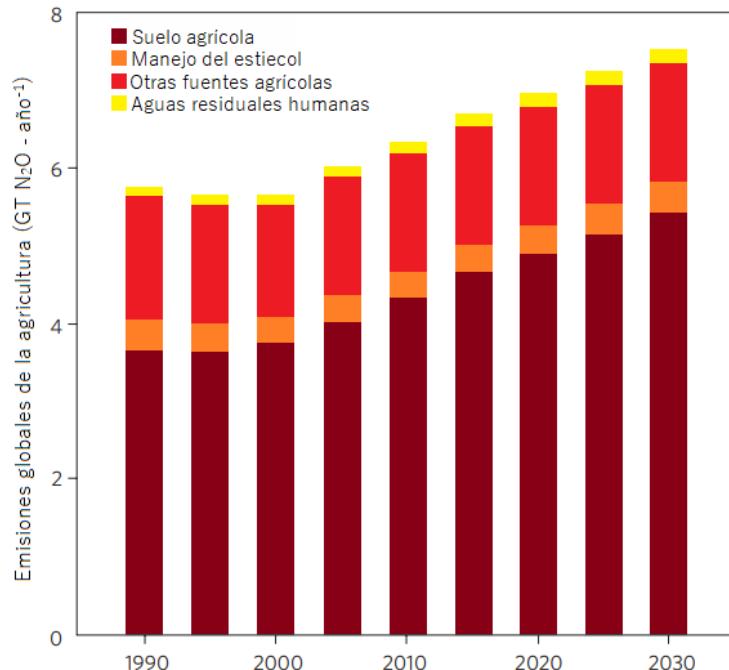


Gráfico 3. Estimación de las emisiones globales de N₂O debidas a la agricultura (Fuente: Modificado de Reay et al. [103])

En lo referente a la contaminación de los ecosistemas acuáticos, debemos tener en cuenta que la calidad de las aguas representa un riesgo cada vez mayor en la práctica totalidad de los continentes [105]. Los productos químicos empleados en la agricultura alcanzan los recursos hídricos mediante procesos de deriva, escorrentía, lavado, lixiviación, pulverización aérea o vertido accidental o deliberado [16,106]. Una vez liberados en las masas de agua, los agentes químicos pasan a la atmósfera pudiendo recorrer enormes distancias. De esta forma, innumerables especies de fauna y flora se ven amenazadas [106]. Recientemente, la agricultura ha pasado a un primer plano como fuente de contaminación del agua, por delante de las industriales y domésticas [107], debido a la liberación de enormes cantidades de nutrientes [108], MO [109] o drenaje [110].

Este incremento en la contribución de la agricultura como principal fuente de contaminación tiene su explicación en la transformación de la agricultura debido a la intensificación de los cultivos, el incremento del área bajo sistemas de regadío, así como el mayor consumo de insumos químicos [107,111]. De esta forma, la Unión Europea cuenta con el 38% de sus recursos hídricos contaminados por la actividad agrícola. En EE.UU. la agricultura ya supone el principal agente causal de contaminación de ríos, y la contaminación de las aguas subterráneas se debe casi en su totalidad a la agricultura en China [107,112,113]. Los organoclorados, debido a su persistencia, son los pesticidas más comúnmente encontrados en las aguas superficiales. Dentro de estos destacan el epóxido de heptacloro, el dieldrín y ante todo el DDT [114]. Por su parte, los acuíferos y la capa freática suelen presentar contaminación por nitratos (principalmente) y otros fertilizantes así como plaguicidas, lo cual aumenta su alcalinidad y salinidad [25].

La contaminación de masas de agua con fertilizantes y pesticidas (incluso a muy bajas concentraciones) supone un enorme riesgo, no solo para el ser humano si no para todas las formas de vida acuática [106,115]. La pérdida de calidad del agua para el consumo humano, generalmente la hace inviable de igual forma para la vida bajo ella. El vertido o llegada de nutrientes agrícolas, N y P principalmente [116], produce enormes variaciones en las cadenas tróficas propios del bentos produciendo la proliferación extensiva de cianobacterias y macroalgas [117,118]. Lo anterior unido a la reducción de plantas acuáticas debido a los pesticidas (principalmente herbicidas) se traduce en un decrecimiento exacerbado de los niveles de oxígeno disuelto, provocando modificaciones en la fisiología de las especies marinas, así como en su etología [16].

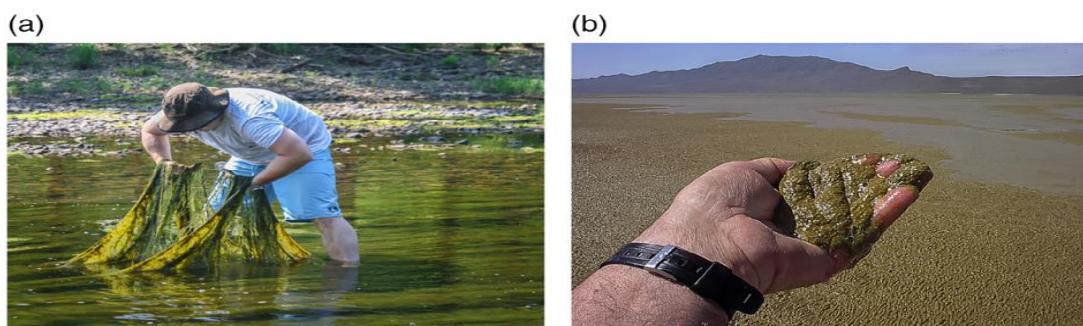


Imagen 1. Proceso de eutrofización de masas de agua debido a la proliferación de: (a) *Cladophora* sp.; y (b) cianobacterias (Fuente: Wurtsbaugh et al. [118])

En este sentido, se han reportado numerosos efectos de los pesticidas organoclorados en animales acuáticos como alteraciones del desarrollo normal como consecuencia de modificaciones del sistema neuronal, endocrino y reproductor, así como de las funciones inmunológicas y metabólicas [119]. Si hablamos de los organofosforados, se han descrito reducciones de colinesterasa en bacalao debido a la bioacumulación de clorpirimifos-metilo [120]. Los piretroides por su parte, a diferencia de en mamíferos y aves, se consideran altamente tóxicos en peces [121]. El estrés oxidativo causado por la cipermetrina o la deltametrina, en especies como la carpa, el pez gato o la trucha, condujo a cambios histológicos en branquias, corazón, hígado y músculos [121,122].

No obstante, la realidad actual nos lleva a evaluar el efecto sinérgico de varios pesticidas aplicados simultáneamente. Rossi et al. [123] evaluaron los efectos en varias especies de peces que habitan en arrozales tras la aplicación de glifosato (herbicida), bifentrina, (insecticida) y azoxistrobina y ciproconazol (fungicidas) observando problemas fisiológicos y bioquímicos. Además de la pérdida de biodiversidad, esta bioacumulación de residuos químicos en los peces pone en jaque la salud humana a lo largo de la cadena alimentaria. Dejando a un lado los peces, los anfibios se consideran en serio riesgo debido principalmente a la aplicación de agroquímicos [124]. De igual forma a lo que sucede con las especies de peces, los anfibios presentan deterioros fisiológicos al ser expuestos a mezclas de estos tipos de productos químicos. A modo de ejemplo, Agostini et al. [124] observaron una supervivencia entre el 1 - 10% de los renacuajos de varias especies expuestas a mezclas de cipermetrina, clorpirimifos o endosulfán 48 h después de su aplicación. Además, todos los pesticidas usados, incluidos los herbicidas, reducían la movilidad de las especies estudiadas.

Justificación y Objetivos de la Tesis

Por último, la contaminación de los ecosistemas terrestres, prestando atención principalmente al suelo, se debe en gran medida a la aplicación injustificada de agroquímicos. De esta forma se produce cierta sinergia entre los efectos directos propios de la naturaleza de estos productos químicos, y los efectos indirectos asociados a los cambios estructurales y físicos-químicos que estos producen en el suelo, reduciendo su calidad y fertilidad [125]. En el caso de los fertilizantes se considera que entre un 60 - 90% del total aportados al suelo no son asimilados por la planta [126,127]. Estos nutrientes no absorbidos permanecen en el suelo durante largos periodos modificando el equilibrio existente en la microflora edáfica lo que se traduce en desequilibrio de nutrientes y baja disponibilidad, variaciones del pH y la humedad o reducción de la actividad enzimática, entre otros [128].

Un problema asociado a la aplicación intensiva de fertilizantes en los sistemas edáficos agrícolas es la alteración física de sus propiedades. Como resultado de la acumulación de sales en el suelo damos lugar a la aparición de procesos de compactación y degradación que altera el resto de sus propiedades [129,130]. Esto se traduce en problemas tales como reducción de la porosidad, aumento de la densidad aparente, limitación de los nutrientes disponibles o mayor resistencia a la penetración de las raíces [130]. De igual forma la fertilización en exceso (principalmente con N) produce problemas de acidificación del suelo [131,132]. Esta reducción del pH dificulta la circulación de agua y aire [128], así como de cationes y aniones, por ejemplo Ca^{2+} , K^+ y Mg^{2+} [133]. Otro aspecto a tener muy en cuenta es la acumulación de metales pesados como As, Cr, Cd, Cu, Pb y Zn, que resultan tóxicos tanto para las plantas y los microorganismos asociados, como para el ser humano [134,135].

Por si todo esto no fuera suficiente, un mal uso de los fertilizantes químicos genera un fuerte impacto en la microbiota edáfica en términos de variabilidad estructural y funcional [1]. Además de alterar las comunidades microbianas en lo relativo a la diversidad y su metabolismo, los fertilizantes pueden modificar la relación C/N afectando al rendimiento de los cultivos [136]. Existe una clara correlación entre el tipo de fertilización aplicada y los microorganismos edáficos. De esta forma una fertilización orgánica incrementa su diversidad y funcionalidad, a diferencia de la fertilización química [137]. A modo de ejemplo, Li et al. [138] evaluaron la variación de las comunidades microbianas en un suelo fertilizado únicamente con fuentes inorgánicas de nitrógeno. Su aplicación continuada condujo a elevados niveles de nutrientes en el suelo pero también a su acidificación, siendo además más susceptibles a las variaciones ambientales. Asimismo disminuyó la relación bacterias-hongos y su interrelación, pero sobre todo modificó el metabolismo del suelo.

Por su parte, Luan et al. [139] demostraron el incremento de la calidad del suelo al sustituir la fertilización química por las enmiendas orgánicas. Esto se debió principalmente al aumento de los nutrientes disponibles incluyendo el carbono. Se mejoró tanto la diversidad como la cantidad de microorganismos, con una relación entre bacterias y hongos, micorrizas arbusculares y hongos saprófitos, y bacterias gram positivas y negativas más equilibrada, que condujeron a una mayor actividad enzimática. De igual modo, Ren et al. [140] reportaron un aumento en la producción vegetal al intercambiar los fertilizantes químicos por orgánicos. Esta sustitución se tradujo en incrementos significativos de los niveles NPK totales y disponibles, carbono orgánico y actividad hidrolítica. La fertilización orgánica potenció la diversidad bacteriana (principalmente de actinobacterias), mientras que la fertilización inorgánica presentó mejores resultados para la diversidad fúngica.

En referencia al empleo de pesticidas químicos, comentar que su uso inapropiado puede afectar directamente a especies no objetivo, e indirectamente a especies que se alimentan de estos, como las aves, anfibios y peces [27,141]. Por ejemplo el empleo de fungicidas de amplio espectro pueden disminuir las poblaciones de lombrices, afectando la alimentación de aves y pequeños mamíferos [16]. Además, los herbicidas pueden afectar a plantas silvestres que sirven de reservorio de fauna auxiliar y alimento para vertebrados [27,142]. DiBartolomeis et al. [143] evaluaron los efectos a largo plazo de insecticidas neonicotinoides sobre la población de insectos. Observaron que, en los últimos 20 años la presión sobre estos organismos había aumentado unas 50 veces. Los insecticidas clotianidina, imidacloprid y tiameksam eran los principales responsables, produciendo un incremento de la carga de toxicidad de entre el 61 - 99 %, según si los insecticidas actuaban por contacto o por vía oral respectivamente.

Desde el punto de vista de los artrópodos no plaga, la intensificación agrícola y el cambio climático asociado a ella conduce a la desaparición de insectos beneficiosos, incluyendo polinizadores y depredadores [144]. El abuso tanto de insecticidas como de herbicidas potencia la aparición de plagas secundarias al reducir la abundancia de especies depredadoras y parásitoides [145]. El empleo de productos químicos como medida de control preventiva supone un gran impacto negativo sobre la diversidad alfa y beta de los grupos taxonómicos de artrópodos, así como de su diversidad funcional, poniendo en jaque las estrategias de control de plagas [146,147]. Algunos de estos fitosanitarios reducen la ocurrencia natural de especies polinizadoras [148,149]. Incluso en dosis subletales, afectan a la longevidad, desarrollo y fertilidad, modificando la dinámica poblacional, así como su actividad, comportamiento y orientación, tanto de las abejas como de los abejorros [150]. Además, los pesticidas también pueden modificar el comportamiento y orientación de parásitoides como *Aphidius colemani* [151].

Al igual que ocurre con los fertilizantes químicos, los productos fitosanitarios pueden afectar notablemente las comunidades microbianas presentes tanto en el medio edáfico [152,153], como a las bacterias y hongos endófitos presentes en los tejidos vegetales [155,156]. De esta forma, los plaguicidas sintéticos modifican las especies microbianas dominantes, así como su abundancia y funcionalidad [1]. Los pesticidas de nueva generación como la atrazina formulada mediante nanotecnología se consideran una alternativa más ecológica frente a fitosanitarios tradicionales. Sin embargo, Zhai et al. [154] demostraron que los efectos de estas nuevas formulaciones afectaban en mayor medida tanto la estructura como la capacidad metabólica de las comunidades bacterianas, en comparación con el pesticida tradicional.

Nettles et al. [157] evaluaron el efecto de diversos insecticidas (imidacloprid y tiameksam) y fungicidas sistémicos (fludioxonil, mefenoxam, meroxystrobin y tiabendazol) en las comunidades microbianas de la rizosfera y filosfera tras su aplicación en semillas. Llegaron a la conclusión de que tanto los insecticidas como los fungicidas afectaban a dichas comunidades. Según Singh et al. [152] el efecto sobre microorganismos no objetivos tras la aplicación de plaguicidas como azadiractina, cipermetrina y clorpirifos inhibían drásticamente el desarrollo de bacterias con capacidad de fijar nitrógeno, o influían en el proceso de nitrificación y desnitrificación. También los hongos micorrízicos arbusculares reducen su capacidad de colonizar raíces, así como su abundancia, tras la aplicación de pesticidas como deltametrina, fenhexamida y folpel [158].

Justificación y Objetivos de la Tesis

No obstante, según la especie y el fitosanitario aplicado, podemos observar la reducción o el incremento de determinados filos microbianos. Este es el caso del difenoconazol que inhibió el desarrollo de especies pertenecientes a *Acidobacteria* y *Nitrospiraese*, mientras que potenció la abundancia de *Actinobacteria* [159]. La fumigación química de suelos con cinco fumigantes disminuyó significativamente la abundancia de especies pertenecientes a los filos *Acidobacteria*, *Chloroflexi* y *Proteobacteria*, mientras que especies de *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Parcubacteria*, *Verrucomicrobia* y *Saccharibacteria*, se vieron incrementadas [160]. Por su parte, el tiametoxam redujo la actividad y diversidad de especies consideradas RPCP, mientras que aquellas con capacidad biodegradante vieron incrementadas sus poblaciones [161]. Onwona-Kwakye et al. [162] llegaron a la conclusión que la abundancia de los géneros *Aeromonas*, *Comamonas*, *Enterobacter*, etc. se redujo tras la aplicación de sustancias químicas, mientras que *Acinetobacter*, *Bacillus* y *Pseudomonas* incrementaron su presencia en las áreas expuestas.

De esta forma conviene estudiar a fondo estos géneros resistentes, pues podrían jugar un papel crucial en la biorremediación de pesticidas en el medio edáfico [161,162]. Y aquellos taxones susceptibles, ya que pueden emplearse como bioindicadores fiables de la contaminación por pesticidas [163,164], al igual que las abejas [143]. En este sentido, son muchas las investigaciones que proponen a los microorganismos como el método más prometedor para eliminar la persistencia de contaminantes edáficos como los pesticidas y los metales pesados [165]. Li et al. [166] describieron la degradación de diferentes tipos de pesticidas, incluyendo benzimidazoles, piretroides, organofosforados y neonicotinoides, mediante la inoculación de un consorcio de bacterias y hongos (siendo *Aspergillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* y *Rhodotorula* los géneros dominantes). Bouteh et al. [167] consiguieron la eliminación de plaguicidas organofosforados, clorpirifos y malatión, en bioreactores mediante los géneros bacterianos *Flavobacterium* y *Acinetobacter*. En cuanto a especies fúngicas se ha descrito la transformación de pesticidas organoclorados en compuestos intermedios de baja toxicidad [168].

2.3. Productos químicos prohibidos en España

En los últimos 30 años (desde 1991 hasta 2021) un total de 6.298 productos fitosanitarios (correspondientes a unas 387 materias activas aproximadamente) han sido retirados del mercado para su comercialización en España. Si nos centramos en lo que va de siglo (periodo 2000 - 2021) este número se reduce a los 6.165 productos fitosanitarios, de los cuales 2.275 se han prohibido en la última década y 890 en el último lustro (60 materias activas aproximadamente). Finalmente, en el presente año (2021) el número de productos retirados de la lista del Anexo I de productos fitosanitarios en España asciende a 191, incluidas dentro de 13 materias activas [169].

En el Anexo I (de la presente tesis): Sustancias activas excluidas del Anexo I de la Directiva 91/414/CEE, se expone el listado completo de materias activas retiradas en los últimos 30 años. La tabla 1 muestra la sustancia activa, función y fecha de caducidad de las sustancias excluidas en los últimos 5 años en España:

Tabla 1. Sustancia activa, función y fecha de caducidad de las sustancias excluidas en los últimos 5 años en España (Fuente: [170])

SUSTANCIA ACTIVA	FUNCIÓN	FECHA DE CADUCIDAD
Aceites de pescado	Repelente	31/08/2019
Acetato amónico	Atrayente	31/08/2019
Benalaxil	Fungicida	05/04/2021
Beta-ciflutrina	Insecticida	20/01/2021
Bifentrina	Insecticida	31/07/2019
Bromoxinil	Herbicida	17/03/2021
Cal piedra	Repelente	31/08/2019
Carboxina	Fungicida	31/05/2021
Ciromazina	Insecticida	31/12/2019
Cloridazona	Herbicida	31/12/2018
Clorpirimofos	Insecticida	16/04/2020
Clorpirimofos-metil	Insecticida	16/04/2020
Clorprofam	Herbicida y fito-regulador	08/01/2020
Clorsulfurón	Herbicida	31/12/2019
Clorotalonil	Fungicida	31/10/2019
Clotianidina	Insecticida	31/01/2019
Desmedifam	Herbicida	01/01/2020
Difenacum	Rodenticida	31/12/2019
Diflubenzurón	Insecticida	31/12/2020
Dimetoato	Insecticida	17/01/2020
Diurón	Herbicida	30/06/2020
Epoxiconazol	Fungicida	30/04/2020
Espirodiclofen	Insecticida y acaricida	31/07/2020
Etoprofós	Insecticida y nematicida	21/03/2019
Extracto de algas marinas	Fitorregulador	31/08/2019
FEN 560 (Fenogreco)	Fungicida	31/10/2020
Fenamifos	Insecticida y nematicida	23/03/2021
Fenbuconazol	Fungicida	31/10/2021
Fenoxicarb	Insecticida	30/11/2021
Fenpropimorf	Fungicida	30/04/2019
Flutriafol	Fungicida	30/11/2021
Fosfuro de calcio	Rodenticida y topical	01/12/2020
Fuberidazol	Fungicida	30/02/2019
Glufosinato amónico	Herbicida	31/07/2018
Hidrocluro de trimetilamina	Atrayente	31/08/2019
Hipoclorito de sodio	Desinfectante	31/08/2019
Imazaquin	Fitorregulador	31/12/2018
Imazosulfurón	Herbicida	31/07/2017
Lufenurón	Insecticida	31/12/2019
Mancozeb	Fungicida	04/07/2021
Maneb	Fungicida	30/09/2017
Mecoprop	Herbicida	31/01/2017
Metil-nonil-cetona	Repelente	31/08/2019
Meticarb	Insecticida	03/01/2020
Metomilo	Insecticida	31/08/2019
Oxadiazon	Herbicida	31/12/2018
<i>Phlebiopsis gigantea</i>	Fungicida	30/04/2020
Cepa: FOC PG 410. 3		
Polvo de pimienta	Repelente	31/08/2019
Quinoclamina	Herbicida	31/12/2018
Silicato de sodio y aluminio	Repelente	31/08/2019
<i>Spodoptera exigua</i>	Insecticida	30/11/2017
Cepas: NPV Florida, NPV BV0004 y SeMNPV-SP2		
Teflubenzurón	Insecticida	30/11/2019
Tiacloprid	Insecticida	03/02/2021
Tiametoxam	Insecticida	30/04/2019
Tiofanato-metil	Fungicida	19/04/2021
Tralkoxydim	Herbicida	30/4/2019
Triadimenol	Fungicida	31/08/2019
<i>Trichoderma atroviride</i>	Fungicida	30/04/2021
Cepa: IMI 206040		

Justificación y Objetivos de la Tesis

<i>Trichoderma polysporum</i>	Fungicida	30/04/2019
Cepa: IMI 206039		
Triflumizol	Fungicida	30/06/2020
Triflumuron	Insecticida	31/03/2021

3. Tendencia actual para la reducción de los químicos sintéticos en la agricultura

Como hemos comentado a lo largo del presente apartado, el acelerado aumento de la población mundial requiere incrementar los rendimientos agrícolas [171]. Sin embargo, la creciente sensibilización y respeto medioambiental requiere el empleo de técnicas sostenibles para combatir el cambio climático, la contaminación y la preservación de la diversidad [172,173]. De igual forma, los efectos adversos que los agroquímicos generan sobre la salud humana y de los ecosistemas, evidencian la necesidad de cambiar el enfoque actual por un modelo ecológico, rentable y eficaz [24-26].

Además de todas las técnicas culturales, físicas y biológicas disponibles para alcanzar dicho fin (que trataremos en profundidad a continuación), un aspecto de vital importancia es la transmisión global de conocimientos y recursos. Dara [40] puso de manifiesto que la falta de conocimientos y repercusión económica insuficiente supusieron el principal obstáculo para la adopción de técnicas de Gestión Integrada de Plagas (GIP). En este sentido, Parsa et al. [174] encuestaron a técnicos y agricultores de 96 países identificando los principales impedimentos para la adopción de la GIP. Entre ellos destacaban la escasa investigación al respecto, las presiones que ejercen las multinacionales de agroquímicos y la falta de incentivos hacia los productores, siendo la más importante la falta de apoyo y conocimientos por parte de los agricultores. Por lo tanto, la transmisión de conocimientos no debe ceñirse a publicaciones en revistas científicas, sino buscar un impacto más global [40,175].

En este sentido, se están produciendo esfuerzos gubernamentales globales, que incluyen la reducción de agroquímicos, para conseguir un sistema más sostenible y resiliente. En 2015, se concretaron un total de 17 puntos, conocidos como Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), en el que todos los Estados Miembros incluidos en las Naciones Unidas se comprometen a su cumplimiento. El 2020 se considera como el punto de inflexión en la tendencia mundial para alcanzar los ODS marcados en la Agenda 2030, en lo que se ha denominado la “Década de Acción” [176]. Dentro de este plan se incluyen numerosos agentes desde los organismos internacionales, empresas, gobiernos locales, la comunidad científica y la población en general. Esta acción conjunta es necesaria puesto que se requieren soluciones integrales y transversales [177]. Todos los países implicados deben entregar un Plan de Acción que contenga las vías marcadas para alcanzar los ODS, mediante un Examen Nacional Voluntario [178]. España presentó dicho plan el 29 de junio de 2018 con la colaboración conjunta de todas las entidades públicas y privadas para cimentar las líneas de acción orientadas a conseguir los ODS [179]. En la siguiente imagen se muestran los 17 ODS, muchos de ellos directamente relacionados con la adopción de un sistema agrícola más sostenible.



Imagen 2. 17 ODS propuestos por las Naciones Unidas incluidas en la Agenda 2030 (Fuente: [178])

La producción de alimentos supone un elemento con efecto troncal y multinivel en la vida de las personas influyendo en el agua, tierra, energía, cultura, empleo, tecnología, economía y política. No obstante, nuestro actual sistema alimentario, agravado por el cambio climático y las presiones ambientales derivadas del mismo, suponen el 29% de las emisiones de GEI, el 80% de la pérdida de biodiversidad (incluyendo la deforestación), consume el 70% del agua dulce y además desperdicia el 35% de los productos generados. Es por todo esto que en el presente año se celebrará la Cumbre sobre los Sistemas Alimentarios para tratar de paliar dichos efectos adversos como parte de la Agenda 2030 [180].

Justificación y Objetivos de la Tesis

En lo relativo a la Unión Europea, en mayo de 2020 se presentó el Pacto Verde Europeo que incluye la estrategia de la granja a la mesa (para un sistema alimentario justo, saludable y respetuoso con el medio ambiente). Las principales medidas de esta estrategia incluyen: la adopción de un sistema alimentario con impacto ambiental positivo o neutro, toda la cadena de valor alimentaria debe preservar los recursos existentes, atenuar el cambio climático y paliar la pérdida de biodiversidad, reduciendo así la huella climática; garantizar la seguridad alimentaria y la salud, mediante el acceso generalizado de alimentos y apostando por la sanidad vegetal y el bienestar animal; y que todo ello genere un rendimiento económico homogéneamente distribuido. Todo esto se encuentra íntimamente ligado a los ODS de las Naciones Unidas [181,182]. Para ello se busca alcanzar 4 metas fundamentales incluidas dentro de los 9 objetivos de la PAC 2023 [181,182]:

- Reducción del 50% en el uso de pesticidas más contaminantes y peligrosos.
- Reducción del 50% de las pérdidas de nutrientes, empleando un 20% menos de fertilizantes químicos.
- Reducción del 50% en el empleo de antibióticos en la ganadería y acuicultura.
- Alcanzar un 25% de la tierra agrícola bajo el sello de agricultura ecológica en la UE.



Imagen 3. Nueve objetivos específicos propuestos en la PAC 2023 (Fuente: [183])

A continuación, se describen las alternativas más empleadas a la hora de reducir los insumos de origen químico como los fertilizantes y los plaguicidas sintéticos, poniendo especial atención a los métodos de control biológico, centrándonos en el rol que juegan los microorganismos en cada método.

3.1. Alternativas basadas en prácticas culturales y físicas al empleo de agroquímicos

- **Policultivo y asociaciones de cultivo:** El cultivo intercalado se basa en la presencia de dos o más cultivos de forma simultánea, intensificándolo en términos de espacio/tiempo [184,185]. Pueden clasificarse según varios criterios: series aditivas, donde un cultivo (cultivo base) se siembra al 100% de su capacidad, mientras que el resto de cultivos (cultivos intercalados) se incorpora aprovechando espacios entre filas; y series de reemplazo donde los cultivos componentes se relevan unos a otros antes de finalizar el ciclo [185]. Las asociaciones de cultivos también pueden plantearse en hileras, sistemas mixtos y en franjas simultáneas o intercaladas [185,186]. De forma general, los sistemas de relevo son más productivos ya que difieren en su estado fenológico reduciendo así la competencia por los recursos [187]. Se conocen numerosos beneficios asociados al policultivo [185,186]. A continuación se exponen algunos ejemplos:



Imagen 4. Cultivo intercalado en franjas de soja-maíz (Fuente: Chen et al. [188])

- Mayor eficiencia en el uso de recursos nutricionales, bajo estrategias de aporte deficitario, incluidas el N en soja - maíz [188], alfalfa - maíz [189] o patata - leguminosa [190]; el P para asociaciones múltiples alfalfa - esparceta - festuca - pasto [184] o cebolla - patata - tomate [191]; o nutrición conjunta de NPK en soja - maíz [192].
- Incrementa la eficiencia en el uso de la radiación, al mejorar la transmisión de luz y por tanto la producción de materia seca en el policultivo maíz - soja [193]. Además de evaluar las especies, también se debe tener en cuenta el sistema de policultivo para evitar competencias. De esta forma, Liu et al. [194] obtuvieron una interceptación de la RFA 1,35 veces mayor por parte de la soja cuando se intercalaba en franjas con el maíz, frente al intercalado en hileras.
- Mejora la eficiencia en el uso del agua, la relación de agua equivalente y la evapotranspiración en asociaciones maíz - soja sembrada en hileras estrechas [195].

Justificación y Objetivos de la Tesis

- Reduce el impacto ambiental, minimizando las pérdidas de C desde el suelo en sistemas maíz - trigo [196], o las pérdidas de N en maíz - soja [197].
 - Favorece la diversidad y funcionalidad ecosistémica, aumentando la sostenibilidad y resiliencia ambiental, al mejorar los ciclos biogeoquímico de los nutrientes y mejorar la estructura del suelo en policultivo de morera-alfalfa [198] o mijo - judía mungo [199].
 - Como resultado de lo anterior, se obtiene un mayor control de las enfermedades, malezas y plagas (al modificar el microclima, incrementar los refugios para la fauna auxiliar o dificultar la búsqueda de huésped). En este sentido, se ha descrito la reducción de incidencia de *Aphis craccivora*, y el aumento de sus depredadores (*Harmonia axyridis* y *Popillia japonica*) en cacahuete - maíz [200]; *Autographa nigrisigna* y *Pieris rapae* en repollo - daikon [201]; o de *Tuta absoluta* en tomate en combinaciones tomate-esparceta [202]. En lo relativo a la fauna auxiliar, la asociación mostaza - trigo incrementó la abundancia de polinizadores como *Aphis indica* [203]; o de enemigos naturales como *Encarsia* spp. y *Trichogramma* spp. en cultivos intercalados de algodón - sésamo [204]. Por último, en el caso de enfermedades vegetales también encontramos varios casos de reducción de incidencia: maíz - pimiento frente a *Colletotrichum scovillei* [205]; trigo - haba frente a *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* y *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* [206,207]; o *Botrytis fabae* y *Fusarium oxysporum* [206].
-
- **Rotaciones de cultivo:** Se entiende por rotación de cultivos el cambio secuencial y recurrente de diferentes cultivos a lo largo de varias campañas [208]. Esta rotación puede realizarse entre especies emparentadas o muy diferentes filogenéticamente [209]. El cultivo de forma continuada de la misma especie en régimen de monocultivo conlleva a la fatiga del suelo, perdiendo su calidad, y por tanto disminuye su productividad [210]. Tras varios años de rotación los requerimientos de inputs externos (tanto fertilizantes como pesticidas químicos) se reducen por parte de los cultivos [211]. Un claro ejemplo de ello es la rotación de cultivos incluyendo una leguminosa para reducir el aporte de N [212].

Siguiendo este tipo de estrategias se consiguen numerosos beneficios desde el punto de vista del bolsillo del agricultor como: reducción de riesgos, al reducir la inestabilidad como consecuencia de las fluctuaciones de los precios; y a su vez se incrementan los ingresos como consecuencia de la mayor productividad obtenida por los cultivos, así como por la reducción de insumos externos [213-216]. La rotación de cultivos brinda un amplio abanico de beneficios agronómicos [216-218]:

- Incrementa la salud del suelo y el contenido de MO, mejorando su fertilidad y eficiencia en el uso de nutrientes, así como sus propiedades físico - químicas [219-222].
- Reduce la erosión edáfica al mantener la cobertura vegetal durante más tiempo [223,224].
- Diversifica la composición y funcionalidad de la microbiota edáfica [225-228], reduciendo la incidencia de patógenos de origen telúrico (como hongos: *Fusarium* sp.,

Pythium sp. o *Rhizoctonia* sp., o nematodos: *Rotylenchulus reniformis*) al romper el ciclo de determinadas enfermedades [229-232].

- Disminuye la aparición de malas hierbas al reducir el número de sus semillas [233,234].
- Mantiene o amplia la productividad y rendimientos a largo plazo como consecuencia de los beneficios anteriores [222,235-238].
- Reduce la aplicación de insumos sintéticos como fertilizantes y pesticidas químicos, al igual que en el punto anterior, consecuencia de los efectos sinérgicos del resto de beneficios descritos [239-241].

- **Técnicas de arado o labranza cero:** La tendencia actual hacia prácticas de labranza menos agresivas e intensivas supone una serie de beneficios a nivel edáfico, casi todos relacionados con la salud microbiana [3]. La intensidad de labor reduce notablemente la estabilidad de los agregados del suelo, tanto a nivel macro como micro [242]. Por el contrario, los métodos de labranza de conservación, incluyendo la labranza nula, mínima o en franjas, mejoran la calidad del suelo, su conservación y mantienen la humedad de forma más eficiente gracias al incremento de la actividad microbiana [243]. Estos métodos de conservación permiten mejorar el perfil nutricional de los suelos, incrementando los niveles de P, K y MO (favoreciendo la capacidad de intercambio catiónico) a nivel superficial y la relación C/N del suelo, a la vez que disminuye su CE [244,245]. Además, aprovechan de forma más eficiente el agua disponible y reducen las perdidas por evaporación desde el suelo, en comparación con el arado convencional [245,246].

Desde un punto de vista puramente biológico, los sistemas de arado convencional son más agresivos para la diversidad fúngica (siendo estos más abundantes en estrategias conservativas) frente a la bacteriana [247,248]. Esta sensibilidad mayor en comunidades eucariotas respecto a las procariotas puede explicarse debido a que el arado del suelo influye negativamente en el crecimiento fúngico al romper sus hifas dificultando su establecimiento en el suelo [249], mientras que las comunidades bacterianas son más resilientes a los modificaciones edáficas [1]. De esta forma podemos afirmar que la labranza cero o mínima mejora los perfiles funcionales a nivel microbiológico [248].

En lo que al control de plagas se refiere, estrategias conservativas de arado pueden favorecer la mortalidad al disminuir la reproducción de los artrópodos en numerosos cultivos, aunque esto no siempre es así [250]. Por ejemplo, el arado del suelo a 30 cm de profundidad durante el invierno reduce la emergencia de adultos de *Agonoscena pistaciae* en cultivos de pistacho [251]. El arado en profundidad puede dejar expuesto pupas de lepidóperos, como *Agrotis ipsilon* y *Helicoverpa armigera*, ayudando a su depredación [252]. Es muy importante conocer la ecología y el ciclo de vida de las especies plaga para saber cuándo realizar la labor. A modo de ejemplo, la labor de verano permite reducir el número de pupas de numerosos coleópteros (*Holotrichia* sp., *Leucopholis* sp., *Phyllognathus* sp., etc.) e himenópteros (*Athalia lugens*), mientras que en otoño favorece la eliminación de pupas del lepidóptero *Etiella zinckenella* [252].

Todo esto se traduce en valores de productividad más altos. Por ejemplo, Leskovar et al. [244] describieron un aumento del contenido de azúcar y el rendimiento en cultivos de sandía bajo sistema de arado en franjas durante 3 años. En el caso del maíz, estrategias de labranza cero, mínima o en franjas permitieron obtener mayores producciones y calidad de fruto, frente al arado convencional [253,254]. Asimismo, el rendimiento de los granos de trigo y maíz se vieron incrementados bajo técnicas de labranza cero [245]. Para cultivos de judía mungo bajo este tipo de estrategias también se obtuvieron producciones más altas como consecuencia de una mayor eficiencia en el uso de los nutrientes [255]. En la mayoría de los casos, este incremento del rendimiento y productividad era atribuible a un incremento de las comunidades de bacterias y hongos en los suelos [244]. De este modo, al aumentarse los rendimientos, facilitar el establecimiento y reducir el número de pases y mano de obra, las técnicas de arado de conservación (frente al sistema convencional) incrementan la rentabilidad del sistema [244,253].

- **Empleo de cultivares resistentes:** El empleo de variedades resistentes supone un método eficaz para el control de plagas y enfermedades, que permite reducir el empleo de pesticidas químicos [256]. No obstante, la relación planta-patógeno evoluciona de forma natural y dinámica permitiendo a los patógenos superar las resistencias de los cultivos [257]. De forma general, las resistencias incluidas en los cultivos se clasifican en cualitativa o cuantitativa [258]. El tipo cualitativo esta mediado por los denominados genes de resistencia o R. Este tipo de resistencia monogénica proporcionan una defensa completa, pero son altamente específicos para un patógeno y cepa concretos [258]. De forma antónima, la resistencia cuantitativa se debe a la presencia de múltiples genes, que confieren resistencia a numerosos patógenos, cepas y razas [259,260] y a su vez suelen ser más duraderos [261].

Además, la resistencia poligénica (cuantitativa) reduce la probabilidad de ser superadas por parte de los patógenos debido al mayor número de genes implicados [262,263]. Los cultivos con este tipo de resistencias parcial presentan una serie de características a nivel morfológico, físico o bioquímico que permiten el ataque de patógenos tolerando sus consecuencias, amortiguando las pérdidas de rendimiento [40]. Esto conduce a un desarrollo más lento del patógeno que facilita su control, por ejemplo mediante Agentes de Control Biológico (ACB) [2]. Sin embargo, en un programa de mejora vegetal también deben considerarse la interacción de este tipo de genes con aquellos que confieren fenotipos deseables asociados al porte, productividad, calidad de cosecha, sabor, etc. [258,264].

A modo de ejemplo, encontramos numerosos estudios relacionado con el desarrollo de variedades resistentes. Este es el caso del gen Pm21 pertenecientes a variedades de trigo resistentes a *B. graminis* f. sp. *tritici* [265]. El desarrollo de variedades de maíz resistentes y más atractivas para *Helicoverpa zea* permite su utilización como plantas trampa, reduciendo así el daño en cultivos comerciales [266]. En el caso del cultivo del pepino existen una amplia variedad de cultivares resistentes como BK2 frente a *Sphaerotheca fuliginea* [267]. Para este mismo cultivo, el gen CsERF004 regula las vías de producción de ácido salicílico y etileno, que confieren resistencias frente a *Pseudoperonospora cubensis* y *Corynespora cassiicola* [268] o CsaMLO8 frente a *Podosphaera xanthii* [269]. Finalmente,

la implementación de nuevas tecnologías como CRISPR/Cas9 permitió el desarrollo en poco más de 9 meses de una variedad de tomate no transgénica, conocida como Tomelo, resistente a *Oidium neolyopersici* [270].



Imagen 5. Comparación de plantas de tomate (tipo salvaje o WT, izquierda, y variedades resistentes o *slmlo1*, derecha) inoculadas con *Oidium neolyopersici* (Fuente: Nekrasov et al. [270])

- **Desinfección de suelos o (bio-) desinfección:** El proceso de desinfección se basa en el calentamiento pasivo del suelo húmedo mediante la captación de la energía solar con ayuda de un plástico transparente durante los meses de mayor insolación [271,272]. La incorporación previa de MO potencia los efectos propios de la desinfección en cuanto al control de patógenos edáficos, recibiendo en este caso el nombre de biodesinfección [273]. Esta última permite el control eficaz y libre de químicos de numerosos agentes nocivos mediante varios mecanismos como: incremento de la temperatura del suelo [274]; liberación de gases y compuestos tóxicos como los ácidos orgánicos volátiles: ácido acético, fórmico, láctico, propiónico o succínico [275,276]; déficit de oxígeno como consecuencia de la descomposición de la MO [277]; así como por el efecto supresor mediado por microorganismos [278].



Imagen 6. Colocación del film plástico para la bio-desinfección tras aportar MO (Fuente: Domínguez et al. [287])

Justificación y Objetivos de la Tesis

Aunque este tipo de desinfecciones de suelo reducen de igual forma las comunidades microbianas beneficiosas, pasado el efecto vuelven a recuperarse. Marín-Guirao et al. [279] describieron este efecto en cultivos sucesivos de sandía-tomate en invernadero. Tras la biodesinfección se redujeron notablemente las comunidades fúngicas en el suelo, pero se restablecieron tras la primera cosecha. La prevalencia de especies tras el tratamiento indican los taxones relacionadas con la acción desinfectante, como el caso de las bacterias *Acetobacter*, *Clostridium*, *Coprococcus*, *Ruminococcus* y *Weissella* [280,281] y los hongos *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Fusarium* y *Penicillium* [279,280].

A continuación, se presentan algunos ensayos relativos al control de agentes nocivos por medio de la bio-desinfección. Esta técnica permite el control de enfermedades como *Verticillium dahliae* y *Rhizoctonia solani* en cultivo de alcachofa mediante la aplicación de estiércol fresco de oveja como MO [282]. La bio-desinfección con restos de crucíferas y del género *Allium* reduce la abundancia y viabilidad de los esclerocios de *Stromatinia cepivora* reduciendo la incidencia de la enfermedad en cultivos de ajo y cebolla [283]. El aporte previo de enmiendas orgánicas como el estiércol fresco de pollo o vinaza de remolacha azucarera también redujeron los esclerocios de *Macrophomina phaseolina* en cultivos de fresas [284].

En lo que a nematodos, plagas y malas hierbas se refiere, esta técnica resulta del mismo modo eficaz. Se consiguió un control efectivo de *Pratylenchus vulnus* mediante biodesinfección como consecuencia de la liberación de ácido fórmico gracias a la fermentación de residuos de almendras [276]. Además, el empleo conjunto de biodesinfección e injerto mostró un efecto más duradero, dificultando que la especie *Meloidogyne incognita* pudiera superar la resistencia debida al gen Me3 [285]. Por último, el control de malezas ha resultado eficaz frente a *Brassica nigra* y *Solanum nigrum* empleando residuos de tomate, reduciendo así el tiempo requerido frente a la solarización básica [286]; o de *Chenopodium murale*, *Cyperus rotundus*, *Oxalis corniculata* y *Setaria verticillata* en cultivos de tomate tratados durante 3 años, exhibiendo mejores resultados que la desinfección química con metam sodio [274].

Este efecto control no solo permite mejorar los rendimientos de los cultivos tras la desinfección [282-284,287], si no que puede suponer un ahorro de hasta un 20% respecto a la desinfección química con 1,3-dicloropropeno y cloropicrina [287]. Además, consiste en una práctica respetuosa con el medio ambiente ya que se revalorizan desechos vegetales favoreciendo la economía circular [288]; permite la biorremediación de insecticidas neonicotinoides y diamidas [289] y herbicidas como difeniléter, dinitroanilina, fenilurea y triazina [290]; así como la reducción de GEI al emplear los desechos para desinfectar suelos en lugar de para alimentar ganado [291].

- **Control cultural:** El control cultural hace referencia a estrategias basadas en buenas prácticas agrícolas para alcanzar un control, o al menos una reducción efectiva, de plagas y enfermedades vegetales [40]. El primer paso dentro de este tipo de prácticas incluyen el empleo de semillas libre de patógenos, para impedir su propagación desde el inicio del cultivo [292]. Otra estrategia para el control de patógenos consiste en elegir la fecha de siembra adecuada. De esta forma se pueden disminuir los efectos adversos al evitar la coincidencia temporal del cultivo establecido y sus patógenos, o en caso contrario, sembrar en el momento de mayor población de enemigos naturales [293]. En este sentido, adelantar la fecha de siembra redujo las poblaciones de *Aphis gossypii* y *H. zea* en cultivos de algodón, respecto a la fecha de plantación tardía u óptima [294]. De igual modo, la siembra temprana de coliflor permitió disminuir la incidencia de *Myzus persicae*, e incrementar ligeramente los valores de depredación y parasitismo [295].

Modificar la densidad de plantación se considera otra estrategia contrastada para la reducción de plagas. Singh et al. [296] observaron una menor incidencia de mosca blanca y escarabajos filófagos en cultivos de alta densidad de okra. Por el contrario, la intensificación de cultivos incrementó las poblaciones de pulgones. Además, altas densidades de plantación también influyeron negativamente en la aparición de enemigos naturales como arañas o larvas de sírfidos. Para el cultivo de caupí, una menor densidad de siembra permite un control más efectivo de los insectos plaga como *A. craccivora* y *Ootheca mutabilis* [297]. Sin embargo, este método no solo es efectivo para el control de plagas. Disminuir el espacio entre líneas de cultivo permite reducir el crecimiento, nivel de cobertura y producción de semillas de malas hierbas en cebada [298], maíz [299], trigo [300] o soja [301], aunque se incrementa el tiempo necesario, y por ende el coste, para la eliminación de las malezas [302].

El manejo del fertiriego también se incluye dentro del control cultural de plagas y enfermedades. Por ejemplo, el aporte deficitario de K en cultivos de cebada promovía la producción de ácido jasmónico y oxilipina que actúan como método de defensa contra insectos fitófagos y hongos como *B. graminis* [303]. Por el contrario, un mayor valor de N presente en las hojas de almendro, consecuencia de una mayor fertilización, favorece la aparición y desarrollo de la araña roja *Tetranychus pacificus* [304]. En cuanto al riego, la instalación de microaspersores en cultivos de fresa permite elevar la HR del ambiente, lo cual dificulta la proliferación de araña roja [40]. Esta estrategia de control también resulta efectiva frente hongos causantes de podredumbres (*Botrytis cinerea* y *Podosphaera aphanis*) en cultivos de fresa, en contraste con los aspersores comúnmente utilizados en este cultivo [305]. Según Runia et al. [306], sistemas de riego por inundación en cultivos de patata consiguieron un control notable tanto de nematodos (*Globodera pallida*) como de hongos (*V. dahliae*). Finalmente, en el cultivo de plantas ornamentales podemos reducir la incidencia de *Pythium aphanidermatum* y *Pythium ultimum* al limitar la cantidad de agua aplicada mediante sistemas de flujo y reflujo [307].

3.2. Alternativas biológicas frente al empleo de agroquímicos

- **Control biológico a base de artrópodos:** Desde un punto de vista bastante simplista, el Control Biológico (CB) consiste en el empleo de poblaciones de ciertos organismos conocidos como enemigos naturales (parasitoides o depredadores), para controlar o disminuir la población de otros considerados plagas [308,309]. A diferencia del efecto curativo que se persigue con el empleo de pesticidas químicos, el CB supone un enfoque agroecológico a largo plazo mediante la adopción de estrategias preventivas [310]. De esta forma cada vez más se habla de gestión de plagas frente al clásico control de plagas [17,40]. Surge así GIP como una alternativa sólida y viable desde una perspectiva económica y ambientalmente inocua [40,311]. La GIP incluye una serie de estrategias con base científica unida al proceso de toma de decisiones [311], buscando un equilibrio a la hora de manejar las plagas de forma que éstas permanezcan presentes en el agrosistema dentro de niveles que no produzcan pérdidas económicas [40].

Por lo tanto, la GIP es una estrategia de enorme complejidad que debe complementarse con otros métodos de control no químicos como vimos (en la presente tesis) en el apartado 1.3.1. De esta forma se obtiene un control efectivo gracias al efecto combinado y sinérgico de todas ellas [40]. No obstante, su adopción conlleva una serie de beneficios y de barreras. Dentro de los beneficios encontramos un mayor rendimiento económico al conseguir la diferenciación comercial de los productos, impide la aparición de resistencias por parte de las plagas y la protección medioambiental y de la salud [175]. Como barrera para la adopción generalizada de la GIP cabe mencionar la ausencia de enemigos naturales frente a numerosas plagas de importancia, dificultades climáticas para su establecimiento, ineficacia asociada a la mala gestión en finca o al proceso de producción-comercialización, complejidad de registro y falta de conocimiento por parte de agricultores y técnicos [309,311-313].

Centrándonos en el concepto de CB podemos diferenciar entre natural, clásico, conservativo y aumentativo [311]. En el CB natural es un proceso intrínseco de los ecosistemas, en el que las poblaciones de plagas se reducen por la aparición, sin intervención humana, de sus propios enemigos naturales [314]. Sin embargo, este se considera ineficaz [315]. Por su parte, el CB clásico se basa en la exportación, multiplicación a gran escala y liberación de enemigos naturales no endémicos desde el lugar de origen de la plaga hasta la nueva área donde se ha establecido [316,317]. De esta forma, según Heimpel y Cock [318] se han conseguido controlar hasta 226 especies plaga exóticas en todo el mundo. El CB conservativo consiste en potenciar el CB natural. Este sistema no se basa en la introducción si no en la alteración del ambiente junto con técnicas culturales para proteger los enemigos naturales existentes favoreciendo el mantenimiento o incluso crecimiento de sus poblaciones [319-323]. Finalmente, el CB aumentativo se basa en la producción a nivel industrial de los enemigos naturales para su posterior liberación en campo. Podemos distinguir entre estrategias inundativas donde se busca un control inmediato de las especies plaga dentro de una campaña, o inoculativas enfocadas a alcanzar un efecto control a lo largo de varias generaciones [311,324].

A continuación, se describen algunos ejemplos frente a las principales plagas del sureste español. *Tetranychus urticae* es la especie de ácaros fitopatógenos más extendida, pudiendo controlarse con ácaros *Phytoseidos* como *Amblyseius swirskii* [325,326]; *Phytoseiulus persimilis* [327,328] y *Phytoseiulus macropilis* [329]. Entre los enemigos naturales de los aleígoridos (*Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*) encontramos las especies *Encarsia formosa* [330,331]; *Eretmocerus* spp. [332-335]; *Macrolophus* spp. [334,336]; *Nesidiocoris tenuis* [336,337] y *Dicyphus hesperus* [333]. Frente a los *Tisanopteros* destacan los géneros *Amblyseius* sp. [338,339]; *Orius* sp. [340-342] y *N. tenuis* [337,343,344]. *A. colemani* [345,346]; *Aphidius ervi* [347,348]; *Aphidoletes aphidimyza* [347,349]; *Aphelinus* spp. [350,351] y *Chrysoperla carnea* [352,353], pueden actuar como parasitoides y depredadores frente a una gran variedad de especies de Áfidos.

- **Bioformulados a base de microorganismos:** El cuidado y promoción de la microbiota edáfica favorece el mantenimiento de la calidad y fertilidad de los suelos, y suponen una estrategia sostenible dentro de la producción agrícola [1]. Además, las ventajas asociadas al empleo de bioformulados microbianos (las cuales se describen con detenimiento a continuación) superan por mucho sus limitaciones [171]. La aplicación de productos biológicos a base de microorganismos ha desplazado a los agroquímicos, siendo una alternativa prometedora al mejorar la absorción de nutrientes y proteger los cultivos frente a patógenos [7,243,354]. Dentro de los bioformulados se considera que los géneros más empleados son *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptomyces* spp., *Trichoderma* spp. y diferentes especies de hongos micorrízicos [354].
- **Empleo de bioformulados (bioestimulantes y biofertilizantes) para la reducción de fertilizantes químicos:** Numerosos autores han tratado de definir el término biofertilizante. El-Ghamry et al. [355] recopiló muchas de estas definiciones. Según Vessey [356] un biofertilizante es “una sustancia que contiene microorganismos vivos que, cuando se aplica a semillas, superficies de plantas o suelo, coloniza la rizosfera o el interior de la planta y promueve el crecimiento aumentando el suministro o disponibilidad de nutrientes primarios para la planta huésped”. Poco después Fuentes-Ramirez y Caballero-Mellado [357] determinaron que son “productos que contiene microorganismos vivos, que ejercen efectos beneficiosos directos o indirectos sobre el crecimiento de las plantas y el rendimiento de los cultivos a través de diferentes mecanismos”.

Algunas definiciones más actuales fueron proporcionadas por Sahu y BrahmaPrakash [358], “los biofertilizantes son las preparaciones que contienen microorganismos vivos o latentes, y una formulación que permite un fácil manejo, almacenamiento a largo plazo y efectividad de los biofertilizantes”; o por Macik et al. [359] “el biofertilizante es un microorganismo individual que ejerce propiedades de promoción del crecimiento de las plantas … se refiere a un producto compuesto por cepas beneficiosas, que son útiles para la movilización de nutrientes, incluidas en un portador, que poseen características que permitir su almacenamiento en el tiempo especificado por el productor, y listo para su aplicación efectiva al suelo o planta”.

Justificación y Objetivos de la Tesis

Independientemente de la definición por la que optemos, lo importante es que ya se conocían desde el siglo pasado cuando Kloepfer y Schroth [360] acuñaron el término RPCP para hacer mención a las especies bacterianas presentes en la rizosfera que ejercían un efecto beneficioso sobre el crecimiento de los cultivos. El término homólogo para las especies fúngicas (HPCP) fue empleado por primera vez por en 1994 por Hyakumachi [361]. Dentro de los RPCP destacan los géneros *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Serratia* [5,362]. Entre los HPCP se incluyen los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma*, *Piriformospora*, *Rhizoctonia* y *Trichoderma* [363,364]. Son muchos los beneficios asociados a estos microorganismos promotores del crecimiento vegetal como el incremento de la disponibilidad de nutrientes, la estimulación mediante la síntesis de fitohormonas y mejorando la fertilidad general del suelo [5,243,364,365]. A continuación, se describen algunos de estos mecanismos.

Para el aprovechamiento del N₂ atmosférico (no disponible), el empleo de microorganismos fijadores de nitrógenos es una opción ampliamente estudiada. Estos pueden dividirse en simbióticos y no simbióticos [5]. Dentro de los primeros destaca la familia *Rhizobium* caracterizada por formar nódulos en el sistema radicular de las leguminosas capaz de fijar el N₂ atmosférico a cambio de fotoasimilados [366]. Entre los no simbióticos encontramos un grupo de procariotas endófitas o de vida libre que reciben el nombre de diazótrofos, que permiten reducir el N₂ a NH₃ para facilitar su asimilación [367].

Algunos ejemplos de la simbiosis *Rhizobium* - leguminosas incluyen las especies *Bradyrhizobium arachidis* y *B. liaoningense* que mejoraron tanto el crecimiento como el rendimiento de plantas de cacahuete como consecuencia de una mayor disponibilidad de N [368]. Además el cultivo intercalado (maíz - haba) con especies de leguminosas inoculadas con *Rhizobium leguminosarum* incrementa la fijación biológica de N₂ del sistema, traduciéndose en un mayor rendimiento no solo de la leguminosa sino también del cereal [369].

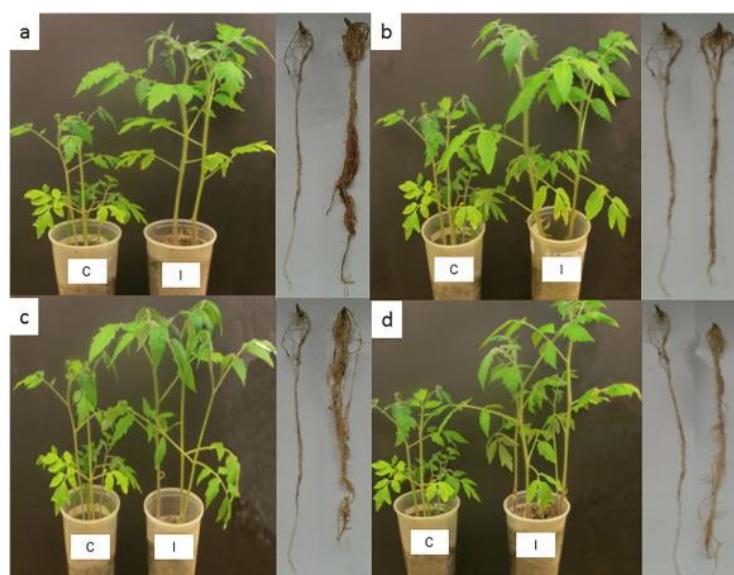


Imagen 7. Ensayo de promoción del crecimiento vegetal in vivo de plantas de tomate inoculadas (I) con cuatro cepas de *T. harzianum* (a, b, c y d) frente a plantas control (C) no inoculadas (Fuente: Bader et al. [397])

En cuanto a las bacterias de vida libre la inoculación con *Azospirillum brasilense* [370] o *Azotobacter chroococcum* [371] mejoraron la eficiencia en el uso de N y su contenido total en plantas de maíz. Otras especies como *Bacillus pumilus* también permiten una mejor absorción de N debido a una mayor concentración de NH₄⁺ en el suelo en cultivos de tomate bajo condiciones de fertilización convencional [372]. Además, de Carvalho et al. [373] demostraron que la combinación de ambos tipos (*Rhizobium tropici*, *Bradyrhizobium elkanii* y *A. brasilense*) muestran un efecto sinérgico en cultivos de judía.

Aunque es una función propia de las bacterias, algunas especies de hongos también pueden incrementar la disponibilidad de N a través de la síntesis de nitrogenasas. Por ejemplo, los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) como *Funneliformis mosseae* y *Diversispora versiformis* pueden aumentar los niveles de N en las raíces colonizadas [374]. Otras especies de hongos que presentan este tipo de aptitudes son *Phomopsis liquidambari* [375]; *Colletotrichum tropicale* [376]; *Mycena* spp. [377]; o *Phialocephala* spp., *Chloridium* spp. y *Talaromyces* spp. [378].

En cuanto al P se conocen dos vías alternativas para su solubilización y asimilación por parte de los cultivos, según sean de origen inorgánico u orgánico [379]. El P inorgánico se solubiliza como consecuencia de la liberación de ácidos orgánicos de bajo peso molecular (acético, butírico, cítrico, fórmico, glucónico, málico, oxálico, propanodioico, succínico y tartárico), por parte de bacterias y hongos, que disminuyen el pH del medio permitiendo su asimilación [380,381]. Por su parte, la mineralización del P orgánico esta mediada por la síntesis microbiana de enzimas como las fosfatasas y las fitasas [382].

Entre los microorganismos solubilizadores de P encontramos las bacterias *Azotobacter* spp. [382]; *Bacillus* spp. [383] y *Bacillus subtilis* [384]; *Burkholderia cenocepacia* [385] y *B. multivorans* [386]; *Pseudomonas libanensis* [387] y *P. aeruginosa* [388]; *Azospirillum* spp., *Erwinia* spp., *Paenibacillus* spp., *Ralstonia* spp., *Rhizobium* spp., y *Streptomyces* spp. [389]. Y los hongos *Aspergillus niger* [382], *A. terreus* [390] y *A. tubingensis* [391]; *Penicillium brevicompactum*, *P. waksmanii* [392] y *P. oxalicum* [393]; *Piriformospora indica* [394,395]; *Talaromyces islandicus* [391] y *T. pinophilus* [396]; *Trichoderma harzianum* [397], *T. viride* [398] y *T. koningiopsis* [399]; y, por supuesto, los HMAs [400-402].

En cuanto al último de los tres macronutrientes principales, el K, numerosas especies microbianas permiten la solubilización de este elemento (mediante la síntesis de ácidos cítrico, fumárico, glucónico y oxálico), liberándolo del complejo de cambio y de elementos minerales como silicatos de arcilla, mica y feldespato [365,403,404]. *Acidithiobacillus thiooxidans* [405]; *Bacillus cereus* [406] y *B. pseudomycoïdes* [407]; *Burkholderia* sp. [408] y *B. cenocepacia* [409]; *Klebsiella pneumoniae* [410]; y *P. libanensis* [365], son algunas especies bacterianas con capacidad para solubilizar K del medio. En cuanto a los hongos, *Aspergillus aculeatus* [411] y *A. niger* [412]; *Cladosporium* sp. [404,413]; HMA [414,415]; *Penicillium* sp. [416] y *P. pinophilum* [417]; y *Trichoderma longibrachiatum* [403], entre otros muchos, destacan por su capacidad de solubilizar K y aumentar su disponibilidad.

Justificación y Objetivos de la Tesis

Además de macronutrientes, los microorganismos también incrementan los contenidos de micronutrientes en el suelo, como en el caso del Fe. Esto es posible gracias a la liberación de sideróforos. Los sideróforos (del griego sidero o hierro y phore o portador) son compuestos de estructura proteica de bajo peso molecular (< 10 KDa) secretados por bacterias y hongos. Estos metabolitos secundarios presentan una gran afinidad por los iones férricos con los cuales forman quelatos fácilmente asimilables por las plantas [418-420]. Según Khan et al. [418], los sideróforos pueden clasificarse en carboxilato, catecolato e hidroxamato (como la vibrioferina, la enterobactina o la deferoxamina respectivamente) producidas por agentes microbianos, y los fitosideróforos (como el ácido mugineico), secretadas por las plantas.

Prácticamente casi todas las especies bacterianas y fúngicas producen sideróforos, como *Azospirillum doebereinerae*, *A. brasiliense*, *A. formosense* y *A. himalayense* [421]; *Bacillus circulance*, *B. coagulanse*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *Pseudomonas fluroscence* y *P. koreensis* [422]; *Burkholderia arboris*, *B. contaminans*, *B. gladiolos*, *B. metallica*, *B. ubonensis*, *Paraburkholderia dilworthii*, *P. graminis*, *P. kirstenboschensis*, *P. rhynchosiae* y *Trinickia dinghuensis* [423]; *Chaetomium interruptum*, *Coniothyrium* sp., *Epicoccum nigrum*, *Lecanicillium lecanii*, *Quambalaria cyanescens*, *Trichoderma atroviride*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* y *Truncatella angustata* [424]; *Aspergillus versicolor*, *F. oxysporum*, *Metarhizium anisopliae*, *Mortierella turficola*, *Penicillium commune*, *Rhodosporidium toruloides* y *T. harzianum* [425].

Por último, los bioestimulantes vegetales pueden promocionar el crecimiento de los cultivos y paliar el efecto de estreses abióticos por medio de la síntesis de fitohormonas como auxinas, citoquininas (CK), ácido abscísico (ABA) y ácido giberélico (AG) [426,427]. Dentro de las auxinas la más importante es el ácido indol-3-acético (AIA) sintetizado tanto por especies bacterianas como fúngicas de muy diversos géneros [428-434]; y ANA o ácido naftalenacético [435,436]. Del mismo modo, numerosos microorganismos son capaces de producir CK promotoras del crecimiento vegetal [437-439]. Igual ocurre con las fitohormonas de origen microbiano ABA [440-442] y el AG [443-445].

- **Empleo de bioplaguicidas para limitar el empleo de pesticidas químicos:** El término bioplaguicida puede variar según los países e incluso regiones bajo distinta legislación [446]. Una definición somera y superficial de bioplaguicida hace referencia a compuestos de origen biológico que son producidos de forma industrial para mitigar los efectos de patógenos desde una perspectiva ecológica [446,447]. Desde este punto de vista pueden catalogarse en varios tipos: 1) Plaguicidas microbianos, que incluyen microorganismos como ingrediente activo; 2) Protectores incorporados en plantas, donde la protección se confiere a la planta mediante transgénesis (toxina Bt, por ejemplo); y 3) Plaguicidas bioquímicos, que incluyen compuestos químicos de origen natural como las feromonas [448,449].

En este apartado nos centramos en el primer grupo. Los biopesticidas microbianos (también conocidos como ACB) son bacterias, hongos, levaduras, protozoos o virus (o sus metabolitos) que pueden controlar o inhibir el desarrollo de patógenos vegetales como plagas, enfermedades o malas hierbas [450-452]. Este tipo de productos puede aplicarse mediante recubrimiento de semillas, inmersión de raíces, aporte directo al suelo o aplicación foliar, según el patógeno a controlar [453]. Se caracterizan por que son inocuos para los vertebrados (siendo inofensivos para los humanos y el ganado) y organismos no objetivo, ya que no generan residuos tóxicos. Además son económicamente más rentables de producir que los pesticidas químicos [447,452]. Estos microorganismos pueden presentar uno o varios mecanismos de control incluyendo la antibiosis, la competencia, el hiperparasitismo o micoparasitismo, Resistencia Sistémica Inducida (RSI) y Resistencia Sistémica Adquirida (RSA) [173,454,455].

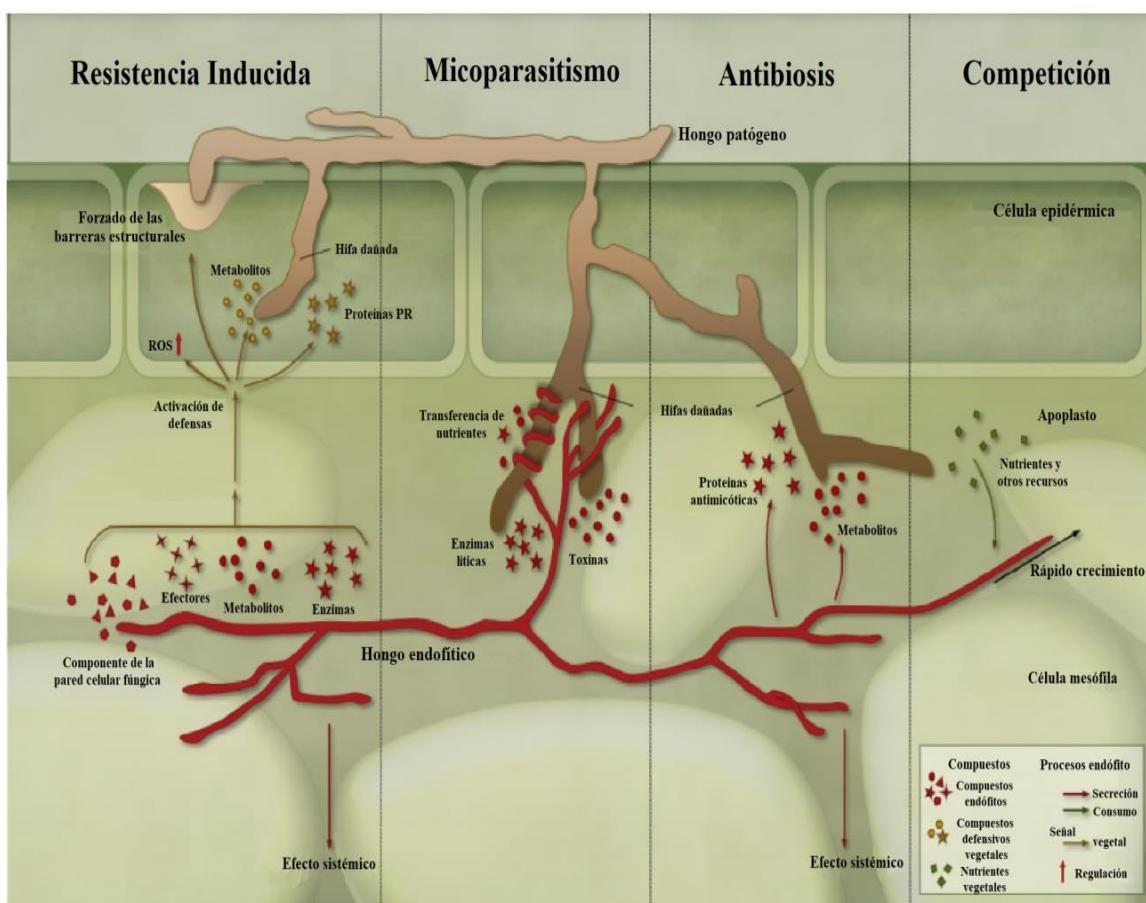


Imagen 8. Mecanismos fúngicos de control biológico (Fuente: Modificado de Latz et al. [468])

Antibiosis: Es un mecanismo importante dentro del control biológico en el que los microorganismos antagonistas generan una serie de metabolitos antimicrobianos (tales como antibióticos, compuestos volátiles o toxinas varias) capaces de inhibir el desarrollo o incluso matar a agentes fitopatógenos [454,456,457]. Algunos de estos compuestos son la gliotoxina sintetizada por *T. virens* capaz de controlar hongos fitopatógenos como *Sclerotium rolfsii* [458] o *Phytophthora capsici* [459]; o las tricodermarinas G - N y tricotecenos producidas por diversas especies de *Trichoderma* (como *T. brevicompactum* y *T. koningiopsis*) eficaz frente a numerosos patógenos vegetales como *Aspergillus fumigatus*, *Botrytis cinerea*, *Cochliobolus miyabeanus*, *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, *Phomopsis asparagi* y *Pyricularia oryzae* [460,461]. Otras especies, como *Paecilomyces variotii*, producen ácido dipicolínico que inhibe el desarrollo de *F. oxysporum* y *V. dahliae* [462].

En cuanto a las bacterias, algunos antibióticos (como la iturrina A o la esfingofusina E - F) producidos por *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens* permiten el control de enfermedades fúngicas como *Aspergillus carbonarius* [463]; *Colletotrichum gloeosporioides* [464]; o *F. oxysporum* f. sp. *niveum* [465]. O la síntesis de fenazinas por parte de *Pseudomonas chlororaphis* y *P. fluorescens* para el biocontrol de *Alternaria brassicae*, *B. cinerea*, *Colletotrichum graminícola*, *Fusarium graminearum*, *F. oxysporum*, *Penicillium expansum*, *P. capsici*, *P. ultimum*, *R. solani*, *Sclerotinia minor* y *S. sclerotiorum* [466,467].

Competición: Como su nombre indica, este mecanismo se basa en la competición por los recursos existentes (espacio y nutrientes) entre patógenos y ACB, principalmente en nichos específicos como la rizosfera o diversos órganos vegetales [454]. Un potente sistema metabólico y el desarrollo de elevadas densidades de población asociado a un rápido crecimiento son aptitudes esenciales que deben presentar los ACB para conseguir una competición eficaz por los recursos [454,455]. No obstante, aunque la exclusión de nicho es un mecanismo común en muchos ACB parece ser que este nunca ocurre solo, sino más bien en conjunto con el resto de mecanismos [468].

Un ejemplo de competencia por el espacio, lo obtenemos en el ensayo de Tan et al. [469] donde la colonización de la rizosfera y sus inmediaciones por la bacteria *B. amyloliquefaciens* en un elevado número impide el ataque de la bacteria fitopatógena *Ralstonia solanacearum*. En el mismo sentido, Zapata-Sarmiento et al. [470] observaron en ensayos de cultivo dual que *Trichoderma asperellum* ejerce una fuerte competencia por el sustrato en el co-cultivo con *Stemphylium vesicarium*. En cuanto a la competencia por nutrientes mención aparte merecen los sideróforos.

Puesto que el Fe es un elemento esencial para el desarrollo de especies microbianas, la liberación al medio de este tipo de compuestos bloquea la captación de Fe por parte de especies patógenas [471]. Este fenómeno se ha observado en ensayos *in vitro*, donde la producción del sideróforo ferritina de *Brevibacillus brevis* inhibía el desarrollo de *Candida albicans* [472]. Di Francesco y Baraldi [473] obtuvieron resultados prometedores, tanto *in vitro* como *in vivo*, para el control de *Monilinia laxa* en el almacenamiento de melocotones poscosecha gracias a la competencia por el Fe con *Aureobasidium pullulans*, mediada por

sideróforos. Por último, el empleo de consorcios microbianos, con capacidad para sintetizar sideróforos, se mostó efectivo para la supresión de *R. solanacearum* en la rizosfera de plantas de tomate [474,475].

Hiperparasitismo: El hiperparasitismo ocurre cuando un parásito, o agente patógeno, es parasitado por otra especie, o ACB [476]. El término micoparasitismo hace referencia al ataque de hongos beneficiosos sobre especies fitopatógenas fúngicas [454]. Este mecanismo puede realizarse por dos vías complementarias. La primera consiste en una acción mecánica en la que el micelio del ACB se desarrolla a costa de las estructuras de un huésped mediante la formación de órganos especiales llamados apresorios, como en el parasitismo de *T. koningii* sobre *R. solani* [477]; y *T. virens* sobre *S. rolfsii* [478]; o los producidos por el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* frente a *Frankliniella occidentalis* [479].

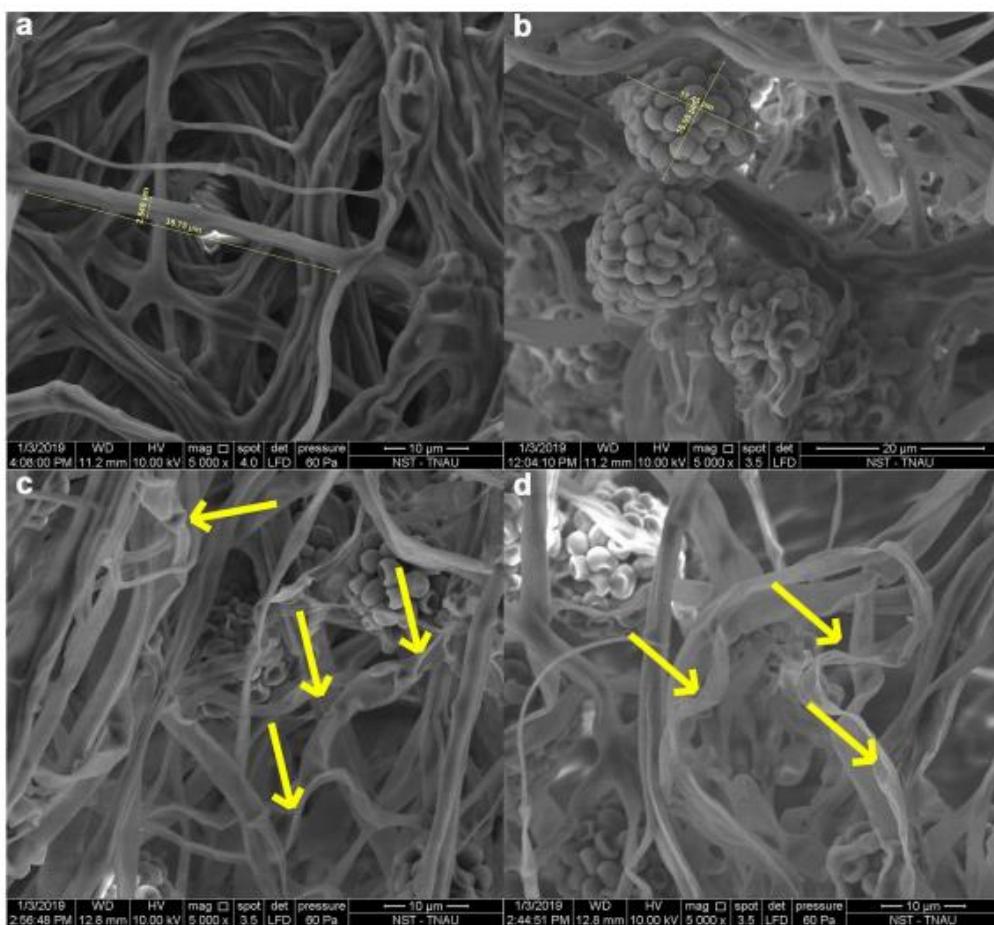


Imagen 9. Fotografías tomadas con microscopio electrónico de barrido de: a) Hifas de *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* sanas; b) Hifas y conidióforos de *T. koningiopsis*; c) y d) Daños producidos (flechas amarillas) por el micoparasitismo de *T. koningiopsis* sobre el patógeno (Fuente: Sreenayana et al. [445])

La segunda constituye una vía química mediante la secreción, tanto por especies bacterianas como fúngicas, de enzimas hidrolíticas capaces de degradar las paredes celulares como las quitinasas liberadas por *B. subtilis* para el control de *Alternaria alternata* y *F. oxysporum* [480]; o *T. asperellum* frente a *Colletotrichum* sp. y *S. rolfsii* [481]. La síntesis de celulasas (*B. bassiana*, *M. anisopliae* y *T. harzianum*) también se ha mostrado efectiva para el control biológico del nematodo agallador *Meloidogyne javanica* [482]. Otra enzima microbiana, como la β-1,3-glucanasa, permite el control de patógenos como los ensayos realizados con *Paenibacillus terrae* frente a *Magnaporthe oryzae* [483]; y *Trichoderma asperelloides* frente a *Stagonosporopsis cucurbitacearum* [484]. Un último grupo de enzimas, las proteasas, inhiben el desarrollo de *B. cinerea* mediante la síntesis de una serina proteasa por parte de *Bacillus licheniformis* [485]; o impiden la eclosión de huevos de *M. incognita* por la actividad enzimática de *Metarhizium guizhouense* [486].

RSI y RSA: Los métodos de defensa mediados por estímulos externos a la planta se dividen en RSI y RSA. Ambos mecanismos se diferencian por el tipo de agente inductor y por las vías metabólicas implicadas [487]. Mientras que la RSA depende de la vía del ácido salicílico (AS), la RSI es independiente de esta y está mediado por fitohormonas como el ácido jasmónico (AJ) y etileno (ET) [454,488]. En cuanto al agente inductor, mientras que la RSA se produce por el ataque de patógenos necróticos generando una respuesta de defensa para la segunda infección, la RSI generalmente se desencadena como respuesta a la colonización de microbios beneficiosos [454,487]. Entre los procesos asociados a la RSI se encuentra la generación por parte de la planta de fenoles, fitoalexinas, ERO, proteínas relacionadas con la patogenicidad (PR) o la modificación estructural y fisiológica de las células vegetales. Todos estos cambios se encuentran influenciados por la liberación de una serie de elicidores por parte de los ACB [489]. Por su parte, los principales compuestos inductores sintetizados por los microorganismos incluyen compuestos antibióticos, lipopolisacáridos, lipopéptidos y sideróforos [490].

A modo de ejemplo, se ha demostrado que *B. cereus* induce RSI en *Arabidopsis* frente a *B. cinerea*. Este proceso ocurre gracias a la vía de señalización AJ – ET que permite la producción de peróxido de hidrógeno y callosa en el cultivo y la expresión de proteínas PR [491]. En plantas de tomate *B. subtilis* indujo RSI frente a *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, *P. ultimum* y *R. solani* al activar conjuntamente las vías de señalización de AS y AJ - ET [492]. Las especies fúngicas también pueden ser inductoras, como la resistencia generada en tomate frente a *B. cinerea* y *Phytophthora infestans* tras la aplicación de *T. harzianum* [493]; la acumulación de callosa en plantas de tabaco tras la inoculación con extracto de *Penicillium chrysogenum*, generó resistencia frente al VMT o Virus del Mosaico del Tabaco [494]; o la síntesis de callosa y AJ en plantas de tomate que indujo RSI mediada por el HMA *Rhizoglonus irregularis* frente al patógeno *B. cinerea* [495]. Finalmente, la RSI asociada a ACB también puede servir como método de defensa contra insectos masticadores o picadores al favorecer la producción de flavonoides y peroxidases que aumentan la lignificación de los tejidos vegetales [496]. En este sentido, Rashid et al. [497] confirmó la acumulación de callosa y peroxidases en planta de *Arabidopsis* inoculadas con *Bacillus velezensis* que generaban RSI frente al pulgón *M. persicae* disminuyendo su alimentación y reproducción.

3.3. Productos biológicos a base de microorganismos comercializados actualmente en España

Según lo descrito en el apartado anterior, en España existen numerosos productos comercializados a base de microorganismos (tanto bioplaguicidas como biofertilizantes). En las tablas 2 y 3 se muestran todas las especies comercializadas para tal fin (en el Anexo II de la presente tesis se describe más detalladamente todos los productos disponibles incluyendo nombre del producto, fabricante, especie - cepa y plaga o cultivo objetivo).



Imagen 10. Biofungicida Trianum-P (izquierda, Fuente: [498]), bioinsecticida Belthirul (centro, Fuente: [499]) y biofertilizante Bioradis Sol (derecha, Fuente: [500])

Tabla 2. Especies microbianas comercializadas en España como fitosanitarios (Fuente: [501])

PRODUCTO FITOSANITARIO	
Tipo de microorganismo	Especie microbiana
Bacterias	<i>Aureobasidium pullulans</i>
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
	<i>Bacillus firmus</i>
	<i>Bacillus pumilus</i>
	<i>Bacillus subtilis</i>
	<i>Bacillus thuringiensis aizawai</i>
	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>
	<i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i>
	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
	<i>Beauveria bassiana</i>
Hongos y Oomicetos	<i>Gliocladium catenulatum</i>
	<i>Isaria fumosorosea</i>
	<i>Lecanicillium muscarium</i>
	<i>Metarhizium anisopliae</i>
	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
	<i>Paecilomyces lilacinus</i>
	<i>Pythium oligandrum</i>
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	<i>Trichoderma asperellum</i>
	<i>Trichoderma atroviride</i>
Virus	<i>Trichoderma gamsii</i>
	<i>Trichoderma harzianum rifai</i>
	Granulovirus de <i>Cydia pomonella</i>
	Virus del mosaico del pepino dulce
Nucleopolyedrovirus de <i>Helicoverpa armigera</i>	
Nucleopolyedrovirus de <i>Spodoptera littoralis</i>	

Justificación y Objetivos de la Tesis

Tabla 3. Especies microbianas comercializadas en España como biofertilizantes y abonos (Fuente: [502])

PRODUCTOS BIOFERTILIZANTES	
Tipo de microorganismo	Especie microbiana
Bacterias	<i>Achromobacter veterisilvae</i>
	<i>Azospirillum brasiliense</i>
	<i>Azotobacter chroococcum</i>
	<i>Bacillus altitudinis</i>
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
	<i>Bacillus licheniformis</i>
	<i>Bacillus megaterium</i>
	<i>Bacillus methylotrophicus</i>
	<i>Bacillus mojavensis</i>
	<i>Bacillus pumilus</i>
	<i>Bacillus safensis</i>
	<i>Bacillus siamensis</i>
	<i>Bacillus subtilis</i>
	<i>Bacillus velezensis</i>
	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>
	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
	<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i>
	<i>Methylobacterium symbioticum</i>
	<i>Pantoea dispersa</i>
Hongos	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	<i>Pseudomonas koreensis</i>
	<i>Pseudomonas putida</i>
	<i>Rhizobium leguminosarum</i>
	<i>Rhizobium phaseoli</i>
Micorrizas	<i>Rhizobium rizobiaceae</i>
	<i>Rhodopsudomonas palustris</i>
	<i>Penicillium bilaiae</i>
	<i>Pochonia chlamydosporia</i>
	<i>Trichoderma harzianum</i>
	<i>Trichoderma koningiopsis</i>
	<i>Trichoderma saturnisporum</i>
	<i>Scharomyces cerevisiae</i>
	<i>Claroideoglomus etunicatum</i>
	<i>Claroideoglomus claroideu</i>

	<i>Funneliformis mosseae</i>
	<i>Glomus iranicum</i>
	<i>Oidiodendron maius</i>
	<i>Phialocephala fortinii</i>
	<i>Rhizoglonus irregulare</i>
	<i>Rhizophagus irregularis</i>
	<i>Septoglonus deserticola</i>

4. Objetivos de la Tesis

El objetivo general es contribuir al desarrollo de nuevos formulados microbianos de uso en la agricultura, tanto para la promoción del crecimiento vegetal como para la protección contra enfermedades. Para ello se persiguen los siguientes objetivos específicos:

- **Objetivo 1. Determinación de la actividad promotora del crecimiento de plantas:** Para ello se realizará la evaluación de la capacidad bioestimulante de los aislados sobre semillas de cultivos hortícolas de importancia en agricultura intensiva. Así como del efecto bioestimulante sobre plántulas hortícolas producidas en un semillero comercial, y los efectos de aplicación de ACBs sobre la morfología, calidad y los parámetros de rendimiento en los cultivos bajo invernadero.
- **Objetivo 2. Determinación de la actividad de biocontrol frente a enfermedades:** De esta forma se llevará a cabo la determinación *in vitro* e *in vivo* de la capacidad antagonista de los hongos seleccionados frente a fitopatógenos edáficos y aéreos de importancia en agricultura para los cultivos hortícolas.
- **Objetivo 3. Proceso de escalado industrial:** Mediante la determinación de las condiciones y puntos críticos para obtener el máximo rendimiento de producción en fermentación en medio sólido a escala piloto. Para ello se evaluará la selección y el acondicionamiento de sustratos, la optimización de inóculo de partida, la viabilidad de nuevos formulados y la compatibilidad de los ACBs seleccionados con fitosanitarios en estrategias de GIP.

Referencias:

1. Prashar, P.; Shah, S. Impact of fertilizers and pesticides on soil microflora in agriculture. In *Sustainable Agriculture Ereviews* **2016**, 331–361
2. van Lenteren, J. C.; Bolckmans, K.; Köhl, J.; Ravensberg, W. J.; Urbaneja, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *Biol. Control* **2018**, 63(1), 39–59.
3. Tahat, M.; M Alananbeh, K.; A Othman, Y.; I Leskovar, D. Soil health and sustainable agriculture. *Sustainability* **2020**, 12(12), 4859.
4. Glick, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica* **2012**, 2012, 963401.
5. Mahanty, T.; Bhattacharjee, S.; Goswami, M.; Bhattacharyya, P.; Das, B.; Ghosh, A.; Tribedi, P. Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2017**, 24(4), 3315–3335.
6. Kumar, D.; Kalita, P. Reducing postharvest losses during storage of grain crops to strengthen food security in developing countries. *Foods* **2017**, 6(1), 8.
7. Yadav, A. N.; Kour, D.; Kaur, T.; Devi, R.; Guleria, G.; Rana, K. L.; Rastegari, A. A. Microbial biotechnology for sustainable agriculture: current research and future challenges. In: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* **2020**, 331–344.

Justificación y Objetivos de la Tesis

8. Etesami, H.; Maheshwari, D. K. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2018**, *156*, 225–246.
9. Rasool, S.; Hameed, A.; Azooz, M. M.; Siddiqi, T. O.; Ahmad, P. Salt stress: causes, types and responses of plants. In *Ecophysiology and Responses of Plants Under Salt Stress* **2013**, 1–24
10. Naveed, M.; Mitter, B.; Reichenauer, T. G.; Wieczorek, K.; Sessitsch, A. Increased drought stress resilience of maize through endophytic colonization by *Burkholderia phytofirmans* PsJN and *Enterobacter* sp. FD17. *Environ. Exp. Bot.* **2014**, *97*, 30–39.
11. Lesk, C.; Rowhani, P.; Ramankutty, N. Influence of extreme weather disasters on global crop production. *Nature* **2016**, *529*(7584), 84–87.
12. Ngumbi, E.; Kloepfer, J. Bacterial-mediated drought tolerance: current and future prospects. *Appl. Soil Ecol.* **2016**, *105*, 109–125.
13. Oerke, E. C. Crop losses to pests. *J. Agric. Sci.* **2006**, *144*(1), 31–43.
14. Sharma, S.; Kooner, R.; Arora, R. Insect pests and crop losses. In *Breeding Insect Resistant Crops for Sustainable Agriculture* **2017**, 45–66.
15. Bebber, D. P.; Ramotowski, M. A.; Gurr, S. J. Crop pests and pathogens move polewards in a warming world. *Nat. Clim. Change* **2013**, *3*(11), 985–988.
16. Mahmood, I.; Imadi, S. R.; Shazadi, K.; Gul, A.; Hakeem, K. R. Effects of pesticides on environment. In *Plant, Soil and Microbes* **2016**, 253–269.
17. Brzozowski, L.; Mazourek, M. A sustainable agricultural future relies on the transition to organic agroecological pest management. *Sustainability* **2018**, *10*(6), 2023.
18. De, A.; Bose, R.; Kumar, A.; Mozumdar, S. Worldwide pesticide use. In *Targeted Delivery of Pesticides Using Biodegradable Polymeric Nanoparticles* **2014**, 5-6.
19. Popp, J.; Pető, K.; Nagy, J. Pesticide productivity and food security. A review. *Agron. Sustainable Dev.* **2013**, *33*(1), 243–255.
20. Culliney, T. W. Crop losses to arthropods. In *Integrated Pest Management* **2014**, 201–225
21. Lal, R. Restoring soil quality to mitigate soil degradation. *Sustainability* **2015**, *7*(5), 5875–5895.
22. Pretty, J.; Bharucha, Z. P. Integrated pest management for sustainable intensification of agriculture in Asia and Africa. *Insects* **2015**, *6*(1), 152–182.
23. Nicolopoulou-Stamati, P.; Maipas, S.; Kotampasi, C.; Stamatis, P.; Hens, L. Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. *Front. Public Health* **2016**, *4*, 148.
24. Mantzoukas, S.; Eliopoulos, P. A. Endophytic entomopathogenic fungi: A valuable biological control tool against plant pests. *Appl. Sci.* **2020**, *10*(1), 360.
25. Sharma, N.; Singhvi, R. Effects of chemical fertilizers and pesticides on human health and environment: a review. *Inter. J. Agric. Environ. Biotechnol.* **2017**, *10*(6), 675–680.
26. Pimentel, D.; Burgess, M. Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. In *Integrated Pest Management* **2014**, 47–71
27. Özkar, A.; Akyil, D.; Konuk, M. Pesticides, environmental pollution, and health. In *Environmental Health Risk-Hazardous Factors to Living Species*, Ed. Larramendy M.L. Soloneski, S. IntechOpen. London, U.K. 2016. Chapter 1. Pp: 3-27.
28. Miloš, S.; Jurković, Z.; Raspudić, E.; Lončarić, Z. Risk assessment of pesticide residues in food on Croatian market: Should we worry. *J. Hyg. Eng.* **2014**, *8*, 74–81.
29. Blaznik, U.; Yngve, A.; Eržen, I.; Ribić, C. H. Consumption of fruits and vegetables and probabilistic assessment of the cumulative acute exposure to organophosphorus and

- carbamate pesticides of schoolchildren in Slovenia. *Public Health Nutr.* **2016**, *19*(3), 557–563.
- 30.** Mutengwe, M. T.; Chidamba, L.; Korsten, L. Pesticide residue monitoring on South African fresh produce exported over a 6-year period. *J. Food Prot.* **2016**, *79*(10), 1759–1766.
 - 31.** Mebrouki, S.; Zerrouki, H.; Belfar, M. L.; Douadi, A.; Moussaoui, Y. Determination of trace residues level of pesticides in some vegetables growing in Algeria by GC/ μ ECD and GC/MS. *J. Fundam. Appl. Sci.* **2021**, *13*(1), 453–467.
 - 32.** Kortenkamp, A. Ten years of mixing cocktails: a review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals. *Environ. Health Perspect.* **2007**, *115*(1), 98–105.
 - 33.** Drakvik, E.; Altenburger, R.; Aoki, Y.; Backhaus, T.; Bahadori, T.; Barouki, R.; Bergman, Å. Statement on advancing the assessment of chemical mixtures and their risks for human health and the environment. *Environ. Int.* **2020**, *134*, 105267.
 - 34.** Jia, C.; Jukes, D. The national food safety control system of China—a systematic review. *Food Control* **2013**, *32*(1), 236–245.
 - 35.** Zhang, J.; Qin, J.; Zhao, C.; Liu, C.; Xie, H.; Liang, S. Response of bacteria and fungi in soil microcosm under the presence of pesticide endosulfan. *Water Air Soil Pollut.* **2015**, *226*(4), 1–9.
 - 36.** Devarinti, S. R. Natural farming: Eco-friendly and sustainable. *Agrotechnology* **2016**, *5*, 147.
 - 37.** Pathak, D. V.; Yadav, R.; Kumar, M. Microbial pesticides: development, prospects and popularization in India. In *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives* **2017**, 455–471
 - 38.** Heap, I. Global perspective of herbicide-resistant weeds. *Pest Manag. Sci.* **2014**, *70*(9), 1306–1315.
 - 39.** Sparks, T. C.; Crossthwaite, A. J.; Nauen, R.; Banba, S.; Cordova, D.; Earley, F.; Wessels, F. J. Insecticides, biologics and nematicides: Updates to IRAC's mode of action classification—a tool for resistance management. *Pestic. Biochem. Physiol.* **2020**, *167*, 104587.
 - 40.** Dara, S. K. The new integrated pest management paradigm for the modern age. *J. Integr. Pest Manag.* **2019**, *10*(1), 12.
 - 41.** Alewu, B.; Nosiri, C. Pesticides and human health. In *Pesticides in the Modern World—Effects of Pesticides Exposure*. InTech **2011**, 231–250.
 - 42.** Roberts, J. R.; Reigart, J. R. Recognition and management of pesticide poisonings. **2013**
 - 43.** Turusov, V.; Rakitsky, V.; Tomatis, L. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): ubiquity, persistence, and risks. *Environ. Health Perspect.* **2002**, *110*(2), 125–128.
 - 44.** Rodriguez-Alcala, L. M.; Sa, C.; Pimentel, L. L.; Pestana, D.; Teixeira, D.; Faria, A.; Gomes, A. Endocrine disruptor DDE associated with a high-fat diet enhances the impairment of liver fatty acid composition in rats. *J. Agric. Food. Chem.* **2015**, *63*(42), 9341–9348.
 - 45.** Zhu, Y.; Huang, B.; Li, Q. X.; Wang, J. Organochlorine pesticides in follicular fluid of women undergoing assisted reproductive technologies from central China. *Environ. Pollut.* **2015**, *207*, 266–272.
 - 46.** Raslan, A. A.; Elbadry, S.; Darwish, W. S. Estimation and human health risk assessment of organochlorine pesticides in raw milk marketed in Zagazig city. *Egypt. J. Toxicol.* **2018**, *38*:21797.
 - 47.** Fukuda-Parr, S. Human Development Report 2001. Ed. Published for the United Nations Development Programme (UNDP). Oxford University Press 2001.
 - 48.** Mnif, W.; Hassine, A. I. H.; Bouaziz, A.; Bartegi, A.; Thomas, O.; Roig, B. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2011**, *8*(6), 2265–2303.

Justificación y Objetivos de la Tesis

49. Docea, A. O.; Vassilopoulou, L.; Fragou, D.; Arsene, A. L.; Fenga, C.; Kovatsi, L.; Drakoulis, N. CYP polymorphisms and pathological conditions related to chronic exposure to organochlorine pesticides. *Toxicol. Rep.* **2017**, *4*, 335–341.
50. Tiemann, U. *In vivo* and *in vitro* effects of the organochlorine pesticides DDT, TCPM, methoxychlor, and lindane on the female reproductive tract of mammals: a review. *Reprod. Toxicol.* **2008**, *25*(3), 316–326.
51. Abou Ghayda, R.; Sergeyev, O.; Burns, J. S.; Williams, P. L.; Lee, M. M.; Korrick, S. A.; Mínguez-Alarcón, L. Peripubertal serum concentrations of organochlorine pesticides and semen parameters in Russian young men. *Environ. Int.* **2020**, *144*, 106085.
52. Anand, M.; Taneja, A. Organochlorine pesticides residue in placenta and their influence on anthropometric measures of infants. *Environ. Res.* **2020**, *182*, 109106.
53. Karami-Mohajeri, S.; Abdollahi, M. Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: a systematic review. *Hum. Exp. Toxicol.* **2011**, *30*(9), 1119–1140.
54. Androutsopoulos, V. P.; Hernandez, A. F.; Liesivuori, J.; Tsatsakis, A. M. A mechanistic overview of health associated effects of low levels of organochlorine and organophosphorous pesticides. *Toxicology* **2013**, *307*, 89–94.
55. Ribeiro, T. S.; Carvalho, D. P.; Guimarães, M. T.; Campina, N. N.; Lobarinhas, M. R.; Lopes, A. L. J.; Braga, A. L. F. Prevalence of hypertension and its associated factors in contaminated areas of the Santos-São Vicente Estuarine region and Bertioga, Brazil: 2006–2009. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2016**, *23*(19), 19387–19396.
56. Carvalho, D. F. P.; Guimarães, M. T.; Ribeiro, T. S.; Campina, N. N.; Lobarinhas, M. R.; Lopes, A. J.; Braga, A. L. F. Prevalence of liver diseases as referred by people living in the Santos and São Vicente Estuary. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, *22*(19), 14579–14588.
57. Freire, C.; Koifman, R. J.; Koifman, S. Hematological and hepatic alterations in Brazilian population heavily exposed to organochlorine pesticides. *J. Toxicol. Environ. Health, Part A* **2015**, *78*(8), 534–548.
58. Chourasiya, S.; Khillare, P. S.; Jyethi, D. S. Health risk assessment of organochlorine pesticide exposure through dietary intake of vegetables grown in the periurban sites of Delhi, India. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, *22*(8), 5793–5806.
59. Robinson, T.; Ali, U.; Mahmood, A.; Chaudhry, M. J. I.; Li, J.; Zhang, G.; Malik, R. N. Concentrations and patterns of organochlorines (OCs) in various fish species from the Indus River, Pakistan: a human health risk assessment. *Sci. Total Environ.* **2016**, *541*, 1232–1242.
60. Baqar, M.; Sadef, Y.; Ahmad, S. R.; Mahmood, A.; Li, J.; Zhang, G. Organochlorine pesticides across the tributaries of River Ravi, Pakistan: Human health risk assessment through dermal exposure, ecological risks, source fingerprints and spatio-temporal distribution. *Sci.Total Environ.* **2018**, *618*, 291–305.
61. Cohn, B. A. Developmental and environmental origins of breast cancer: DDT as a case study. *Reprod. Toxicol.* **2011**, *31*(3), 302–311.
62. Eldakroory, S. A.; Morsi, D. E.; Abdel-Rahman, R. H.; Roshdy, S.; Gouida, M. S.; Khashaba, E. O. Correlation between toxic organochlorine pesticides and breast cancer. *Hum. Exp. Toxicol.* **2017**, *36*(12), 1326–1334.
63. Shah, H. K.; Bhat, M. A.; Sharma, T.; Banerjee, B. D.; Guleria, K. Delineating potential transcriptomic association with organochlorine pesticides in the etiology of epithelial ovarian cancer. *Open Biochem. J.* **2018**, *12*, 16.

64. Guida, Y.; de Carvalho, G. O.; Capella, R.; Pozo, K.; Lino, A. S.; Azeredo, A.; Meire, R. O. Atmospheric occurrence of organochlorine pesticides and inhalation cancer risk in urban areas at Southeast Brazil. *Environ. Pollut.* **2021**, *271*, 116359.
65. Abolhassani, M.; Asadikaram, G.; Paydar, P.; Fallah, H.; Aghaee-Afshar, M.; Moazed, V.; Moradi, A. Organochlorine and organophosphorous pesticides may induce colorectal cancer; A case-control study. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2019**, *178*, 168–177.
66. Kumar, S.; Kaushik, G.; Dar, M. A.; Nimesh, S.; Lopez-Chuken, U. J.; Villarreal-Chiu, J. F. Microbial degradation of organophosphate pesticides: a review. *Pedosphere* **2018**, *28*(2), 190–208.
67. Sidhu, G. K.; Singh, S.; Kumar, V.; Dhanjal, D. S.; Datta, S.; Singh, J. Toxicity, monitoring and biodegradation of organophosphate pesticides: a review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **2019**, *49*(13), 1135–1187.
68. Ali, N.; Khan, S.; ur Rahman, I.; Muhammad, S. Human health risk assessment through consumption of organophosphate pesticide-contaminated water of Peshawar basin, Pakistan. *Exposure Health* **2018**, *10*(4), 259–272.
69. Comfort, N.; Re, D. B. Sex-specific neurotoxic effects of organophosphate pesticides across the life course. *Curr. Environ. Health Rep.* **2017**, *4*(4), 392–404.
70. Monneret, C. What is an endocrine disruptor? *C. R. Biol.* **2017**, *340*(9–10), 403–405.
71. Yang, F. W.; Fang, B.; Pang, G. F.; Ren, F. Z. Organophosphorus pesticide triazophos: a new endocrine disruptor chemical of hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Pestic. Biochem. Physiol.* **2019**, *159*, 91–97.
72. Peris-Sampedro, F.; Blanco, J.; Cabré, M.; Basaure, P.; Guardia-Escote, L.; Domingo, J. L.; Colomina, M. T. New mechanistic insights on the metabolic-disruptor role of chlorpyrifos in apoE mice: A focus on insulin-and leptin-signalling pathways. *Arch. Toxicol.* **2018**, *92*(5), 1717–1728.
73. Ekremoğlu, M.; Sevencan, Ç.; Pasaoğlu, Ö. T.; Şen, B.; Pasaoğlu, H. An investigation of acute effects at various doses of malathion on glucose homeostasis and insulin resistance in rat liver, pancreas and serum. *J. Mind Med. Sci.* **2020**, *7*(1), 85–93.
74. Xu, M. Y.; Wang, P.; Sun, Y. J.; Yang, L.; Wu, Y. J. Joint toxicity of chlorpyrifos and cadmium on the oxidative stress and mitochondrial damage in neuronal cells. *Food Chem. Toxicol.* **2017**, *103*, 246–252.
75. Singh, N.; Lawana, V.; Luo, J.; Phong, P.; Abdalla, A.; Palanisamy, B.; Kanthasamy, A. Organophosphate pesticide chlorpyrifos impairs STAT1 signaling to induce dopaminergic neurotoxicity: Implications for mitochondria mediated oxidative stress signaling events. *Neurobiol. Dis.* **2018**, *117*, 82–113.
76. Saquib, Q.; Faisal, M.; Ansari, S. M.; Wahab, R. Phorate triggers oxidative stress and mitochondrial dysfunction to enhance micronuclei generation and DNA damage in human lymphocytes. *Saudi J. Biol. Sci.* **2019**, *26*(7), 1411–1417.
77. Li, D.; Huang, Q.; Lu, M.; Zhang, L.; Yang, Z.; Zong, M.; Tao, L. The organophosphate insecticide chlorpyrifos confers its genotoxic effects by inducing DNA damage and cell apoptosis. *Chemosphere* **2015**, *135*, 387–393.
78. Hung, D. Z.; Yang, H. J.; Li, Y. F.; Lin, C. L.; Chang, S. Y.; Sung, F. C.; Tai, S. C. The long-term effects of organophosphates poisoning as a risk factor of CVDs: a nationwide population-based cohort study. *PloS one* **2015**, *10*(9), e0137632.
79. Sun, H.; Sun, M. L.; Barr, D. B. Exposure to organophosphorus insecticides and increased risks of health and cancer in US women. *Environ Toxicol Pharmacol* **2020**, *80*, 103474.

Justificación y Objetivos de la Tesis

80. Miranda-Contreras, L.; Gómez-Pérez, R.; Rojas, G.; Cruz, I.; Berrueta, L.; Salmen, S.; Osuna, J. A. Occupational exposure to organophosphate and carbamate pesticides affects sperm chromatin integrity and reproductive hormone levels among Venezuelan farm workers. *J. Occup. Health* **2013**, *55*(3), 195–203.
81. Dhanushka, M. A.; Peiris, L. D. Cytotoxic and genotoxic effects of acephate on human sperm. *J. Toxicol.* **2017**, *3874817*.
82. Rauh, V. A.; Garcia, W. E.; Whyatt, R. M.; Horton, M. K.; Barr, D. B.; Louis, E. D. Prenatal exposure to the organophosphate pesticide chlorpyrifos and childhood tremor. *Neurotoxicology* **2015**, *51*, 80–86.
83. Wang, A.; Cockburn, M.; Ly, T. T.; Bronstein, J. M.; Ritz, B. The association between ambient exposure to organophosphates and Parkinson's disease risk. *Occup. Environ. Med.* **2014**, *71*(4), 275–281.
84. Paul, K. C.; Sinsheimer, J. S.; Cockburn, M.; Bronstein, J. M.; Bordelon, Y.; Ritz, B. Organophosphate pesticides and PON1 L55M in Parkinson's disease progression. *Environ. Int.* **2017**, *107*, 75–81.
85. Lin, J. N.; Lin, C. L.; Lin, M. C.; Lai, C. H.; Lin, H. H.; Yang, C. H.; Kao, C. H. Increased risk of dementia in patients with acute organophosphate and carbamate poisoning: a nationwide population-based cohort study. *Medicine* **2015**, *94*(29).
86. Hu, L.; Luo, D.; Zhou, T.; Tao, Y.; Feng, J.; Mei, S. The association between non-Hodgkin lymphoma and organophosphate pesticides exposure: A meta-analysis. *Environ. Pollut.* **2017**, *231*, 319–328.
87. Yang, K. J.; Lee, J.; Park, H. L. Organophosphate pesticide exposure and breast cancer risk: a rapid review of human, animal, and cell-based studies. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*(14), 5030.
88. Dhouib, I.; Jallouli, M.; Annabi, A.; Marzouki, S.; Gharbi, N.; Elfazaa, S.; Lasram, M. M. From immunotoxicity to carcinogenicity: the effects of carbamate pesticides on the immune system. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2016**, *23*(10), 9448–9458.
89. Jamal, F.; Haque, Q. S.; Singh, S.; Rastogi, S. K. The influence of organophosphate and carbamate on sperm chromatin and reproductive hormones among pesticide sprayers. *Toxicol. Ind. Health* **2018**, *32*, 1527.
90. Dhouib, E. B.; Annabi, A.; Jrad, A.; El-Golli, N.; Gharbi, N.; Lasram, M. M.; El-Fazaa, S. Carbosulfan-induced oxidative damage following subchronic exposure and the protective effects of N-acetylcysteine in rats. *Gen. Physiol. Biophys.* **2015**, *34*(3), 249–261.
91. Silberman J, Taylor A. Carbamate Toxicity. [Updated 2018 Oct 27]. In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): 2019 Jan
92. Piel, C.; Pouchieu, C.; Migault, L.; Béziat, B.; Boulanger, M.; Bureau, M.; Baldi, I. Increased risk of central nervous system tumours with carbamate insecticide use in the prospective cohort AGRICAN. *Int. J. Epidemiol.* **2019**, *48*(2), 512–526.
93. Koutros, S.; Harris, S. A.; Spinelli, J. J.; Blair, A.; McLaughlin, J. R.; Zahm, S. H.; Freeman, L. E. B. Non-Hodgkin lymphoma risk and organophosphate and carbamate insecticide use in the north American pooled project. *Environ. Int.* **2019**, *127*, 199–205.
94. Jin, Y.; Wang, L.; Chen, G.; Lin, X.; Miao, W.; Fu, Z. Exposure of mice to atrazine and its metabolite diaminochlorotriazine elicits oxidative stress and endocrine disruption. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2014**, *37*(2), 782–790.
95. Park, S. E.; Lim, S. R.; Choi, H. K.; Bae, J. Triazine herbicides inhibit relaxin signaling and disrupt nitric oxide homeostasis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2016**, *307*, 10–18.

96. Jurewicz, J.; Radwan, M.; Wielgomas, B.; Sobala, W.; Piskunowicz, M.; Radwan, P.; Hanke, W. The effect of environmental exposure to pyrethroids and DNA damage in human sperm. *Syst. Biol. Reprod. Med.* **2015**, *61*(1), 37–43.
97. Dantas, T. A.; Cancian, G.; Neodini, D. N. R.; Mano, D. R. S.; Capucho, C.; Predes, F. S.; Severi-Aguiar, G. D. C. Leydig cell number and sperm production decrease induced by chronic ametryn exposure: a negative impact on animal reproductive health. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, *22*(11), 8526–8535.
98. Syed, F.; John, P. J.; Soni, I. Neurodevelopmental consequences of gestational and lactational exposure to pyrethroids in rats. *Environ. Toxicol.* **2016**, *31*(12), 1761–1770.
99. Köhler, H. R.; Triebeskorn, R. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond? *Science* **2013**, *341*(6147), 759–765.
100. Stocker, T.; Qin, D.; Plattner, G.; Tignor, M.; Allen, S.; Boschung, J.; Midgley, P. IPCC, summary for policymakers in climate change 2013: the physical science basis, contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. *Cambridge University Press Cambridge* **2013**, UKNY NY USA.
101. Beusen, A. H. W.; Bouwman, A. F.; Heuberger, P. S. C.; Van Drecht, G.; Van Der Hoek, K. W. Bottom-up uncertainty estimates of global ammonia emissions from global agricultural production systems. *Atmos. Environ.* **2008**, *42*(24), 6067–6077.
102. Giannadaki, D.; Giannakis, E.; Pozzer, A.; Lelieveld, J. Estimating health and economic benefits of reductions in air pollution from agriculture. *Sci. Total Environ.* **2018**, *622*, 1304–1316.
103. Reay, D. S.; Davidson, E. A.; Smith, K. A.; Smith, P.; Melillo, J. M.; Dentener, F.; Crutzen, P. J. Global agriculture and nitrous oxide emissions. *Nat. Clim. Change* **2012**, *2*(6), 410–416.
104. Bauer, S. E.; Tsigaridis, K.; Miller, R. Significant atmospheric aerosol pollution caused by world food cultivation. *Geophys. Res. Lett.* **2016**, *43*(10), 5394–5400.
105. Sadoff, C. W.; Hall, J. W.; Grey, D.; Aerts, J. C. J. H.; Ait-Kadi, M.; Brown, C.; Cox, A.; Dadson, S.; Garrick, D.; Kelman, J.; McCornick, Peter; Ringler, C.; Rosegrant, M.; Whittington, D.; Wiberg, D. Securing water, sustaining growth. Report of the GWP/OECD Task Force on Water Security and Sustainable Growth. Oxford, UK: University of Oxford. **2015**, 171.
106. Rajmohan, K. S.; Chandrasekaran, R.; Varjani, S. A review on occurrence of pesticides in environment and current technologies for their remediation and management. *Indian J. Microbiol.* **2020**, *60*(2), 125–138.
107. Mateo-Sagasta, J., Marjani Zadeh, S., Turrall, H. and Burke, J. Water pollution from agriculture: a global review - Executive summary. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy; International Water Management Institute (IWMI), Colombo, Sri Lanka. **2017**.
108. Sharpley, A. N.; Bergström, L.; Aronsson, H.; Bechmann, M.; Bolster, C. H.; Börling, K.; Withers, P. J. Future agriculture with minimized phosphorus losses to waters: Research needs and direction. *Ambio* **2015**, *44*(2), 163–179.
109. Wen, Y.; Schoups, G.; Van De Giesen, N. Organic pollution of rivers: Combined threats of urbanization, livestock farming and global climate change. *Sci. Rep.* **2017**, *7*(1), 1–9.
110. Kaushal, S. S.; Likens, G. E.; Pace, M. L.; Utz, R. M.; Haq, S.; Gorman, J.; Grese, M. Freshwater salinization syndrome on a continental scale. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2018**, *115*(4), 574–583.

Justificación y Objetivos de la Tesis

111. Evans, A. E.; Mateo-Sagasta, J.; Qadir, M.; Boelee, E.; Ippolito, A. Agricultural water pollution: key knowledge gaps and research needs. *Curr. Opin. Environ. Sustain.* **2019**, *36*, 20–27.
112. Undesa, U.; Uneclac, U. Water for a sustainable World. In *World Water Development*. UNESCO, Paris (France), **2015**.
113. US EPA. Water quality assessment and TMDL information **2016**.
114. Sitaramaraju, S.; Prasad, N. V. V. S. D.; Reddy, V. C.; Narayana, E. Impact of pesticides used for crop production on the environment. *J. Chem. Pharm. Sci.* **2014**, *3*, 75–79.
115. Anju, A.; Ravi S, P.; Bechan, S. Water pollution with special reference to pesticide contamination in India. *J. Water Res. Prot.* **2010**.
116. Lin, S. S.; Shen, S. L.; Zhou, A.; Lyu, H. M. Assessment and management of lake eutrophication: A case study in Lake Erhai, China. *Sci. Total Environ.* **2021**, *751*, 141618.
117. Le Moal, M.; Gascuel-Odoux, C.; Ménesguen, A.; Souchon, Y.; Étrillard, C.; Levain, A.; Pinay, G. Eutrophication: a new wine in an old bottle? *Sci. Total Environ.* **2019**, *651*, 1–11.
118. Wurtsbaugh, W. A.; Paerl, H. W.; Dodds, W. K. Nutrients, eutrophication and harmful algal blooms along the freshwater to marine continuum. *Wiley Interdiscip. Rev.: Water* **2019**, *6*(5), e1373.
119. Martyniuk, C. J.; Mehinto, A. C.; Denslow, N. D. Organochlorine pesticides: agrochemicals with potent endocrine-disrupting properties in fish. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2020**, *507*, 110764.
120. Olsvik, P. A.; Larsen, A. K.; Berntssen, M. H.; Goksøyr, A.; Karlsen, O. A.; Yadetie, F.; Kristensen, T. Effects of agricultural pesticides in aquafeeds on wild fish feeding on leftover pellets near fish farms. *Front. Genet.* **2019**, *10*, 794.
121. Yang, C.; Lim, W.; Song, G. Mediation of oxidative stress toxicity induced by pyrethroid pesticides in fish. *Comp. Biochem. Physiol. C: Toxicol. Pharmacol.* **2020**, *234*, 108758.
122. Maurya, P. K.; Malik, D. S.; Yadav, K. K.; Gupta, N.; Kumar, S. Haematological and histological changes in fish *Heteropneustes fossilis* exposed to pesticides from industrial waste water. *Human Ecol. Risk Assess.* **2019**, *25*(5), 1251–1278.
123. Rossi, A. S.; Fantón, N.; Michlig, M. P.; Repetti, M. R.; Cazenave, J. Fish inhabiting rice fields: Bioaccumulation, oxidative stress and neurotoxic effects after pesticides application. *Ecol. Indic.* **2020**, *113*, 106186.
124. Agostini, M. G.; Roesler, I.; Bonetto, C.; Ronco, A. E.; Bilenca, D. Pesticides in the real world: The consequences of GMO-based intensive agriculture on native amphibians. *Biol. Conserv.* **2020**, *241*, 108355.
125. Tale, K. S.; Ingole, S. A review on role of physico-chemical properties in soil quality. *Chem. Sci. Rev. Lett.* **2015**, *4*(13), 57–66.
126. Adesemoye, A. O.; Kloepfer, J. W. Plant–microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *App. Microbiol. Biotechnol.* **2009**, *85*(1), 1–12.
127. Bhardwaj, D.; Ansari, M. W.; Sahoo, R. K.; Tuteja, N. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microb. Cell Fact.* **2014**, *13*(1), 1–10.
128. Baweja, P.; Kumar, S.; Kumar, G. Fertilizers and pesticides: Their impact on soil health and environment. In *Soil Health* **2020**, 265–285.
129. Weisskopf, P.; Reiser, R.; Rek, J.; Oberholzer, H. R. Effect of different compaction impacts and varying subsequent management practices on soil structure, air regime and microbiological parameters. *Soil Tillage Res.* **2010**, *111*(1), 65–74.

- 130.** Massah, J.; Azadegan, B. Effect of chemical fertilizers on soil compaction and degradation. *AMA Agric. Mech Asia, Afr. Lat. Am.* **2016**, *47*(1), 44–50.
- 131.** Cai, Z.; Wang, B.; Xu, M.; Zhang, H.; He, X.; Zhang, L.; Gao, S. Intensified soil acidification from chemical N fertilization and prevention by manure in a 18-year field experiment in the red soil of southern China. *J. Soils Sediments* **2015**, *15*(2), 260–270.
- 132.** Chen, D.; Lan, Z.; Hu, S.; Bai, Y. Effects of nitrogen enrichment on belowground communities in grassland: Relative role of soil nitrogen availability vs. soil acidification. *Soil Biol. Biochem.* **2015**, *89*, 99–108.
- 133.** Ni, K.; Shi, Y. Z.; Yi, X. Y.; Zhang, Q. F.; Fang, L.; Ma, L. F.; Ruan, J. Effects of long-term nitrogen application on soil acidification and solution chemistry of a tea plantation in China. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2018**, *252*, 74–82.
- 134.** Ding, F.; He, Z.; Liu, S.; Zhang, S.; Zhao, F.; Li, Q.; Stoffella, P. J. Heavy metals in composts of China: historical changes, regional variation, and potential impact on soil quality. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2017**, *24*(3), 3194–3209.
- 135.** Hu, W.; Wang, H.; Dong, L.; Huang, B.; Borggaard, O. K.; Hansen, H. C. B.; Holm, P. E. Source identification of heavy metals in peri-urban agricultural soils of southeast China: an integrated approach. *Environ. Pollut.* **2018**, *237*, 650–661.
- 136.** Liu, Z.; Rong, Q.; Zhou, W.; Liang, G. Effects of inorganic and organic amendment on soil chemical properties, enzyme activities, microbial community and soil quality in yellow clayey soil. *PloS one* **2017**, *12*(3), e0172767.
- 137.** Gu, S.; Hu, Q.; Cheng, Y.; Bai, L.; Liu, Z.; Xiao, W.; Tan, L. Application of organic fertilizer improves microbial community diversity and alters microbial network structure in tea (*Camellia sinensis*) plantation soils. *Soil Tillage Res.* **2019**, *195*, 104356.
- 138.** Li, B. B.; Roley, S. S.; Duncan, D. S.; Guo, J.; Quensen, J. F.; Yu, H. Q.; Tiedje, J. M. Long-term excess nitrogen fertilizer increases sensitivity of soil microbial community to seasonal change revealed by ecological network and metagenome analyses. *Soil Biol. Biochem.* **2021**, *160*, 108349.
- 139.** Luan, H.; Gao, W.; Huang, S.; Tang, J.; Li, M.; Zhang, H.; Masiliūnas, D. Substitution of manure for chemical fertilizer affects soil microbial community diversity, structure and function in greenhouse vegetable production systems. *PloS one* **2020**, *15*(2), e0214041.
- 140.** Ren, J.; Liu, X.; Yang, W.; Yang, X.; Li, W.; Xia, Q.; Yang, Z. Rhizosphere soil properties, microbial community, and enzyme activities: Short-term responses to partial substitution of chemical fertilizer with organic manure. *J. Environ. Manage.* **2021**, *299*, 113650.
- 141.** Gibbons, D.; Morrissey, C.; Mineau, P. A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wildlife. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, *22*(1), 103–118.
- 142.** Carmona, C. P.; Guerrero, I.; Peco, B.; Morales, M. B.; Oñate, J. J.; Pärt, T.; Bengtsson, J. Agriculture intensification reduces plant taxonomic and functional diversity across european arable systems. *Funct. Ecol.* **2020**, *34*(7), 1448–1460.
- 143.** DiBartolomeis, M.; Kegley, S.; Mineau, P.; Radford, R.; Klein, K. An assessment of acute insecticide toxicity loading (AITL) of chemical pesticides used on agricultural land in the United States. *PloS one* **2019**, *14*(8), e0220029.
- 144.** Raven, P. H.; Wagner, D. L. Agricultural intensification and climate change are rapidly decreasing insect biodiversity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2021**, *118*(2).
- 145.** Sánchez-Bayo, F. Indirect effect of pesticides on insects and other arthropods. *Toxics* **2021**, *9*(8), 177.

Justificación y Objetivos de la Tesis

- 146.** Sattler, C.; Gianuca, A. T.; Schweiger, O.; Franzén, M.; Settele, J. Pesticides and land cover heterogeneity affect functional group and taxonomic diversity of arthropods in rice agroecosystems. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2020**, *297*, 106927.
- 147.** Parsons, K. A.; Tooker, J. F. Preventive insecticide use affects arthropod decomposers and decomposition in field crops. *Appl. Soil Ecol.* **2021**, *157*, 103757.
- 148.** Bloom, E. H.; Wood, T. J.; Hung, K. L. J.; Ternest, J. J.; Ingwell, L. L.; Goodell, K.; Szendrei, Z. Synergism between local-and landscape-level pesticides reduces wild bee floral visitation in pollinator-dependent crops. *J. Appl. Ecol.* **2021**.
- 149.** Tosi, S.; Nieh, J. C.; Brandt, A.; Colli, M.; Fourrier, J.; Giffard, H.; Simon-Delso, N. Long-term field-realistic exposure to a next-generation pesticide, flupyradifurone, impairs honey bee behaviour and survival. *Commun. Biol.* **2021**, *4*(1), 1–9.
- 150.** Alkassab, A. T.; Kirchner, W. H. Sublethal exposure to neonicotinoids and related side effects on insect pollinators: honeybees, bumblebees, and solitary bees. *J. Plant Dis. Prot.* **2017**, *124*(1), 1–30.
- 151.** Alfaro-Tapia, A.; Alvarez-Baca, J. K.; Fuentes-Contreras, E.; Figueroa, C. C. Biological control may fail on pests applied with high doses of insecticides: Effects of sub-lethal concentrations of a pyrethroid on the host-searching behavior of the aphid parasitoid *Aphidius colemani* (*Hymenoptera, Braconidae*) on aphid pests. *Agriculture* **2021**, *11*(6), 539.
- 152.** Singh, S.; Gupta, R.; Kumari, M.; Sharma, S. Nontarget effects of chemical pesticides and biological pesticide on rhizospheric microbial community structure and function in *Vigna radiata*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, *22*(15), 11290–11300.
- 153.** Zhang, M.; Zeiss, M. R.; Geng, S. Agricultural pesticide use and food safety: California's model. *J. Integr. Agric.* **2015**, *14*(11), 2340–2357.
- 154.** Zhai, Y.; Monikh, F. A.; Wu, J.; Grillo, R.; Arenas-Lago, D.; Darbha, G. K.; Peijnenburg, W. J. Interaction between a nano-formulation of atrazine and rhizosphere bacterial communities: atrazine degradation and bacterial community alterations. *Environ. Sci. Nano* **2020**, *7*(11), 3372–3384.
- 155.** da Costa Stuart, A. K.; Stuart, R. M.; Pimentel, I. C. Effect of agrochemicals on endophytic fungi community associated with crops of organic and conventional soybean (*Glycine max* L. Merril). *Agric. Nat. Resour.* **2018**, *52*(4), 388–392.
- 156.** Win, P. M.; Matsumura, E.; Fukuda, K. Effects of pesticides on the diversity of endophytic fungi in tea plants. *Microp. Ecol.* **2021**, 1–11.
- 157.** Nettles, R.; Watkins, J.; Ricks, K.; Boyer, M.; Licht, M.; Atwood, L. W.; Koide, R. T. Influence of pesticide seed treatments on rhizosphere fungal and bacterial communities and leaf fungal endophyte communities in maize and soybean. *Appl. Soil Ecol.* **2016**, *102*, 61–69.
- 158.** Rivera-Becerril, F.; van Tuinen, D.; Chatagnier, O.; Rouard, N.; Béguet, J.; Kuszala, C.; Martin-Laurent, F. Impact of a pesticide cocktail (fenhexamid, folpel, deltamethrin) on the abundance of *Glomeromycota* in two agricultural soils. *Sci. Total Environ.* **2017**, *577*, 84–93.
- 159.** Zhang, H.; Song, J.; Zhang, Z.; Zhang, Q.; Chen, S.; Mei, J.; Fang, H. Exposure to fungicide difenoconazole reduces the soil bacterial community diversity and the co-occurrence network complexity. *J. Hazard. Mater.* **2021**, *405*, 124208.
- 160.** Fang, W.; Wang, X.; Huang, B.; Zhang, D.; Liu, J.; Zhu, J.; Han, Q. Comparative analysis of the effects of five soil fumigants on the abundance of denitrifying microbes and changes in bacterial community composition. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2020**, *187*, 109850.
- 161.** Wu, C.; Wang, Z.; Ma, Y.; Luo, J.; Gao, X.; Ning, J.; She, D. Influence of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam on soil bacterial community composition and metabolic function. *J. Hazard. Mater.* **2021**, *405*, 124275.

- 162.** Onwona-Kwakye, M.; Plants-Paris, K.; Keita, K.; Lee, J.; Brink, P. J.; Hogarh, J. N.; Darkoh, C. Pesticides decrease bacterial diversity and abundance of irrigated rice fields. *Microorganisms* **2020**, *8*(3), 318.
- 163.** Egbe, C. C.; Oyetibo, G. O.; Ilori, M. O. Ecological impact of organochlorine pesticides consortium on autochthonous microbial community in agricultural soil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2021**, *207*, 111319.
- 164.** Serbent, M. P.; dos Anjos Borges, L. G.; Quadros, A.; Marconatto, L.; Tavares, L. B. B.; Giongo, A. Prokaryotic and microeukaryotic communities in an experimental rice plantation under long-term use of pesticides. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2021**, *28*(2), 2328–2341.
- 165.** Zhang, H.; Yuan, X.; Xiong, T.; Wang, H.; Jiang, L. Bioremediation of co-contaminated soil with heavy metals and pesticides: influence factors, mechanisms and evaluation methods. *Chem. Eng. J.* **2020**, *398*, 125657.
- 166.** Li, H.; Qiu, Y.; Yao, T.; Ma, Y.; Zhang, H.; Yang, X.; Li, C. Evaluation of seven chemical pesticides by mixed microbial culture (PCS-1): Degradation ability, microbial community, and *Medicago sativa* phytotoxicity. *J. Hazard. Mater.* **2020**, *389*, 121834.
- 167.** Bouteh, E.; Ahmadi, N.; Abbasi, M.; Torabian, A.; van Loosdrecht, M. C.; Ducoste, J. Biodegradation of organophosphorus pesticides in moving bed biofilm reactors: Analysis of microbial community and biodegradation pathways. *J. Hazard. Mater.* **2021**, *408*, 124950.
- 168.** Bokade, P.; Purohit, H. J.; Bajaj, A. Myco-remediation of chlorinated pesticides: insights into fungal metabolic system. *Indian J. Microbiol.* **2021**, *1*–13.
- 169.** MAPA. Disponible online (06/04/2021):
<https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/productos-fitosanitarios/registro/registro/conprocanc.asp>
- 170.** MAPA. Disponible online (06/04/2021):
https://www.mapa.gob.es/agricultura/pags/fitos/registro/fichas/pdf/Lista_Sustancias_activas_aceptadas_excluidas.pdf
- 171.** Vishwakarma, K.; Kumar, N.; Shandilya, C.; Mohapatra, S.; Bhayana, S.; Varma, A. Revisiting plant–microbe interactions and microbial consortia application for enhancing sustainable agriculture: A review. *Front. Microbiol.* **2020**, *11*, 3195.
- 172.** Timsina, J. Can organic sources of nutrients increase crop yields to meet global food demand? *Agronomy* **2018**, *8*(10), 214.
- 173.** Thakur, N.; Kaur, S.; Tomar, P.; Thakur, S.; Yadav, A. N. Microbial biopesticides: current status and advancement for sustainable agriculture and environment. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* **2020**, Elsevier 243–282.
- 174.** Parsa, S.; Morse, S.; Bonifacio, A.; Chancellor, T. C.; Condori, B.; Crespo-Pérez, V.; Dangles, O. Obstacles to integrated pest management adoption in developing countries. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2014**, *111*(10), 3889–3894.
- 175.** Barratt, B. I. P.; Moran, V. C.; Bigler, F.; Van Lenteren, J. C. The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. *Biol. Control* **2018**, *63*(1), 155–167.
- 176.** UN. Disponible online (04/08/2021):
<https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/development-agenda/>
- 177.** UN. Disponible online (04/08/2021): https://unstats.un.org/sdgs/report/2019/The-Sustainable-Development-Goals-Report-2019_Spanish.pdf
- 178.** Ministerio de Exteriores (España). Disponible online (04/08/2021):
<http://www.exteriores.gob.es/portal/es/politicaexteriorcooperacion/agenda2030/Paginas/Inicio.aspx>

Justificación y Objetivos de la Tesis

179. Ministerio de Exteriores (España). Disponible online (04/08/2021):
<http://www.exteriores.gob.es/Portal/es/PoliticaExteriorCooperacion/Agenda2030/Documents/Informe%20de%20Progreso%202019.pdf>
180. UN. Disponible online (04/08/2021): <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/food-systems-summit-2021/>
181. AESAN. Disponible online (04/08/2021):
https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/noticias/2020/Presentacion_Estrategia_de_la_Granja_a_la_mesa.pdf
182. UVF. Disponible online (04/08/2021): <https://centro-documentacion-europea.ufv.eu/estrategia-de-la-granja-a-la-mesa/>
183. MAPA. Disponible online (10/04/2021): <https://www.mapa.gob.es/es/pac/post-2020/objetivos-especificos.aspx>
184. Bi, Y.; Zhou, P.; Li, S.; Wei, Y.; Xiong, X.; Shi, Y.; Zhang, Y. Interspecific interactions contribute to higher forage yield and are affected by phosphorus application in a fully-mixed perennial legume and grass intercropping system. *Field Crops Res.* **2019**, 244, 107636.
185. Maitra, S.; Palai, J. B.; Manasa, P.; Kumar, D. P. Potential of intercropping system in sustaining crop productivity. *Int. J. Agric. Environ. Biotechnol.* **2019**, 12(1), 39–45.
186. Brooker, R. W.; Bennett, A. E.; Cong, W. F.; Daniell, T. J.; George, T. S.; Hallett, P. D.; White, P. J. Improving intercropping: a synthesis of research in agronomy, plant physiology and ecology. *New Phytol.* **2015**, 206(1), 107–117.
187. Raza, M. A.; Khalid, M. H. B.; Zhang, X.; Feng, L. Y.; Khan, I.; Hassan, M. J.; Yang, W. Effect of planting patterns on yield, nutrient accumulation and distribution in maize and soybean under relay intercropping systems. *Sci. Rep.* **2019**, 9(1), 1–14.
188. Chen, P.; Du, Q.; Liu, X.; Zhou, L. I.; Hussain, S.; Lei, L. U.; Yong, T. Effects of reduced nitrogen inputs on crop yield and nitrogen use efficiency in a long-term maize-soybean relay strip intercropping system. *PloS one* **2017**, 12(9), e0184503.
189. Xu, R.; Zhao, H.; Liu, G.; You, Y.; Ma, L.; Liu, N.; Zhang, Y. Effects of nitrogen and maize plant density on forage yield and nitrogen uptake in an alfalfa–silage maize relay intercropping system in the North China plain. *Field Crops Res.* **2021**, 263, 108068.
190. Nyawade, S. O.; Karanja, N. N.; KK, G. C.; Gitari, H. I.; Elmar, S. G.; Parker, M. Optimizing soil nitrogen balance in a potato cropping system through legume intercropping. *Nutr. Cycling Agroecosyst.* **2020**, 117(1), 43–59.
191. Rahman, M. K.; Wang, X.; Gao, D.; Zhou, X.; Wu, F. Root exudates increase phosphorus availability in the tomato/potato onion intercropping system. *Plant Soil* **2021**, 1–18.
192. Raza, M. A.; Feng, L. Y.; van der Werf, W.; Iqbal, N.; Khan, I.; Khan, A.; Yang, W. Optimum strip width increases dry matter, nutrient accumulation, and seed yield of intercrops under the relay intercropping system. *Food Energy Secur.* **2020**, 9(2), e199.
193. Raza, M. A.; Cui, L.; Khan, I.; Din, A. M. U.; Chen, G.; Ansar, M.; Yang, W. Compact maize canopy improves radiation use efficiency and grain yield of maize/soybean relay intercropping system. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2021**, 1–14.
194. Liu, X.; Rahman, T.; Yang, F.; Song, C.; Yong, T.; Liu, J.; Yang, W. PAR interception and utilization in different maize and soybean intercropping patterns. *PloS one* **2017**, 12(1), e0169218.
195. Rahman, T.; Ye, L.; Liu, X.; Iqbal, N.; Du, J.; Gao, R.; Yang, W. Water use efficiency and water distribution response to different planting patterns in maize–soybean relay strip intercropping systems. *Exp. Agric.* **2017**, 53(2), 159–177.

- 196.** Yin, W.; Chai, Q.; Guo, Y.; Feng, F.; Zhao, C.; Yu, A.; Chen, G. Reducing carbon emissions and enhancing crop productivity through strip intercropping with improved agricultural practices in an arid area. *J. Cleaner Prod.* **2017**, *166*, 197–208.
- 197.** Chen, P.; Song, C.; Liu, X. M.; Zhou, L.; Yang, H.; Zhang, X.; Yong, T. Yield advantage and nitrogen fate in an additive maize-soybean relay intercropping system. *Sci. Total Environ.* **2019**, *657*, 987–999.
- 198.** Zhang, M. M.; Wang, N.; Hu, Y. B.; Sun, G. Y. Changes in soil physicochemical properties and soil bacterial community in mulberry (*Morus alba* L.)/alfalfa (*Medicago sativa* L.) intercropping system. *Microbiologyopen* **2018**, *7*(2), e00555.
- 199.** Dang, K.; Gong, X.; Zhao, G.; Wang, H.; Ivanistau, A.; Feng, B. Intercropping alters the soil microbial diversity and community to facilitate nitrogen assimilation: a potential mechanism for increasing proso millet grain yield. *Front. Microbiol.* **2020**, *11*, 2975.
- 200.** Ju, Q.; Ouyang, F.; Gu, S.; Qiao, F.; Yang, Q.; Qu, M.; Ge, F. Strip intercropping peanut with maize for peanut aphid biological control and yield enhancement. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2019**, *286*, 106682.
- 201.** Sekine, T.; Kanao, K.; Inawashiro, S.; Hori, M. Insect pest management by intercropping with leafy daikon (*Raphanus sativus*) in cabbage fields. *Arthropod. Plant Interact.* **2021**, *15*(5), 669–681.
- 202.** Zarei, E.; Fathi, S. A. A.; Hassanpour, M.; Golizadeh, A. Assessment of intercropping tomato and sainfoin for the control of *Tuta absoluta* (Meyrick). *Crop Prot.* **2019**, *120*, 125–133.
- 203.** Afrin, S.; Latif, A.; Banu, N. M. A.; Kabir, M. M. M.; Haque, S. S.; Ahmed, M. E.; Ali, M. P. Intercropping empower reduces insect pests and increases biodiversity in agro-ecosystem. *Agric. Sci.* **2017**, *8*(10), 1120.
- 204.** Devi, S.; Ram, P.; Rolania, K. Effect of intercropping on the parasitoids, *Encarsia* spp. and *Trichogramma* spp. in cotton fields, India. *Egypt. J. Biol. Pest Control* **2020**, *30*(1), 1–5.
- 205.** Gao, Y.; Ren, C.; Liu, Y.; Zhu, J.; Li, B.; Mu, W.; Liu, F. Pepper-maize intercropping affects the occurrence of anthracnose in hot pepper. *Crop Prot.* **2021**, *148*, 105750.
- 206.** Zhang, C.; Dong, Y.; Tang, L.; Zheng, Y.; Makowski, D.; Yu, Y.; van der Werf, W. Intercropping cereals with *Faba bean* reduces plant disease incidence regardless of fertilizer input; a meta-analysis. *Eur. J. Plant Pathol.* **2019**, *154*(4), 931–942.
- 207.** Luo, C.; Ma, L.; Zhu, J.; Guo, Z.; Dong, K.; Dong, Y. Effects of nitrogen and intercropping on the occurrence of wheat powdery mildew and stripe rust and the relationship with crop yield. *Front. Plant Sci.* **2021**, *12*, 179.
- 208.** Reeves, D. W. Cover crops and rotations. *Crops Res. Management* **2018**, 125–172.
- 209.** Kaplan, I.; Bokulich, N. A.; Caporaso, J. G.; Enders, L. S.; Ghanem, W.; Ingerslew, K. S. Phylogenetic farming: Can evolutionary history predict crop rotation via the soil microbiome?. *Evol. Appl.* **2020**, *13*(8), 1984–1999.
- 210.** Holland, J. E.; Bennett, A. E.; Newton, A. C.; White, P. J.; McKenzie, B. M.; George, T. S.; Hayes, R. C. Liming impacts on soils, crops and biodiversity in the UK: A review. *Sci. Total Environ.* **2018**, *610*, 316–332.
- 211.** Kelly, C. *Lower external input farming methods as a more sustainable-solution for small-scale farmers* (Doctoral dissertation). **2009**.
- 212.** Ooro, P. A.; Birech, R. J.; Malinga, J. N.; Thuranira, E. Effect of legumes on nitrogen use efficiency of wheat in a short term crop rotation in Njoro Sub-County. *J. Exp. Agric. Int.* **2021**, 1–15.

Justificación y Objetivos de la Tesis

- 213.** Feliciano, D. A review on the contribution of crop diversification to Sustainable Development Goal 1 “No poverty” in different world regions. *Sustainable Dev.* **2019**, *27*(4), 795–808.
- 214.** Li, J.; Huang, L.; Zhang, J.; Coulter, J. A.; Li, L.; Gan, Y. Diversifying crop rotation improves system robustness. *Agron. Sustainable Dev.* **2019**, *39*(4), 1–13.
- 215.** Volsi, B.; Bordin, I.; Higashi, G. E.; Telles, T. S. Economic profitability of crop rotation systems in the Caiuá sandstone area. *Ciência Rural* **2020**, *50*.
- 216.** Shah, K. K.; Modi, B.; Pandey, H. P.; Subedi, A.; Aryal, G.; Pandey, M.; Shrestha, J. Diversified crop rotation: An approach for sustainable agriculture production. *Adv. Agric.* **2021**.
- 217.** Zegada-Lizarazu, W.; Monti, A. Energy crops in rotation. A review. *Biomass Bioenergy* **2011**, *35*(1), 12–25.
- 218.** Brankatschk, G.; Finkbeiner, M. Modeling crop rotation in agricultural LCAs—challenges and potential solutions. *Agric. Syst.* **2015**, *138*, 66–76.
- 219.** Raphael, J. P.; Calonego, J. C.; Milori, D. M. B.; Rosolem, C. A. Soil organic matter in crop rotations under no-till. *Soil Tillage Res.* **2016**, *155*, 45–53.
- 220.** Zuber, S. M.; Behnke, G. D.; Nafziger, E. D.; Villamil, M. B. Carbon and nitrogen content of soil organic matter and microbial biomass under long-term crop rotation and tillage in Illinois, USA. *Agriculture* **2018**, *8*(3), 37.
- 221.** Martyniuk, S.; Pikuła, D.; Kozięł, M. Soil properties and productivity in two long-term crop rotations differing with respect to organic matter management on an Albic Luvisol. *Sci. Rep.* **2019**, *9*(1), 1–9.
- 222.** Alemayehu, G.; Shibabaw, A.; Adgo, E.; Asch, F.; Freyer, B. Crop rotation and organic matter application restore soil health and productivity of degraded highland crop farms in northwest Ethiopia. *Cogent Food Agric.* **2020**, *6*(1), 1831124.
- 223.** Deuschle, D.; Minella, J. P.; de AN Hörbe, T.; Londero, A. L.; Schneider, F. J. Erosion and hydrological response in no-tillage subjected to crop rotation intensification in southern Brazil. *Geoderma* **2019**, *340*, 157–163.
- 224.** Hunt, N. D.; Hill, J. D.; Liebman, M. Cropping system diversity effects on nutrient discharge, soil erosion, and agronomic performance. *Environ. Sci. Technol.* **2019**, *53*(3), 1344–1352.
- 225.** D’Acunto, L.; Andrade, J. F.; Poggio, S. L.; Semmarin, M. Diversifying crop rotation increased metabolic soil diversity and activity of the microbial community. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2018**, *257*, 159–164.
- 226.** Oberholster, T.; Vikram, S.; Cowan, D.; Valverde, A. Key microbial taxa in the rhizosphere of sorghum and sunflower grown in crop rotation. *Sci. Total Environ.* **2018**, *624*, 530–539.
- 227.** Burges, A.; Fievet, V.; Oustriere, N.; Epelde, L.; Garbisu, C.; Becerril, J. M.; Mench, M. Long-term phytomanagement with compost and a sunflower–Tobacco rotation influences the structural microbial diversity of a Cu-contaminated soil. *Sci. Total Environ.* **2020**, *700*, 134529.
- 228.** Liu, Z.; Liu, J.; Yu, Z.; Yao, Q.; Li, Y.; Liang, A.; Wang, G. Long-term continuous cropping of soybean is comparable to crop rotation in mediating microbial abundance, diversity and community composition. *Soil Tillage Res.* **2020**, *197*, 104503.
- 229.** Wright, P. J.; Falloon, R. E.; Hedderley, D. A long-term vegetable crop rotation study to determine effects on soil microbial communities and soilborne diseases of potato and onion. *N. Z. J. Crop Hortic. Sci.* **2017**, *45*(1), 29–54.

- 230.** Acharya, J.; Moorman, T. B.; Kaspar, T. C.; Lenssen, A. W.; Robertson, A. E. Cover crop rotation effects on growth and development, seedling disease, and yield of corn and soybean. *Plant Dis.* **2020**, *104*(3), 677–687.
- 231.** Fan, P.; Lai, C.; Yang, J.; Hong, S.; Yang, Y.; Wang, Q.; Ruan, Y. Crop rotation suppresses soil-borne *Fusarium* wilt of banana and alters microbial communities. *Arch. Agron. Soil Sci.* **2020**, 1–13.
- 232.** Soler, A.; Marie-Alphonsine, P. A.; Quénéhervé, P.; Prin, Y.; Sanguin, H.; Tisseyre, P.; Smith-Ravin, J. Field management of *Rotylenchulus reniformis* on pineapple combining crop rotation, chemical-mediated induced resistance and endophytic bacterial inoculation. *Crop Prot.* **2021**, *141*, 105446.
- 233.** Moura, D. R.; Yamada, J. K.; de Albuquerque, L. C.; de Carvalho Pontes, N. Crop rotation reduces the density of volunteer plants in processing tomato fields and the inoculum of bacterial spot. *Eur. J. Plant Pathol.* **2020**, *156*(1), 299–304.
- 234.** Tiwari, R.; Reinhardt Piskáčková, T. A.; Devkota, P.; Mulvaney, M. J.; Ferrell, J. A.; Leon, R. G. Growing winter *Brassica carinata* as part of a diversified crop rotation for integrated weed management. *GCB Bioenergy* **2021**, *13*(3), 425–435.
- 235.** Woźniak, A. Effect of crop rotation and cereal monoculture on the yield and quality of winter wheat grain and on crop infestation with weeds and soil properties. *Int. J. Plant Prod.* **2019**, *13*(3), 177–182.
- 236.** Berca, M.; Robescu, V. O.; Horaias, R. Study on the influence of long-term monoculture and three types of crop rotation on wheat yield in Burnas plain (Romania). *Scientific Papers Series Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development* **2020**, *20*(2), 75–80.
- 237.** Bowles, T. M.; Mooshammer, M.; Socolar, Y.; Calderón, F.; Cavigelli, M. A.; Culman, S. W.; Grandy, A. S. Long-term evidence shows that crop-rotation diversification increases agricultural resilience to adverse growing conditions in North America. *One Earth* **2020**, *2*(3), 284–293.
- 238.** Naeem, M.; Farooq, M.; Farooq, S.; Ul-Allah, S.; Alfarraj, S.; Hussain, M. The impact of different crop sequences on weed infestation and productivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) under different tillage systems. *Crop Prot.* **2021**, *149*, 105759.
- 239.** Bakhshandeh, S.; Corneo, P. E.; Mariotte, P.; Kertesz, M. A.; Dijkstra, F. A. Effect of crop rotation on mycorrhizal colonization and wheat yield under different fertilizer treatments. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2017**, *247*, 130–136.
- 240.** Hunt, N. D.; Hill, J. D.; Liebman, M. Reducing freshwater toxicity while maintaining weed control, profits, and productivity: effects of increased crop rotation diversity and reduced herbicide usage. *Environ. Sci. Technol.* **2017**, *51*(3), 1707–1717.
- 241.** Lötjönen, S.; Ollikainen, M. Does crop rotation with legumes provide an efficient means to reduce nutrient loads and GHG emissions? *Rev. Agric. Food Environ. Stud.* **2017**, *98*(4), 283–312.
- 242.** Al-Kaisi, M. M.; Douelle, A.; Kwaw-Mensah, D. Soil microaggregate and macroaggregate decay over time and soil carbon change as influenced by different tillage systems. *J. Soil Water Conserv.* **2014**, *69*(6), 574–580.
- 243.** Sahu, P. K.; Singh, D. P.; Prabha, R.; Meena, K. K.; Abhilash, P. C. Connecting microbial capabilities with the soil and plant health: Options for agricultural sustainability. *Ecol. Indic.* **2019**, *105*, 601–612.
- 244.** Leskovar, D.; Othman, Y.; Dong, X. Strip tillage improves soil biological activity, fruit yield and sugar content of triploid watermelon. *Soil Tillage Res.* **2016**, *163*, 266–273.

Justificación y Objetivos de la Tesis

245. Shao, Y.; Xie, Y.; Wang, C.; Yue, J.; Yao, Y.; Li, X.; Guo, T. Effects of different soil conservation tillage approaches on soil nutrients, water use and wheat-maize yield in rainfed dry-land regions of North China. *Eur. J. Agron.* **2016**, *81*, 37–45.
246. Panettieri, M.; de Sosa, L. L.; Domínguez, M. T.; Madejón, E. Long-term impacts of conservation tillage on Mediterranean agricultural soils: shifts in microbial communities despite limited effects on chemical properties. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2020**, *304*, 107144.
247. Hartman, K.; Van Der Heijden, M. G.; Wittwer, R. A.; Banerjee, S.; Walser, J. C.; Schlaeppi, K. Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming. *Microbiome* **2018**, *6*(1), 1–14.
248. Piazza, G.; Ercoli, L.; Nuti, M.; Pellegrino, E. Interaction between conservation tillage and nitrogen fertilization shapes prokaryotic and fungal diversity at different soil depths: evidence from a 23-year field experiment in the mediterranean area. *Front. Microbiol.* **2019**, *10*, 2047.
249. Sharma-Poudyal, D.; Schlatter, D.; Yin, C.; Hulbert, S.; Paulitz, T. Long-term no-till: a major driver of fungal communities in dryland wheat cropping systems. *PLoS one* **2017**, *12*(9), e0184611.
250. Alyokhin, A.; Nault, B.; Brown, B. Soil conservation practices for insect pest management in highly disturbed agroecosystems—a review. *Entomol. Exp. Appl.* **2020**, *168*(1), 7–27.
251. Mehrnejad, M. R. Investigation into the overwintering and winter-management of the common pistachio psyllid, *Agonoscena pistaciae* (Hemiptera: Aphalaridae), a major pest in pistachio plantations. *Zool. Ecol.* **2018**, *28*(4), 384–388.
252. Kunjwal, N.; Srivastava, R. M. Insect pests of vegetables. In *Pests and their Management* **2018**, 163–221.
253. Gathala, M. K.; Timsina, J.; Islam, M. S.; Rahman, M. M.; Hossain, M. I.; Harun-Ar-Rashid, M.; McDonald, A. Conservation agriculture based tillage and crop establishment options can maintain farmers' yields and increase profits in South Asia's rice–maize systems: Evidence from Bangladesh. *Field Crops Res.* **2015**, *172*, 85–98.
254. Girsang, S. S.; Manurung, E. D.; Parhusip, D. O. The effect of fertilization and variety on maize productivity in two tillage systems in North Sumatra. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* **2021**, *807*(4), 042068.
255. Lotfi, B.; Maleki, A.; Mirzaei Heydari, M.; Rostaminiya, M.; Babaei, F. The effect of different tillage systems, nitrogen fertilizer and mycorrhiza on mung bean (*Vigna radiata*) production and energy indices. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2021**, *52*(4), 416–428.
256. Mundt, C. C. Durable resistance: a key to sustainable management of pathogens and pests. *Infect. Genet. Evol.* **2014**, *27*, 446–455.
257. Brown, J. K. Durable resistance of crops to disease: a Darwinian perspective. *Annu. Rev. Phytopathol.* **2015**, *53*, 513–539.
258. Nelson, R.; Wiesner-Hanks, T.; Wisser, R.; Balint-Kurti, P. Navigating complexity to breed disease-resistant crops. *Nat. Rev. Genet.* **2018**, *19*(1), 21–33.
259. Singh, R. P.; Huerta-Espino, J.; Bhavani, S.; Herrera-Foessel, S. A.; Singh, D.; Singh, P. K.; Crossa, J. Race non-specific resistance to rust diseases in CIMMYT spring wheats. *Euphytica* **2011**, *179*(1), 175–186.
260. Niks, R. E.; Qi, X.; Marcel, T. C. Quantitative resistance to biotrophic filamentous plant pathogens: concepts, misconceptions, and mechanisms. *Annu. Rev. Phytopathol.* **2015**, *53*, 445–470.
261. Wiesner-Hanks, T.; Nelson, R. Multiple disease resistance in plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* **2016**, *54*, 229–252.

- 262.** Palloix, A.; Ayme, V.; Moury, B. Durability of plant major resistance genes to pathogens depends on the genetic background, experimental evidence and consequences for breeding strategies. *New Phytol.* **2009**, *183*(1), 190–199.
- 263.** Poland, J. A.; Balint-Kurti, P. J.; Wisser, R. J.; Pratt, R. C.; Nelson, R. J. Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends Plant Sci.* **2009**, *14*(1), 21–29.
- 264.** Douglas, A. E. Strategies for enhanced crop resistance to insect pests. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2018**, *69*, 637–660.
- 265.** He, H.; Zhu, S.; Zhao, R.; Jiang, Z.; Ji, Y.; Ji, J.; Bie, T. Pm21, encoding a typical CC-NBS-LRR protein, confers broad-spectrum resistance to wheat powdery mildew disease. *Mol. Plant* **2018**, *11*(6), 879–882.
- 266.** Rhino, B.; Verchere, A.; Thibaut, C.; Ratnadass, A. Field evaluation of sweet corn varieties for their potential as a trap crop for *Helicoverpa zea* under tropical conditions. *Int. J. Pest Manage.* **2016**, *62*(1), 3–10.
- 267.** Zhang, P.; Zhu, Y.; Zhou, S. Comparative analysis of powdery mildew resistant and susceptible cultivated cucumber (*Cucumis sativus* L.) varieties to reveal the metabolic responses to *Sphaerotheca fuliginea* infection. *BMC Plant Biol.* **2021**, *21*(1), 1–13.
- 268.** Liu, D.; Xin, M.; Zhou, X.; Wang, C.; Zhang, Y.; Qin, Z. Expression and functional analysis of the transcription factor-encoding gene CsERF004 in cucumber during *Pseudoperonospora cubensis* and *Corynespora cassiicola* infection. *BMC Plant Biol.* **2017**, *17*(1), 1–13.
- 269.** Berg, J. A.; Appiano, M.; Martínez, M. S.; Hermans, F. W.; Vriezen, W. H.; Visser, R. G.; Schouten, H. J. A transposable element insertion in the susceptibility gene CsaMLO8 results in hypocotyl resistance to powdery mildew in cucumber. *BMC Plant Biol.* **2015**, *15*(1), 1–17.
- 270.** Nekrasov, V.; Wang, C.; Win, J.; Lanz, C.; Weigel, D.; Kamoun, S. Rapid generation of a transgene-free powdery mildew resistant tomato by genome deletion. *Sci. Rep.* **2017**, *7*(1), 1–6.
- 271.** Katan, J.; Gamlie, A. Soil solarization—30 years on: What lessons have been learned?. In *Recent Developments in Management of Plant Diseases* **2010**, 265–283.
- 272.** Gill, H. K.; Aujla, I. S.; De Bellis, L.; Luvisi, A. The role of soil solarization in India: How an unnoticed practice could support pest control. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 1515.
- 273.** Achmon, Y.; Harrold, D. R.; Claypool, J. T.; Stapleton, J. J.; VanderGheynst, J. S.; Simmons, C. W. Assessment of tomato and wine processing solid wastes as soil amendments for biosolarization. *Waste Manage.* **2016**, *48*, 156–164.
- 274.** Díaz-Hernández, S.; Gallo-Llobet, L.; Domínguez-Correa, P.; Rodríguez, A. Effect of repeated cycles of soil solarization and biosolarization on corky root, weeds and fruit yield in screen-house tomatoes under subtropical climate conditions in the Canary Islands. *Crop Prot.* **2017**, *94*, 20–27.
- 275.** Hestmark, K. V.; Fernández-Bayo, J. D.; Harrold, D. R.; Randall, T. E.; Achmon, Y.; Stapleton, J. J.; VanderGheynst, J. S. Compost induces the accumulation of biopesticidal organic acids during soil biosolarization. *Resour. Conserv. Recycl.* **2019**, *143*, 27–35.
- 276.** Fernandez-Bayo, J. D.; Shea, E. A.; Parr, A. E.; Achmon, Y.; Stapleton, J. J.; VanderGheynst, J. S.; Simmons, C. W. Almond processing residues as a source of organic acid biopesticides during biosolarization. *Waste Manage.* **2020**, *101*, 74–82.
- 277.** Schonbeck, M. Soil health and organic farming. *Organic Farming Research Foundation. (Ed.) Schonbeck M.; Jenkins D.; Ory J. Santa Cruz, CA, USA* **2017**.
- 278.** Simmons, C. W.; Higgins, B.; Staley, S.; Joh, L. D.; Simmons, B. A.; Singer, S. W.; VanderGheynst, J. S. The role of organic matter amendment level on soil heating, organic

Justificación y Objetivos de la Tesis

- acid accumulation, and development of bacterial communities in solarized soil. *Appl. Soil Ecol.* **2016**, *106*, 37–46.
- 279.** Marín-Guirao, J. I.; de Cara, M.; Tello-Marquina, J. C. Efecto de la biodesinfección de suelos sobre las comunidades fúngicas edáficas asociadas a cultivos hortícolas. *Ecosistemas* **2019**, *28*(3), 63–72.
- 280.** Huang, X.; Liu, L.; Wen, T.; Zhu, R.; Zhang, J.; Cai, Z. Illumina MiSeq investigations on the changes of microbial community in the *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* infected soil during and after reductive soil disinfestation. *Microbiol. Res.* **2015**, *181*, 33–42.
- 281.** Achmon, Y.; Claypool, J. T.; Fernández-Bayo, J. D.; Hernandez, K.; McCurry, D. G.; Harrold, D. R.; Simmons, C. W. Structural changes in bacterial and fungal soil microbiome components during biosolarization as related to volatile fatty acid accumulation. *Appl. Soil Ecol.* **2020**, *153*, 103602.
- 282.** Díaz, M. D. M. G.; Martínez, C. M. L.; Martinez, V.; Lluch, M. D. C. M.; Larregla, S.; Plasencia, A. L. Soil biosolarization for *Verticillium dahliae* and *Rhizoctonia solani* control in artichoke crops in southeastern Spain. *Span. J. Agric. Res.* **2019**, *17*(1), 19.
- 283.** Elshahawy, I. E.; Saied, N. M. Reduced sclerotial viability of *Stromatinia cepivora* and control of white rot disease of onion and garlic by means of soil bio-solarization. *European J. Plant Pathol.* **2021**, *160*(3), 519–540.
- 284.** Chamorro, M.; Miranda, L.; Domínguez, P.; Medina, J. J.; Soria, C.; Romero, F.; De los Santos, B. Evaluation of biosolarization for the control of charcoal rot disease (*Macrophomina phaseolina*) in strawberry. *Crop Prot.* **2015**, *67*, 279–286.
- 285.** Ros, C.; Martínez, V.; Sánchez-Solana, F.; López-Marín, J.; Lacasa, C. M.; del Mar Guerrero, M.; Lacasa, A. Combination of biosolarization and grafting to control *Meloidogyne incognita* in greenhouse pepper crops. *Crop Prot.* **2018**, *113*, 33–39.
- 286.** Achmon, Y.; Fernández-Bayo, J. D.; Hernandez, K.; McCurry, D. G.; Harrold, D. R.; Su, J.; Simmons, C. W. Weed seed inactivation in soil mesocosms via biosolarization with mature compost and tomato processing waste amendments. *Pest Manage. Sci.* **2017**, *73*(5), 862–873.
- 287.** Domínguez, P.; Miranda, L.; Soria, C.; de los Santos, B.; Chamorro, M.; Romero, F.; Medina, J. J. Soil biosolarization for sustainable strawberry production. *Agron. Sustainable Dev.* **2014**, *34*(4), 821–829.
- 288.** García-Raya, P.; Ruiz-Olmos, C.; Marín-Guirao, J. I.; Asensio-Grima, C.; Tello-Marquina, J. C.; de Cara-García, M. Greenhouse soil biosolarization with tomato plant debris as a unique fertilizer for tomato crops. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2019**, *16*(2), 279.
- 289.** Vela, N.; Fenoll, J.; Navarro, G.; Garrido, I.; Navarro, S. Trial of solar heating methods (solarization and biosolarization) to reduce persistence of neonicotinoid and diamide insecticides in a semiarid Mediterranean soil. *Sci. Total Environ.* **2017**, *590*, 325–332.
- 290.** Pérez-Lucas, G.; Gambín, M.; Navarro, S. Influence of solar heating on herbicide dissipation in polluted soils. *Arch. Agron. Soil Sci.* **2021**, 1–14.
- 291.** Oldfield, T. L.; Achmon, Y.; Perano, K. M.; Dahlquist-Willard, R. M.; VanderGheynst, J. S.; Stapleton, J. J.; Holden, N. M. A life cycle assessment of biosolarization as a valorization pathway for tomato pomace utilization in California. *J. Cleaner Prod.* **2017**, *141*, 146–156.
- 292.** McQuaid, C. F.; Gilligan, C. A.; van den Bosch, F. Considering behaviour to ensure the success of a disease control strategy. *R. Soc. Open Sci.* **2017**, *4*(12), 170721.
- 293.** Dey, D.; Routray, S.; Baral, S.; Mahantheshwara, B. Effect of planting dates and botanical insecticides against major *Lepidopterous* pests of cabbage: A review. *Agric. Rev.* **2017**, *38*(1), 60–66.

- 294.** Parajulee, M. N.; Shrestha, R. B.; Slosser, J. E.; Bordovsky, D. G. Effects of skip-row planting pattern and planting date on dryland cotton insect pest abundance and selected plant parameters. *Southwest. Entomol.* **2011**, *36*(1), 21–39.
- 295.** Siddiqui, S. S.; Naeem, M.; Abbasi, N. A. Effect of planting dates on aphids and their natural enemies in cauliflower varieties. *Pak. J. Bot.* **2009**, *41*(6), 3253–3259.
- 296.** Singh, A.; Weisser, W. W.; Hanna, R.; Houmgn, R.; Zytynska, S. E. Reduce pests, enhance production: benefits of intercropping at high densities for okra farmers in Cameroon. *Pest Manage. Sci.* **2017**, *73*(10), 2017–2027.
- 297.** Kanteh, S. M.; Norman, J. E.; Kamara, J. S. Effect of plant density and weeding regime on population and severity of aphids (*Aphis craccivora* Koch) and foliage beetles (*Oothecca mutabilis* Sahl) on Cowpea in Sierra Leone. *Int. J. Agric. For.* **2014**, *4*, 24–33.
- 298.** Borger, C. P. D.; Riethmuller, G.; D'Antuono, M. Eleven years of integrated weed management: long-term impacts of row spacing and harvest weed seed destruction on *Lolium rigidum* control. *Weed Res.* **2016**, *56*(5), 359–366.
- 299.** Mohammadi, G. R.; Ghobadi, M. E.; Sheikheh-Poor, S. Phosphate biofertilizer, row spacing and plant density effects on corn (*Zea mays* L.) yield and weed growth. *American J. Plant Sci.* **2012**, *3*(4), 425–429.
- 300.** Fahad, S.; Hussain, S.; Chauhan, B. S.; Saud, S.; Wu, C.; Hassan, S.; Huang, J. Weed growth and crop yield loss in wheat as influenced by row spacing and weed emergence times. *Crop Prot.* **2015**, *71*, 101–108.
- 301.** Daramola, O. S.; Adeyemi, O. R.; Adigun, J. A.; Adejuyigbe, C. O. Row spacing and weed management methods influences growth and yield of soybean ((L.) Merr.). *Agric. Trop. Subtrop.* **2019**, *52*(2), 59–71.
- 302.** Vitorino, H. D. S.; Silva, A. C. D.; Gonçalves, C. G.; Martins, D. Interference of a weed community in the soybean crop in functions of sowing spacing1. *Rev. Ciênc. Agron.* **2017**, *48*, 605–613.
- 303.** Davis, J. L.; Armengaud, P.; Larson, T. R.; Graham, I. A.; White, P. J.; Newton, A. C.; Amtmann, A. Contrasting nutrient–disease relationships: potassium gradients in barley leaves have opposite effects on two fungal pathogens with different sensitivities to jasmonic acid. *Plant Cell Environ.* **2018**, *41*(10), 2357–2372.
- 304.** Hodson, A. K.; Lampinen, B. D. Effects of cultivar and leaf traits on the abundance of Pacific spider mites in almond orchards. *Arthropod. Plant Int.* **2019**, *13*(3), 453–463.
- 305.** Dara, S. K.; Sandoval-Solis, S.; Peck, D. Improving strawberry irrigation with micro-sprinklers and their impact on pest management. *Agric. Sci.* **2016**, *7*(12), 859–868.
- 306.** Runia, W. T.; Molendijk, L. P. G.; van den Berg, W.; Stevens, L. H.; Schilder, M. T.; Postma, J. Inundation as tool for management of *Globodera pallida* and *Verticillium dahliae*. In *VIII International Symposium on Chemical and Non-Chemical Soil and Substrate Disinfestation 2014*, *1044*, 195–201.
- 307.** Elmer, W. H.; Gent, M. P. N.; McAvoy, R. J. Partial saturation under ebb and flow irrigation suppresses *Pythium* root rot of ornamentals. *Crop Prot.* **2012**, *33*, 29–33.
- 308.** Hoddle, M. S.; Van Driesche, R. G. Biological control of insect pests. In *Encyclopedia of insects 2009*, 91–101.
- 309.** Heimpel, G. E.; Mills, N. J. *Biological control*. Cambridge University Press **2017**, 387.
- 310.** van Bueren, E. T. L.; Myers, J. R. Organic crop breeding: Integrating organic agricultural approaches and traditional and modern plant breeding methods. In *Organic crop breeding*. (Ed) van Bueren, E. T. L.; Myers, J. R, Wiley & Sons, Ltd., Publication, Oxford U.K. **2011**, 1–13

Justificación y Objetivos de la Tesis

- 311.** Baker, B. P.; Green, T. A.; Loker, A. J. Biological control and integrated pest management in organic and conventional systems. *Biol. Control* **2020**, *140*, 104095.
- 312.** Lamichhane, J. R.; Akbas, B.; Andreasen, C. B.; Arendse, W.; Bluemel, S.; Dachbrodt-Saaydeh, S.; Messéan, A. A call for stakeholders to boost integrated pest management in Europe: a vision based on the three-year european research area network project. *Int. J. Pest Manage.* **2018**, *64*(4), 352–358.
- 313.** Messing, R.; Brodeur, J. Current challenges to the implementation of classical biological control. *Biol. Control* **2018**, *63*(1), 1–9.
- 314.** Hajek, A. E., & Eilenberg, J. *Natural enemies: an introduction to biological control*. Cambridge University Press, Cambridge U.K. **2018**.
- 315.** Dieckhoff, C.; Tatman, K. M.; Hoelmer, K. A. Natural biological control of *Halyomorpha halys* by native egg parasitoids: a multi-year survey in northern Delaware. *J. Pest Sci.* **2017**, *90*(4), 1143–1158.
- 316.** Myrick, S.; Norton, G. W.; Selvaraj, K. N.; Natarajan, K.; Muniappan, R. Economic impact of classical biological control of papaya mealybug in India. *Crop Prot.* **2014**, *56*, 82–86.
- 317.** Grab, H.; Danforth, B.; Poveda, K.; Loeb, G. Landscape simplification reduces classical biological control and crop yield. *Ecol. Appl.* **2018**, *28*(2), 348–355.
- 318.** Heimpel, G. E.; Cock, M. J. Shifting paradigms in the history of classical biological control. *Biol. Control* **2018**, *63*(1), 27–37.
- 319.** Pell, J. K.; Hannam, J. J.; Steinkraus, D. C. Conservation biological control using fungal entomopathogens. *Biol. Control* **2010**, *55*(1), 187–198.
- 320.** Begg, G. S.; Cook, S. M.; Dye, R.; Ferrante, M.; Franck, P.; Lavigne, C.; Birch, A. N. E. A functional overview of conservation biological control. *Crop Prot.* **2017**, *97*, 145–158.
- 321.** Gurr, G. M.; Wratten, S. D.; Landis, D. A.; You, M. Habitat management to suppress pest populations: progress and prospects. *Annu. Rev. Entomol.* **2017**, *62*, 91–109.
- 322.** Hatt, S.; Mouchon, P.; Lopes, T.; Francis, F. Effects of wildflower strips and an adjacent forest on aphids and their natural enemies in a pea field. *Insects* **2017**, *8*(3), 99.
- 323.** Gontijo, L. M. Engineering natural enemy shelters to enhance conservation biological control in field crops. *Biol. Control* **2019**, *130*, 155–163.
- 324.** Van Lenteren, J. C. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *Biol. Control* **2012**, *57*(1), 1–20.
- 325.** Mortazavi, N.; Fathipour, Y.; Talebi, A. A. The efficiency of *Amblyseius swirskii* in control of *Tetranychus urticae* and *Trialeurodes vaporariorum* is affected by various factors. *Bull. Entomol. Res.* **2019**, *109*(3), 365–375.
- 326.** Fathipour, Y.; Maleknia, B.; Bagheri, A.; Soufbaf, M.; Reddy, G. V. Functional and numerical responses, mutual interference, and resource switching of *Amblyseius swirskii* on two-spotted spider mite. *Biol. Control* **2020**, *146*, 104266.
- 327.** Migeon, A.; Tixier, M. S.; Navajas, M.; Litskas, V. D.; Stavrinides, M. C. A predator-prey system: *Phytoseiulus persimilis* (Acari: *Phytoseiidae*) and *Tetranychus urticae* (Acari: *Tetranychidae*): worldwide occurrence datasets. *Acarologia* **2019**, *59*(3), 301–307.
- 328.** Tiftikçi, P.; Kök, Ş.; Kasap, İ. Biological control of twospotted spider mites [*Tetranychus urticae* Koch (Acari: *Tetranychidae*)] using *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: *Phytoseiidae*) at different ratios of release on field-grown tomatoes. *Biol. Control* **2020**, *151*, 104404.
- 329.** Gigon, V.; Camps, C.; Le Corff, J. Biological control of *Tetranychus urticae* by *Phytoseiulus macropilis* and *Macrolophus pygmaeus* in tomato greenhouses. *Exp. Appl. Acarol.* **2016**, *68*(1), 55–70.

- 330.** Chen, C. S.; Zhao, C.; Wu, Z. Y.; Liu, G. F.; Yu, X. P.; Zhang, P. J. Whitefly-induced tomato volatiles mediate host habitat location of the parasitic wasp *Encarsia formosa*, and enhance its efficacy as a bio-control agent. *Pest Manage. Sci.* **2021**, *77*(2), 749–757.
- 331.** Fan, Z. Y.; Zhu, Z. P.; Peng, J.; Chen, X. Y.; Lu, Z. T.; Pan, H. P.; Qiu, B. L. Non-consumptive effects of *Encarsia formosa* on the reproduction and metabolism of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Biol. Control* **2021**, *1*–10.
- 332.** Hanan, A.; He, X. Z.; Wang, Q. Insight into the success of whitefly biological control using parasitoids: Evidence from the *Eretmocerus warrae* – *Trialeurodes vaporariorum* system. *Pest Manage. Sci.* **2017**, *73*(11), 2294–2301.
- 333.** Calvo, F. J.; Velázquez-González, J. C.; Velásquez-González, M. B.; Torres, A. Supplemental releases of specialist parasitic wasps improve whitefly and psyllid control by *Dicyphus hesperus* in tomato. *Biol. Control* **2018**, *63*(5), 629–639.
- 334.** Karut, K.; Kazak, C.; Döker, İ. Potential of single and combined releases of *Eretmocerus mundus* and *Macrolophus melanotoma* to suppress *Bemisia tabaci* in protected eggplant. *Biol. Control* **2018**, *126*, *1*–6.
- 335.** Ebrahimifar, J.; Jamshidnia, A. Host stage preference in the parasitoid wasp, *Eretmocerus delhiensis*, for parasitism and host-feeding. *Int. J. Trop. Insect Sci.* **2021**, *1*–6.
- 336.** Roda, A.; Castillo, J.; Allen, C.; Urbaneja, A.; Pérez-Hedo, M.; Weihman, S.; Stansly, P. A. Biological control potential and drawbacks of three zoophytophagous mirid predators against *Bemisia tabaci* in the United States. *Insects* **2020**, *11*(10), 670.
- 337.** Yano, E.; Nakauchi, M.; Watanabe, T.; Watanabe, H.; Hosaka, S.; Nishimori, S.; Hinomoto, N. Life history traits of *Nesidiocoris tenuis* on *Bemisia tabaci* and *Thrips palmi*. *Biol. Control* **2020**, *65*(2), 155–164.
- 338.** Kakkar, G.; Kumar, V.; Seal, D. R.; Liburd, O. E.; Stansly, P. A. Predation by *Neoseiulus cucumeris* and *Amblyseius swirskii* on *Thrips palmi* and *Frankliniella schultzei* on cucumber. *Biol. Control* **2016**, *92*, 85–91.
- 339.** Schoeller, E. N.; McKenzie, C. L.; Osborne, L. S. Comparison of the phytoseiid mites *Amblyseius swirskii* and *Amblydromalus limonicus* for biological control of chilli thrips, *Scirtothrips dorsalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Exp. Appl. Acarol.* **2020**, *82*(3), 309–318.
- 340.** Bouagga, S.; Urbaneja, A.; Rambla, J. L.; Granell, A.; Pérez-Hedo, M. *Orius laevigatus* strengthens its role as a biological control agent by inducing plant defenses. *J. Pest Sci.* **2018**, *91*(1), 55–64.
- 341.** Ding, H. Y.; Lin, Y. Y.; Tuan, S. J.; Tang, L. C.; Chi, H.; Atlihan, R.; Güncan, A. Integrating demography, predation rate, and computer simulation for evaluation of *Orius strigicollis* as a biological control agent against *Frankliniella intonsa*. *Entomol. Gen.* **2020**, *41*(2), 179–196.
- 342.** Lin, Q. C.; Chen, H.; Babendreier, D.; Zhang, J. P.; Zhang, F.; Dai, X. Y.; Zhai, Y. F. Improved control of *Frankliniella occidentalis* on greenhouse pepper through the integration of *Orius sauteri* and neonicotinoid insecticides. *J. Pest Sci.* **2021**, *94*(1), 101–109.
- 343.** Hinomoto, N.; Abe, J.; Nagasaka, K. Control of thrips in cucumber by *Nesidiocoris tenuis*-banker plant system. *IOBC/WPRS Bull.* **2017**, *124*, 207–213.
- 344.** Bouagga, S.; Urbaneja, A.; Pérez-Hedo, M. Comparative biocontrol potential of three predatory mirids when preying on sweet pepper key pests. *Biol. Control* **2018**, *121*, 168–174.
- 345.** Khatri, D.; He, X. Z.; Wang, Q. Effective biological control depends on life history strategies of both parasitoid and its host: Evidence from *Aphidius colemani*–*Myzus persicae* system. *J. Econ. Entomol.* **2017**, *110*(2), 400–406.

Justificación y Objetivos de la Tesis

346. Jado, R. H.; Araj, S. E.; Abu-Irmaileh, B.; Shields, M. W.; Wratten, S. D. Floral resources to enhance the potential of the parasitoid *Aphidius colemani* for biological control of the aphid *Myzus persicae*. *J. Appl. Entomol.* **2019**, *143*(1-2), 34–42.
347. Aparicio, Y.; Gabarra, R.; Arnó, J. Attraction of *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) and *Aphidoletes aphidimyza* (Diptera: Cecidomyiidae) to sweet alyssum and assessment of plant resources effects on their fitness. *J. Econ. Entomol.* **2018**, *111*(2), 533–541.
348. Le-Thu-Ha Nguyen, L. S.; Monticelli, N. D.; Christiane, M. M.; Edwige, A. D. Bottom-up effect of water stress on the aphid parasitoid *Aphidius ervi*. *Entomol. Gen.* **2018**, *38*(1), 15–27.
349. Mohl, E. K.; Stenoien, C. M.; Heimpel, G. E. The effects of host plant species on adult oviposition and larval performance of the aphid predator *Aphidoletes aphidimyza*. *Ecol. Entomol.* **2020**, *45*(3), 606–616.
350. Quarrell, S. R.; Corkrey, R.; Allen, G. R. Predictive thresholds for forecasting the compatibility of *Forficula auricularia* and *Aphelinus mali* as biological control agents against woolly apple aphid in apple orchards. *Biol. Control* **2017**, *62*(2), 243–256.
351. Kaser, J. M.; Heimpel, G. E. Impact of the parasitoid *Aphelinus certus* on soybean aphid populations. *Biol. Control* **2018**, *127*, 17–24.
352. Alghamdi, A.; Al-Otaibi, S.; Sayed, S. M. Field evaluation of indigenous predacious insect, *Chrysoperla carnea* (Steph.) (Neuroptera: Chrysopidae), fitness in controlling aphids and whiteflies in two vegetable crops. *Egypt. J. Biol. Pest Control* **2018**, *28*(1), 1–8.
353. Delgado-Ramírez, C. S.; Salas-Araiza, M. D.; Martínez-Jaime, O. A.; Guzmán-Mendoza, R.; Flores-Mejía, S. Predation capability of *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) feeding of *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae). *Fla. Entomol.* **2019**, *102*(1), 24–28.
354. Alori, E. T.; Dare, M. O.; Babalola, O. O. Microbial inoculants for soil quality and plant health. In *Sustainable Agriculture Reviews* **2017**, 281–307.
355. El-Ghamry, A.; Mosa, A. A.; Alshaal, T.; El-Ramady, H. Nanofertilizers vs. biofertilizers: new insights. *Environ. Biodivers. Soil Secur.* **2018**, *2*, 51–72.
356. Vessey, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* **2003**, *255*(2), 571–586.
357. Fuentes-Ramirez, L. E.; Caballero-Mellado, J. Bacterial biofertilizers. In *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Z.A. Siddiqui (ed.), Springer, Dordrecht, The Netherlands **2005**, 143–172.
358. Sahu, P. K.; Brahmaprakash, G. P. Formulations of biofertilizers—approaches and advances. In *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity* **2016**, 179–198.
359. Maćik, M.; Gryta, A.; Frąc, M. Biofertilizers in agriculture: An overview on concepts, strategies and effects on soil microorganisms. *Adv. Agron.* **2020**, *162*, 31–87.
360. Kloepper, J.; Schroth, M. Association of in vitro antibiosis with inducibility of increased plant growth by *Pseudomonas* spp. (Abstr). *Phytopathol. News* **1978**, *12*, 136.
361. Hyakumachi, M. Plant-growth-promoting fungi from turfgrass rhizosphere with potential for disease suppression. *Soil Microorg.* **1994**, *44*, 53–68.
362. Mehmood, U.; Inam-ul-Haq, M.; Saeed, M.; Altaf, A.; Azam, F.; Hayat, S. A brief review on Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): a key role in plant growth promotion. *Plant Prot.* **2018**, *2*(2), 77–82.
363. Hossain, M. M.; Sultana, F. Application and mechanisms of Plant Growth Promoting Fungi (PGPF) for phytostimulation. *Org. Agric.* **2020**.

- 364.** El-Maraghy, S. S.; Tohamy, A. T.; Hussein, K. A. Plant protection properties of the Plant Growth-Promoting Fungi (PGPF): Mechanisms and potentiality. *Curr. Res. Environ. Appl.* **2021**, *11*(1), 391–415.
- 365.** Kour, D.; Rana, K. L.; Yadav, A. N.; Yadav, N.; Kumar, M.; Kumar, V.; Saxena, A. K. Microbial biofertilizers: Bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability. *Biocat. Agric. Biotechnol.* **2020**, *23*, 101487.
- 366.** Ribeiro, C. W.; Alloing, G.; Mandon, K.; Frendo, P. Redox regulation of differentiation in symbiotic nitrogen fixation. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **2015**, *1850*(8), 1469–1478.
- 367.** Zilli, J. É.; Alves, B. J. R.; Rouws, L. F. M.; Simões-Araujo, J. L.; de Barros Soares, L. H.; Cassán, F.; O’Hara, G. The importance of denitrification performed by nitrogen-fixing bacteria used as inoculants in South America. *Plant Soil* **2020**, *451*(1), 5–24.
- 368.** Shang, J. Y.; Wu, Y.; Huo, B.; Chen, L.; Wang, E. T.; Sui, Y.; Sui, X. H. Potential of *Bradyrhizobia* inoculation to promote peanut growth and beneficial Rhizobacteria abundance. *J. Appl. Microbiol.* **2021**, *131*(5), 2500–2515.
- 369.** Mei, P. P.; Wang, P.; Yang, H.; Gui, L. G.; Christie, P.; Li, L. Maize/faba bean intercropping with rhizobial inoculation in a reclaimed desert soil enhances productivity and symbiotic N₂ fixation and reduces apparent N losses. *Soil Tillage Res.* **2021**, *213*, 105154.
- 370.** Zeffa, D. M.; Perini, L. J.; Silva, M. B.; de Sousa, N. V.; Scapim, C. A.; Oliveira, A. L. M. D.; Azeredo Goncalves, L. S. *Azospirillum brasiliense* promotes increases in growth and nitrogen use efficiency of maize genotypes. *PLoS One* **2019**, *14*(4), e0215332.
- 371.** Song, Y.; Li, Z.; Liu, J.; Zou, Y.; Lv, C.; Chen, F. Evaluating the impacts of *Azotobacter chroococcum* Inoculation on soil stability and plant property of maize crop. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **2021**, *21*(1), 824–831.
- 372.** Masood, S.; Zhao, X. Q.; Shen, R. F. *Bacillus pumilus* promotes the growth and nitrogen uptake of tomato plants under nitrogen fertilization. *Sci. Hortic.* **2020**, *272*, 109581.
- 373.** de Carvalho, R. H.; da Conceição Jesus, E.; Favero, V. O.; Straliotto, R.; Araújo, A. P. The co-inoculation of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* increases the early nodulation and development of common beans. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **2020**, *1*–5.
- 374.** Wang, Y.; Wang, M.; Li, Y.; Wu, A.; Huang, J. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nitrogen uptake of *Chrysanthemum morifolium* under salt stress. *PLoS One* **2018**, *13*(4), e0196408.
- 375.** Siddikee, M. A.; Zereen, M. I.; Li, C. F.; Dai, C. C. Endophytic fungus *Phomopsis liquidambari* and different doses of N-fertilizer alter microbial community structure and function in rhizosphere of rice. *Sci. Rep.* **2016**, *6*(1), 1–14.
- 376.** Christian, N.; Herre, E. A.; Clay, K. Foliar endophytic fungi alter patterns of nitrogen uptake and distribution in *Theobroma cacao*. *New Phytol.* **2019**, *222*(3), 1573–1583.
- 377.** Shan, T.; Zhou, L.; Li, B.; Chen, X.; Guo, S.; Wang, A.; Liu, J. The Plant Growth-Promoting Fungus MF23 (*Mycena* sp.) increases production of *Dendrobium officinale* (Orchidaceae) by affecting nitrogen uptake and assimilation. *Front. Plant Sci.* **2021**, *12*.
- 378.** Zhang, Y.; Dai, S.; Huang, X.; Zhao, Y.; Zhao, J.; Cheng, Y.; Zhang, J. pH-induced changes in fungal abundance and composition affects soil heterotrophic nitrification after 30 days of artificial pH manipulation. *Geoderma* **2020**, *366*, 114255.
- 379.** Alori, E. T.; Glick, B. R.; Babalola, O. O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 971.
- 380.** Chen, W.; Yang, F.; Zhang, L.; Wang, J. Organic acid secretion and phosphate solubilizing efficiency of *Pseudomonas* sp. PSB12: effects of phosphorus forms and carbon sources. *Geomicrobiol. J.* **2016**, *33*(10), 870–877.

Justificación y Objetivos de la Tesis

381. Li, Z.; Bai, T.; Dai, L.; Wang, F.; Tao, J.; Meng, S.; Hu, S. A study of organic acid production in contrasts between two phosphate solubilizing fungi: *Penicillium oxalicum* and *Aspergillus niger*. *Sci. Rep.* **2016**, *6*(1), 1–8.
382. Din, M.; Nelofer, R.; Salman, M.; Khan, F. H.; Khan, A.; Ahmad, M.; Khan, M. Production of nitrogen fixing *Azotobacter* (SR-4) and phosphorus solubilizing *Aspergillus niger* and their evaluation on *Lagenaria siceraria* and *Abelmoschus esculentus*. *Biotechnol. Rep.* **2019**, *22*, e00323.
383. Zhang, X.; Zhan, Y.; Zhang, H.; Wang, R.; Tao, X.; Zhang, L.; Li, J. Inoculation of phosphate-solubilizing bacteria (*Bacillus*) regulates microbial interaction to improve phosphorus fractions mobilization during kitchen waste composting. *Bioresour. Technol.* **2021**, *340*, 125714.
384. Ahmad, M.; Ahmad, I.; Hilger, T. H.; Nadeem, S. M.; Akhtar, M. F.; Jamil, M.; Zahir, Z. A. Preliminary study on phosphate solubilizing *Bacillus subtilis* strain Q3 and *Paenibacillus* sp. strain Q6 for improving cotton growth under alkaline conditions. *PeerJ* **2018**, *6*, e5122.
385. Liu, C.; Mou, L.; Yi, J.; Wang, J.; Liu, A.; Yu, J. The eno gene of *Burkholderia cenocepacia* strain 71-2 is involved in phosphate solubilization. *Curr. Microbiol.* **2019**, *76*(4), 495–502.
386. Liu, Y. Q.; Wang, Y. H.; Kong, W. L.; Liu, W. H.; Xie, X. L.; Wu, X. Q. Identification, cloning and expression patterns of the genes related to phosphate solubilization in *Burkholderia multivorans* WS-FJ9 under different soluble phosphate levels. *AMB Express* **2020**, *10*, 1–11.
387. Kour, D.; Rana, K. L.; Sheikh, I.; Kumar, V.; Yadav, A. N.; Dhaliwal, H. S.; Saxena, A. K. Alleviation of drought stress and plant growth promotion by *Pseudomonas libanensis* EU-LWNA-33, a drought-adaptive phosphorus-solubilizing bacterium. *Proc. Natl. Acad. Sci. India B.* **2020**, *90*(4), 785–795.
388. Linu, M. S.; Asok, A. K.; Thampi, M.; Sreekumar, J.; Jisha, M. S. Plant growth promoting traits of indigenous phosphate solubilizing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from chilli (*Capsicum annuum* L.) rhizosphere. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2019**, *50*(4), 444–457.
389. Bolo, P.; Kihara, J.; Mucheru-Muna, M.; Njeru, E. M.; Kinyua, M.; Sommer, R. Application of residue, inorganic fertilizer and lime affect phosphorus solubilizing microorganisms and microbial biomass under different tillage and cropping systems in a Ferralsol. *Geoderma* **2021**, *390*, 114962.
390. Abdel-Ghany, T. M.; Alawlaqi, M. M. Molecular identification of rhizospheric thermo-halotolerant *Aspergillus terreus* and its correlation to sustainable agriculture. *Biol. Resour.* **2018**, *13*(4), 8012–8023.
391. López, J. E.; Gallego, J. L.; Vargas-Ruiz, A.; Peña-Mosquera, A. L.; Zapata-Zapata, A. D.; López-Sánchez, I. J.; Botero-Botero, L. R. *Aspergillus tubingensis* and *Talaromyces islandicus* solubilize rock phosphate under saline and fungicide stress and improve *Zea mays* growth and phosphorus nutrition. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **2020**, *20*(4), 2490–2501.
392. Arias Mota, R. M.; Romero Fernández, A. D. J.; Bañuelos Trejo, J.; Cruz Elizondo, Y. D. L. Inoculation of phosphorus solubilizing fungi and arbuscular mycorrhizae in tomato plants. *Rev. Mexicana Cienc. Agríc.* **2019**, *10*(8), 1747–1757.
393. Wang, J.; Zhao, Y. G.; Maqbool, F. Capability of *Penicillium oxalicum* y2 to release phosphate from different insoluble phosphorus sources and soil. *Folia Microbiol.* **2021**, *66*(1), 69–77.
394. Wu, M.; Wei, Q.; Xu, L.; Li, H.; Oelmüller, R.; Zhang, W. *Piriformospora indica* enhances phosphorus absorption by stimulating acid phosphatase activities and organic acid accumulation in *Brassica napus*. *Plant Soil* **2018**, *432*(1), 333–344.

- 395.** Aslam, M. M.; Karanja, J.; Bello, S. K. *Piriformospora indica* colonization reprograms plants to improved P-uptake, enhanced crop performance, and biotic/abiotic stress tolerance. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **2019**, *106*, 232–237.
- 396.** Patel, D.; Patel, A.; Patel, M.; Goswami, D. *Talaromyces pinophilus* strain M13: a portrayal of novel groundbreaking fungal strain for phytointensification. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2021**, *28*(7), 8758–8769.
- 397.** Bader, A. N.; Salerno, G. L.; Covacevich, F.; Consolo, V. F. Native *Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole-3 acetic acid and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *J. King Saud Univ.-Sci.* **2020**, *32*(1), 867–873.
- 398.** Paul, S.; Rakshit, A. Effect of seed bio-priming with *Trichoderma viride* strain BHU-2953 for enhancing soil phosphorus solubilization and uptake in soybean (*Glycine max*). *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **2021**, *21*(2), 1041–1052.
- 399.** Tandon, A.; Fatima, T.; Shukla, D.; Tripathi, P.; Srivastava, S.; Singh, P. C. Phosphate solubilization by *Trichoderma koningiopsis* (NBRI-PR5) under abiotic stress conditions. *J. King Saud Univ.-Sci.* **2020**, *32*(1), 791–798.
- 400.** Kobae, Y. Dynamic phosphate uptake in arbuscular mycorrhizal roots under field conditions. *Front. Environ. Sci.* **2019**, *6*, 159.
- 401.** Mitra, D.; Khoshru, B.; Mohapatra, P. K. D.; Panneerselvam, P. Beneficial interaction of arbuscular mycorrhizal fungi in plant to improve the uptake of phosphorus. *Indian J. Plant Soil* **2020**, *7*(2).
- 402.** Etesami, H.; Jeong, B. R. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi, phosphate-solubilizing bacteria, and silicon to p uptake by plant: A Review. *Front. Plant Sci.* **2021**, *12*, 1355.
- 403.** Khoshmanzar, E.; Aliasgharzad, N.; Neyshabouri, M. R.; Khoshru, B.; Arzanlou, M.; Lajayer, B. A. Effects of *Trichoderma* isolates on tomato growth and inducing its tolerance to water-deficit stress. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **2020**, *17*(2), 869–878.
- 404.** Berde, C. V.; Gawde, S. S.; Berde, V. B. Potassium solubilization: Mechanism and functional impact on plant growth. In *Soil Microbiomes for Sustainable Agriculture* **2021**, *27*, 133–148.
- 405.** Matias, P. C.; Mattiello, E. M.; Santos, W. O.; Badel, J. L. Solubilization of a K-silicate rock by *Acidithiobacillus thiooxidans*. *Miner. Eng.* **2019**, *132*, 69–75.
- 406.** Ali, A. M.; Awad, M. Y.; Hegab, S. A.; Gawad, A. M. A. E.; Eissa, M. A. Effect of potassium solubilizing bacteria (*Bacillus cereus*) on growth and yield of potato. *J. Plant Nutr.* **2021**, *44*(3), 411–420.
- 407.** Pramanik, P.; Goswami, A. J.; Ghosh, S.; Kalita, C. An indigenous strain of potassium-solubilizing bacteria *Bacillus pseudomycoides* enhanced potassium uptake in tea plants by increasing potassium availability in the mica waste-treated soil of North-east India. *J. Appl. Microbiol.* **2019**, *126*(1), 215–222.
- 408.** You, M.; Fang, S.; MacDonald, J.; Xu, J.; Yuan, Z.C. Isolation and characterization of *Burkholderia cenocepacia* CR318, a phosphate solubilizing bacterium promoting corn growth. *Microbiol. Res.* **2020**, *233*, 126395.
- 409.** Baghel, V.; Thakur, J.K.; Yadav, S. S.; Manna, M.C.; Mandal, A.; Shirale, A.O.; Patra, A.K. Phosphorus and potassium solubilization from rock minerals by endophytic *Burkholderia* sp. strain FDN2-1 in soil and shift in diversity of bacterial endophytes of corn root tissue with crop growth stage. *Geomicrobiol. J.* **2020**, *37*(6), 550–563.

Justificación y Objetivos de la Tesis

- 410.** Jha, V.; Purohit, H.; Dafale, N. A. Revealing the potential of *Klebsiella pneumoniae* PVN-1 for plant beneficial attributes by genome sequencing and analysis. *3 Biotech.* **2021**, *11*(11), 1–11.
- 411.** Li, X.; Yin, Y.; Fan, S.; Xu, X.; Amombo, E.; Xie, Y.; Fu, J. *Aspergillus aculeatus* enhances potassium uptake and photosynthetic characteristics in perennial ryegrass by increasing potassium availability. *J. Appl. Microbiol.* **2021**, *132*(1), 483–494.
- 412.** Naeem, U.; ul Haq, I.; Afzaal, M.; Qazi, A.; Yasar, A.; bari Tabinda, A.; Awan, H. Investigating the effect of *Aspergillus niger* inoculated press mud (biofertilizer) on the potential of enhancing maize (*Zea mays*. L) yield, potassium use efficiency and potassium agronomic efficiency. *Cereal Res. Commun.* **2021**, 1–14.
- 413.** Nosheen, S.; Ajmal, I.; Song, Y. Microbes as biofertilizers, a potential approach for sustainable crop production. *Sustainability* **2021**, *13*(4), 1868.
- 414.** Aini, N.; Yamika, W. S. D.; Ulum, B. Effect of nutrient concentration, PGPR and AMF on plant growth, yield, and nutrient uptake of hydroponic lettuce. *Int. J. Agric. Biol.* **2019**, *21*, 175–183.
- 415.** Nacoon, S.; Jogloy, S.; Riddech, N.; Mongkolthanaruk, W.; Ekprasert, J.; Cooper, J.; Boonlue, S. Combination of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate solubilizing bacteria on growth and production of *Helianthus tuberosus* under field condition. *Sci. Rep.* **2021**, *11*(1), 1–10.
- 416.** Kour, D.; Rana, K. L.; Kaur, T.; Sheikh, I.; Yadav, A. N.; Kumar, V.; Saxena, A. K. Microbe-mediated alleviation of drought stress and acquisition of phosphorus in great millet (*Sorghum bicolor* L.) by drought-adaptive and phosphorus-solubilizing microbes. *Biocat. Agric. Biotechnol.* **2020**, *23*, 101501.
- 417.** Maity, A.; Sharma, J.; Pal, R. K. Novel potassium solubilizing bio-formulation improves nutrient availability, fruit yield and quality of pomegranate (*Punica granatum* L.) in semi-arid ecosystem. *Sci. Hortic.* **2019**, *255*, 14–20.
- 418.** Khan, A.; Singh, P.; Srivastava, A. Synthesis, nature and utility of universal iron chelator–Siderophore: A review. *Microbiol. Res.* **2018**, *212*, 103–111.
- 419.** Ghosh, S. K.; Bera, T.; Chakrabarty, A. M. Microbial siderophore–A boon to agricultural sciences. *Biol. Control* **2020**, *144*, 104214.
- 420.** Butler, A.; Harder, T.; Ostrowski, A. D.; Carrano, C. J. Photoactive siderophores: Structure, function and biology. *J. Inorg. Biochem.* **2021**, *111*457.
- 421.** García, J. E.; Maroniche, G.; Creus, C.; Suárez-Rodríguez, R.; Ramírez-Trujillo, J. A.; Groppa, M. D. *In vitro* PGPR properties and osmotic tolerance of different *Azospirillum* native strains and their effects on growth of maize under drought stress. *Microbiol. Res.* **2017**, *202*, 21–29.
- 422.** Rizzi, A.; Roy, S.; Bellenger, J. P.; Beauregard, P. B. Iron homeostasis in *Bacillus subtilis* requires siderophore production and biofilm formation. *Appl. Environ. Microbiol.* **2019**, *85*(3), e02439–18.
- 423.** Barrera-Galicia, G. C.; Peniche-Pavía, H. A.; Peña-Cabriales, J. J.; Covarrubias, S. A.; Vera-Núñez, J. A.; Délano-Frier, J. P. Metabolic footprints of *Burkholderia* Sensu Lato rhizosphere bacteria active against maize *Fusarium* pathogens. *Microorganisms* **2021**, *9*(10), 2061.
- 424.** Dolatabad, H. K.; Javan-Nikkhah, M.; Shier, W. T. Evaluation of antifungal, phosphate solubilisation, and siderophore and chitinase release activities of endophytic fungi from *Pistacia vera*. *Mycol. Prog.* **2017**, *16*(8), 777–790.

- 425.** Hussein, K. A.; Joo, J. H. Zinc ions affect siderophore production by fungi isolated from the *Panax ginseng* rhizosphere. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2019**, *29*(1), 105–113.
- 426.** Egamberdieva, D.; Wirth, S. J.; Alqarawi, A. A.; Abd Allah, E. F.; Hashem, A. Phytohormones and beneficial microbes: essential components for plants to balance stress and fitness. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 2104.
- 427.** Frankenberger, W. T.; Arshad, M. *Phytohormones in soils: microbial production and function.* (Ed.) Muhammadarshad. W.T.; Frankenberger, J.R., CRC Press, Boca Raton FL. **2020**, 152.
- 428.** Meliani, A.; Bensoltane, A.; Benidire, L.; Oufdou, K. Plant growth-promotion and IAA secretion with *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*. *Res. Rev. J. Bot. Sci.* **2017**, *6*(2), 16–24.
- 429.** Shoukry, A. A.; El-Sebaay, H. H.; El-Ghomary, A. E. Assessment of indole acetic acid production from *Rhizobium leguminosarum* strains. *Curr. Sci. Int.* **2018**, *7*(1), 60–69.
- 430.** Mehmood, A.; Hussain, A.; Irshad, M.; Hamayun, M.; Iqbal, A.; Khan, N. *In vitro* production of IAA by endophytic fungus *Aspergillus awamori* and its growth promoting activities in *Zea mays*. *Symbiosis* **2019**, *77*(3), 225–235.
- 431.** Wagi, S.; Ahmed, A. *Bacillus* spp.: potent microfactories of bacterial IAA. *PeerJ* **2019**, *7*, e7258.
- 432.** Pagnussat, L. A.; Maroniche, G.; Curatti, L.; Creus, C. Auxin-dependent alleviation of oxidative stress and growth promotion of *Scenedesmus obliquus* C1S by *Azospirillum brasiliense*. *Algal Res.* **2020**, *47*, 101839.
- 433.** Inayati, A.; Setyowati, L.; Aini, L. Q.; Yusnawan, E. () Plant growth promoter produced by *Trichoderma virens* and its effect on mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) seedling. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* **2021**, *803*(1), 012013.
- 434.** Zhao, X.; Liu, X.; Zhao, H.; Ni, Y.; Lian, Q.; Qian, H.; Ma, Q. Biological control of *Fusarium* wilt of sesame by *Penicillium bilaiae* 47M-1. *Biol. Control* **2021**, *158*, 104601.
- 435.** Hamzah, A.; Zubir, I.; Ross, E. E. R.; Aqma, W. S. Antagonistic effect and plant growth hormone produced by endophyte *Bacillus amyloliquefaciens* LKM-UL isolated from cocoa plant. *Int. J. Biosci. Biochem. Bioinf.* **2017**, *7*, 169–176.
- 436.** Sridharan, A. P.; Sugitha, T.; Karthikeyan, G.; Nakkeeran, S.; Sivakumar, U. Metabolites of *Trichoderma longibrachiatum* EF5 inhibits soil borne pathogen, *Macrophomina phaseolina* by triggering amino sugar metabolism. *Microb. Pathog.* **2021**, *150*, 104714.
- 437.** Zerrouk, I. Z.; Rahmoune, B.; Auer, S.; Rößler, S.; Lin, T.; Baluska, F.; Ludwig-Müller, J. Growth and aluminum tolerance of maize roots mediated by auxin-and cytokinin-producing *Bacillus toyonensis* requires polar auxin transport. *Environ. Exp. Bot.* **2020**, *176*, 104064.
- 438.** Bean, K. M.; Kisiala, A. B.; Morrison, E. N.; Emery, R. J. *Trichoderma* synthesizes cytokinins and alters cytokinin dynamics of inoculated *Arabidopsis* seedlings. *J. Plant Growth Regul.* **2021**, *1*–17.
- 439.** Nielsen, T. K.; Mekureyaw, M. F.; Hansen, L. H.; Nicolaisen, M. H.; Roitsch, T. G.; Hennessy, R. C. Complete genome sequence of the cytokinin-producing biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* G20-18. *Microbiol. Resour. Announc.* **2021**, *10*(30), e00601–21
- 440.** UI Hassan, T.; Bano, A. Construction of IAA-deficient mutants of *Pseudomonas moraviensis* and their comparative effects with wild type strains as bio-inoculant on wheat in saline sodic soil. *Geomicrobiol. J.* **2019**, *36*(4), 376–384.
- 441.** Liu, B.; Ji, S.; Zhang, H.; Wang, Y.; Liu, Z. Isolation of *Trichoderma* in the rhizosphere soil of *Syringa oblata* from Harbin and their biocontrol and growth promotion function. *Microbiol. Res.* **2020**, *235*, 126445.

Justificación y Objetivos de la Tesis

- 442.** Gowtham, H. G.; Duraivadivel, P.; Ayusman, S.; Sayani, D.; Gholap, S. L.; Niranjana, S. R.; Hariprasad, P. ABA analogue produced by *Bacillus marisflavi* modulates the physiological response of *Brassica juncea* L. under drought stress. *Appl. Soil Ecol.* **2021**, *159*, 103845.
- 443.** El-Sheikh, M. A.; Rajaselvam, J.; Abdel-Salam, E. M.; Vijayaraghavan, P.; Alatar, A. A.; Biji, G. D. *Paecilomyces* sp. ZB is a cell factory for the production of gibberellic acid using a cheap substrate in solid state fermentation. *Saudi J. Biol. Sci.* **2020**, *27*(9), 2431–2438.
- 444.** Baliyan, N.; Dhiman, S.; Dheeman, S.; Kumar, S.; Arora, N. K.; Maheshwari, D. K. Optimization of gibberellic acid production in endophytic *Bacillus cereus* using response surface methodology and its use as plant growth regulator in Chickpea. *J. Plant Growth Regul.* **2021**, 1–11.
- 445.** Sreenayana, B.; Vinodkumar, S.; Nakkeeran, S.; Muthulakshmi, P.; Poornima, K. Multitudinous potential of *Trichoderma* species in imparting resistance against *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* and *Meloidogyne incognita* disease complex. *J. Plant Growth Regul.* **2021**, 1–20.
- 446.** Moshi, A. P.; Matoju, I. The status of research on and application of biopesticides in Tanzania. Review. *Crop Prot.* **2017**, *92*, 16–28.
- 447.** Chandler, D.; Davidson, G.; Grant, W. P.; Greaves, J.; Tatchell, G. M. Microbial biopesticides for integrated crop management: an assessment of environmental and regulatory sustainability. *Trends Food Sci. Technol.* **2008**, *19*(5), 275–283.
- 448.** Seiber, J. N.; Coats, J.; Duke, S. O.; Gross, A. D. Biopesticides: state of the art and future opportunities. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*(48), 11613–11619.
- 449.** Sarwar, M. Biopesticides: an effective and environmental friendly insect-pests inhibitor line of action. *Int. J. Eng. Adv. Research Technol.* **2015**, *1*(2), 10–15.
- 450.** Arthurs, S.; Dara, S. K. Microbial biopesticides for invertebrate pests and their markets in the United States. *J. Invertebr. Pathol.* **2019**, *165*, 13–21.
- 451.** Butu, M.; Stef, R.; Grozea, I.; Corneanu, M.; Butnariu, M. Biopesticides: Clean and viable technology for healthy environment. *Biorem. Biotechnol.* **2020**, 107–151.
- 452.** Liu, X.; Cao, A.; Yan, D.; Ouyang, C.; Wang, Q.; Li, Y. Overview of mechanisms and uses of biopesticides. *Int. J. Pest Manage.* **2021**, *67*(1), 65–72.
- 453.** Preininger, C.; Sauer, U.; Bejarano, A.; Berninger, T. Concepts and applications of foliar spray for microbial inoculants. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2018**, *102*(17), 7265–7282.
- 454.** Ghorbanpour, M.; Omidvari, M.; Abbaszadeh-Dahaji, P.; Omidvar, R.; Kariman, K. Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases. *Biol. Control* **2018**, *117*, 147–157.
- 455.** Köhl, J.; Kolnaar, R.; Ravensberg, W. J. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. *Front. Plant Sci.* **2019**, *10*, 845.
- 456.** Fira, D.; Dimkić, I.; Berić, T.; Lozo, J.; Stanković, S. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. *J. Biotechnol.* **2018**, *285*, 44–55.
- 457.** Gorai, P. S.; Barman, S.; Gond, S. K.; Mandal, N. C. *Trichoderma*. In *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* **2020**, 571–591
- 458.** Hua, L.; Zeng, H.; He, L.; Jiang, Q.; Ye, P.; Liu, Y.; Zhang, M. Gliotoxin is an important secondary metabolite involved in suppression of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma virens* T23. *Phytopathology* **2021**.
- 459.** Tomah, A. A.; Abd Alamer, I. S.; Li, B.; Zhang, J. Z. A new species of *Trichoderma* and gliotoxin role: A new observation in enhancing biocontrol potential of *T. virens* against *Phytophthora capsici* on chili pepper. *Biol. Control* **2020**, *145*, 104261.

- 460.** Leylaie, S.; Zafari, D. Antiproliferative and antimicrobial activities of secondary metabolites and phylogenetic study of endophytic *Trichoderma* species from *Vinca* plants. *Front. Microbiol.* **2018**, *9*, 1484.
- 461.** Shi, Z. Z.; Liu, X. H.; Li, X. N.; Ji, N. Y. Antifungal and antimicroalgal Trichotheocene sesquiterpenes from the marine algicolous fungus *Trichoderma brevicompactum* A-DL-9-2. *J. Agric. Food Chem.* **2020**, *68*(52), 15440–15448.
- 462.** Arora, K.; Sharma, S.; Krishna, S. B.; Adam, J. K.; Kumar, A. Non-edible Oil cakes as a novel substrate for DPA production and augmenting biocontrol activity of *Paecilomyces variotii*. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 753.
- 463.** Jiang, C.; Li, Z.; Shi, Y.; Guo, D.; Pang, B.; Chen, X.; Shi, J. *Bacillus subtilis* inhibits *Aspergillus carbonarius* by producing iturin A, which disturbs the transport, energy metabolism, and osmotic pressure of fungal cells as revealed by transcriptomics analysis. *Int. J. Food Microbiol.* **2020**, *330*, 108783.
- 464.** Yan, F.; Li, C.; Ye, X.; Lian, Y.; Wu, Y.; Wang, X. Antifungal activity of lipopeptides from *Bacillus amyloliquefaciens* MG3 against *Colletotrichum gloeosporioides* in loquat fruits. *Biol. Control* **2020**, *146*, 104281.
- 465.** Xu, W.; Wang, H.; Lv, Z.; Shi, Y.; Wang, Z. Antifungal activity and functional components of cell-free supernatant from *Bacillus amyloliquefaciens* LZN01 inhibit *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* growth. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* **2019**, *33*(1), 1042–1052.
- 466.** Wallace, R. L.; Hirkala, D. L.; Nelson, L. M. Postharvest biological control of blue mold of apple by *Pseudomonas fluorescens* during commercial storage and potential modes of action. *Postharvest Biol. Technol.* **2017**, *133*, 1–11.
- 467.** Yu, J. M.; Wang, D.; Pierson III, L. S.; Pierson, E. A. Effect of producing different phenazines on bacterial fitness and biological control in *Pseudomonas chlororaphis* 30-84. *Plant Pathol. J.* **2018**, *34*(1), 44.
- 468.** Latz, M. A.; Jensen, B.; Collinge, D. B.; Jørgensen, H. J. Endophytic fungi as biocontrol agents: elucidating mechanisms in disease suppression. *Plant Ecolog. Divers.* **2018**, *11*(5-6), 555–567.
- 469.** Tan, S.; Gu, Y.; Yang, C.; Dong, Y.; Mei, X.; Shen, Q.; Xu, Y. *Bacillus amyloliquefaciens* T-5 may prevent *Ralstonia solanacearum* infection through competitive exclusion. *Biol. Fertil. Soils* **2016**, *52*(3), 341–351.
- 470.** Zapata-Sarmiento, D. H.; Palacios-Pala, E. F.; Rodríguez-Hernández, A. A.; Melchor, D. L. M.; Rodriguez-Monroy, M.; Sepulveda-Jimenez, G. *Trichoderma asperellum*, a potential biological control agent of *Stemphylium vesicarium*, on onion (*Allium cepa* L.). *Biol. Control* **2020**, *140*, 104105.
- 471.** Silva, M. G.; de Curcio, J. S.; Silva-Bailão, M. G.; Lima, R. M.; Tomazett, M. V.; de Souza, A. F.; de Almeida Soares, C. M. Molecular characterization of siderophore biosynthesis in *Paracoccidioides brasiliensis*. *IMA Fungus* **2020**, *11*(1), 1–14.
- 472.** miao Sheng, M.; ke Jia, H.; you Zhang, G.; na Zeng, L.; Zhang, T. T.; hang Long, Y.; mei Liu, H. Siderophore production by rhizosphere biological control bacteria *Brevibacillus brevis* GZDF3 of *Pinellia ternata* and its antifungal effects on *Candida albicans*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2020**, 689–699.
- 473.** Di Francesco, A.; Baraldi, E. How siderophore production can influence the biocontrol activity of *Aureobasidium pullulans* against *Monilinia laxa* on peaches. *Biol. Control* **2021**, *152*, 104456.

Justificación y Objetivos de la Tesis

474. Gu, S.; Yang, T.; Shao, Z.; Wang, T.; Cao, K.; Jousset, A.; Pommier, T. Siderophore-mediated interactions determine the disease suppressiveness of microbial consortia. *Msystems* **2020**, *5*(3), e00811–19.
475. Gu, S.; Wei, Z.; Shao, Z.; Friman, V. P.; Cao, K.; Yang, T.; Jousset, A. Competition for iron drives phytopathogen control by natural rhizosphere microbiomes. *Nat. Microbiol.* **2020**, *5*(8), 1002–1010.
476. Adejumo, T. O.; Voegele, R. T. Effective biological control strategies of plant diseases using microorganisms. In *Biopesticides: Botanicals and Microorganisms for Improving Agriculture and Human Health*. (Eds) Adejumo, T.O. Voegele R.T. Cuvillier Verlag, Göttingen, Nonnenstieg Germany. 283pp. **2021**, 135–165.
477. Gajera, H. P.; Hirpara, D. G.; Savaliya, D. D.; Golakiya, B. A. Extracellular metabolomics of *Trichoderma* biocontroller for antifungal action to restrain *Rhizoctonia solani* Kuhn in cotton. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **2020**, *112*, 101547.
478. Hirpara, D. G.; Gajera, H. P.; Hirapara, J. G.; Golakiya, B. A. Inhibition coefficient and molecular diversity of multi stress tolerant *Trichoderma* as potential biocontrol agent against *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Infect. Genet. Evol.* **2017**, *55*, 75–92.
479. Zhang, Z.; Zheng, C.; Keyhani, N. O.; Gao, Y.; Wang, J. Infection of the Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis*, by the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Agronomy* **2021**, *11*(10), 1910.
480. Brzezinska, M. S.; Kalwasińska, A.; Świątczak, J.; Żero, K.; Jankiewicz, U. Exploring the properties of chitinolytic *Bacillus* isolates for the pathogens biological control. *Microb. Pathog.* **2020**, *148*, 104462.
481. Loc, N. H.; Huy, N. D.; Quang, H. T.; Lan, T. T.; Thu Ha, T. T. Characterisation and antifungal activity of extracellular chitinase from a biocontrol fungus, *Trichoderma asperellum* PQ34. *Mycology* **2020**, *11*(1), 38–48.
482. Aita, B. C.; Heinz, B. B.; Alves, E. A.; Mezadri, E. T.; Spannemberg, S. S.; Romagna, I. S.; Mazutti, M. A. Cell-wall degrading enzymes for the control of *Meloidogyne javanica*. *Biotechnol. Res. Innov. J.* **2021**, *4*(1), 0–0.
483. Yu, W. Q.; Zheng, G. P.; Yan, F. C.; Liu, W. Z.; Liu, W. X. *Paenibacillus terrae* NK3-4: a potential biocontrol agent that produces β-1, 3-glucanase. *Biol. Control* **2019**, *129*, 92–101.
484. Ruangwong, O. U.; Wonglom, P.; Phoka, N.; Suwannarach, N.; Lumyong, S.; Ito, S. I.; Sunpapao, A. Biological control activity of *Trichoderma asperelloides* PSU-P1 against gummy stem blight in muskmelon (*Cucumis melo*). *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **2021**, *115*, 101663.
485. Ji, Z. L.; Peng, S.; Chen, L. L.; Liu, Y.; Yan, C.; Zhu, F. Identification and characterization of a serine protease from *Bacillus licheniformis* W10: A potential antifungal agent. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *145*, 594–603.
486. Thongkaewyuan, A.; Chairin, T. Biocontrol of *Meloidogyne incognita* by *Metarhizium guizhouense* and its protease. *Biol. Control* **2018**, *126*, 142–146.
487. Jacob, J.; Krishnan, G. V.; Thankappan, D.; Amma, D. K. B. N. S. Endophytic bacterial strains induced systemic resistance in agriculturally important crop plants. In *Microbial Endophytes* **2020**, 75–105.
488. Panpatte, D. G.; Jhala, Y. K.; Vyas, R. V. Signaling pathway of induced systemic resistance. In *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture* **2020**, 133–141.
489. Wiesel, L.; Newton, A. C.; Elliott, I.; Booty, D.; Gilroy, E. M.; Birch, P. R.; Hein, I. Molecular effects of resistance elicitors from biological origin and their potential for crop protection. *Front. Plant Sci.* **2014**, *5*, 655.

- 490.** Meena, M.; Swapnil, P.; Divyanshu, K.; Kumar, S.; Tripathi, Y. N.; Zehra, A.; Upadhyay, R. S. PGPR-mediated induction of systemic resistance and physiochemical alterations in plants against the pathogens: Current perspectives. *J. Basic Microbiol.* **2020**, *60*(10), 828–861.
- 491.** Nie, P.; Li, X.; Wang, S.; Guo, J.; Zhao, H.; Niu, D. Induced systemic resistance against *Botrytis cinerea* by *Bacillus cereus* AR156 through a JA/ET-and NPR1-dependent signaling pathway and activates PAMP-triggered immunity in *Arabidopsis*. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 238.
- 492.** Samaras, A.; Roumeliotis, E.; Ntasiou, P.; Karaoglanidis, G. *Bacillus subtilis* MBI600 promotes growth of tomato plants and induces systemic resistance contributing to the control of soilborne pathogens. *Plants* **2021**, *10*(6), 1113.
- 493.** Jaiswal, A. K.; Mengiste, T. D.; Myers, J. R.; Egel, D. S.; Hoagland, L. A. Tomato domestication attenuated responsiveness to a beneficial soil microbe for plant growth promotion and induction of systemic resistance to foliar pathogens. *Front. Microbiol.* **2020**, *11*, 3309.
- 494.** Zhong, Y.; Li, Y.; Chen, Z.; Fu, J.; Li, X.; Zhang, B.; Wang, J. Treatment of *Penicillium chrysogenum* extracts (PDMP) restricts the spread of Tobacco mosaic virus by priming callose deposition in *Nicotiana benthamiana*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **2021**, *113*, 101569.
- 495.** Sanmartín, N.; Pastor, V.; Pastor-Fernández, J.; Flors, V.; Pozo, M. J.; Sánchez-Bel, P. Role and mechanisms of callose priming in mycorrhiza-induced resistance. *J. Exp. Bot.* **2020**, *71*(9), 2769–2781.
- 496.** Rashid, M.; Chung, Y. R. Induction of systemic resistance against insect herbivores in plants by beneficial soil microbes. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 1816.
- 497.** Rashid, M.; Khan, A.; Hossain, M. T.; Chung, Y. R. Induction of systemic resistance against aphids by endophytic *Bacillus velezensis* YC7010 via expressing PHYTOALEXIN DEFICIENT4 in *Arabidopsis*. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 211.
- 498.** Koppert. Disponible online (12/11/2021): <https://www.koppert.es/trianum-p/>
- 499.** Probelte. Disponible online (12/11/2021): <https://www.probelte.es/productos/detalle/es/belthirul/1>
- 500.** Bioera. Disponible online (12/11/2021): <https://bioera.es/producto/bioradis-sol/>
- 501.** MAPA. Disponible online (01/05/2021): <https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/productos-fitosanitarios/registro/productos/consusact.asp>
- 502.** MAPA. Disponible online (01/05/2021): <https://www.mapa.gob.es/app/consultafertilizante/consultafertilizante.aspx>

CAPITULO 1: El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas.

Alejandro Moreno-Gavíra, Victoria Huertas, Fernando Diánez, Brenda Sánchez-Montesinos y Mila Santos

Departamento de Agronomía, Escuela Superior de Ingeniería, Universidad de Almería, 04120 Almería, España; alejanmoga@gmail.com (A.M.-G.); victoriahuertas96@gmail.com (V.H.); fdianez@ual.es (F.D.); brensam@hotmail.com (B.S.-M.); msantos@ual.es (M.S.).

Cita: Moreno-Gavíra, A., Huertas, V., Diánez, F., Sánchez-Montesinos, B., & Santos, M. *Paecilomyces* and its importance in the biological control of agricultural pests and diseases. *Plants* **2020**, 9(12), 1746. <https://doi.org/10.3390/plants9121746>.

Revista: *Plants*

Factor de impacto (JCR, 2022): 2,762

Cuartil: Q1

Resumen

La incorporación de microorganismos beneficiosos en la producción de cultivos es la estrategia más prometedora para mantener la productividad agrícola y reducir el uso de fertilizantes inorgánicos, herbicidas y pesticidas. Numerosos microorganismos han sido descritos en la literatura como agentes de control biológico de plagas y enfermedades, aunque algunos aún no han sido comercializados por su falta de viabilidad o eficacia en diferentes cultivos. *Paecilomyces* es un hongo cosmopolita conocido principalmente por su capacidad nematófaga, pero también ha sido reportado como parásito de insectos y agente de control biológico de varios hongos y bacterias fitopatógenas a través de diferentes mecanismos de acción. Además, especies de este género han sido recientemente descritas como bioestimulantes del crecimiento vegetal y del rendimiento de los cultivos. Esta revisión incluye toda la información sobre el género *Paecilomyces* como agente de control biológico de plagas y enfermedades. Su tasa de crecimiento y alta tasa de producción de esporas en numerosos sustratos asegura la producción de formulaciones comerciales viables, asequibles y eficientes para uso agrícola.

Palabras clave: Control biológico; Enfermedades; Plagas; *Paecilomyces*

1. Introducción

El género *Paecilomyces* se describió por primera vez en 1907 [1] como un género estrechamente relacionado con *Penicillium* y que comprende una sola especie, *P. variotii* Bainier. La descripción de este género fue revisada por Brown y Smith [2], y Samson [3] definió 31 especies divididas en dos secciones: *Paecilomyces* caracterizado por especies termófilas, termotolerantes y mesófilas, con colonias de color marrón amarillento que muestran estados teleomórficos correspondientes a los géneros *Byssochlamys*, *Talaromyces* y *Thermoascus*; e *Isarioidea* caracterizada por especies mesófilas con colonias moradas, rosadas, amarillas o verdes. En el primer apartado se incluyen las especies nematófagas o entomopatógenas, también conocidas como *Paecilomyces lilacinus* o *P. fumosoroseus* [4,5]. Las diferentes especies de *Paecilomyces* están relacionadas con dos géneros de hongos: *Cordyceps* y *Torrubiella* [3].

Estudios realizados por Luangsa-ard et al. [6] e Inglis y Tigano [4] confirman el origen polifilético de este género que pertenece a las subclases *Sordariomycetidae* y *Eurotiomycetidae*. La base de datos Fungorum [7] actualmente incluye una lista de 145 especies de *Paecilomyces*. De todas las especies, algunas conservan su nombre original, mientras que otras han sido reclasificadas en otros géneros. Un claro ejemplo es *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson, que ha sido asignado al género *Purpureocillium* [8]. A pesar de su reasignación a un género diferente, *Paecilomyces lilacinus* se incluirá en esta revisión de la literatura debido a su importancia en el control de enfermedades y plagas. Dada la naturaleza polifilética del género *Paecilomyces*, la evolución de estos estudios taxonómicos es de gran importancia para el desarrollo de formulaciones microbianas que puedan ser utilizadas en la agricultura [9].

El género *Paecilomyces* tiene hifas septadas hialinas a amarillentas, a menudo con paredes lisas y conidióforos verticilados o irregularmente ramificados, y fialidas con una base ancha y un cuello alargado. Los conidios son unicelulares; hialinos, en cadenas; y el conidio más joven está en el extremo basal [10]. La termotolerancia conidial se correlaciona con su tamaño y forma. Por lo tanto, las conidias o ascosporas asexuales más pequeñas y esféricas son más vulnerables a las altas temperaturas [11-14]. *Paecilomyces* tiene altas tasas de esporulación y de crecimiento y crece en una amplia gama de temperaturas y sustratos. Como resultado, su rápida multiplicación asegura un desarrollo viable y asequible de formulaciones comerciales [15].

El género *Paecilomyces* tiene muchas especies, tanto patógenas como saprofitas, y se puede encontrar en una amplia gama de hábitats, incluidos el suelo [16,17], material vegetal en descomposición o alimentos [18,19], productos alimenticios pasterizados [2,20,21], sedimentos marinos [22,23], compost [24,25], insectos [26-29], nematodos [30,31] o la rizosfera de varias plantas [32,33], entre otros.

Paecilomyces también juega un papel importante como endófito en numerosas plantas al proporcionar varias ventajas para el desarrollo de las plantas. Puede ser utilizado directa o indirectamente como un potencial bioestimulante. Cuando se usa directamente, *Paecilomyces* o sus metabolitos aumentan los parámetros morfológicos de la planta y el rendimiento del cultivo [15,34-37]. La interacción planta - *Paecilomyces* mejora la salud de la planta a través de diferentes mecanismos y brinda protección contra fitopatógenos [38]. Esta interacción mostró una producción de fitohormonas, como las giberelinas y el ácido indolacético, que promovieron el crecimiento y mitigaron los efectos del estrés abiótico, como la salinidad [39,40]. Cuando se usa indirectamente en combinación con agentes patógenos como nematodos u hongos, *Paecilomyces* tiene efectos positivos en el crecimiento de los cultivos al actuar como agente de control biológico [41-44].

Numerosas especies del género *Paecilomyces* producen una amplia variedad de metabolitos secundarios con diferentes estructuras químicas y diversas actividades biológicas, como herbicida [45], insecticida [46,47], bactericida [48], fungicida [49], nematicida [50-52] o citotóxicos [53]. También hay descripciones de metabolitos con actividad antitumoral [54,55] o inhibidores enzimáticos, como la Paecilomida, que actúa como inhibidor de la acetilcolinesterasa y puede utilizarse para controlar enfermedades humanas como el Alzheimer [56]. Además, desempeñan un papel en la degradación de compuestos aromáticos [57,58], la producción de etanol a partir de desechos agroindustriales [59], la eliminación de amonio de medios sintéticos o la reducción de las emisiones de amoníaco en el estiércol avícola [60,61]. Sin embargo, no podemos ignorar el hecho de que *Paecilomyces* se ha asociado con varias enfermedades infecciosas humanas en pacientes inmunodeprimidos [62,63] y también se ha descrito como un fitopatógeno. *P. variotii* fue descrito por Aminaee et al. [64], como el agente causal de la muerte regresiva del pistacho, aunque estudios moleculares y filogenéticos posteriores informaron que fue causada por *P. formosus* (Sakag., May., Inoue y Tada) Houbraken y Samson [65]. De acuerdo con el mapa que se muestra en la Imagen 11, existen pocas especies de *Paecilomyces* encargadas del control biológico de plagas y enfermedades.

El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas

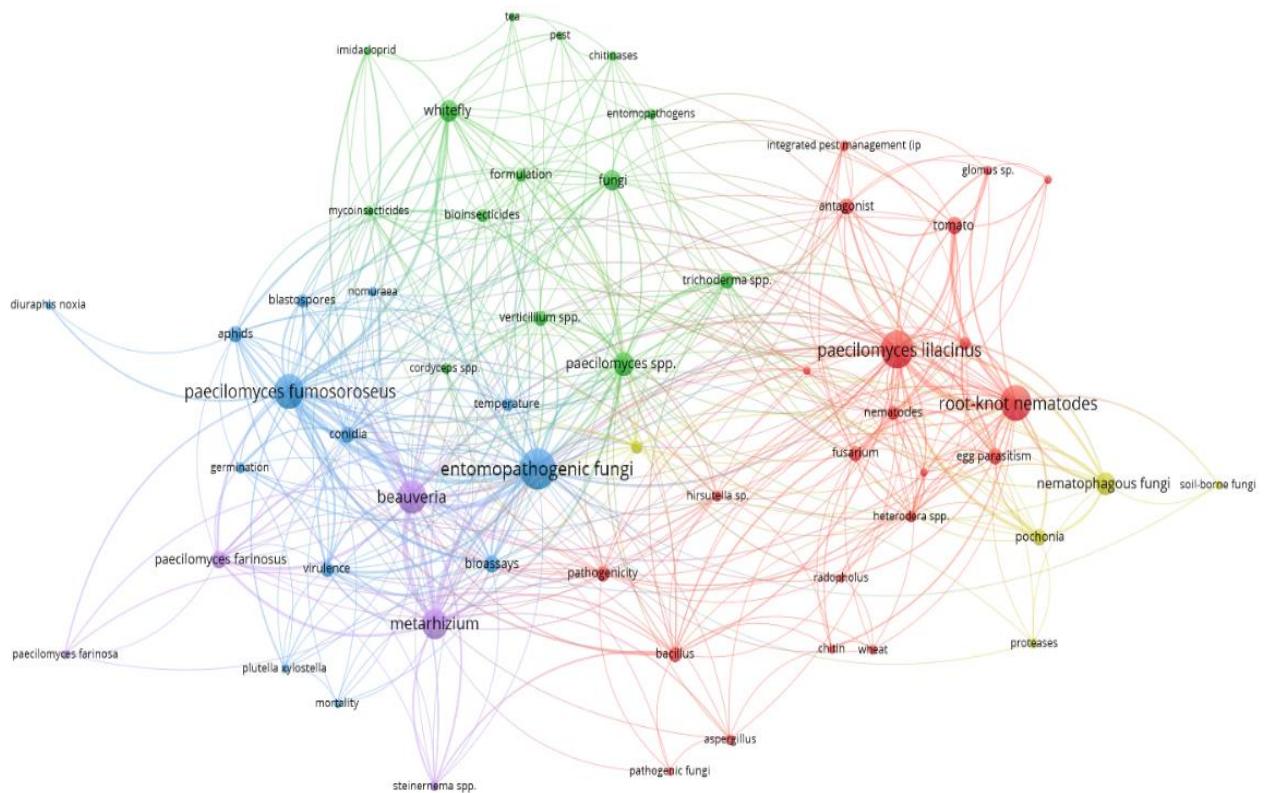


Imagen 11. Mapa de red de matriz de co-ocurrencia para los 486 documentos publicados en la investigación de *Paecilomyces*. Se utilizó el software VOSviewer (versión 1.6.15, Universidad de Leiden, Países Bajos) para mapear la frecuencia de las redes de cocurrencia de palabras clave. Las diferencias en el tamaño de fuente implican diferencias en la relevancia. Los diferentes colores se refieren a los grupos o grupos formados.

En esta revisión, analizaremos el papel significativo de *Paecilomyces* en el control de plagas y enfermedades de las plantas. En este sentido, *Paecilomyces* se describe como un agente de control biológico contra bacterias, hongos fitopatógenos, nematodos y numerosas plagas, utilizando sus extractos, metabolitos secundarios o micelio. Hasta donde sabemos, esta es la primera revisión del género *Paecilomyces* como agente de control biológico contra plagas y enfermedades de las plantas.

2. Mecanismos de control biológico del género *Paecilomyces*

Aunque se desconocen muchos mecanismos de control biológico, los avances en metagenómica brindan información sobre la interacción planta - patógeno - antagonista [66,67]. En el género *Paecilomyces*, los mecanismos microbianos descritos, involucrados en la supresión de plagas y enfermedades, han sido directos, como el parasitismo, la competencia o la antibiosis, e indirectos, que involucran la protección de las plantas a través de mecanismos de RSI [68-70].

2.1. Parasitismo

Paecilomyces es capaz de parasitar hongos [71], nematodos y artrópodos [72,73]. Después de que tenga lugar el reconocimiento y la interacción patógeno - antagonista, se produce la penetración y/o secreción de complejos enzimáticos, lo que lleva al crecimiento del antagonista a expensas de su huésped [74,75]. La penetración puede ser mecánica, a través del desarrollo de apresorios [76,77], o enzimática, a través de la liberación de celulasa, glucanasa, lacasa, leucinoxina, lipasa, pectinasa, proteasa, quitinasa o xilanasa, que están involucradas en el proceso de infección [78-82]. Así, se ha descrito la producción *in vitro* de celulasas, lipasas y xilasas por *P. tenuis* [83], quitinasas y proteasas por *P. fumosoroseus* (Wize) A.H.S. Br. y G. Sm. [84,85], o de enzimas quitinolíticas secretadas por *P. lilacinus* [17]. La producción de quitinasa por *P. javanicus* conduce a la inhibición del micelio de *Aspergillus nidulans*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* [86].

Por otro lado, Khan et al. [87] informaron que las lipasas, proteasas y quitinasas tienen un efecto entomopatógeno más fuerte. Así, la producción de estas enzimas por parte de *P. fumosoroseus* ha resultado eficaz en el control de *Tenebrio molitor* [88], *Trialeurodes vaporariorum* [89] y *Plutella xylostella* [90]. *P. farinosus* (Holmsk.) A.H.S. Br. y G. Sm. las proteasas intervienen en el control de *Galleria mellonella* [91].

Diversos estudios hacen referencia a la actividad nematicida de *Paecilomyces*. Las especies de este género, a saber, *P. lilacinus*, pueden penetrar tanto en la cáscara del huevo como en los componentes estructurales de las etapas juveniles y adultas de diferentes especies de nematodos a través de la germinación de esporas y la subsiguiente ramificación de hifas y formación de apresorios [92,93]. En cuanto a la producción de enzimas líticas que provocan un efecto nematicida, se ha descrito la síntesis de amilasas, lipasas, proteasas y quitinasas asociadas a esta especie [77,78,85,87,94,95]. La sobreexpresión de genes que regulan la síntesis de estas enzimas aumenta la virulencia y la capacidad parasitaria de *P. lilacinus* contra *Meloidogyne incognita*, *Panagrellus redivivus* y *Caenorhabditis elegans* [96,97].

2.2. Competencia

La competencia por los nutrientes y el espacio regula el crecimiento de los patógenos que coexisten en el mismo nicho [67,82,98]. La producción de sideróforos limita la disponibilidad de hierro para los patógenos [75,99]. La síntesis *in vitro* de sideróforos del tipo hidroxamato y carboxilato, como el trihidroxamato de ferrirrubina, se ha descrito principalmente en *P. lilacinus* y *P. variotii* [15,100-104].

Si bien este mecanismo tiene un impacto directo en el control, la competencia suele ir acompañada de otros mecanismos [70]. El rápido crecimiento de las especies de *Paecilomyces* impide el desarrollo de ciertos patógenos [105,106]. Por ejemplo, rociar semillas de girasol con esporas de *P. variotii* previene la penetración e infección del patógeno *Macrophomina phaseolina* [107]. Sin embargo, esta competencia en ocasiones puede tener un impacto negativo sobre el resto de la microbiota beneficiosa [108].

2.3. Antibiosis

La producción de metabolitos secundarios con efecto antimicrobiano por especies de *Paecilomyces* ha sido ampliamente descrita. Entre ellos podemos destacar la síntesis de alcaloides, compuestos fenólicos, compuestos orgánicos volátiles, esteroides, flavonoides, péptidos, policétidos, quinonas y terpenoides [109,110]. Li et al. [111] describieron recientemente un total de 148 metabolitos activos producidos por diferentes especies de *Paecilomyces* que pueden usarse para el desarrollo de fármacos o agroquímicos. En los siguientes apartados mostraremos la importancia de estos metabolitos en el control biológico de plagas y enfermedades.

2.4. Resistencia inducida en las plantas

La literatura no proporciona muchos ejemplos sobre el efecto de la resistencia inducida después de la colonización del sistema radicular de plantas por parte de *Paecilomyces*. Suárez - Estrella et al. [112] observaron que la inoculación de raíces de plantas de tomate con *P. variotii* inhibía significativamente los síntomas causados por la bacteria *Xanthomonas campestris* en las hojas. Del mismo modo, López et al. [113] observaron una reducción en la población de *Aphis gossypii* en plantas de algodón cuyas semillas habían sido previamente inoculadas sumergiéndolas en una suspensión de esporas de *P. lilacinus*. El uso combinado de *P. lilacinus* y ácido salicílico mejoró los contenidos de celulosa, hemicelulosa, lignina y pectina en las plantas de algodón en comparación con los tratamientos de inoculación con *Pythium debaryanum* y *Fusarium oxysporum*, lo que demostró que la lignificación de la pared proporciona un alto nivel de protección contra la invasión de patógenos. Asimismo, aumentó la concentración de proteínas solubles y compuestos fenólicos en la raíz, lo que redujo la incidencia de ambas enfermedades [114]. Esto también ocurre cuando las plantas de okra se inoculan con *P. lilacinus* [115].

Del mismo modo, el efecto de resistencia inducida también puede ser producido por extractos de *Paecilomyces*. Un extracto comercial de *P. variotii* conocido como ZhiNengCong (ZNC) también podría inducir resistencia contra *Xanthomonas oryzae* o *Pseudomonas syringae* en plantas de arroz o *Arabidopsis*, respectivamente. Una dosis de 500 ng/mL de ZNC no pudo inhibir el desarrollo de patógenos *in vitro*, mientras que el uso de una dosis menor de 100 ng/mL sí generó inmunidad contra dichas bacterias. Por otro lado, las sustancias reactivas del oxígeno como el superóxido y el peróxido de hidrógeno o la callosa también aumentan, en comparación con las plantas de *Arabidopsis* no tratadas, además de activar la síntesis de ácido salicílico, que es necesario para la respuesta de defensa [36].

3. Control biológico de enfermedades causadas por bacterias fitopatógenas

Pocos estudios demuestran la efectividad de *Paecilomyces* contra diferentes especies de bacterias fitopatógenas. *Paecilomyces variotii* aislado de compost de desechos sólidos municipales mostró una reducción del 27% de las enfermedades causadas por *X. campestris* en melón y una disminución en la población de patógenos [112]. Nisha y Siddiqui [44] observaron una reducción en la pudrición blanda y el tizón de la hoja causado por *P. carotovorum* pv. *carotovorum* y *X. campestris* pv. *carotae* después de usar *P. lilacinus*, solo o en combinación con *A. niger*, y un aumento en el peso seco y el contenido de clorofila de un cultivo de zanahoria.

Los metabolitos producidos por este género juegan un papel importante en el control de enfermedades debido a su efecto antagónico, aunque existe poca información al respecto en comparación con las bacterias fitopatógenas. Hay descripciones sobre la importancia de metabolitos antibacterianos como la viriditoxina o la betulina frente a bacterias no fitopatógenas como *S. aureus*, *Enterococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Aeromonas hydrophila*, *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio cholerae* [116,117]. Sornakili et al. [83] informó recientemente la inhibición de *Erwinia carotovora*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* y *Ralstonia solanacearum* con una inhibición *in vitro* de entre 13 y 45 % usando *P. tenuis*, un endófito aislado de hojas de arroz. Varios metabolitos, como el ácido octadecanoico, el ácido acético y el éster 2-ethylhexílico, así como actividades enzimáticas, xilanases, celulasas y lipasas, estuvieron involucrados en este control.

4. Control biológico de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos

Varias especies de *Paecilomyces* han demostrado su efecto antagónico contra hongos fitopatógenos causantes de enfermedades radiculares y aéreas de las plantas a través de diversos mecanismos (Tabla 4). Las especies *P. variotii* y *P. lilacinus* han mostrado ser bastante efectivas, aunque la mayoría de los estudios son *in vitro*. El efecto antagónico observado en la mayoría de los casos se explica por una competencia por espacio y nutrientes (Imagen 12). Sin embargo, se han observado otros mecanismos asociados a la producción de metabolitos secundarios, que provocan plasmólisis en tubos germinativos de esporas o melanización de hifas en *Pyrenophora tritici-repentis* [118], lisis de hifas en *Moniliophthora roreri* causada por *Paecilomyces* sp. [71], micoparasitismo de *F. oxysporum* causado por *P. variotii* y *P. lilacinus* [119], o antibiosis frente a *R. solani* [120], entre otros. Se ha informado que la viriditoxina, las esfingofunginas E y F [121] o los ácidos eicosenoicos tienen un efecto antifúngico contra varios hongos fitopatógenos como *Biscogniauxia mediterranea*, *Phytophthora cinnamomi* o *Fusarium moniliforme* [61]. Varioxepina A o 6-Pentil- α -pyrona inhibe la formación de peritecios y el crecimiento micelial de *Fusarium graminearum* [122,123] o Paecilaminol, que inhibe el desarrollo de pudrición blanda en tomates causada por *Mucor racemosus* [124].

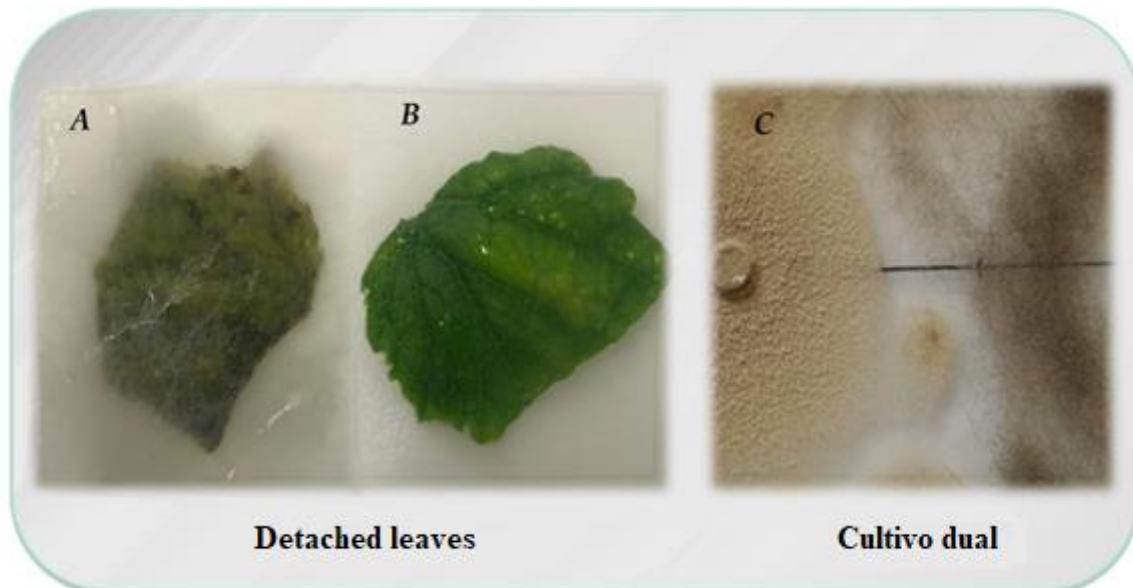


Imagen 12. Método de hoja desprendida para evaluar *P. variotii* como agente de control biológico contra *B. cinerea*. (A) Hojas control cuatro días después de la infección con *B. cinerea*; (B) Hoja inoculada con esporas *B. cinerea* y *P. variotii*. Las fotografías se tomaron cuatro días después de la incubación en una cámara húmeda a 20 °C bajo luz blanca continua. (C) Ensayo de cultivo dual para la inhibición *in vitro* del crecimiento micelial de *B. cinerea* por *P. variotii*.

Algunos estudios *in vivo* muestran un efecto directo sobre la promoción del crecimiento de las plantas después de usar *Paecilomyces*, [15] pero también un efecto indirecto debido al control de enfermedades fúngicas [72]. Yang et al. [125] observaron inhibición del crecimiento micelial de *S. sclerotiorum*, germinación de esclerocios y una reducción de la gravedad de la enfermedad después de usar *P. lilacinus* en un cultivo de colza. Los resultados no mostraron diferencias después de usar esporas o filtrados sin células fúngicas, lo que resaltó la importancia de los metabolitos de *Paecilomyces* en el control de patógenos.

Tabla 4. Control de hongos fitopatógenos por especies de *Paecilomyces*.

Especie	Patógeno	Ensayo/Planta	Referencia
<i>Byssochlamys nivea</i>	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>Aspergillus flavus</i>	<i>In vitro</i>	[128]
<i>P. farinosus</i>	<i>Blumeria graminis</i>	Cultivo dual/Cebada	
	<i>Oidium neolycopersici</i>	Cultivo dual/Tomate	
	<i>Golovinomyces orontii</i>	Cultivo dual/Tabaco	[129]
	<i>Podosphaera xanthii</i>	Cultivo dual/Pepino	
<i>P. fumosoroseus</i>	<i>Fusarium solani</i> , <i>R. solani</i> , <i>Sclerotium rolfsii</i>		[130]
	<i>Macrophomina phaseolina</i>	Cultivo dual	
	<i>Pythium aphanidermatum</i>		[43]
	<i>P. xanthii</i>	Pepino	[127]
<i>P. lilacinus</i>	<i>R. solani</i>	Cultivo dual/Flor de Pascua	[131]
		Sorgo/Okra	[115]
	<i>In vitro</i>		[119]
	<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	Trigo	[118]
	<i>S. sclerotiorum</i>	Cultivo dual/Canola	[124]
	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	<i>In vitro</i> /Suelo	[132,133]
	<i>Magnaporthe oryzae</i>	Cultivo dual/Arroz	[134]
	<i>Fusarium oxysporum</i>	Garbanzo	[135]
	<i>S. sclerotiorum</i>	Sorgo/Okra	[115]
	<i>F. oxysporum</i> , <i>P. debaryanum</i>	Trigo	[136]
<i>P. marquandii</i>	<i>R. bataticola</i>	Algodón	[114]
	<i>F. chlamydosporum</i>	Cultivo dual	[137]
	<i>M. phaseolina</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. oxysporum</i>	<i>In vitro</i> /Semillas de tomate	[42]
	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	Tomate	[72]
	<i>P. aphanidermatum</i> , <i>S. rolfsii</i>	<i>In vitro</i>	[43]
	<i>Verticillium dahliae</i>	Cultivo dual	[140]
	<i>R. solani</i>	Cultivo dual	[120]
	<i>Pythium spinosum</i>	Cultivo dual/Soya	[141]
	<i>F. oxysporum</i>	Tomate	[142]
	<i>Biscogniauxia mediterránea</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>Phytophthora cinnamomi</i>	Vallico	[61]
<i>P. variotii</i>	<i>S. rolfsii</i> , <i>A. flavus</i>	Cultivo dual/ <i>In vitro</i>	[43,131,143]
	<i>M. oryzae</i>	Cultivo dual	[133]
	<i>F. oxysporum</i>	Cultivo dual/Garbanzo	[134]
	<i>F. oxysporum</i>	Cultivo dual/Melón	[112]
	<i>Alternaria solani</i> , <i>F. oxysporum</i>	Tomate	[126]
	<i>V. dahliae</i>	Cultivo dual	[106]
	<i>M. phaseolina</i>	Cultivo dual/Girasol	[107,138,144–146]
	<i>P. aphanidermatum</i>	Cultivo dual	[43]
	<i>F. oxysporum</i> , f. sp. <i>ciceris</i>	Garbanzo	[134]
	<i>R. solani</i> , <i>S. sclerotiorum</i> , <i>A. flavus</i>	Cultivo dual	[126]
<i>Paecilomyces sp.</i>	<i>Moniliophthora roreri</i>	<i>In vitro</i>	[71]
	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Chile	[146]
	<i>Phytophthora palmivora</i>	<i>In vitro</i>	[105]
	<i>F. graminearum</i>	<i>In vitro</i>	[122]
	<i>Ceratobasidium theobromae</i>	Cacao	[147]
<i>Paecilomyces spp.</i>	<i>Mucor racemosus</i>	<i>In vitro</i>	[124]
	<i>Pyricularia oryzae</i>	<i>In vitro</i>	[28]
<i>P. sulphurellus</i>	<i>R. solani</i>	<i>In vitro</i>	[120]
<i>P. tenuis</i>	<i>M. phaseolina</i> , <i>M. grisea</i> , <i>Pythium</i> sp., <i>R. solani</i> , <i>F. oxysporum</i>	<i>In vitro</i>	[83]
	<i>Colletotrichum falcatum</i>		

El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas

En tomate, la pulverización de esporas de *P. variotii* en las hojas reduce significativamente el daño causado por *Alternaria solani* [126]. Por otro lado, el aumento de polifenoles y la actividad antioxidante debido al uso de *P. lilacinus* en las raíces de okra mejora el desarrollo de las plantas y el control de varios hongos fitopatógenos que causan la pudrición de la raíz [115]. Asimismo, el uso previo de *P. fumosoroseus* retrasa el desarrollo del oidio causado por *Podosphaera xanthii* [127], lo que lleva a la destrucción del micelio y las esporas por el estrecho contacto con los hongos, con algún grado de micoparasitismo dependiendo de las condiciones ambientales.

5. Control biológico de enfermedades causadas por nematodos

Como hongo nematófago, *Paecilomyces* ha sido ampliamente estudiado y se puede encontrar en una variedad de formulaciones biológicas para uso agrícola [93]. Hay muchos ejemplos en los que *Paecilomyces* spp. actúan como agentes nematicidas, especialmente frente a *Meloidogyne* spp., pero también frente a otros géneros como *Globodera* [52], *Rotylenchulus*, *Heterodera*, *Xiphinema* o *Pratylenchus* [51] (Tabla 5). Un ejemplo es el uso de *P. lilacinus* y *P. fumosoroseus* contra *M. incognita* o *M. javanica*, que reducen drásticamente sus poblaciones [44,51,148,149], tanto en pruebas *in vitro* [43,87] como de campo [50,150]. Las esporas de estas especies deben germinar sobre el huésped para penetrar y colonizar su superficie, con el fin de modificar su fisiología [51]. *Paecilomyces* actúa según la especie de hongo y nematodo que parasita.

Paecilomyces spp. puede actuar en diferentes etapas de desarrollo de nematodos al infectar huevos, juveniles o adultos. La cáscara de huevo de los nematodos es la principal barrera contra los agentes parasitarios y proporciona resistencia tanto a los nematicidas químicos como a los compuestos biológicos. Las especies de *Paecilomyces* son capaces de secretar enzimas para degradar esta barrera y desplegar mecanismos involucrados en el parasitismo de nematodos [151,152]. Por lo tanto, las observaciones han demostrado que los huevos de *Meloidogyne incognita* en las primeras etapas de desarrollo son más vulnerables que los huevos que contienen juveniles completamente desarrollados, aunque estos últimos también se ven afectados [153-155]. Hollan et al. [76] confirman que los huevos son parasitados por *P. lilacinus* en todas las etapas, incluidos los juveniles no eclosionados. La infección del huevo ocurre cuando las hifas yacen planas sobre la superficie del huevo y se forman apresorios. Luego, el hongo se propaga y se forman los conidióforos. Estudios realizados por Khan et al. [92] concluyó que dichos juveniles muestran diversos grados de deformidades y anomalías en el desarrollo, como movilidad reducida dentro de los huevos. Diferentes estudios muestran el papel significativo de las proteasas y quitinasas en la penetración del hongo a través de la cáscara del huevo. De esta forma, las cáscaras de huevo de *M. arenaria* mostraron desagregación de la membrana vitelina y destrucción de la capa de quitina y lípidos después de usar *P. lilacinus* [156].

Los huevos de *M. hapla* fueron más vulnerables a las serin proteasas producidas por *P. lilacinus* que los huevos que contenían juveniles más desarrollados. Por el contrario, las larvas no mostraron signos de daño. Jatala et al. [157] informó que *P. lilacinus* es capaz de infectar hembras de *Meloidogyne* spp., *Heterodera* spp. y *Globodera* spp. En estos casos, las hifas entraban por las aberturas naturales del cuerpo [158]. La evidencia muestra que varias proteínas hidrolíticas, como las proteasas (principalmente serina proteasas), las collagenas y las quitinasas, están involucradas en la penetración de la cutícula de los nematodos y la subsiguiente degradación celular [77,97,159-161]. Asimismo, diferentes metabolitos secundarios producidos por *Paecilomyces* también juegan un papel importante en el control de nematodos [162].

La efectividad del control de nematodos con *Paecilomyces* depende del cultivo en sí, ya que afecta la actividad fúngica en muchos casos [163]. Así, el uso de un antagonista en combinación con sustancias orgánicas aumenta el parasitismo por *Paecilomyces* tanto en huevos como en juveniles de nematodos [164]. Por otro lado, se ha informado que el uso de *P. lilacinus* en suelos recientemente solarizados no aumenta la efectividad del control en comparación con suelos no solarizados. Sin embargo, se observa cierta reducción de la actividad fúngica cuando se aplican ambas técnicas [165]. Al comparar la efectividad usando compuestos químicos, *P. lilacinus* proporciona un control adecuado durante el crecimiento del cultivo, aunque la combinación de ambas técnicas muestra mejores resultados en comparación con el control de nematodos [119,166-169].

Como se muestra en la Tabla 5, *P. lilacinus* es el hongo nematófago más importante, ya que es capaz de controlar varias especies en diferentes cultivos, aunque otras especies como *P. marquandii* (Massee) S. Hughes [170-172] o *P. variotii* [173] puede ser igualmente eficaz. Informes de Chen et al. [171] sobre el uso de *P. marquandii* contra *M. hapla* mostró un aumento en el peso de la lechuga, una disminución en la formación de agallas en un 25,7 % y una reducción en la producción de huevos en un 46,3 %. Según Al-Assas, et al. [174], *P. variotii* reduce el número de agallas en más de un 90 %, mostrando una mayor eficacia en comparación con los compuestos químicos.

El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas

Tabla 5. Nematodos controlados por especies del género *Paecilomyces*

Especie	Nematodo	Ensayo/Planta	Referencia
<i>P. fumosoreseus</i>	<i>Meloidogyne javanica</i>	<i>In vitro</i>	[51,175]
	<i>M. enterolobii</i>	<i>In vitro</i>	[176]
	<i>M. arenaria</i>	Tomate	[177]
		Melón	[178]
		Tomate	[51,95,149,166,177, 179-188]
		Berenjena	[181]
		Judías verdes	[163]
		Algodón/Cacahuete/Maíz	[189,190]
		Pepino	[44,191]
	<i>M. incognita</i>	<i>In vitro</i>	[95,154,155,162,192]
		Soja	[193]
		Ginseng indio	[194]
		Zanahoria	[195]
		Patata	[153]
		Legumbres	[196]
		<i>In vitro</i>	[197]
		Tomate	[168,169,198,199]
<i>P. lilacinus</i>	<i>M. javanica</i>	Zanahoria	[44]
		<i>In vitro</i>	[87,175,200]
		Cereza	[201]
	<i>M. hapla</i>	<i>In vitro/Tomate</i>	[192,202-204]
	<i>M. exigua</i>	Shiringa	[205]
	<i>M. graminicola</i>	Trigo	[206]
	<i>M. marylandi</i>	Césped	[207]
	<i>M. paranaensis</i>	Café	[208]
		Tomate	[209]
	<i>Meloidogyne spp.</i>	<i>In vitro</i>	[173,210,211]
		Tomate	[165]
	<i>Heterodera avenae</i>	<i>In vitro/Suelo</i>	[92,212,213]
	<i>H. glycines</i>	<i>In vitro/Algodón</i>	[190,214]
		Soja/Trigo	[215]
	<i>H. schachtii</i>	<i>In vitro</i>	[92,213]
	<i>H. trifolii</i>	Tomate	[216]
<i>P. marquandii</i>	<i>Heterodera spp.</i>	Patata	[157]
	<i>Globodera pallida</i>	<i>In vitro</i>	[119]
	<i>Globodera spp.</i>	Patata	[157]
	<i>Pratylenchus thornei</i>	<i>In vitro/Trigo</i>	[157,217]
	<i>Pratylenchus spp.</i>	Caña de azúcar	[218]
		Algodón	[219]
		Tomate	[152]
	<i>Rotylenchulus reniformis</i>	<i>In vitro/Algodón</i>	[210,220]
	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	<i>In vitro</i>	[221,222]
	<i>Radopholus similis</i>	Banana	[167]
<i>P. variotii</i>	<i>R. reniformis</i>	<i>In vitro</i>	[210]
	<i>M. hapla</i>	Lechuga	[171,172]
	<i>R. similis, H. multicinctus</i>	Banana	[223]
	<i>M. incognita</i>	Tomate	[170]
<i>Paecilomyces spp.</i>	<i>Meloidogyne spp.</i>	<i>In vitro</i>	[173]
	<i>Meloidogyne spp.</i>	<i>In vitro</i>	[197]
	<i>G. rostochiensis</i>	Judía/Chickpea	[224]
	<i>M. incognita</i>	Pepino	[162]

6. Control biológico de enfermedades causadas por artrópodos

El género *Paecilomyces* incluye múltiples especies descritas como agentes de control de plagas capaces de proporcionar un control natural sin necesidad de aplicaciones exógenas [225], muchas de las cuales han sido probadas en condiciones controladas para la elaboración de bioinsecticidas para combatir plagas de gran importancia económica a nivel mundial [226,227]. Entre los hongos entomopatógenos, las especies de *Paecilomyces* son fuentes viables para elaborar micoínsecticidas, ya que se pueden producir fácilmente a gran escala sustratos de propágulos estables y asequibles, como blastosporas o conidios [228]. Según Ruiu [229], los bioformulados que contienen principalmente *P. lilacinus* y *P. fumosoroseus* se han comercializado para el control de plagas.

Sin embargo, los resultados iniciales obtenidos en condiciones de cultivo *in vitro* no siempre fueron consistentes al evaluar su efectividad en condiciones de campo. Por esta razón, se deben evaluar parámetros como el método de aplicación. En este caso, la mayoría de las pruebas en condiciones de laboratorio controladas se evalúan sumergiendo las muestras en suspensiones de conidios de *Paecilomyces* spp., que proporcionan resultados claros sobre la infectividad de las especies analizadas [230]. Luego, se realizan pruebas en planta bajo condiciones seminaturales para evaluar la efectividad rociando plántulas infectadas con suspensiones de conidios dentro de estructuras cerradas para evitar que los insectos entren o salgan [231]. Finalmente, la mortalidad se evalúa en condiciones de campo mediante la aspersión de cultivos que muestran una densidad de plaga específica con formulaciones de *Paecilomyces* spp. [232]. En este sentido, actualmente se están valorando nuevos métodos de aplicación, como el descrito por López et al. [113], donde *P. lilacinus* utilizado como endófito en semillas de algodón proporciona resistencia inducida a las plantas al causar efectos negativos en la alimentación y reproducción de *Aphis gossypii*.

Las condiciones ambientales en el momento de la aplicación son cruciales y las altas temperaturas y humedad relativa son las más favorables para la infección. En este sentido, *P. fumosoroseus* causó una mortalidad del 60%, 80% y 85% en *Myzus persicae*, y del 90%, 95% y 100% en *Aphis fabae*, a 10, 18 y 23 °C, respectivamente [233]. En cuanto a la humedad, Demirci et al. [121] informaron que *I. farinosa* mostró una mayor patogenicidad contra *Planococcus citri* en condiciones de alta humedad relativa en el momento de la aplicación. Otro aspecto a tener en cuenta es el estado fisiológico o tamaño de los insectos. Las etapas de ninfa y larva tienden a ser más vulnerables que los huevos ya que estos cuentan con estructuras de defensa en su corion. *P. fumosoroseus* es capaz de afectar a la mosca blanca *Aleurodicus cocois* en varias etapas de desarrollo [234]. Del mismo modo, las barreras físicas de las pupas de *Leptinotarsa decemlineata* las hacen más resistentes que sus larvas a la infección por *Isaria fumosorosea* [235]. En cuanto al tamaño, Hunter et al. [236] mostró una correlación negativa entre la mortalidad de insectos y el tamaño, principalmente porque los tamaños más grandes se asocian con cutículas más gruesas, como en el uso de *I. fumosorosea* en *Diaphorina citri* (*Psílido*) y *D. citri* (*Curculionidae*), en cuyo caso este último es mayor. La esclerotización del tegumento de insectos también es importante, ya que tiene un impacto en la facilidad de penetración e infección por *Paecilomyces* spp. [237]. Para evitar estos obstáculos, el uso de formulaciones que contienen *Paecilomyces* spp. con altas densidades de conidios, así como una exposición focalizada y prolongada, se emplean para obtener un mejor efecto de control contra los insectos [238].

El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas

Se ha descrito que *Paecilomyces* controla las plagas al limitar el crecimiento de los insectos como resultado de la reducción de la alimentación [236,239], la reproducción [240] o simplemente provocando su muerte debido a la micosis [241]. Además, se ha demostrado que *P. fumosoroseus* es capaz de causar más muertes que algunos insecticidas comerciales como el fipronil cuando se usa contra *Frankliniella occidentalis* [242]. Al igual que cuando actúan como hongos nematófagos, el potencial de *Paecilomyces* spp. como agente de control biológico que parasita a los insectos se produce al penetrar en su cutícula y luego propagarse a través de la hemolinfa [243]. Esto es posible gracias a la excreción de enzimas, como la síntesis de proteasas o quitinasas [17,90], o de diferentes tipos de toxinas, como la beauvericina [244], el ácido dipicolínico [46] o el succinato de dibutilo [245], que se describen como metabolitos bioactivos con efectos insecticidas o repelentes de insectos, lo que los convierte en importantes factores de virulencia. Existen numerosos órdenes de artrópodos que son vulnerables al uso de *Paecilomyces* spp. (Tabla 6), entre ellos se han descrito hemípteros, como aleuródidos [246], pulgones [238], tisanópteros [242], dípteros [247], lepidópteros [73], himenópteros [248] y coleópteros [235].

Tabla 6. Control biológico de plagas mediante *Paecilomyces*.

Espece	Patógeno	Planta	Referencia
<i>P. carneus</i>	<i>Pteroma pendula</i>	<i>In vitro</i>	[249]
<i>P. cinnaomeus</i>	<i>Aleurocanthus camelliae</i>	<i>In vitro</i>	[250]
<i>P. javanicus,</i> <i>P. lilacinus</i>	<i>Spodoptera litura,</i> <i>Plutella xylostella</i>	<i>In vitro</i>	[73]
<i>P. farinosus</i>	<i>Sitophilus oryzae,</i> <i>Myzus persicae</i> <i>Lygus rugulipennis</i> <i>Planococcus citri</i> <i>Tribolium confusum</i> <i>Pristiphora abietina</i> <i>Delia antiqua</i> <i>Eurygaster integriceps</i> <i>Hypothenemus hampei</i> <i>Vespa, Dolichovespula</i>	<i>In vitro</i> <i>In vitro</i> <i>In vitro</i> <i>In vitro</i> <i>In vitro</i> <i>In vitro</i> <i>In vitro</i> <i>Trigo</i> <i>In vitro</i> <i>Review</i>	[251,252] [253] [254] [255] [256] [257] [258] [259] [260]
<i>P. formosa</i>	<i>Prays oleae</i>	<i>In vitro</i>	[261]
<i>P. fumosoroseus</i>	<i>Mamestra brassicae,</i> <i>S. littoralis</i> <i>Hoplia philanthus</i> <i>Monellia caryella,</i> <i>M. caryaefoliae, M. pecanis</i> <i>Diuraphis noxia</i> <i>P. xylostella</i> <i>Agriotes lineatus</i> <i>Ceratitis capitata</i> <i>Aphis fabae</i> <i>Bemisia argentifolii</i> <i>Diaphorina citri</i> <i>Eutetranychus orientalis</i> <i>Thrips palmi</i> <i>S. frugiperda</i> <i>Thrialurodes vaporariorum</i> <i>Bemisia tabaci</i> <i>Tetranychus urticae</i> <i>Toxoptera citricida</i> <i>Hyalopterus pruni</i> <i>Coccinelidos</i> <i>Schizaphis graminum</i> <i>B. tabaci</i> <i>Anoplophora glabripennis</i>	<i>In vitro</i> <i>In vitro/Césped</i> <i>In vitro</i> <i>In vitro</i> <i>In vitro</i> <i>In vitro</i> <i>In vitro</i> <i>In vitro</i> <i>Tomate/Col/Pepino</i> <i>In vitro/Naranja</i> <i>In vitro</i> <i>Judía</i> <i>Maíz</i> <i>Tomate</i> <i>In vitro</i> <i>Tomate</i> <i>In vitro</i> <i>In vitro</i> <i>Review</i> <i>In vitro</i> <i>Algodón</i> <i>In vitro</i>	[262] [263] [264] [265] [266] [267] [268] [269] [270] [271] [240] [272] [273] [274] [275] [276] [277] [278] [279] [280] [281] [282] [283]

<i>D. noxia</i>	Trigo	[284]
<i>Delia radicum</i> , <i>D. floralis</i>	<i>In vitro</i>	[285]
<i>Bactrocera zonata</i> ,	<i>In vitro</i>	[286]
<i>B. cucurbitae</i>	<i>In vitro</i>	[287,288]
<i>Haematobia irritans</i>	<i>In vitro</i>	[241]
<i>Coptotermes curvignathus</i> ,	<i>In vitro</i>	[235]
<i>C. gestroi</i>	<i>In vitro</i>	[289]
<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	<i>In vitro</i>	[290]
<i>S. littoralis</i>	<i>In vitro</i>	[291]
<i>Epilachna varivestis</i>	<i>In vitro</i>	[292-296]
<i>Polyphagotarsonemus latus</i>	<i>In vitro</i>	[297]
<i>B. argentifolii</i>	<i>In vitro/Hibisco</i>	[298]
<i>P. xylostella</i>	<i>In vitro</i>	[299]
<i>B. tabaci</i>	<i>In vitro</i>	[300]
<i>B. tabaci</i> , <i>T. vaporariorum</i>	<i>In vitro</i>	[301]
<i>Serangium parcesetosum</i>	<i>In vitro</i>	[302]
<i>Drosophila suzukii</i>	<i>In vitro</i>	[Tomate]
<i>T. vaporariorum</i>		[303]
<i>P. fumosoroseus</i>	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	<i>In vitro</i>
<i>P. lilacinus</i>		[304]
<i>P. fumosoroseus</i>	<i>Rhagoletis cerasi</i>	<i>In vitro</i>
<i>P. farinosus</i>		[305]
<i>P. fumosoroseus</i>		
<i>P. carneus</i>		
<i>P. lilacinus</i>	<i>Aedes aegypti</i>	<i>In vitro</i>
<i>P. marquandii</i>		
<i>P. farinosus</i>		
	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	<i>In vitro</i>
	<i>Phthorimaea operculella</i>	[306]
	<i>Acromyrmex lundi</i>	<i>In vitro</i>
	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	[248]
	<i>Duponchelia fovealis</i>	<i>In vitro</i>
	<i>Rhipacephalus microplus</i>	[307]
	<i>Tribolium confusum</i> , <i>Rhyzopertha dominica</i> , <i>Sitophilus zeamai</i>	<i>In vitro</i>
	<i>A. schlechtendali</i>	[308]
	<i>T. vaporariorum</i> , <i>A. gossypii</i>	<i>In vitro</i>
	<i>Frankliniella occidentalis</i>	[309]
<i>P. lilacinus</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	<i>In vitro</i>
	<i>Oligonychus coffeae</i>	[310]
	<i>C. capitata</i>	<i>In vitro</i>
	<i>Galleria mellonella</i>	[81,313]
	<i>A. gossypii</i>	Algodón
	<i>Solenopsis invicta</i>	<i>In vitro</i>
	<i>Tessaratoma papillosa</i>	[311]
	<i>S. zeamais</i>	<i>In vitro</i>
	<i>Cyclocephala signaticollis</i>	[312]
<i>P. lilacinus</i>	<i>A. fabae</i>	<i>In vitro</i>
<i>P. fumosoroseus</i>		[318]
<i>P. niveus</i>	<i>Nasonovia ribisnigri</i>	<i>In vitro</i>
	<i>S. frugiperda</i> , <i>S. exigua</i> ,	[319]
	<i>Helicoverpa zea</i> , <i>H. virescens</i>	<i>In vitro</i>
<i>P. tenuipes</i>	<i>Otiorhynchus sulcatus</i>	[320]
	<i>P. xylostela</i>	<i>In vitro</i>
		[321]
		[322]
	<i>S. litura</i>	<i>In vitro</i>
<i>P. variotii</i>	<i>S. avenae</i>	[323]
	<i>Earias insulana</i>	<i>In vitro</i>
		[324]
		[325]
	<i>Lygus lineolaris</i>	<i>In vitro</i>
	<i>Carmenita foraseminis</i>	[326]
	<i>Cyrtomenus bergi</i>	<i>In vitro</i>
<i>Paecilomyces sp.</i>	<i>Rhynchosporus ferrugineus</i>	[327]
	<i>B. tabaci</i>	<i>In vitro</i>
	<i>S. litura</i>	[328]
		[329]
<i>Paecilomyces spp.</i>	<i>Hedypathes betulinus</i>	<i>In vitro</i>
		[330]
		[331]
		[332]

7. Conclusiones

La pérdida de eficacia de los plaguicidas frente a determinados patógenos, la limitación de residuos en los productos cosechados, los problemas que estos productos provocan en el medio ambiente y la salud humana, y la ineeficacia de la resistencia genética debida a las rápidas alteraciones en la virulencia de los patógenos requieren el desarrollo de nuevos métodos de control. Si bien actualmente es difícil reducir la cantidad total de sustancias químicas activas sin causar pérdidas en la producción, su disminución gradual y el uso de bioestimulantes pueden ayudar a optimizar el uso de productos químicos y reducir la contaminación ambiental. Esta revisión es la primera en recopilar información sobre el potencial de varias especies de *Paecilomyces* como agentes de control biológico contra múltiples enfermedades y plagas, utilizando diferentes mecanismos de acción y/o especificidad que pueden usarse en combinación con el control cultural y químico en la agricultura.

Referencias

1. Bainier, G. Mycothe ‘que de l’e’cole de Pharmacie. XI *Paecilomyces*, genre nouveau de Muce’dine’es. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* **1907**, 23, 26–27.
2. Brown, A.H.S.; Smith, G. The genus *Paecilomyces* Bainier and its perfect stage *Byssochlamys* Westling. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **1957**, 40, 17–89.
3. Samson, R.A. *Paecilomyces* and some allied hyphomycetes. *Stud. Mycol.* **1974**, 6, 1–119.
4. Inglis, P.W.; Tigano, M.S. Identification and taxonomy of some entomopathogenic *Paecilomyces* spp. (*Ascomycota*) isolates using rDNA-ITS Sequences. *Genet. Mol. Biol.* **2006**, 29, 132–136.
5. Ibarra, J.E.; Del Rincón, C.M.C.; Galindo, E.; Patiño, M.; Serrano, L.; García, R.; Carrillo, J.A.; Pereyra, A.B.; Alcázar, P.A.; Luna, O.H.; et al. Los microorganismos en el control biológico de insectos y fitopatógenos. *Rev. Latinoam. Microbiol.* **2006**, 48, 113–120.
6. Luangsa-ard, J.J.; Hywel-Jones, N.L.; Samson, R.A. The polyphyletic nature of *Paecilomyces* sensu lato based on 18S-generated rDNA phylogeny. *Mycologia* **2004**, 96, 773–780.
7. Index Fungorum Database. Available online (20/09/2020): <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>
8. Luangsa-Ard, J.J.; Houbraken, J.; Van Doorn, T.; Hong, S.B.; Borman, A.M.; Hywel-Jones, N.L.; Samson, R.A. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiol. Lett.* **2011**, 321, 141–149.
9. Obornik, M.; Jirku, M.; Dolezel, D. Phylogeny of mitosporic entomopathogenic fungi: Is the genus *Paecilomyces* polyphyletic? *Can. J. Microbiol.* **2001**, 47, 813–819.
10. Borba, C.M.; Brito, M.M.S. *Paecilomyces*: Mycotoxin production and human infection. In *Molecular Biology of Food and Water Borne Mycotoxicogenic and Mycotic Fungi*; Paterson, R.R.M., Lima, N., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, **2015**, 401–421.
11. Beuchat, L.R. Influence of organic acids on heat resistance characteristics of *Talaromyces flavus* ascospores. *Int. J. Food Microbiol.* **1988**, 6, 97–105.
12. Dijksterhuis, J. Fungal spores: Highly variable and stress-resistant vehicles for distribution and spoilage. *Food Microbiol.* **2019**, 81, 2–11.
13. Van den Brule, T.; Leeb, C.L.S.; Houbraken, J.; Haasc, P.J.; Wösten, H.; Dijksterhuis, J. Conidial heat resistance of various strains of the food spoilage fungus *Paecilomyces variotii*

- correlates with mean spore size, spore shape and size distribution. *Food Res. Int.* **2020**, *137*, 109514.
14. Van den Brule, T.; Punt, M.; Teertstra, W.; Houbraken, J.; Wosten, H.; Dijksterhuis, J. The most heat-resistant conidia observed to date are formed by distinct strains of *Paecilomyces variotii*. *Environ. Microbiol.* **2020**, *22*, 986–999.
 15. Moreno-Gavíra, A.; Diánez, F.; Sánchez-Montesinos, B.; Santos, M. *Paecilomyces variotii* as a plant-growth promoter in horticulture. *Agronomy* **2020**, *10*, 597.
 16. He, J.; Kang, J.; Lei, B.; Wen, T. *Paecilomyces wawuensis*, a new species isolated from soil in China. *Mycotaxon* **2011**, *115*, 303–310.
 17. Homthong, M.; Kubera, A.; Srihuttagum, M.; Hongtrakul, V. Isolation and characterization of chitinase from soil fungi, *Paecilomyces* sp. panel. *Agric. Nat. Resour.* **2016**, *50*, 232–242.
 18. M'barek, H.N.; Taidi, B.; Smaoui, T.; Aziz, M.B.; Mansouri, A.; Hajjaj, H. Isolation screening and identification of ligno-cellulolytic fungi from northern central Morocco. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **2019**, *23*, 207–217.
 19. Biango-Daniels, M.N.; Snyderb, A.B.; Woroboc, R.W.; Hodge, K.T. Fruit infected with *Paecilomyces niveus*: A source of spoilage inoculum and patulin in apple juice concentrate? *Food Control* **2019**, *97*, 81–86.
 20. Dagnas, S.; Membré, J.M. Predicting and preventing mold spoilage of food products. *J. Food Prot.* **2013**, *76*, 538–551.
 21. Dos Santos, J.L.P.; Samapundo, S.; Biyikli, A.; Van Impe, J.; Akkermans, S.; Höfte, M. Occurrence, distribution and contamination levels of heat-resistant moulds throughout the processing of pasteurized high-acid fruit products. *Int. J. Food Microbiol.* **2018**, *281*, 72–81.
 22. Wang, Y.; Zhang, W.P.; Cao, H.L.; Shek, C.S.; Tian, R.M.; Wong, Y.H.; Batang, Z.; Al-Suwailem, A.; Qian, P.Y. Diversity and distribution of eukaryotic microbes in and around a brine pool adjacent to the Thuwal cold seeps in the Red Sea. *Front. Microbiol.* **2014**, *5*, 37.
 23. Rédou, V.; Navarri, M.; Meslet-Cladière, L.; Barbier, G.; Burgaud, G. Species richness and adaptation of marine fungi from deep-subseafloor sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* **2015**, *81*, 3571–3583.
 24. Anastasi, A.; Varese, G.C.; Marchisio, V.F. Isolation and identification of fungal communities in compost and vermicompost. *Mycologia* **2005**, *97*, 33–44.
 25. Kluczek-Turpeinen, B.; Tuomela, M.; Hatakka, A.; Hofrichter, M. Lignin degradation in a compost environment by the deuteromycete *Paecilomyces inflatus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2003**, *61*, 374–379.
 26. Fukatsu, T.; Sato, H.; Kurivama, H. Isolation, inoculation to insect host, and molecular phylogeny of an entomogenous fungus *Paecilomyces tenuipes*. *J. Invertebr. Pathol.* **1997**, *70*, 203–208.
 27. Martí, G.A.; López Lastra, C.C.; Pelizza, S.A.; García, J.J. Isolation of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson (Ascomycota: Hypocreales) from the Chagas disease vector, *Triatoma infestans* Klug (Hemiptera: Reduviidae) in an endemic area in Argentina. *Mycopathologia* **2006**, *162*, 369.
 28. Mohammadi, S.; Soltani, J.; Piri, K. Soilborne and invertebrate pathogenic *Paecilomyces* species show activity against pathogenic fungi and bacteria. *J. Crop Prot.* **2016**, *5*, 377–387.
 29. Barra, P.; Rosso, L.; Nesci, A.; Etcheverry, M. Isolation and identification of entomopathogenic fungi and their evaluation against *Tribolium confusum*, *Sitophilus zeamais*, and *Rhyzopertha dominica* in stored maize. *J. Pest Sci.* **2013**, *86*, 217–226.
 30. Aminuzzamana, F.M.; Xieb, H.Y.; Duanc, W.J.; Sundand, B.D.; Liu, X.Z. Isolation of nematophagous fungi from eggs and females of *Meloidogyne* spp. and evaluation of their biological control potential. *Biocontrol Sci. Technol.* **2013**, *23*, 170–182.

El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas

31. López-Lima, D.; Carrión, G.; Núñez-Sánchez, A.E. Isolation of fungi associated with *Criconemooides* sp. and their potential use in the biological control of ectoparasitic and semiedoparasitic nematodes in sugar cane. *Australian J. Crop Sci.* **2014**, *8*, 389–396.
32. Pandey, A.; Man, L.; Palni, S.; Bisht, D. Dominant fungi in the rhizosphere of established tea bushes and their interaction with the dominant bacteria under in situ conditions. *Microbiol. Res.* **2001**, *156*, 377–382.
33. Kilama, P.; Dubois, T.; Coyne, D.; Niere, B.; Gold, C.S.; Adipala, E. Antagonism of *Paecilomyces* spp. isolated from banana (*Musa* spp.) roots and rhizosphere against *Radopholus similis*. *Nematropica* **2007**, *37*, 215–226.
34. Paul, N.C.; Deng, J.X.; Lee, J.H.; Yu, S.H. New records of endophytic *Paecilomyces inflatus* and *Bionectria ochroleuca* from chili pepper plants in Korea. *Mycobiology* **2013**, *41*, 18–24.
35. Waqas, M.; Khan, A.L.; Shahzad, R.; Ullah, I.; Khan, A.R.; Lee, I.J. Mutualistic fungal endophytes produce phytohormones and organic acids that promote japonica rice plant growth under prolonged heat stress. *J. Zhejiang Univ Sci. B* **2015**, *16*, 1011–1018.
36. Lu, C.; Liu, H.; Jiang, D.; Wang, L.; Jiang, Y.; Tang, S.; Hou, X.; Han, X.; Liu, Z.; Zhang, M.; et al. *Paecilomyces variotii* extracts (ZNC) enhance plant immunity and promote plant growth. *Plant Soil* **2019**, *441*, 383–397.
37. Wang, X.; Yao, Y.; Chen, B.; Zhang, M.; Liu, Z.; Wang, Q.; Ma, J. *Paecilomyces variotii* extracts and controlled-release urea synergistically increased nitrogen use efficiency and rice yield. *ACS Omega* **2020**, *5*, 13303–13311.
38. Malhadas, C.; Malheiro, R.; Pereira, J.A.; de Pinho, P.G.; Baptista, P. Antimicrobial activity of endophytic fungi from olive tree leaves. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2017**, *33*, 46.
39. Khan, A.L.; Hamayun, M.; Kang, S.M.; Kim, Y.H.; Jung, H.Y.; Lee, J.H.; Lee, I.J. Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: An example of *Paecilomyces formosus* LHL10. *BMC Microbiol.* **2012**, *12*, 3.
40. Baron, N.C.; de Souza, A.; Rigobelo, E.C. *Purpureocillium lilacinum* and *Metarhizium marquandii* as plant growth-promoting fungi. *PeerJ* **2020**, *8*, e9005.
41. Sivakumar, T.; Eswaran, A.; Balabaskar, P. Bioefficacy of antagonists against for the management of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Meloidogyne incognita* disease complex of tomato under field condition. *Plant Arch.* **2008**, *8*, 373–377.
42. Mezeal, I.A.; Mizil, S.N.; Hussin, M.S. Researching biocontrol of *Trichoderma viride*, *Paecilomyces lilacinus* in contradiction of effectiveness of fungi insulated as of selected therapeutic herbals. *Plant Arch.* **2018**, *18*, 1631–1637.
43. Perveen, Z.; Shahzad, S.A. Comparative study of the efficacy of *Paecilomyces* species against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Pak. J. Nematol.* **2013**, *31*, 125–131.
44. Nisha, R.; Siddiqui, Z.A. Effects of *Paecilomyces lilacinus* and *Aspergillus niger* alone and in combination on the growth, chlorophyll contents and soft rot disease complex of carrot. *Sci. Hortic.* **2017**, *218*, 258–264.
45. Nakajima, M.; Itoi, K.; Takamatsu, Y.; Sato, S.; Furukawa, Y.; Furuya, K.; T.; Honma, Kadotani, J.; Ozasa, M.; Haneishi, T. Cornexistin: A new fungal metabolite with herbicidal activity. *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 1065–1072.
46. Asaff, A.; Cerdá-García-Rojas, C.; De la Torre, M. Isolation of dipicolinic acid as an insecticidal toxin from *Paecilomyces fumosoroseus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, *68*, 542–547.
47. Song, X.B.; Zhang, L.H.; Peng, A.T.; Cheng, B.P.; Ling, J.F. First report of *Paecilomyces variotii* isolated from Citrus Psyllid (*Diaphorina citri*), the vector of Huanglongbing of Citrus, in China. *Plant Dis.* **2016**, *100*, 2526.

48. Hyung, J.J.; Kang, H.; Jong, J.J.; Soo, K.Y. *Paecilomyces variotii* extracts for preventing and treating infections caused by fish pathogenic microorganisms. KR Patent, 2013051523, 2013.
49. Piątkowski, J.; Krzyzewska, U.; Nawrot, U. Antifungal activity of entomopathogenic species of the genus *Paecilomyces*. *Mikol. Lek.* **2003**, *10*, 93–99.
50. Saha, M.; Sarkar, S.; Sarkar, B.; Sharma, B.Q.; Bhattacharjee, S.; Tribedi, P. Microbial siderophores and their potential applications: A review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2016**, *23*, 3984–3999.
51. Favre-Bonvin, J.; Ponchet, M.; Djian, C.; Arpin, N.; Pijarowski, L. Acetic acid: A selective nematicidal metabolite from culture filtrates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson and *Trichoderma longibrachiatum* Rifai. *Nematologica* **1991**, *37*, 101–112.
52. Lima-Rivera, D.L.; Lopez-Lima, D.; Desgarennes, D.; Velazquez-Rodriguez, A.S.; Carrión, G. Phosphate solubilization by fungi with nematicidal potential. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **2016**, *16*, 507–524.
53. Kyong, S.N.; Young, S.J.; Yong, H.K.; Jin, W.H.; Ha, W.K. Cytotoxic activities of acetoxyscirpenediol and ergosterol peroxide from *Paecilomyces tenuipes*. *Life Sci.* **2001**, *69*, 229–237.
54. Isaka, M.; Palasarn, S.; Lapanun, S.; Sriklung, K. Paecilodepsipeptide A, an antimalarial and antitumor cyclohexadepsipeptide from the insect pathogenic fungus *Paecilomyces cinnamomeus* BCC 9616. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 675–678.
55. He, L.; Shi, W.; Liu, X.; Zhao, X.; Zhang, Z. Anticancer action and mechanism of ergosterol peroxide from *Paecilomyces cicadae* fermentation broth. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 3935.
56. Paul, A.; Teles, C.; Takahashi, J.A. Paecilomide, a new acetylcholinesterase inhibitor from *Paecilomyces lilacinus*. *Microbiol. Res.* **2013**, *168*, 204–221.
57. García-Peña, I.; Hernández, S.; Auria, R.; Revah, S. Correlation of biological activity and reactor performance in biofiltration of toluene with the fungus *Paecilomyces variotii* CBS115145. *Appl. Environ. Microbiol.* **2005**, *71*, 4280–4285.
58. García-Peña, I.; Ortiz, I.; Hernández, S.; Revah, S. Biofiltration of BTEX by the fungus *Paecilomyces variotii*. *Int. Biodegradation Biodegrad.* **2008**, *62*, 442–447.
59. Zerva, A.; Savvides, A.L.; Katsifas, E.A.; Karagouni, A.D.; Hatzinikolaou, D.G. Evaluation of *Paecilomyces variotii* potential in bioethanol production from lignocellulose through consolidated bioprocessing. *Bioresour. Technol.* **2014**, *162*, 294–299.
60. Liu, Z.; Liu, G.; Cai, H.; Shi, P.; Chang, W.; Zhang, S.; Zheng, A.; Xie, Q.; Ma, J. *Paecilomyces variotii*: A fungus capable of removing ammonia nitrogen and inhibiting ammonia emission from manure. *PLoS one* **2016**, *11*, e0158089.
61. Rodrigo, S.; Santamaría, O.S.; Halecker, S.; Lledó, M.S. Antagonism between *Byssochlamys spectabilis* (anamorph *Paecilomyces variotii*) and plant pathogens: Involvement of the bioactive compounds produced by the endophyte. *Ann. Appl. Biol.* **2017**, *171*, 464–476.
62. Steiner, B.; Aquino, V.R.; Paz, A.A.; da Rocha Silla, L.M.; Zavascki, A.; Goldani, L.Z. *Paecilomyces variotii* as an emergent pathogenic agent of pneumonia. *Case Rep. Infect. Dis.* **2013**, *2013*, 273848.
63. Pastor, F.J.; Guarro, J. Clinical manifestations, treatment and outcome of *Paecilomyces lilacinus* infections. *Clin. Microbiol. Infect.* **2006**, *12*, 948–960.
64. Aminaee, M.M.; Ershad, D. *Die-Back of Young Shoots of Pistachios in Kerman 9th Plant Protection Congress of Iran*; Ferdowsi University of Mashad Publication: Mashad, Iran, 1989, 82.
65. Torabi, A.; Bonjar, G.H.S.; Abdolshahi, R.; Pournamdaric, M.; Saadound, I.; Barkae, E.A. Biological control of *Paecilomyces formosus*, the causal agent of dieback and canker

El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas

- diseases of pistachio by two strains of *Streptomyces misionensis*. *Biol. Control.* **2019**, *137*, 104029.
66. O'Brien, P.A. Biological control of plant diseases. *Australas. Plant Pathol.* **2017**, *46*, 293–304.
67. Dukare, A.S.; Paul, S.; Nambi, V.E.; Gupta, R.K.; Singh, R.; Sharma, K.; Vishwakarma, R.K. Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases of fruits: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2019**, *59*, 1498–1513.
68. Di Francesco, A.; Martini, C.; Mari, M. Biological control of postharvest diseases by microbial antagonists: How many mechanisms of action? *Eur. J. Plant Pathol.* **2016**, *145*, 711–717.
69. Lugtenberg, B.; Rozen, D.E.; Kamilova, F. Wars between microbes on roots and fruits. *F1000 Research* **2017**, *6*, 343.
70. Latz, M.A.; Jensen, B.; Collinge, D.B.; Jørgensen, H.J. Endophytic fungi as biocontrol agents: Elucidating mechanisms in disease suppression. *Plant Ecol. Divers.* **2018**, *11*, 555–567.
71. Suárez, L.Y.; Rangel, A.L. Isolation of microorganisms for biological control of *Moniliophthora roreri*. *Acta Agron.* **2013**, *62*, 370–378.
72. Munawar, M.; Khan, S.A.; Javed, N.; Haq, I.U.; Gondal, A.S. Bio-management of tomato wilt complex caused by *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Nematology* **2015**, *17*, 479–485.
73. Nguyen, H.C.; Thi Van Anh, T.R.A.N.; Nguyen, Q.L.; Nguyen, N.N.; Nguyen, M.K.; Nguyen, N.T.T. Newly Isolated *Paecilomyces lilacinus* and *Paecilomyces javanicus* as novel biocontrol agents for *Plutella xylostella* and *Spodoptera litura*. *Not. Bot. Horti. Agrobo.* **2017**, *45*, 280–286.
74. Rabea, E.I.; Badawy, M.E.T.; Stevens, C.V.; Smagghe, G.; Steurbaut, W. Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1457–1465.
75. Talibi, I.; Boubaker, H.; Boudyach, E.H.; Ait Ben Aoumar, A. Alternative methods for the control of postharvest citrus diseases. *J. Appl. Microbiol.* **2014**, *117*, 1–17.
76. Williams, K.; Khan, A.; Holland, R. Infection of *Meloidogyne javanica* by *Paecilomyces lilacinus*. *Nematology* **1999**, *1*, 131–139.
77. Morton, O.; Hirsch, P.; Kerry, B. Infection of plant-parasitic nematodes by nematophagous fungi—a review of the application of molecular biology to understand infection processes and to improve biological control. *Nematology* **2004**, *6*, 161–170.
78. Park, J.O.; Hargreaves, J.R.; McConville, E.J.; Stirling, G.R.; Ghisalberti, E.L.; Sivasithamparam, K. Production of leucinostatins and nematicidal activity of Australian isolates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson. *Lett. Appl. Microbiol.* **2004**, *38*, 271–276.
79. Prabavathy, D.; Valli, N.C. Screening for extracellular enzymes and production of cellulase by an endophytic *Aspergillus* sp, using cauliflower stalk as substrate. *Int. J. Appl. Bioeng.* **2012**, *6*, 40–45.
80. Sunitha, V.H.; Nirmala Devi, D.; Srinivas, C. Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. *World J. Agric. Res.* **2013**, *9*, 1–9.
81. Ibrahim, A.A.; Mohamed, H.F.; El-Naggar, S.E.M.; Swelim, M.A.; Elkhawaga, O.E. Isolation and selection of entomopathogenic fungi as biocontrol agent against the greater wax moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *Egypt. J. Biol. Pest Control* **2016**, *26*, 249–253.

82. Spadaro, D.; Droby, S. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends Food Sci. Tech.* **2016**, *47*, 39–49.
83. Sornakili, A.; Thankappan, S.; Sridharan, A.P.; Nithya, P.; Uthandi, S. Antagonistic fungal endophytes and their metabolite-mediated interactions against phytopathogens in rice. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **2020**, *112*, 101525.
84. Castellanos-Moguel, J.; González-Barajas, M.; Mier, T.; del Rocío Reyes-Montes, M.; Aranda, E.; Toriello, C. Virulence testing and extracellular subtilisin-like (Pr1) and trypsin-like (Pr2) activity during propagule production of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates from whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae). *Rev. Iberoam. Micol.* **2007**, *24*, 62–68.
85. Gortari, M.C.; Galarza, B.C.; Cazau, M.C.; Hours, R.A. Comparison of the biological properties of two strains of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson associated to their antagonistic effect onto *Toxocara canis* eggs. *Malays. J. Microbiol.* **2008**, *4*, 35–41.
86. Chen, C.C.; Kumar, H.A.; Kumar, S.; Tzean, S.S.; Yeh, K.W. Molecular cloning, characterization, and expression of a chitinase from the entomopathogenic fungus *Paecilomyces javanicus*. *Curr. Microbiol.* **2007**, *55*, 8–13.
87. Khan, A.; Williams, K.L.; Nevalainen, H.K. Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. *Biol. Control* **2004**, *31*, 346–352.
88. Gómez, C.; Amaya, I.; de la Cruz-Quiroz, R.; Rodríguez-Herrera, R.; Aguilar, C.N. *Tenebrio molitor* biomass as inducer of lipases and proteases produced by *Paecilomyces fumosoroseus*. *Mex. J. Biotechnol.* **2017**, *2*, 142–150.
89. Castellanos-Moguel, J.; Cruz-Camarillo, R.; Aranda, E.; Mier, T.; Toriello, C. Relationship between protease and chitinase activity and the virulence of *Paecilomyces fumosoroseus* in *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). Rev. Mex. Micol. **2008**, *28*, 71–80.
90. Ali, S.; Huang, Z.; Ren, S. Production of cuticle degrading enzymes by *Isaria fumosorosea* and their evaluation as a biocontrol agent against diamondback moth. *J. Pest Sci.* **2010**, *83*, 361–370.
91. Lopez-Llorca, L.V.; Carbonell, T.; Gomez-Vidal, S. Degradation of insect cuticle by *Paecilomyces farinosus* proteases. *Mycol. Prog.* **2002**, *1*, 249–256.
92. Khan, A.; Williams, K.L.; Nevalainen, H.K. Infection of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. *Biol. Control* **2006**, *51*, 659–678.
93. Dong, L.Q.; Yang, J.K.; Zhang, K.Q. Cloning and phylogenetic analysis of the chitinase gene from the facultative pathogen *Paecilomyces lilacinus*. *J. Appl. Microbiol.* **2007**, *103*, 2476–2488.
94. Giné, A.; Sorribas, F.J. Effect of plant resistance and BioAct WG (*Purpureocillium lilacinum* strain 251) on *Meloidogyne incognita* in a tomato–cucumber rotation in a greenhouse. *Pest Manag. Sci.* **2017**, *73*, 880–887.
95. Singh, S.; Pandey, R.K.; Goswami, B.K. Bio-control activity of *Purpureocillium lilacinum* strains in managing root-knot disease of tomato caused by *Meloidogyne incognita*. *Biocontrol Sci. Technol.* **2013**, *23*, 1469–1489.
96. Wang, J.; Liu, F.; Pan, C. Enhancing the virulence of *Paecilomyces lilacinus* against *Meloidogyne incognita* eggs by overexpression of a serine protease. *Biotechnol. Lett.* **2010**, *32*, 1159–1166.
97. Yang, J.; Zhao, X.; Liang, L.; Xia, Z.; Lei, L.; Niu, X. Overexpression of a cuticle-degrading protease Ver112 increases the nematicidal activity of *Paecilomyces lilacinus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *89*, 1895–1903.

98. Rodriguez, R.J.; White Jr, J.F.; Arnold, A.E.; Redman, A.R.A. Fungal endophytes: Diversity and functional roles. *New Phytol.* **2009**, *182*, 314–330.
99. Saraf, M.; Pandya, U.; Thakkar, A. Role of allelochemicals in plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens. *Microbiol. Res.* **2014**, *169*, 18–29.
100. Vala, A.K.; Vaidya, S.Y.; Dube, H.C. Siderophore production by facultative marine fungi. *Indian J. Mar. Sci.* **2000**, *29*, 339–340.
101. Renshaw, J.C.; Robson, G.D.; Trinci, A.P.; Wiebe, M.G.; Livens, F.R.; Collison, D.; Taylor, R.J. Fungal siderophores: Structures, functions and applications. *Mycol. Res.* **2002**, *106*, 1123–1142.
102. Baakza, A.; Dave, B.P.; Dube, H.C. Chemical nature, ligand denticity and quantification of fungal siderophores. *Indian J. Exp. Botil.* **2004**, *42*, 96–105.
103. Daghino, S.; Martino, E.; Vurro, E.; Tomatis, M.; Girlanda, M.; Fubini, B.; Perotto, S. Biowathering of chrysotile by fungi isolated in ophiolitic sites. *FEMS Microbiol. Lett.* **2008**, *285*, 242–249.
104. Ruanpanun, P.; Tangchitsomkid, N.; Hyde, K.D.; Lumyong, S. Actinomycetes and fungi isolated from plant-parasitic nematode infested soils: Screening of the effective biocontrol potential, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2010**, *26*, 1569–1578.
105. Adebola, M.O.; Amadi, J.E. Antagonistic activities of *Paecilomyces* and *Rhizopus* species against the cocoa black pod pathogen (*Phytophthora palmivora*). *Afr. Sci.* **2010**, *11*, 235–239.
106. Arora, K.; Sharma, S.; Krishna, S.B.; Adam, J.K.; Kumar, A. Non-edible Oil cakes as a novel substrate for DPA production and augmenting biocontrol activity of *Paecilomyces variotii*. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 753.
107. Anis, M.; Abbasi, M.W.; Zaki, M.J. Bioefficacy of microbial antagonists against *Macrophomina phaseolina* on sunflower. *Pak. J. Bot.* **2010**, *42*, 2935–2940.
108. Yu, Z.; Zhang, Y.; Luo, W.; Wang, Y. Root colonization and effect of biocontrol fungus *Paecilomyces lilacinus* on composition of ammonia-oxidizing bacteria, ammonia-oxidizing archaea and fungal populations of tomato rhizosphere. *Biol. Fertil. Soils* **2015**, *51*, 343–351.
109. Mousa, W.K.; Raizada, M.N. The diversity of anti-microbial secondary metabolites produced by fungal endophytes: An interdisciplinary perspective. *Front. Microbiol.* **2013**, *4*, 65.
110. Luttenberg, B.J.; Caradus, J.R.; Johnson, L.J. Fungal endophytes for sustainable crop production. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2016**, *92*, 194.
111. Li, X.Q.; Xu, K.; Liu, X.M.; Zhang, P. A systematic review on secondary metabolites of *Paecilomyces* species: Chemical diversity and biological activity. *Planta Med.* **2020**, *86*, 805–821.
112. Suárez-Estrella, F.; Arcos-Nievas, M.A.; López, M.J.; Vargas-García, M.C.; Moreno, J. Biological control of plant pathogens by microorganisms isolated from agro-industrial composts. *Biol. Control.* **2013**, *67*, 509–515.
113. Lopez, D.C.; Zhu-Salzman, K.; Ek-Ramos, M.J.; Sword, G.A. The entomopathogenic fungal endophytes *Purpureocillium lilacinum* (formerly *Paecilomyces lilacinus*) and *Beauveria bassiana* negatively affect cotton aphid reproduction under both greenhouse and field conditions. *PLoS one* **2014**, *9*, e103891.
114. Abo-Elyousr, K.A.; Hashem, M.; Ali, E.H. Integrated control of cotton root rot disease by mixing fungal biocontrol agents and resistance inducers. *Crop Prot.* **2009**, *28*, 295–301.

- 115.** Shafique, H.A.; Sultana, V.; Ara, J.; Ehteshamul-Haque, S.; Athar, M. Role of antagonistic microorganisms and organic amendment in stimulating the defense system of okra against root rotting fungi. *Pol. J. Microbiol.* **2015**, *64*, 157–162.
- 116.** Oliveira Silva, M.R.; Kawai, K.; Hosoe, T.; Campos Takaki, G.M.; Buarque Gusmão, N.; Fukushima, K. Viriditoxin, an antibacterial substance produced by mangrove endophytic fungus *Paecilomyces variotii*. In *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education*; Méndez-Vilas, A., Ed.; Formatec Research Center: Badajoz, Spain, **2013**, 1406–1411.
- 117.** Barakat, K.M.I.; Saleh, M.E. Bioactive Betulin produced by marine *Paecilomyces* WE3-F. *J. Appl. Pharm. Sci.* **2016**, *6*, 34–40.
- 118.** Larran, S.; Simon, M.R.; Moreno, M.V.; Siurana, M.S.; Perelló, A. Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease. *Biol. Control.* **2016**, *92*, 17–23.
- 119.** Jacobs, H.; Gray, S.N.; Crump, D.H. Interactions between nematophagous fungi and consequences for their potential as biological agents for the control of potato cyst nematodes. *Mycol. Res.* **2003**, *107*, 47–56.
- 120.** Horn, W.S.; Smith, J.L.; Bills, G.F.; Raghoobar, S.L.; Helms, G.L.; Kurtz, M.B. Sphingofungins E and F: Novel serinepalmitoyl transferase inhibitors from *Paecilomyces variotii*. *J. Antibiot.* **1992**, *45*, 1692–1696.
- 121.** Demirci, E.; Dane, E.; Eken, C. In vitro antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia on potato tubers against *Rhizoctonia solani*. *Turk. J. Biol.* **2011**, *35*, 457–462.
- 122.** El-Hasan, A.; Schöne, J.; Höglinger, B.; Walker, F.; Voegeler, R.T. Assessment of the antifungal activity of selected biocontrol agents and their secondary metabolites against *Fusarium graminearum*. *Eur. J. Plant Pathol.* **2018**, *150*, 91–103.
- 123.** Zhang, P.; Li, X.M.; Wang, J.N.; Wang, B.G. Oxepine-containing diketopiperazine alkaloids from the algal-derived endophytic fungus *Paecilomyces variotii* EN-291. *Helv. Chim. Acta* **2015**, *98*, 800–804.
- 124.** Ui, H.; Shiomi, K.; Suzuki, H.; Hatano, H.; Morimoto, H.; Yamaguchi, Y.; Masuma, R.; Sakamoto, K.; Kita, K.; Miyoshi, H.; et al. Paecilaminol, a new nadh-fumarate reductase inhibitor produced by *Paecilomyces* sp. FKI-0550. *J. Antibiot.* **2006**, *59*, 591–596.
- 125.** Yang, F.; Abdelnabdy, H.; Xiao, Y. A mutant of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus* (Thom) is a novel biocontrol agent for *Sclerotinia sclerotiorum*. *Microb. Pathog.* **2015**, *89*, 169–176.
- 126.** Varma, P.K.; Gandhi, S.K.; Surender, S. Biological control of *Alternaria solani*, the causal agent of early blight of tomato. *J. Biol. Control.* **2008**, *22*, 67–72.
- 127.** Kavková, M.; Čurn, V. *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: *Hymomycetes*) as a potential mycoparasite on *Sphaerotheca fuliginea* (Ascomycotina: *Erysiphales*). *Mycopathologia* **2005**, *159*, 53–63.
- 128.** Dolatabad, H.K.; Javan-Nikkhah, M.; Shier, W.T. Evaluation of antifungal, phosphate solubilisation, and siderophore and chitinase release activities of endophytic fungi from *Pistacia vera*. *Micol. Prog.* **2017**, *16*, 777–790.
- 129.** Szentiványi, O.; Varga, K.; Wyand, R.; Slatter, H.; Kiss, L. *Paecilomyces farinosus* destroys powdery mildew colonies in detached leaf cultures but not on whole plants. *Eur. J. Plant Pathol.* **2006**, *115*, 351–356.
- 130.** Ramzan, N.; Noreen, N.; Shahzad, S. Inhibition of in vitro growth of soil-borne pathogens by compost-inhabiting indigenous bacteria and fungi. *Pak. J. Bot.* **2014**, *46*, 1093–1099.
- 131.** Cartwright, D.K.; Benson, D.M. Biological control of *Rhizoctonia* stem rot of poinsettia in polyfoam rooting cubes with *Pseudomonas cepacia* and *Paecilomyces lilacinus*. *Biol. Control.* **1995**, *5*, 237–244.

El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas

- 132.** Will, M.E.; Wilson, D.M.; Wicklow, D.T. Evaluation of *Paecilomyces lilacinus*, chitin, and cellulose amendments in the biological control of *Aspergillus flavus* fungi. *Biol. Fertil. Soils* **1994**, *17*, 281–284.
- 133.** Gupta, S.C.; Leathers, T.D.; Wicklow, D.T. Hydrolyticenzymes secreted by *Paecilomyces lilacinus* cultured on sclerotia of *Aspergillus flavus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1993**, *39*, 99–103.
- 134.** Hajano, J.U.D.; Lodhi, A.M.; Pathan, M.A.; Khanzada, M.A.; Shah, G.S. *In-vitro* evaluation of fungicides, plant extracts and bio-controlagents against rice blast pathogen *Magnaporthe Oryzae* couch. *Pak. J. Bot.* **2012**, *44*, 1775–1778.
- 135.** Maitlo, S.A.; Rajput, N.A.; Syed, R.N.; Khanzada, M.A.; Rajput, A.Q.; Lodhi, A.M. Microbial control of *Fusarium* wilt of chickpea caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Pak. J. Bot.* **2019**, *51*, 2261–2268.
- 136.** Singh, D. Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary by *Trichoderma harzianum*. *Trop. Pest Manag.* **1991**, *37*, 374–378.
- 137.** Khan, M.A.; Khan, S.A.; Khan, R.W. Root Rot Disease Complex of Cotton: A menace to crop in southern punjab and its mitigation through antagonistic fungi. *Pak. J. Zool.* **2017**, *49*, 1817–1828.
- 138.** Mansoor, F.; Sultana, V.; Ehteshamul-Haque, S. Enhancement of biocontrol potential of *Pseudomonas aeruginosa* and *Paecilomyces lilacinus* against root rot of mungbean by a medicinal plant *Launaea nudicaulis*. *Pak. J. Bot.* **2007**, *39*, 2113–2119.
- 139.** Shahzad, S.; Ghaffar, A. Use of *Paecilomyces lilacinus* in the control of root rot and root-knot disease complex of okra and mungbean. *Pak. J. Nematol.* **1989**, *7*, 47–53.
- 140.** Berg, G.; Zachow, C.; Lottmann, J.; Götz, M.; Costa, R.; Smalla, K. Impact of plant species and site on rhizosphere-associated fungi antagonistic to *Verticillium dahliae* Kleb. *Appl. Environ. Microbiol.* **2005**, *71*, 4203–4213.
- 141.** Al-sheikh, H.; Abdelzaher, H.M.A. Isolation of *Aspergillus sulphureus*, *Penicillium islandicum* and *Paecilomyces variotii* from agricultural soil and their biological activity against *Pythium spinosum*, the Damping-Off Organism of Soybean. *J. Biol. Sci.* **2010**, *10*, 178–189.
- 142.** Abdul-Wahid, O.A.; Moustafa, A.F.; Ibrahim, M. Integrated control of tomato *Fusarium*-wilt through implementation of soil solarization and filamentous fungi. *J. Plant Dis. Prot.* **2001**, *108*, 345–355.
- 143.** Aziz, N.H.; Shahin, A.A.M. Influence of other fungi on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in maize kernels. *J. Food Saf.* **1997**, *17*, 113–123.
- 144.** Shahzad, S.; Ghaffar, A. Field application of *Paecilomyces lilacinus* and furadan for the control of rootknot disease of okra and mung. *Int. Nematol. Network News.* **1987**, *4*, 33–34.
- 145.** Qureshi, S.A.; Ruqqia, V.; Ara, S.J.; Ehteshamul-Haque, S. Nematicidal potential of culture filtrates of soil fungi associated with rhizosphere and rhizoplane of cultivated and wild plants. *Pak. J. Bot.* **2012**, *44*, 1041–1046.
- 146.** Nurbailis, N.; Martinius, M.; Azniza, V. Viability and environmental effect to conidial germination of antagonistic fungi that potential as biological control of *Colletotrichum gloeosporioides* caused antracnose disease on chili. *Biodiversitas* **2018**, *19*, 974–977.
- 147.** Taufik, M.; Yusuf, D.N.; Boer, D.; Botek, M. Evaluating the ability of endophyte fungus to control VSD diseases in cocoa seeding. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*; IOP Publishing, Kolaka, Indonesia: 2019; Volume 382, p. 012011.
- 148.** Walters, S.A.; Barker, K.R. Efficacy of *Paecilomyces lilacinus* in suppressing *Rotylenchulus reniformis* on tomato. *J. Nematol.* **1994**, *26*, 600.

- 149.** Siddiqui, Z.A.; Akhtar, M.S. Effects of antagonistic fungi and plant growth promoting rhizobacteria on growth of tomato and reproduction of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Australas. Plant Pathol.* **2009**, *38*, 22–28.
- 150.** Brand, D.; Roussos, S.; Pandey, A.; Zilioli, P.C.; Pohl, J.; Soccol, C.R. Development of a bionematicide with *Paecilomyces lilacinus* to control *Meloidogyne incognita*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2004**, *118*, 81–88.
- 151.** Roumpos, C. *Ecological Studies on Paecilomyces Lilacinus Strain 251 and Their Importance for Biocontrol of Plant-Parasitic Nematodes and Environmental Risk Assessment*; Cuvillier Verlag Göttingen, germany: **2005**.
- 152.** Sexton, A.C.; Howlett, B.J. Parallels in fungal pathogenesis on plant and animal hosts. *Eukaryot. Cell* **2006**, *5*, 1941–1949.
- 153.** Jatala, P.; Kaltenback, R.; Bocangel, M.; Devaus, A.J.; Campos, R. Field application of *Paecilomyces lilacinus* for controlling *Meloidogyne incognita* on potatoes. *J. Nematol.* **1980**, *12*, 226–227.
- 154.** Eapen, S.J.; Beena, B.; Ramana, K. Tropical soil microflora of spice-based cropping systems as potential antagonists of root-knot nematodes. *J. Invertebr. Pathol.* **2005**, *88*, 218–225.
- 155.** Dunn, M.T.; Sayre, R.M.; Carrell, A.; Wergin, W.P. Colonization of nematode eggs by *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson as observed with scanning electron microscope. *Scan. Electron Microsc.* **1982**, *3*, 1351–1357.
- 156.** Morgan-Jones, G.; White, J.F.; Rodriguez-Kabana, R. Phyto-nematode pathology: Ultrastructural studies II. Parasitism of *Meloidogyne arenaria* eggs and larvae by *Paecilomyces lilacinus*. *Nemtropica* **1984**, *14*, 57–71.
- 157.** Jatala, P.; Kaltenback, R.; Bocangel, M. Biological control of *Meloidogyne incognita* acrita and *Globodera pallida* on potatoes. *J. Nematol.* **1979**, *11*, 303.
- 158.** Jatala, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. *Ann. Rev. Phytopathol.* **1986**, *24*, 453–489.
- 159.** Huang, X.W.; Zhao, N.H.; Zhang, K.Q. Extracellular enzymes serving as virulence factors in nematophagous fungi involved in infection of the host. *Res. Microbiol.* **2004**, *115*, 811–816.
- 160.** Ahman, J.; Johanson, T.; Olsson, M.; Punt, P.J.; Van den Hondel, C.A.M.J.J.; Tunlid, A.S. Improving the pathogenicity of a nematodetrapping fungus by genetic engineering of a subtilisin with nematotoxic activity. *Appl. Environ. Microbiol.* **2002**, *689*, 3408–3415.
- 161.** Pau, C.G.; Leong, S.; Teck, C.; Wong, S.K.; Eng, L.; Jiwan, M. Isolation of indigenous strains of *Paecilomyces lilacinus* with antagonistic activity against *Meloidogyne incognita*. *Int. J. Agric. Biol.* **2012**, *14*, 197–203.
- 162.** Yan, X.N.; Sikora, R.A.; Zheng, J.W. Potential use of cucumber (*Cucumis sativus* L.) endophytic fungi as seed treatment agents against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* **2011**, *12*, 219–225.
- 163.** Al-Hazmi, A.S.; Dawabah, A.A.M.; Al-Nadhari, S.N.; Al-Yahya, F.A. Comparative efficacy of different approaches to managing *Meloidogyne incognita* on green bean. *Saudi J. Biol. Sci.* **2017**, *24*, 149–154.
- 164.** Siddiqui, Z.A.; Futai, K. Biocontrol of *Meloidogyne incognita* on tomato using antagonistic fungi, plant-growth-promoting rhizobacteria and cattle manure. *Pest Manage. Sci.* **2009**, *65*, 943–948.
- 165.** Anastasiadis, I.A.; Giannakou, I.O.; Prophetou-Athanasiadou, D.A.; Gowen, S.R. The combined effect of the application of a biocontrol agent *Paecilomyces lilacinus*, with various practices for the control of root-knot nematodes. *Crop Prot.* **2008**, *27*, 352–361.

El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas

- 166.** Dahlin, P.; Eder, R.; Consoli, E.; Krauss, J.; Kiewnick, S. Integrated control of *Meloidogyne incognita* in tomatoes using fluopyram and *Purpureocillium lilacinum* strain 251. *Crop Prot.* **2019**, *124*, 104874.
- 167.** Mendoza, A.R.; Sikora, R.A.; Kiewnick, S. Influence of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 on the biological control of the burrowing nematode *Radopholus similis* in banana. *Nematropica* **2007**, *37*, 203–213.
- 168.** Zaki, F.A.; Bhatti, D.S. Effect of Castor (*Ricinus Communis*) and the biocontrol fungus *Paecilomyces lilacinus* on *Meloidogyne Javanica*. *Nematologica* **1999**, *36*, 114–122.
- 169.** A-Raddad, A.M. Interaction of *Glomus mosseae* and *Paecilomyces lilacinus* on *Meloidogyne javanica* of tomato. *Mycorrhiza* **1995**, *5*, 233–236.
- 170.** Marban-Mendoza, N.; Garcia-E, R.; Dicklow, M.B.; Zuckerman, B.M. Studies on *Paecilomyces marquandii* from nematode suppressive chinampa soils. *J. Chem. Ecol.* **1992**, *18*, 775–783.
- 171.** Chen, J.; Abawi, G.S.; Zuckerman, B.M. Efficacy of *Bacillus thuringiensis*, *Paecilomyces marquandii*, and *Streptomyces costaricanus* with and without organic amendments against *Meloidogyne hapla* infecting lettuce. *J. Nematol.* **2000**, *32*, 70–77.
- 172.** Chen, J.; Abawi, G.S.; Zuckerman, B.M. Suppression of *Meloidogyne hapla* and its damage to lettuce grown in a mineral soil amended with chitin and biocontrol organisms. *J. Nematol.* **1999**, *31*, 719–725.
- 173.** Ahmad, R.Z.; Sidi, B.B.; Endrawati, D.; Ekawasti, F.; Chaerani, C. *Paecilomyces lilacinus* and *P. variotii* as a predator of nematode and trematode eggs. *IOP Conf. Ser. Earth. Environ. Sci.* **2019**, *299*, 012056.
- 174.** Al-Assas, K.M.K.; Naffaa, W. Effectiveness of *Paecilomyces variotii*, plant extraction of hemlock *Conium maculatum* and some pesticides in controlling root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato. *Arab. J. Arid. Environ.* **2011**, *4*, 48–54.
- 175.** Tigano-Milano, S.; Carneiro, G.; De Faria, R.; Frazao, S.; Mccoy, C. Isozyme characterization and pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* and *P. lilacinus* to *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) and *Meloidogyne javanica* (Nematoda: Tylenchidae). *Biol. Control* **1994**, *5*, 378–382.
- 176.** Carneiro, G.; Hidalgo-Díaz, L.; Martins, I.; Ayres De Souza silva, K.F.; Milano-Tigano, S. Effect of nematophagous fungi on reproduction of *Meloidogyne enterolobii* on guava (*Psidium guajava*) plants. *Nematology* **2011**, *13*, 721–728.
- 177.** Kepenekci, I.; Oksal, E. Evaluation of entomopathogenic fungi, *Purpureocillium lilacinum* TR1 for the control of the root-knot nematodes (*Meloidogyne javanica*, *M. incognita* and *M. arenaria*). *Türk. Entomol. Derg.* **2015**, *39*, 311–318.
- 178.** Abdeldaym, E.A.; Erriquens, F.; Verrastro, V.; Sasanelli, N.; Mondelli, D.; Cocozza, C. Nematicidal and fertilizing effects of chicken manure, fresh and composted olive mill wastes on organic melon. *Helminthologia* **2012**, *49*, 259–269.
- 179.** Kiewnick, S.; Sikora, R.A. Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 for the biological control of the northern root-knot nematode *Meloidogyne hapla* Chitwood. *Nematology* **2006**, *8*, 69–78.
- 180.** Liu, J.; Sun, J.; Qiu, J.; Liu, X.; Xiang, M. Integrated management of root-knot nematodes on tomato in glasshouse production using nematicides and a biocontrol agent, and their effect on soil microbial communities. *Nematology* **2014**, *16*, 463–473.
- 181.** Mittal, N.; Saxena, G.; Mukerji, G.K. Integrated control of root-knot disease in three crop plants using chitin and *Paecilomyces lilacinus*. *Crop Prot.* **1995**, *14*, 647–651.

- 182.** Kiewnick, S.; Neumann, S.; Sikora, R.A.; Frey, J.E. Importance of nematode inoculum density and antagonist dose for biocontrol efficacy of *Paecilomyces lilacinus* strain 251. *Phytopathology* **2011**, *101*, 105–112.
- 183.** Siddiqui, Z.A.; Akhtar, M.S. Synergistic effects of antagonistic fungi and a plant growth promoting rhizobacterium, an arbuscular mycorrhizal fungus, or composted cow manure on populations of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. *Biocontrol Sci. Technol.* **2008**, *18*, 279–290.
- 184.** Peçen, A.K.; Galip, M.I. Nematicidal efficacies of several organic and microbial fertilizers against root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in organic tomato farming. *Turk. Entomoloji Derg.* **2013**, *37*, 513–522.
- 185.** Hashem, M.; Abo-Elyousr, K.A. Management of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato with combinations of different biocontrol organisms. *Crop Prot.* **2011**, *30*, 285–292.
- 186.** Oclarit, E.; Cumagun, C. Evaluation of efficacy of *Paecilomyces lilacinus* as biological control agent of *Meloidogyne incognita* attacking tomato. *J. Plant Prot. Res.* **2009**, *49*, 337–340.
- 187.** Kaşkavalci, G.; Tuzel, Y.; Dura, O.; Oztekin, G.B. Effects of alternative control methods against *Meloidogyne incognita* in organic tomato production. *Ekoloji* **2009**, *18*, 23–31.
- 188.** Goswami, B.K.; Mittal, A. Management of root-knot nematode infecting tomato by *Trichoderma viride* and *Paecilomyces lilacinus*. *Indian Phytopathol.* **2004**, *57*, 235–236.
- 189.** Parajuli, G.; Kemerait, R.; Timper, P. Improving suppression of *Meloidogyne* spp. by *Purpureocillium lilacinum* strain 251. *Nematology* **2014**, *16*, 711–717.
- 190.** Xiang, N.; Lawrence, K.S.; Donald, P.A. Biological control potential of plant growth-promoting rhizobacteria suppression of *Meloidogyne incognita* on cotton and *Heterodera glycines* on soybean: A review. *J. Phytopathol.* **2018**, *166*, 449–458.
- 191.** Huang, W.K.; Cui, J.K.; Liu, S.M., Kong, L.A.; Wu, Q.S.; Peng, H. Testing various biocontrol agents against the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in cucumber plants identifies a combination of *Syncephalastrum racemosum* and *Paecilomyces lilacinus* as being most effective. *Biol. Control* **2016**, *92*, 31–37.
- 192.** Sharma, A.; Sharma, S.; Yadav, S.; Naik, S.N. Role of Karanja deoiled cake based medium in production of protease and fatty acids by *Paecilomyces lilacinus* 6029. *J. Biosci. Bioeng.* **2014**, *118*, 270–271.
- 193.** Teixeira, H.; Monteiro, A.C.; Vilela, A.W. Uso de agentes microbianos e químico para o controle de *Meloidogyne incognita* em soja. *Acta Sci. Agron.* **2010**, *32*, 403–409.
- 194.** Sharma, P.; Pandey, R. Biological control of root-knot nematode; *Meloidogyne incognita* in the medicinal plant; *Withania somnifera* and the effect of biocontrol agents on plant growth. *Afr. J. Agric. Res.* **2009**, *4*, 564–567.
- 195.** Bontempo, A.F.; Fernandes, R.H.; Lopes, J.; Freitas; L.G.; Lopes, E.A. *Pochonia chlamydosporia* controls *Meloidogyne incognita* on carrot. *Australas. Plant Pathol.* **2014**, *43*, 421–424.
- 196.** Bhat, M.Y.; Wani, A.H.; Fazal, M. Effect of *Paecilomyces lilacinus* and plant growth promoting rhizobacteria on *Meloidogyne incognita* inoculated black gram, *Vigna mungo* plants. *J. Biopest.* **2012**, *5*, 36–43.
- 197.** Peiris, P.U.S.; Li, Y.; Brown, P.; Xu, C. Fungal biocontrol against *Meloidogyne* spp. in agricultural crops: A systematic review and meta-analysis. *Biol. Control* **2020**, *144*, 104235.
- 198.** Kaşkavalci, G.; Hatice, A. Efficacy of the combined usage of several control methods against root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in organic tomato agriculture. *Turk. Entomoloji Derg.* **2012**, *36*, 413–422.

El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas

- 199.** Siddiqui, I.A.; Qureshi, S.A.; Sultana, V; Ehteshamul-Haque, S.; Ghaffar, A. Biological control of root rot-root knot disease complex of tomato. *Plant Soil* **2000**, *227*, 163–169.
- 200.** Mokbel, A.A.; Alharbi, A.A. Suppressive effect of some microbial agents on root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* infected eggplant. *Aus. J. Crop Sci.* **2014**, *8*, 1428–1434.
- 201.** Abo-Korah, M.S. Biological control of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* infecting ground cherry, using two nematophagous and mychorrhizal Fungi. *Egypt. J. Biol. Pest Control* **2017**, *27*, 111–115.
- 202.** Sun, M.H.; Gao, L.; Shi, Y.X.; Li, B.J.; Liu, X.Z. Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. *J. Invertebr. Pathol.* **2006**, *93*, 22–28.
- 203.** Bonants, P.J.M.; Fitters, P.F.L.; Thijs, H.; Den Belder, E.; Waalwijk, C.; Henfling, J.W.D.M. A basic serine protease from *Paecilomyces lilacinus* with biological activity against *Meloidogyne hapla* eggs. *Microbiology* **1995**, *141*, 775–784.
- 204.** Kiewnick, S.; Lueth, P.; Sikora, R.A. Development of a biocontrol product based on *Paecilomyces lilacinus* (strain 251). *Phytopathology* **2002**, *92*, S41–S42.
- 205.** Souza, E.C.; Coelho, L.; Lemes, E.M.; Gontijo, L.N. Manejo de *Meloidogyne exigua* em seringueira com produtos biológicos e químicos. *Summa Phytopathol.* **2019**, *45*, 406–412.
- 206.** Akram, S.; Khan, S.; Javed, N.; Ahmad, S. Integrated management of root knot nematode *Meloidogyne graminicola* golden and birchfield parasitizing on wheat. *Pak. J. Zool.* **2020**, *52*, 52.
- 207.** Starr, J.L.; Ong, K.L.; Huddleston, M.; Handoo, Z.A. Controle of *Meloidogyne marylandi* on Bermudagrass. *Nematropica* **2007**, *37*, 43–50.
- 208.** Cadioli, M.C.; Santiago, D.C.; Hoshino, A.T.; Homechin, M. Crescimento micelial e parasitismo de *Paecilomyces lilacinus* sobre ovos de *Meloidogyne paranaensis* em diferentes temperaturas “*in vitro*”. *Ciência Agrotecnologia* **2007**, *31*, 305–311.
- 209.** Santiago, D.C.; Homechin, M.; Silva, J.F.V.; Ribeiro, E.R.; Gomes, B.C.; Santoro, P.H. Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson para controle de *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro. *Cienc. Rural* **2006**, *36*, 1055–1064.
- 210.** Zhu, M.L.; Mo, M.H.; Xia, Z.Y.; Li, Y.H.; Yang, S.J.; Li, T.F.; Zhan, K.Q. Detection of two fungal biocontrol agents against root-knot nematodes by RAPD markers. *Mycopathologia* **2006**, *161*, 307–316.
- 211.** Khan, M.R.; Altaf, S.; Mohidin, F.A.; Khan, U.; Anwer, A. Biological control of plant nematodes with phosphate- solubilizing microorganisms. *Phosphate Solubilizing Microbes Crop Improv.* **2009**, *5*, 395–426.
- 212.** Westphal, A.; Becker, J.O. Impact of soil suppressiveness on various population densities of *Heterodera schachtii*. *Ann. Appl. Biol.* **2001**, *138*, 371–376.
- 213.** Olivares-Bernabeu, C.M.; López-Llorca, L.V. Fungal egg-parasites of plant-parasitic nematodes from Spanish soils. *Rev. Iberoam. Micol.* **2002**, *19*, 104–110.
- 214.** Chen, S.Y.; Dickson, D.W.; Mitchell, D.J. Pathogenicity of fungi to eggs of *Heterodera glycines*. *J. Nematol.* **1996**, *28*, 148–158.
- 215.** Hay, F.S.; Skipp, R.A. Fungi and actinomycetes associated with cysts of *Heterodera trifolii* goffart (Nematoda: *Tylenchida*) in pasture soils in New Zealand. *Nematologica* **1993**, *39*, 376–384.
- 216.** Bernard, E.C.; Self, L.H.; Tyler, D.D. Fungal parasitism of soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* (Nemata: *Heteroderidae*), in differing cropping-tillage regimes. *Appl. Soil Ecol.* **1997**, *5*, 57–70.
- 217.** Kepenekçi, İ.; Toktay, H.; Oksal, E.; Buzboğa, R.; İmren, M. Effect of *Purpureocillium lilacinum* on root lesion nematode, *Pratylenchus thornei*. *J. Agric. Sci.* **2018**, *24*, 323–328.

- 218.** Misterlaine, M.K.R.; Chaves, A.; Dilma, D.A.; Da Silva, E.J.; Walber, W.D. Controle biológico de fitonematóides do gênero *Pratylenchus* a través de inoculante natural em cana de açúcar. *Rev. Bras. Cienc. Agrar.* **2011**, 6, 203–207.
- 219.** Botha-Greeff, M.S.; Van Biljon, E.R. Integrated nematode control on cotton in South Africa: Present status. *CORESTA Meet. Agron. Phyt.* **1999**, 31, 221–225.
- 220.** Castillo, J.D.; Lawrence, K.S.; Kloepfer, J.W.; Van Santen, E. Evaluation of *Drechslerella dactyloides*, *Drechslerella brochopaga*, and *Paecilomyces lilacinus* for the biocontrol of *Rotylenchulus reniformis*. *Nemotropica* **2010**, 40, 71–86.
- 221.** Gené, J.; Verdejo-Lucas, S.; Stchigel, A.M.; Sorribas, F.J.; Guarro, J. Microbial parasites associated with *Tylenchulus semipenetrans* in citrus orchards of Catalonia, Spain. *Biocontrol Sci. Technol.* **2005**, 15, 721–731.
- 222.** Hammam, M.M.A.; Wafaa, M.E.N.; Abd-Elgawad, M.M.M. Biological and chemical control of the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans* (Cobb, 1913) on mandarin in Egypt. *Egypt. J. Biol. Pest Control* **2016**, 26, 345.
- 223.** Esnard, J.; Marban-mendoza, N.; Zuckerman, B.M. Effects of three microbial broth cultures and an organic amendment on growth and populations of free living and plant-parasitic nematodes on banana. *Eur. J. Plant Pathol.* **1998**, 104, 457–463.
- 224.** López-Lima, D.; Sánchez-Nava, P.; Carrión, G.; Núñez-Sánchez, A.E. 89 % Reduction of a potato cyst nematode population using biological control and rotation. *Agron. Sustain. Dev.* **2013**, 33, 425–431.
- 225.** Faria, M.; Wright, S.P. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Prot.* **2001**, 20, 767–778.
- 226.** Sanjaya, Y. Pathogenicity of three entomopathogenic fungi, *Metarrhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, and *Paecilomyces lilacinus*, to *Tetranychus kanzawai* infesting papaya seedlings. *Arthropods* **2016**, 5, 109.
- 227.** Jackson, M.A.; Cliquet, S.; Iten, L.B. Media and fermentation processes for the rapid production of high concentrations of stable blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. *Biocontrol Sci. Technol.* **2003**, 13, 23–33.
- 228.** Jackson, M.A.; Erhan, S.; Poprawski, T.J. Influence of formulation additives on the desiccation tolerance and storage stability of blastospores of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycota: *Hymomycetes*). *Biocontrol Sci. Technol.* **2006**, 16, 61–75.
- 229.** Ruiu, L. Microbial biopesticides in agroecosystems. *Agronomy* **2018**, 8, 235.
- 230.** Beris, E.I.; Papachristos, D.P.; Fytrou, A.; Antonatos, S.A.; Kontodimas, D.C. Pathogenicity of three entomopathogenic fungi on pupae and adults of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: *Tephritidae*). *J. Pest Sci.* **2013**, 86, 275–284.
- 231.** Panyasiri, C.; Attathom, T.; Poehling, H.M. Pathogenicity of entomopathogenic fungi—potential candidates to control insect pests on tomato under protected cultivation in Thailand. *J. Plant Dis. Prot.* **2007**, 114, 278–287.
- 232.** Hoy, M.A.; Singh, R.; Rogers, M.E. Evaluations of a novel isolate of *Isaria fumosorosea* for control of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: *Psyllidae*). *Fla. Entomol.* **2010**, 93, 24–32.
- 233.** Yeo, H.; Pell, J.K.; Alderson, P.G.; Clark, S.J.; Pye, B.J. Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi and on their pathogenicity to two aphid species. *Pest Manag. Sci.* **2003**, 59, 156–165.
- 234.** Del Prado, E.N.; Iannacone, J.; Gómez, H. Effect of two entomopathogenic fungi in controlling *Aleurodicus cocois* (Curtis, 1846) (Hemiptera: *Aleyrodidae*). *Chil. J. Agric. Res.* **2008**, 68, 21–30.

El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas

235. Hussein, H.M.; Skoková, O.; Půža, V.; Zemek, R. Laboratory evaluation of *Isaria fumosorosea* CCM 8367 and *Steinernema feltiae* Ustinov against immature stages of the Colorado potato beetle. *PLoS one* **2016**, *11*, e0152399.
236. Hunter, W.B.; Avery, P.B.; Pick, D.; Powell, C.A. Broad spectrum potential of *Isaria fumosorosea* against insect pests of citrus. *Fla. Entomol.* **2011**, *94*, 1051–1054.
237. Lekimme, M.; Focant, C.; Farnir, F.; Mignon, B.; Losson, B. Pathogenicity and thermotolerance of entomopathogenic fungi for the control of the scab mite, *Psoroptes ovis*. *Exp. Appl. Acarol.* **2008**, *46*, 95–104.
238. Kang, B.R.; Han, J.H.; Kim, J.J.; Kim, Y.C. Dual biocontrol potential of the entomopathogenic fungus, *Isaria javanica*, for both aphids and plant fungal pathogens. *Mycobiology* **2018**, *46*, 440–447.
239. Dunlap, C.A.; Jackson, M.A.; Wright, M.S. A foam formulation of *Paecilomyces fumosoroseus*, an entomopathogenic biocontrol agent. *Biocontrol Sci. Technol.* **2007**, *17*, 513–523.
240. El-Sharabasy, H.M. Laboratory evaluation of the effect of the entomopathogenic fungi, *Hirsutella thompsonii* and *Paecilomyces fumosoroseus*, against the citrus brown mite, *Eutetranychus orientalis* (Acari: Tetranychidae) *Plant Prot. Sci.* **2015**, *51*, 39–45.
241. Jessica, J.J.; Peng, T.L.; Sajap, A.S.; Lee, S.H.; Syazwan, S.A. Evaluation of the virulence of entomopathogenic fungus, *Isaria fumosorosea* isolates against subterranean termites *Coptotermes spp.* (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. For. Res.* **2019**, *30*, 213–218.
242. Ansari, M.A.; Brownbridge, M.; Shah, F.A.; Butt, T M. Efficacy of entomopathogenic fungi against soil-dwelling life stages of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, in plant-growing media. *Entomol. Exp. Appl.* **2008**, *127*, 80–87.
243. Fiedler, Ź.; Sosnowska, D. Nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson is also a biological agent for control of greenhouse insects and mite pests. *BioControl* **2007**, *52*, 547–558.
244. Luangsa-Ard, J.J.; Berkaew, P.; Ridkaew, R.; Hywel-Jones, N.L.; Isaka, M. A beauvericin hot spot in the genus *Isaria*. *Mycol. Res.* **2009**, *113*, 1389–1395.
245. Lee, Y.S.; Han, J.H.; Kang, B.R.; Kim, Y.C. Dibutyl succinate, produced by an insect-pathogenic fungus, *Isaria javanica* pf185, is a metabolite that controls of aphids and a fungal disease, anthracnose. *Pest Manag. Sci.* **2019**, *75*, 852–858.
246. Xie, L.; Han, J.H.; Kim, J.J.; Lee, S.Y. Effects of culture conditions on conidial production of the sweet potato whitefly pathogenic fungus *Isaria javanica*. *Mycoscience* **2016**, *57*, 64–70.
247. Ishii, M.; Takeshita, J.; Ishiyama, M.; Tani, M.; Koike, M.; Aiuchi, D. Evaluation of the pathogenicity and infectivity of entomopathogenic hypocrealean fungi, isolated from wild mosquitoes in Japan and Burkina Faso, against female adult *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Fungal Ecol.* **2015**, *15*, 39–50.
248. Goffré, D.; Folgarait, P.J. *Purpureocillium lilacinum*, potential agent for biological control of the leaf-cutting ant *Acromyrmex lundii*. *J. Invertebr. Pathol.* **2015**, *130*, 107–115.
249. Bakeri, S.A.; Ali, S.R.A.; Tajuddin, N.S.; Kamaruzzaman, N.E. Efficacy of entomopathogenic fungi, *Paecilomyces spp.*, in controlling the oil palm bag worm, *Pteroma pendula* (Joannis). *J. Oil Palm Res.* **2009**, *21*, 693–699.
250. Saito, T.; Takatsuka, J.; Shimazu, M. Characterization of *Paecilomyces cinnamomeus* from the camellia whitefly, *Aleurocanthus camelliae* (Hemiptera: Aleyrodidae), infesting tea in Japan. *J. Invertebr. Pathol.* **2012**, *110*, 14–23.

- 251.** Dal Bello, G.; Padin, S.; Lopez Lastra, C.; Fabrizio, M. Laboratory evaluation of chemical-biological control of the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.) in stored grains. *J. Stored Prod. Res.* **2001**, *37*, 77–84.
- 252.** Usanmaz-Bozhuyuk, A.; Kordali, S.; Keddek, M.; Simsek, D.; Altinok, M.A.; Altinok, H.H.; Komaki, A. Mortality effects of six different entomopathogenic fungi strains on rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Fresenius Environ. Bull.* **2018**, *27*, 4374–4380.
- 253.** Lefort, F.; Fleury, D.; Fleury, I.; Coutant, C.; Kuske, S.; Kehrli, P.; Maignet, P. Pathogenicity of entomopathogenic fungi to the green peach aphid *Myzus persicae* sulzer (Aphididae) and the european tarnished bug *Lygus rugulipennis* poppius (Miridae). *Egypt. J. Biol. Pest Control* **2014**, *24*, 379–386.
- 254.** Demirci, F.; Muştu, M.; Kaydan, M.B.; Ülgentürk, S. Laboratory evaluation of the effectiveness of the entomopathogen; *Isaria farinosa*, on citrus mealybug, *Planococcus Citri*. *J. Pest. Sci.* **2011**, *84*, 337–242.
- 255.** Komaki, A.; Kordali, Ş.; Bozhüyük, A.U.; Altinok, H.H.; Kesdek, M.; Şimşek, D.; Altinok, M.A. Laboratory assessment for biological control of *Tribolium confusum* du Val., 1863 (Coleoptera: Tenebrionidae) by entomopathogenic fungi. *Turk. Entomoloji Derg.* **2017**, *41*, 95–103.
- 256.** Führer, E.; Rosner, S.; Schmied, A.; Wegensteiner, R. Studies on the significance of pathogenic fungi in the population dynamics of the lesser spruce sawfly, *Pristiphora abietina* Christ. (Hym., Tenthredinidae). *J. Appl. Entomol.* **2001**, *125*, 235–242.
- 257.** Davidson, G.; Chandler, D. Laboratory evaluation of entomopathogenic fungi against larvae and adults of *Onion maggot* (Diptera: Anthomyiidae). *J. Econ. Entomol.* **2005**, *98*, 1848–1855.
- 258.** Parker, B.L.; Skinner, M.; Costa, S.D.; Gouli, S.; Reid, W.; El Bouhssini, M. Entomopathogenic fungi of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae): Collection and characterization for development. *Biol. Control* **2003**, *27*, 260–272.
- 259.** Vega, F.E.; Mercadier, G.; Damon, A.; Kirk, A. Natural enemies of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) in Togo and Cote d'Ivoire, and other insects associated with coffee beans. *Afr. Entomol.* **1999**, *7*, 243–248.
- 260.** Rose, E.A.F.; Harris, R.J.; Glare, T.R.; Rose, E.A.F. Possible pathogens of social wasps (Hymenoptera: Vespidae) and their potential as biological control agents. *New Zeal. J. Zool.* **1999**, *26*, 179–190.
- 261.** Oliveira, I.; Pereira, J.A.; Lino-Neto, T.; Bento, A.; Baptista, P. Plant-mediated effects on entomopathogenic fungi: How the olive tree influences fungal enemies of the olive moth, *Prays oleae*. *BioControl* **2015**, *60*, 93–102.
- 262.** Rodriguez-Rueda, D.; Fargues, J. Pathogenicity of entomopathogenic hyphomycetes, *Paecilomyces fumosoroseus* and *Nomuraea rileyi*, to eggs of noctuids, *Mamestra brassicae* and *Spodoptera littoralis*. *J. Invertebr. Pathol.* **1980**, *36*, 399–408.
- 263.** Ansari, M.A.; Vestergaard, S.; Tirry, L.; Moens, M. Selection of a highly virulent fungal isolate, *Metarrhizium anisopliae* CLO 53, for controlling *Hoplia philanthus*. *J. Invertebr. Pathol.* **2004**, *85*, 89–96.
- 264.** Shapiro-Ilan, D.I.; Cottrell, T.E.; Jackson, M.A.; Wood, B.W. Virulence of Hypocreales fungi to pecan aphids (Hemiptera: Aphididae) in the laboratory. *J. Invertebr. Pathol.* **2008**, *99*, 312–317.
- 265.** Vandenberg, J.D.; Jackson, M.A.; Lacey, L.A. Relative Efficacy of Blastospores and Aerial Conidia of *Paecilomyces fumosoroseus* against the Russian wheat aphid. *Invertebr. Pathol.* **1998**, *183*, 181–183.

El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas

- 266.** Altre, J.A.; Vandenberg, J.D.; Cantone, F.A. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates to diamondback moth, *Plutella xylostella*: Correlation with spore size, germination speed, and attachment to cuticle. *Biocontrol. Sci. Technol.* **2003**, *13*, 332–338.
- 267.** Ansari, M.A.; Evans, M.; Butt, T.M. Identification of pathogenic strains of entomopathogenic nematodes and fungi for wireworm control. *Crop Prot.* **2009**, *28*, 269–272.
- 268.** Castillo, M.A.; Moya, P.; Hernández, E.; Primo-Yúfera, E. Susceptibility of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) to entomopathogenic fungi and their extracts. *Biol. Control.* **2000**, *19*, 274–282.
- 269.** Hesketh, H.; Alderson, P.G.; Pye, B.J.; Pell, J.K. The development and multiple uses of a standardised bioassay method to select hypocrealean fungi for biological control of aphids. *Biol. Control.* **2008**, *46*, 242–255.
- 270.** Vidal, C.; Osborne, L.S.; Lacey, L.A.; Fargues, J. Effect of host plant on the potential of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for controlling the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) in greenhouses. *Biol. Control.* **1998**, *12*, 191–199.
- 271.** Subandiyah, S.; Nikoh, N.; Sato, H.; Wagiman, F.; Tsuyumu, S.; Fukatsu, S. Isolation and characterization of two entomopathogenic fungi attacking *Diaphorina citri* (Homoptera, Psylloidea) in Indonesia. *Mycoscience* **2000**, *41*, 509–513.
- 272.** Castineiras, A.; Peña, J.E.; Duncan, R.; Osborne, L. Potential of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina : Hyphomycetes) as biological control agents of *Thrips palmi* (Thysanoptera : Thripidae). *Fla. Entomol.* **1996**, *79*, 458–461.
- 273.** Lezama-Gutiérrez, R.; Hamm, J.J.; Molina-ochoa, J.; López-Edwards, M.; Pescador-Rubio, A.; Gonzalez-Ramirez, M.; Styer, E.L. Occurrence of entomopathogens of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Mexican states of Michoacán , Colima , Jalisco and Tamaulipas *Fla. Entomol.* **2001**, *84*, 23–30.
- 274.** Alma, C.R.; Goettel, M.S.; Roitberg, B.D.; Gillespie, D.R. Combined effects of the entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* Apopka-97, and the generalist predator, *Dicyphus hesperus*, on whitefly populations. *BioControl* **2007**, *52*, 669–681.
- 275.** Gökçe, A.; Er, M.K. Pathogenicity of *Paecilomyces* spp. to the glasshouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, with some observations on the fungal infection process. *Turk. J. Agric. For.* **2005**, *29*, 331–339.
- 276.** Chan-Cupul, W.; Ruiz-Sánchez, E.; Cristóbal-Alejo, J.; Pérez-Gutiérrez, A.; Munguía-Rosales, R.; Lara-Reyna, J. Desarrollo *in vitro* de cuatro cepas nativas de *Paecilomyces fumosoroseus* y su patogenicidad en estados inmaduros de mosquita blanca. *Agrociencia* **2010**, *44*, 587–597.
- 277.** Afifi, A.M.; Ali, F.S.; El-Saiedy, E.M.A.; Ahmed, M.M. Compatibility and integration of some control methods for controlling *Tetranychus urticae* Koch infesting tomato plants in Egypt. *Egypt. J. Biol. Pest Control* **2015**, *25*, 75–82.
- 278.** Poprawski, T.J.; Parker, P.E.; Tsai, J.H. Laboratory and field evaluation of hyphomycete insect pathogenic fungi for control of brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae). *Environ. Entomol.* **1999**, *28*, 315–321.
- 279.** Vasilev, P.; Andreev, R.; Palagacheva, N.; Kutinkova, H.; Stefanova, D. Efficacy of non-chemical insecticides against *Hyalopterus pruni* (Hemiptera: Aphididae) on plum. *J. Biopest.* **2019**, *12*, 15–16.
- 280.** Roy, H.E.; Cottrell, T.E. Forgotten natural enemies: Interactions between coccinellids and insect-parasitic fungi. *Eur. J. Entomol.* **2008**, *105*, 391–398.

- 281.** Ganassi, S.; Moretti, A.; Stornelli, C.; Fratello, B.; Pagliai, A.M.B.; Logrieco, A.; Sabatini, M.A. Effect of *Fusarium*, *Paecilomyces* and *Trichoderma* formulations against aphid *Schizaphis graminum*. *Mycopathologia* **2001**, *151*, 131–138.
- 282.** Akey, D.H.; Hennebery, T.J. Control of silverleaf whitefly with the entomopathogenic fungi, *Paecilomyces fumosoroseus* and *Beauveria bassiana* in upland cotton in Arizona. *Proc. Beltwide Cott. Conf.* **1998**, *2*, 1073–1077.
- 283.** Clifton, E.H.; Jaronski, S.T.; Hajek, A.E. Virulence of commercialized fungal entomopathogens against asian longhorned beetle (Coleoptera: *Cerambycidae*). *J. Insect Sci.* **2020**, *20*, 1–6.
- 284.** Vandenberg, J.D.; Sandvol, L.E.; Jaronski, S.T.; Jackson, M.A.; Souza, E.J.; Halbert, S.E. Efficacy of fungi for control of Russian wheat aphid (Homoptera: *Aphididae*) in irrigated wheat. *Southwest Entomol.* **2001**, *26*, 73–85.
- 285.** Vänninen, I.; Hokkanen, H.; Tyni-Juslin, J. Attempts to control cabbage root flies *Delia radicum* L. and *Delia floralis* (Fall.) (Dipt., *Anthomyiidae*) with entomopathogenic fungi: Laboratory and greenhouse tests. *J. Appl. Entomol.* **1999**, *123*, 107–113.
- 286.** Sookar, P.; Bhagwant, S.; Ouna, E.A. Isolation of entomopathogenic fungi from the soil and their pathogenicity to two fruit fly species (Diptera: *Tephritidae*). *J. Appl. Entomol.* **2008**, *132*, 778–788.
- 287.** Daniel, C.; Wyss, E. Susceptibility of different life stages of the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi*, to entomopathogenic fungi. *J. Appl. Entomol.* **2009**, *133*, 473–483.
- 288.** Sahagún, C.A.A.; Gutiérrez, R.L.; Ochoa, J.M.; Velasco, E.G.; Edwards, M.L.; Domínguez, O.R.; Vázquez, C.C.; Velázquez, W.P.R.; Skoda, S.R.; Foster, J.E. Susceptibility of biological stages of the horn fly, *Haematobia irritans*, to entomopathogenic fungi (Hyphomycetes). *J. Insect Sci.* **2005**, *5*, 1536–2442.
- 289.** Zemek, R.; Hussein, H.M.; Prenerová, E. Laboratory evaluation of *Isaria fumosorosea* against *Spodoptera littoralis*. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* **2012**, *77*, 685–689.
- 290.** Behle, R.W.; Gutierrez, C.G.; Guerra, P.T.; McGuire, M.R.; Jackson, M.A. Pathogenicity of blastospores and conidia of *Paecilomyces fumosoroseus* against larvae of the Mexican bean beetle, *Epilachna varivestis* mulsant. *Southwest Entomol.* **2006**, *31*, 289–295.
- 291.** Peña, J.E.; Osborne, L.S.; Duncan, R.E. Potential of fungi as biocontrol agents of *Polyphagotarsonemus latus* (Acari: *Tarsonemidae*). *Entomophaga* **1996**, *41*, 27–36.
- 292.** Poprawski, T.J.; Jones, W.J. Host plant effects on activity of the mitosporic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* against two populations of *Bemisia* whiteflies (Homoptera: *Aleyrodidae*). *Mycopathologia* **2001**, *151*, 11–20.
- 293.** Lacev, L.A.; Kirk, A.A.; Millar, L.; Mercadier, G.; Vidal, C. Ovicidal and larvicidal activity of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: *Hyphomycetes*) against *Bemisia argentifolii* (Homoptera: *Aleyrodidae*) with a description of a bioassay system allowing prolonged survival of control. *Biocontrol Sci. Technol.* **1999**, *9*, 9–18.
- 294.** Dong, T.; Zhang, B.; Jiang, Y.; Hu, Q. Isolation and classification of fungal whitefly entomopathogens from soils of Qinghai-Tibet Plateau and Gansu Corridor in China. *PLoS one* **2016**, *11*.
- 295.** James, R.R. Combining Azadirachtin and *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: *Hyphomycetes*) to control *Bemisia argentifolii* (Homoptera: *Aleyrodidae*). *J. Econ. Entomol.* **2003**, *96*, 25–30.
- 296.** Wright, S.P.; Carruthers, R.I.; Bradley, C.A.; Jaronski, S.T.; Lacev, L.A.; Wood, P.; Galani-Wright, S. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces spp.* and *Beauveria*

El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas

- bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *J. Invertebr. Pathol.* **1998**, *71*, 217–226.
- 297.** Nian, X.G.; He, Y.R.; Lu, L.H.; Zhao, R. Evaluation of the time-concentration-mortality responses of *Plutella xylostella* larvae to the interaction of *Isaria fumosorosea* with the insecticides beta-cypermethrin and *Bacillus thuringiensis*. *Pest Manage. Sci.* **2015**, *71*, 216–224.
- 298.** Wang, X.; Xu, J.; Wang, X.; Qiu, B.; Cuthbertson, A.G.S.; Du, C.; Wu, J.; Ali, S. *Isaria fumosorosea*-based zero-valent iron nanoparticles affect the growth and survival of sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Pest Manage. Sci.* **2019**, *75*, 2174–2181.
- 299.** Scorsetti, A.C.; Humber, R.A.; De Gregorio, C.; López Lastra, C.C. New records of entomopathogenic fungi infecting *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum*, pests of horticultural crops, in Argentina. *Biol. Control* **2008**, *53*, 787–796.
- 300.** Poprawski, T.J.; Legaspi, J.C.; Parker, P.E. Influence of entomopathogenic fungi on *Serangium parcesetosum* (Coleoptera: Coccinellidae), an important predator of whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae). *Environ. Entomol.* **1998**, *27*, 785–795.
- 301.** Woltz, J.M.; Donahue, K.M.; Bruck, D.J.; Lee, J.C. Efficacy of commercially available predators, nematodes and fungal entomopathogens for augmentative control of *Drosophila suzukii*. *J. Appl. Entomol.* **2015**, *139*, 759–770.
- 302.** Scholz-Döbelin, V.P.; Stockmann, S.; Rheinland, L.; Bonn, P.; Ösnabrück, F.H. Mycoinsecticides against whitefly *Trialeurodes vaporariorum* in tomatoe. *Gesunde Pflanz.* **2003**, *55*, 199–204.
- 303.** Öztürk, H.E.; Güven, Ö.; Karaca, I. Effects of some bioinsecticides and entomopathogenic fungi on colorado potato beetle (*Leptinotarsa Decemlineata* L.). *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* **2015**, *80*, 205–211.
- 304.** Lohmeyer, K.H.; Miller, J.A.; Pathogenicity of three formulations of entomopathogenic fungi for control of adult *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* **2006**, *99*, 1943–1947.
- 305.** Leles, R.N.; Sousa, N.A.; Rocha, L.F.N.; Santos, A.H.; Silva, H.H.G.; Luz, C. Pathogenicity of some hypocrealean fungi to adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitol. Res.* **2010**, *107*, 1271–1274.
- 306.** Kepenekci, I.; Oksal, E.; Saglam, H.D.; Atay, T.; Tulek, A.; Evlice, E. Identification of Turkish isolate of the entomopathogenic fungi, *Purpureocillium lilacinum* (syn: *Paecilomyces lilacinus*) and its effect on potato pests, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) and *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Egypt. J. Biol. Pest Control* **2015**, *25*, 121–127.
- 307.** Medeiros, F.R.; Nonata, R.; De Lemos, S.; Alice, A.; Rodrigues, C.; Filho, A.B.; Oliveira, L.J.M.G.; Araújo, J.R.G. Occurrence of *Purpureocillium lilacinum* in citrus black fly nymphs. *Rev. Bras. Frutic.* **2017**, *40*, 2–4.
- 308.** Amatuzzi, R.F.; Cardoso, N.; Poltronieri, A.S.; Poitevin, C.G.; Dalzoto, P.; Zavadeneak, M.A.; Pimentel, L.C. Potential of endophytic fungi as biocontrol agents of *Duponchelia fovealis* (Zeller) (Lepidoptera:Crambidae). *Braz. J. Biol.* **2018**, *78*, 429–435.
- 309.** Angelo, I.C.; Fernandes, É.K.K.; Bahiense, T.C.; Perinotto, W.M.S.; Golo, P.S.; Moraes, A.P.R.; Buitencourt, V.R.E.P. Virulence of *Isaria* sp. and *Purpureocillium lilacinum* to *Rhipicephalus microplus* tick under laboratory conditions. *Parasitol. Res.* **2012**, *111*, 1473–1480.
- 310.** Demirci, F.; Denizhan, E. *Paecilomyces lilacinus*, a potential biocontrol agent on apple rust mite *Aculus schlechtendali* and interactions with some fungicides *in vitro*. *Phytoparasitica* **2010**, *38*, 125–132.

- 311.** Debnath, S.; Sreerama Kumar, P. Fungi associated with mortality of the red spider mite, *Oligonychus coffeae* nietner (Acari: *Tetranychidae*), a serious pest of tea in North-Eastern India. *Egypt. J. Biol. Pest Control* **2017**, *27*, 79–83.
- 312.** Imoulan, A.; Alaoui, A.; Meziane, A.E. Natural occurrence of soil-borne entomopathogenic fungi in the Moroccan Endemic forest of *Argania spinosa* and their pathogenicity to *Ceratitis capitata*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *27*, 2619–2628.
- 313.** Baydar, R.; Güven, Ö.; Karaca, I. Occurrence of entomopathogenic fungi in agricultural soils from isparta province in turkey and their pathogenicity to *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: *Pyralidae*) larvae. *Egypt. J. Biol. Pest Control* **2016**, *26*, 323–327.
- 314.** Woolfolk, S.; Stokes, C.E.; Watson, C.; Baker, G.; Brown, R.; Baird, R. Fungi associated with *Solenopsis invicta* buren (red imported fire ant, Hymenoptera: *Formicidae*) from mounds in Mississippi. *Southeast Nat.* **2016**, *15*, 220–234.
- 315.** Meng, X.; Hu, J.; Ouyang, G. The isolation and identification of pathogenic fungi from *Tessaratoma papillosa* Drury (Hemiptera: *Tessaratomidae*). *PeerJ* **2017**, *10*, e3888.
- 316.** Ahmed, B.I. Potentials of entomopathogenic fungi in controlling the menace of maize weevil *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera: *Curculionidae*) on stored maize grain. *Arch. Phytopathol. Plant Prot.* **2010**, *43*, 107–115.
- 317.** Berón, C.M.; Diaz, B.M. Pathogenicity of hyphomycetous fungi against *Cyclocephala signaticollis*. *BioControl* **2005**, *50*, 143–150.
- 318.** Saruhan, I.; Erper, I.; Tuncer, C.; Uçak, H.; Öksel, C.; Akça, I. Evaluation of some commercial products of entomopathogenic fungi as biocontrol agents for *Aphis fabae* scopoli (Hemiptera: *Aphididae*). *Egypt. J. Biol. Pest Control* **2014**, *24*, 225–228.
- 319.** Zavadneak, M.A.C.; Pimentel, I.C.; Robl, D.; Dalzoto, P.; Vicente, V.; Sosa-Gómez, D.R.; Porsani, M.; Cuquel, F.M. Registro de *Paecilomyces niveus* Stolk & Samson, 1971 (Ascomycota: *Thermoascaceae*) como patógeno de *Nasonovia ribisnigri* (Mosley, 1841) (Hemiptera: *Aphididae*) no Brasil. *Braz. J. Biol.* **2015**, *75*, 158–162.
- 320.** Vega-Aquino, P.; Sanchez-Peña, S.; Blanco, C.A. Activity of oil-formulated conidia of the fungal entomopathogens *Nomuraea rileyi* and *Isaria tenuipes* against lepidopterous larvae. *J. Invertebr. Pathol.* **2010**, *103*, 145–149.
- 321.** Bruck, D.J. Natural occurrence of entomopathogens in pacific northwest nursery soils and their virulence to the black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus* (F.) (Coleoptera: *Curculionidae*). *Environ. Entomol.* **2004**, *33*, 1335–1343.
- 322.** Baksh, A.; Khan, A. Pathogenicity of *Paecilomyces tenuipes* to diamond back moth, *Plutella xylostella* at three temperatures in Trinidad. *Int. J. Agric. Biol.* **2012**, *14*, 261–265.
- 323.** Moorthi, P.V.; Balasubramanian, C.; Ramar, M.; Murugan, K. Biocontrol potential of entomopathogenic fungi against *Spodoptera Litura*. *Sci. Agric.* **2015**, *12*, 23–27.
- 324.** Fahmy, B.F.G.; Ghadir, N.M.F.A.; Manaa, S.H.; Abou Ghadir, M.F. Occurrence of entomopathogenic fungi in grain aphids in upper egypt, with reference to certain pathogenic tests using scanning electron microscope. *Egypt. J. Biol. Pest Control* **2015**, *25*, 177–181.
- 325.** Abd-ElAzeem, E.M.; El-Medany, W.A.Z.; Sabry, H.M. Biological activities of spores and metabolites of some fungal isolates on certain aspects of the spiny bollworms *Earias insulana* (Boisd.) (Lepidoptera: *Noctuidae*). *Egypt. J. Biol. Pest Control* **2019**, *29*, 90.
- 326.** Liu, H.; Skinner, M.; Parker, B.L.; Brownbridge, M. Pathogenicity of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: *Hymomycetes*), and other entomopathogenic fungi against *Lygus lineolaris* (Hemiptera: *Miridae*). *J. Econ. Entomol.* **2002**, *95*, 675–681.
- 327.** Medina, W.F.; Sulvarán, J.A.R.; Rieche, A.K.S. Efecto de las cepas nativas *Paecilomyces* sp. (Bainier) y *lecanicillium* sp. (Zimm) en el control de *Carmenta foraseminis* Eichlin

El género *Paecilomyces* y su importancia en el control biológico de enfermedades y plagas

- (Lepidoptera: *Sesiidae*) en cultivos de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Acta Agron.* **2013**, *62*, 279–286.
- 328.** Jaramillo, J.; Borgemeister, C. New bioassay method to assess the pathogenicity of Colombian strains of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin and *Paecilomyces* sp. (Deuteromycotina: *Hymenomycetes*) against the subterranean burrower bug *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: *Cydnidae*). *J. Invertebr. Pathol.* **2006**, *91*, 57–60.
- 329.** Hou, F.J.; Addis, S.N.K.; Azmi, W.A. Virulence evaluation of entomopathogenic fungi against the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: *Dryophthoridae*). *Malays. Appl. Biol.* **2018**, *47*, 25–30.
- 330.** Cabanillas, H.E.; Jones, W.A. Effects of temperature and culture media on vegetative growth of an entomopathogenic fungus *Isaria* sp. (Hypocreales: *Clavicipitaceae*) naturally affecting the whitefly, *bemisia tabaci* in Texas. *Mycopathologia* **2009**, *167*, 263–271.
- 331.** Zulfitri, A.; Lestari, A.S.; Krishanti, N.P.R.A.; Zulfiana, D. Laboratory evaluation of the selected entomopathogenic fungi and bacteria, against larval and pupal stages of *Spodoptera litura* L. *IOP. Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* **2018**, *166*, 012009.
- 332.** Leite, M.S.P.; Iede, E.T.; Penteado, S.R.C.; Zaleski, S.R.M.; Camargo, J.M.M.; Ribeiro, R.D. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Hedypathes betulinus* e avaliação da persistência. *Floresta* **2011**, *41*, 619–628.

CAPITULO 2: *Paecilomyces variotii* como agente promotor del crecimiento vegetal en hortícolas

Alejandro Moreno-Gavíra, Fernando Diánez, Brenda Sánchez-Montesinos, Mila Santos

Departamento de Agronomía, Escuela Superior de Ingeniería, Universidad de Almería, 04120 Almería, España; alejanmoga@gmail.com (A.M.); fdianez@ual.es (F.D.); brensam@hotmail.com (B.S.M.); msantos@ual.es (M.S.).

Cita: Moreno-Gavíra, A., Diánez, F., Sánchez-Montesinos, B., & Santos, M. *Paecilomyces variotii* as a plant-growth promoter in horticulture. *Agronomy* **2020**, *10*(4), 597. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040597>.

Revista: *Agronomy*

Factor de impacto (JCR, 2022): 2,603

Cuartil: Q1

Resumen

En el presente estudio, se probó *P. variotii*, un hongo endófito aislado de raíces de plantas del Parque Natural Cabo de Gata (PNCG; España), para determinar el efecto sobre la promoción del crecimiento en semillas y plántulas de tomate y pimiento. Para estos efectos, se realizaron ensayos de germinación en laboratorio y dos experimentos en condiciones de vivero comercial e invernadero. El aislado de *P. variotii* ha mostrado una alta capacidad para producir sideróforos y AIA, pero una baja capacidad para solubilizar P. *P. variotii* obtuvo altos valores de porcentaje de germinación, vigor de las plántulas y longitud de raíces y brotes en tomate y pimiento frente al control. Las aplicaciones de *P. variotii* mejoraron la mayoría de los parámetros de crecimiento evaluados, para ambos cultivos hortícolas, con los mejores resultados en el desarrollo de plántulas de pimiento. La aplicación de una dosis mayor de *P. variotii* mejoró la mayoría de los parámetros morfológicos y el valor del ICD en plántulas y plantas de tomate. El establecimiento del hongo endófito en la raíz permitió que sus efectos bioestimulantes persistieran después del trasplante sin ninguna aplicación adicional. Pocos estudios han analizado esta especie como bioestimulante. Los resultados positivos de las pruebas mostraron su alto potencial. La aplicación de este aislado puede ser de enorme beneficio para los cultivos hortícolas por su alta capacidad reproductiva y de establecimiento.

Palabras clave: *Paecilomyces*; PGPF; Tomate; Pimiento; Microorganismos probióticos vegetales

1. Introducción

El género *Paecilomyces* incluye más de 100 especies conocidas por sus múltiples actividades y heterogeneidad de hábitat [1]. Entre ellos, *Byssochlamys spectabilis* (Udagawa y Shoji Suzuki) Houbraken & Samson, anteriormente conocido como *Paecilomyces variotii* Bainier, es un ascomiceto caracterizado por su capacidad para producir metabolitos secundarios, que pertenecen a diferentes grupos químicos con amplia actividad biológica [2,3,4,5]. Esta especie ha sido descrita como ACB contra nematodos [6,7], huevos de trematodos [8] y hongos fitopatógenos, como *Biscogniauxia mediterranea*, *Fusarium moniliforme* y *Phytophthora cinnamomi* [9], *Pyricularia oryzae* [10], *Fusarium graminearum* [11] y *Magnaphorte oryzae* [12], entre otros, que funcionan a través de sus extractos crudos, metabolitos bioactivos secundarios o sus micelios. *P. variotii* produce metabolitos con actividad herbicida [13] e insecticida [14] y se ha informado que controla infecciones causadas por bacterias patógenas en peces [15] y humanos [9]. A su vez, se ha demostrado que esta especie de hongo degrada los compuestos aromáticos [16,17], además de eliminar el amonio de los medios sintéticos y reducir las emisiones de amoníaco del estiércol de gallinácea [18]. Sin embargo, también se asocia con muchos tipos de infecciones humanas en pacientes inmunodeprimidos [19]. Sin embargo, hasta la fecha solo se han publicado estudios relacionados con la posible actividad de estos metabolitos como una sustancia similar a una hormona o un promotor de la producción de fitohormonas por parte de las plantas hospedantes [20]. Muy pocas referencias describen la aplicación de *P. variotii* como promotor del crecimiento vegetal. El agente de biocontrol ZNC, un extracto de este ascomiceto, se usa en China [21]. ZNC es un elicitor de plantas altamente efectivo que promueve el crecimiento de las plantas al inducir la acumulación de auxina en las puntas de las raíces con bajas concentraciones [21].

El uso de Microorganismos Probióticos Vegetales (MPV) es una alternativa efectiva al uso de fertilizantes químicos [22-24]. Los MPV más estudiados son las Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (BPCV), aunque existen numerosos ejemplos de Hongos Promotores del Crecimiento Vegetal (HPCV), que aumentan el rendimiento de los cultivos [25-27]. Así, los más relevantes son aquellos que establecen relaciones endosimbióticas, como los hongos micorrízicos arbusculares, que solubilizan nutrientes, como el fósforo, y micronutrientes absorbidos por las plantas [28-30]. *Trichoderma* es uno de los géneros más estudiados como HPCV [31], aunque muchos otros hongos han demostrado su potencial capacidad promotora del crecimiento, como *Penicillium oxalicum* [32], *P. simplicissimum* [33], *Fusarium oxysporum* [34], *F. equiseti* [35], *Alternaria* sp. [36], *Aspergillus* spp. [37], y *Phoma* spp. [38], entre otros.

En el presente estudio, se probó *P. variotii*, un hongo endófito aislado de raíces de plantas del Parque Natural Cabo de Gata (Parque Nacional Cabo de Gata - España), para evaluar:

- a) Los efectos del cebado de semillas con una suspensión de conidios, sobre la colonización de raíces y el vigor de plantas de tomate y pimiento.
- b) La promoción del crecimiento y calidad de plántulas de pimiento y tomate bajo un sistema de producción convencional.
- c) Los efectos de aplicar diferentes dosis a las plántulas de tomate y su posterior trasplante en invernadero.

2. Materiales y métodos

2.1. Aislamiento de *P. variotii* de raíces de plantas

Se recolectaron veinte raíces de diferentes especies de plantas autóctonas del Parque Natural Cabo de Gata (CGNP) (Almería, España) para el aislamiento de organismos fúngicos en 2017. Las muestras recolectadas se limpian con agua corriente para eliminar los restos antes de su uso, se secaron al aire y fueron procesadas para el aislamiento de hongos endófitos. Para eliminar los microbios epífitos y adheridos a la superficie, las raíces se cortaron en trozos pequeños de 2 - 3 cm de largo, se esterilizaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 2% durante 3 min y se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Las muestras esterilizadas superficialmente se dejaron secar sobre toallas de papel estériles. Se colocaron diez fragmentos de cada raíz en PDA (Difco) complementado con 50 µg mL⁻¹ de cloranfenicol para suprimir el crecimiento bacteriano. Después de la incubación a 25 °C durante 7 días, se retiraron las puntas de las hifas individuales de las colonias fúngicas en desarrollo, se colocaron en medio PDA y se incubaron durante 5 - 7 días.

La morfología de las colonias de los aislados cultivados puros en PDA y la morfología de los conidióforos se examinaron e identificaron mediante microscopía óptica, y todos los aislados seleccionados se almacenaron para estudios posteriores. Solo se seleccionó para este estudio un aislado, cuya identificación al microscopio fue compatible con el género *Paecilomyces* (Imagen 13), (*P. variotii*, CDG33). La identificación molecular de los hongos seleccionados se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Diánez et al. [26]. La secuencia se analizó utilizando una búsqueda BLAST en la base de datos GenBank del National Centre for Biotechnology

***Paecilomyces variotii* como agente promotor del crecimiento vegetal en hortícolas**

Information (NCBI, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) y se alineó con los vecinos más cercanos. La secuencia no ha sido depositada en la base de datos GenBank porque el aislado está sujeto a patente.

El cultivo de *P. variotii* ha sido depositado en la CECT (Colección Española de Cultivos Tipo, Valencia, España) con el número de colección CECT 20957. Esta cepa fue seleccionada para los experimentos en base a los resultados de un ensayo preliminar (datos no mostrados).

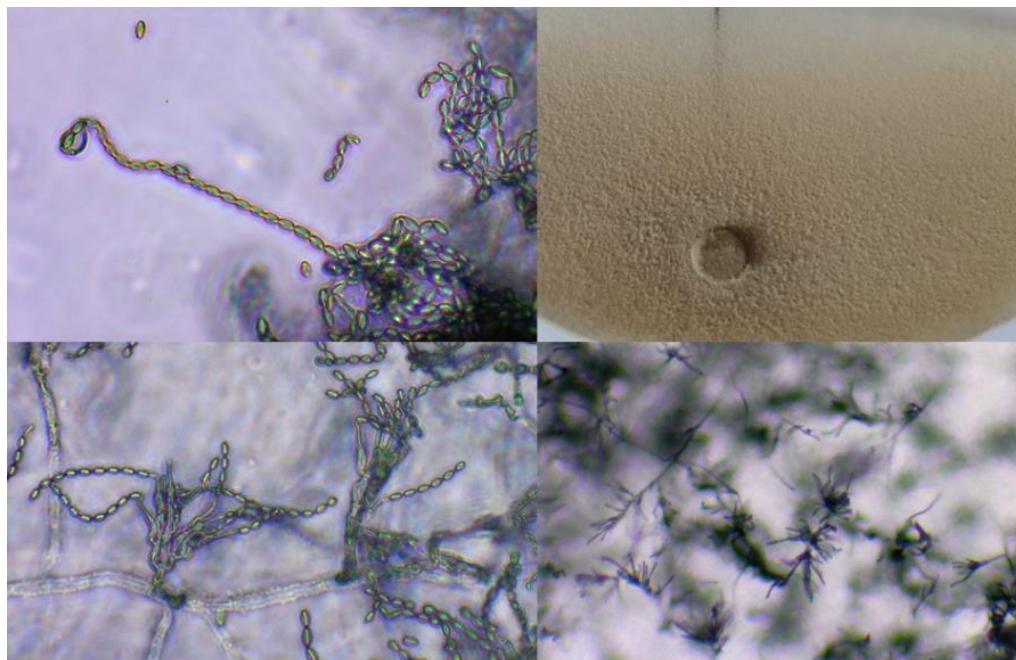


Imagen 13. Conidióforo de *Paecilomyces variotii* y aspecto de la morfología de la colonia en medio PDA.

2.2. Análisis de los atributos promotores del crecimiento de las plantas

La producción de sideróforos se determinó en medio Chrome-azurol S (CAS) siguiendo el método de Schwyn y Neilands [39] y Louden et al. [40]. Los discos de micelio fúngico (5 mm) de cultivo activo se transfirieron a medio CAS y los halos naranjas alrededor de las colonias indicaban la producción de sideróforos. El diámetro del halo naranja se midió a las 24, 48 y 72 h.

La producción de ácido indol-3-acético (AIA) se estimó según el procedimiento descrito por Diáñez et al. [26]. *P. variotii* se cultivó en 50 mL de caldo glucosa peptona (GPB) modificado con o sin L-triptófano (Sigma - Aldrich) a una concentración de 100 mg L⁻¹. Los matraces se inocularon e incubaron en un agitador orbital a 150 rpm a 25 °C en oscuridad durante 7 días. Después de la incubación, la suspensión de cada matraz se centrifugó durante 30 min a 12 000 × g. El sobrenadante se filtró a través de membranas Millipore estériles (tamaño de poro 0,22 µm) y se recogió en tubos estériles. Los sobrenadantes del cultivo (3 mL) se pipetearon en tubos de ensayo y se les añadió 2 mL de reactivo de Salkowski (2 mL de 0,5 mol L⁻¹ de FeCl₃ + 98 mL de HClO₄ al 35 %). Los tubos que contenían la mezcla se dejaron reposar durante 30 min para que desarrollaran el color rojo. La intensidad del color se determinó midiendo la densidad óptica a 530 nm usando un espectrofotómetro de barrido. La cantidad de AIA se determinó por comparación con una curva estándar. Se analizaron cinco réplicas independientes de *P. variotii*.

La evaluación cualitativa del fósforo solubilizado por *P. variotii* se realizó utilizando medios NBRIP y PVK suplementados con agar al 2% (Difco Laboratories, Detroit, MI, EE. UU.). La solubilización de fosfato se detectó por la formación de zonas transparentes que rodeaban las colonias fúngicas en ambos medios [41]. Para la estimación cuantitativa de la solubilización de fosfato se siguió una versión modificada del procedimiento de Lima-Rivera *et al.* [42]. Se inocularon matraces (250 mL de capacidad) que contenían 50 mL de caldo NBRIP con dos discos de agar (5 mm de diámetro) que habían sido extraídos de cultivos puros de *P. variotii*. Se usaron matraces sin inocular como control (tres réplicas). La incubación se realizó a 26 °C a una velocidad de agitación de 100 rpm durante 3, 5, 7, 10 y 15 días. Se analizó el pH y la concentración de fosfato de los sobrenadantes de cada cultivo. Los fosfatos en los sobrenadantes de cultivo se estimaron utilizando el método de Fiske y Subbarow [43] y se expresaron como fosfato equivalente ($\mu\text{g mL}^{-1}$). Los experimentos se realizaron por triplicado y los valores se expresaron como la media. El P total en los matraces fue de 10 mg mL^{-1} .

2.3. Producción masiva de *P. variotii* sobre sustratos sólidos

Se ensayó una mezcla de dos tipos de sustratos, trigo sarraceno (TS) y avena (A), para la multiplicación en masa de *P. variotii*. Diferentes proporciones (90 - 10, 80 - 20 y 70 - 30 % v/v; TS - A) de ambos sustratos se sumergieron en diferentes porcentajes de agua (10, 20 y 30 % v/v) durante 24 h. Cada mezcla se esterilizó dos veces durante 1 h a 125 °C en días consecutivos. Cada mezcla se colocó en una bandeja y se inoculó asépticamente mediante aspersión con 5 mL de suspensión de esporas que contenía 4×10^6 conidios mL^{-1} de *P. variotii*. Las bandejas se mantuvieron a 25 °C en la oscuridad durante 10 d. En total, se retiraron de cada bandeja tres muestras (2 g) del sustrato colonizado por hongos en cada tratamiento. Las muestras se diluyeron sucesivamente en agua destilada estéril + Tween 20® al 0,01 % y se cuantificó el número de conidios g^{-1} del sustrato sólido para cada réplica utilizando un hemocitómetro Neubauer. Hubo tres repeticiones por tratamiento. Los conidios recolectados se utilizaron en los diferentes experimentos realizados en este estudio.

2.4. Análisis de los efectos de *P. variotii* sobre la germinación de semillas en condiciones de laboratorio

En este estudio se utilizaron semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* 'Red Cherry') y pimiento (*Capsicum annuum* 'Largo de Reus'). El ensayo utilizó un diseño experimental de bloques al azar con dos tratamientos (Control y *P. variotii*) y cuatro repeticiones. Cada repetición incluyó 50 semillas que se germinaron en cajas de Petri (150 mm de diámetro) que contenían dos hojas de papel filtro Whatman Nº 1 que se humedecieron con agua destilada estéril. Las semillas se esterilizaron superficialmente con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 1,5 % durante 5 min, se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril y se secaron con flujo de aire laminar sobre papel estéril [26]. Los tratamientos se realizaron pipeteando 50 μL de suspensión de conidios de *P. variotii* (10^5 conidios mL^{-1}) o 50 μL de agua (control) en cada semilla; todas las placas se colocaron en una incubadora (25 ± 1 °C en oscuridad). La longitud de la raíz (mm) se midió desde la punta de la raíz primaria hasta la base del hipocótilo. Despues de 7 y 10 días, para tomates y pimientos, respectivamente, se registraron el porcentaje de germinación, la longitud de

***Paecilomyces variotii* como agente promotor del crecimiento vegetal en hortícolas**

la raíz y del brote y se calculó el Índice de Vigor de la Semilla (IVS) de la siguiente manera: IVS = % de germinación de la semilla [Longitud media de la raíz + Longitud media del brote] [44].

2.5. Análisis de los efectos promotores de *P. variotii* en plántulas de pimiento y tomate: Experimento 1

Este experimento se realizó en bandejas de siembra de poliestireno de vivero, cada una con 96 celdas (70 mL de volumen), en un vivero comercial (Provincia de Almería, España). Las semillas de tomate y pimiento, ‘Red Cherry’ y ‘Largo de Reus’, respectivamente, se sembraron en turba comercial y se cubrieron con vermiculita. Después de 2 días (tomate) - 4 días (pimiento) en un cuarto de germinación (humedad relativa, HR = 95%; 25 °C), las bandejas se ubicaron en un invernadero y se enjuagaron con agua (control) o una suspensión de esporas de 5 mL por alveolo a 10^5 conidios planta⁻¹. Las plántulas se cultivaron en condiciones estándar de cultivo en vivero (18 - 28 °C; 75,4 ± 6,7 % HR) y se usaron cuatro bandejas para cada tratamiento. A los 45 días después de la siembra, se seleccionaron al azar 20 plantas por tratamiento y control de las cuatro repeticiones y se midieron diferentes parámetros de crecimiento: número de hojas, longitud del tallo, diámetro de la base del tallo, área foliar total y peso seco áreo y de la raíz. El área foliar se midió con el software de procesamiento de área foliar WINDIAS 3.1. (Delta-T Devices Ltd 2009). El Índice de Calidad de Dickson [45] se determinó mediante la fórmula: ICD = PST/[(LB/D) + PSB/PSR)], donde PST es el peso seco total (g), LB es la longitud del brote (cm), D es diámetro del tallo (mm), PSB y PSR son el peso seco del brote y la raíz (g), respectivamente. Los experimentos se realizaron en otoño utilizando un diseño completamente al azar.

2.6. Análisis de los efectos de la aplicación de diferentes dosis de *P. variotii* en tomate: Experimento 2

Para este experimento se siguió el procedimiento descrito en el experimento 1. Se aplicaron tres dosis de conidios de *P. variotii* (PaeD1: 10^4 conidios mL⁻¹, PaeD2: 10^5 conidios mL⁻¹ y PaeD3: 10^6 conidios mL⁻¹) a plántulas de tomate cultivadas en condiciones de vivero comercial con riego del sustrato, agregando 5 mL de la suspensión a cada planta. La prueba se realizó en invierno y se realizaron cuatro repeticiones con 96 plantas por repetición. Las plántulas se cosecharon 30 días después de la siembra. Se seleccionaron al azar veinte plantas por tratamiento y control de las cuatro réplicas y se midieron los mismos parámetros que se describieron anteriormente. Otras 25 plantas de cada tratamiento se trasplantaron a un suelo arenoso a mediados de febrero y se analizaron a mediados de mayo. El experimento se realizó en condiciones de invernadero (Imagen 14). Los requerimientos de agua se establecieron de acuerdo con las condiciones climáticas y las necesidades del cultivo. Las plantas se fertilizaron con un fertilizante nutritivo complejo comercial.

En todas las pruebas (experimentos 1 y 2), se recolectaron raíces de tomate y pimiento inoculadas con *P. variotii* al final de las pruebas. Las raíces se esterilizaron superficialmente en hipoclorito de sodio al 0,1 % y se lavaron con agua esterilizada. Por último, se colocaron fragmentos de raíz de 2 cm en medio PDA para determinar la colonización de la raíz por el aislado fúngico.



Imagen 14. Plantas de tomate cultivadas bajo semillero comercial (A) y ensayo de campo, 30 (B) y 60 (C) días después del trasplante.

2.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el software Statgraphics Centurion XVIII. Los datos se probaron mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) o prueba de T-Student con significación definida como valores de P inferiores a 0,05 ($P < 0,05$). Los resultados experimentales se presentan como media y error estándar (\pm ES) para las diferentes repeticiones. La separación de medias se realizó utilizando la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

3. Resultados

Se obtuvo un total de 42 aislados fúngicos a partir del análisis de 20 muestras de raíces tomadas de plantas nativas de la PNCG (Imagen 16). Todos los aislados fúngicos se obtuvieron de cultivos puros usando técnicas estándar. Los aislados fueron identificados como hongos filamentosos pertenecientes al phylum *Ascomycota*. Los aislamientos fúngicos se identificaron a nivel de género. *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp., *Rustroemia* sp. y *Penicillium* sp., fueron los géneros más característicos. Estos difieren en el color, el tipo de conidióforo o la presencia de estructuras similares a microesclerocios. Por lo tanto, se consideraban diferentes. Fue especialmente relevante la presencia del género *Paecilomyces*, por lo que se seleccionó para este estudio (aislado CDG33). Las secuencias amplificadas del aislado de *Paecilomyces* se compararon con las secuencias de ADN disponibles utilizando BLAST, que tenían un 99 % de homología con el número de acceso JX282326.1 de *Paecilomyces variotii*.

3.1. Producción masiva de *P. variotii* sobre sustratos sólidos

El hongo se multiplicó bien en todas las mezclas ensayadas. Entre los diferentes tratamientos, cuya composición varió en el contenido de agua y el porcentaje de trigo sarraceno y avena, que se probaron para la multiplicación en masa de *P. variotii*, la proporción de 70 + 30 % para trigo sarraceno y avena, respectivamente, con 20% de contenido de agua, dio como resultado una producción de esporas significativamente mayor (Imagen 15), seguido de 90 + 10 con un contenido de agua del 10 % (Tabla 7). La menor tasa de producción de esporas se observó en una proporción de 80 + 20 con 10 % de agua (Imagen 15).

Tabla 7. Efectos de los medios sólidos sobre la multiplicación en masa de *P. variotii* a diferentes porcentajes de sustratos (v/v) y contenidos de agua (v/v). TS: trigo sarraceno; A: avena.

TRATAMIENTOS					
% Agua (v/v)					
10		20		30	
TS-A%	CFU·g ⁻¹	TS-A%	CFU·g ⁻¹	TS-A%	CFU·g ⁻¹
90-10	1,13·10 ⁸ ±1,2·10 ⁷ b	90-10	8,5·10 ⁷ ±7,09·10 ⁶ ef	90-10	9,14·10 ⁷ ±9,73·10 ⁶ de
80-20	7,0·10 ⁷ ±1,32·10 ⁷ g	80-20	1,05·10 ⁸ ±1,09·10 ⁷ bc	80-20	1,0·10 ⁸ ±5,11·10 ⁶ d
70-30	8,04·10 ⁷ ±1,14·10 ⁷ f	70-30	1,24·10 ⁸ ±1,06·10 ⁷ a	70-30	1,07·10 ⁸ ±9,54·10 ⁶ bc

*Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba ANOVA de una vía ($P = 0,05$). Las medias de los tratamientos se compararon de acuerdo con el procedimiento estadístico LSD de Fisher (prueba F en $P < 0,05$).

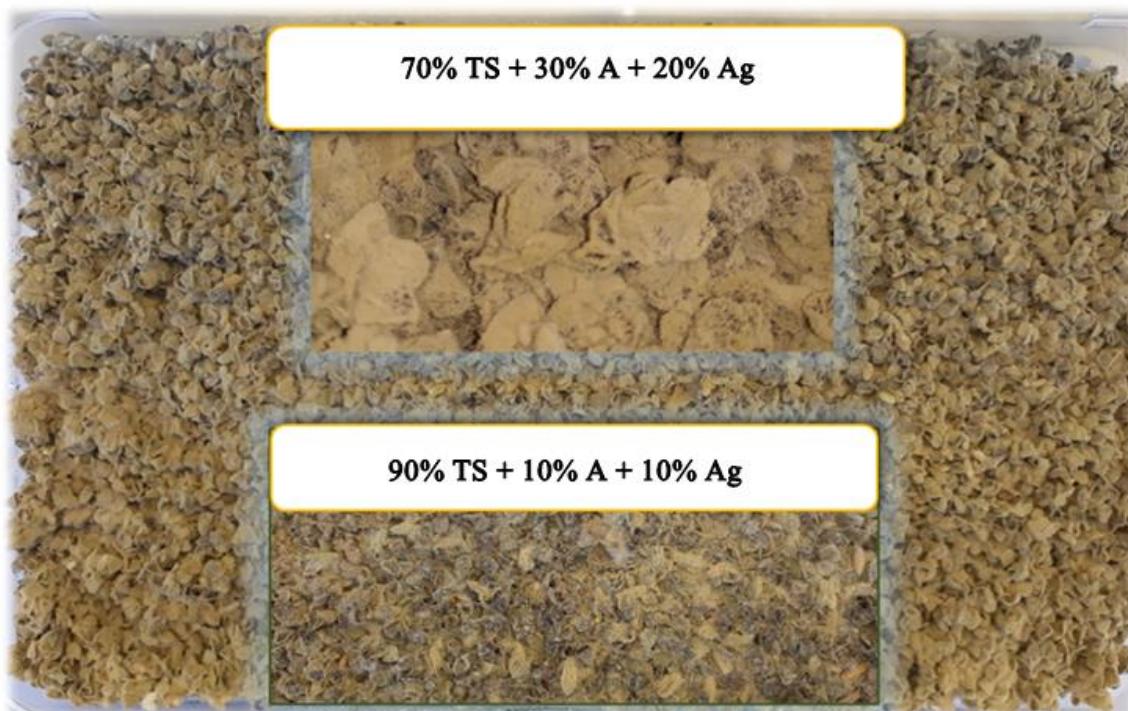


Imagen 15. Producción en masa de conidios de *P. variotii* en una proporción de 70 + 30 % de trigo sarraceno y avena, respectivamente, + 20 % agua (arriba) y 80 + 20 % con 10 % agua (abajo).



Imagen 16. Morfología de colonias de hongos endófitos de raíces y suelo del Parque Nacional Cabo de Gata (PNCG).

3.2. Características de *P. variotii* que promueven el crecimiento de las plantas: producción de sideróforos, AIA y solubilización de P

Se observó la formación de una zona de color naranja alrededor de las colonias fúngicas, lo que indica producción de sideróforos por parte de *P. variotii* (Imagen 17.A). El diámetro del halo se estimó en $3,88 \pm 0,33$ mm, $5,55 \pm 0,22$ mm y $8,83 \pm 1,29$ mm para 24, 48 y 72 h, respectivamente.

El AIA fue producido por *P. variotii* en medio suplementado con 100 mg L⁻¹ de triptófano durante un período de 7 días, y la concentración final fue de $0,049 \pm 0,001$ mg mL⁻¹. La concentración final de AIA fue de $0,030 \pm 0,001$ mg mL⁻¹ en medio suplementado sin triptófano.

No se detectó halo de solubilización de P por *P. variotii* en ninguno de los medios utilizados (medios NBRIP y PVK suplementados con agar al 2%). El efecto de *P. variotii* sobre la concentración de fosfato soluble se muestra en la Imagen 17.B. La concentración inicial de P en el medio se utilizó para cuantificar la concentración de P solubilizado por *P. variotii*. Como se muestra en la Imagen 17.B., no se detectó solubilización de P hasta los 15 días de incubación, obteniéndose un valor de $2,01 \pm 0,68$ g L⁻¹ versus $0,74 \pm 0,25$ en el control ($P = 0,0243$). A su vez, no se detectó cambio en el pH del medio, el cual se mantuvo en valores aproximadamente de 7.

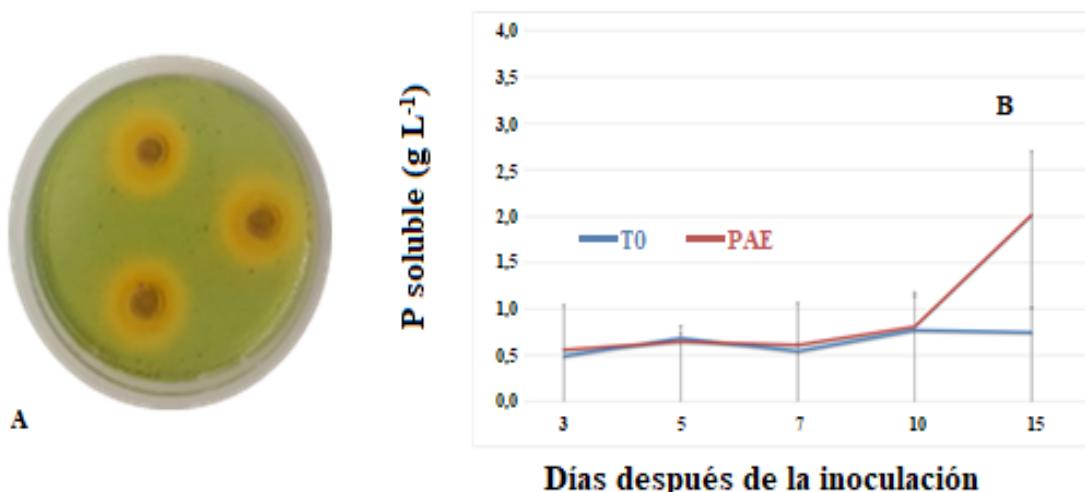


Imagen 17. Formación de halos de color naranja debido a la producción de sideróforos por parte de *P. variotii* (A). Efectos de *P. variotii* sobre la solubilización de fosfato en caldo NBRIP que contiene fosfato de calcio tribásico (10 g). Los resultados se muestran como el promedio de las tres repeticiones, en g L⁻¹ (B).

3.3. Efectos de la inoculación de *P. variotii* sobre la germinación de semillas de tomate y pimiento

La Tabla 8 resume los resultados de la aplicación *in vitro* de *P. variotii* a semillas de tomate y pimiento. La inoculación directa de semillas con conidios de *P. variotii* tuvo un efecto significativo ($P < 0.05$) en el porcentaje de germinación de semillas, longitud de raíces y brotes y IVS en tomates. El incremento en la longitud de raíces y brotes fue de 18,23 y 17,85 %, respectivamente. Sin embargo, las semillas de pimiento tratadas con *P. variotii* no mostraron mejoras en el IVS ($P > 0,05$).

Tabla 8. Efectos del aislado de *P. variotii* sobre la germinación de semillas de tomate y pimiento, 7 y 10 días después del tratamiento, respectivamente.

Tratamiento	% Germinación	Longitud Raíz (cm)	Longitud Tallo (cm)	Índice Vigor Semillas
PIMIENTO				
P-value	<i>0,5369*</i>	<i>0,6162</i>	<i>0,0010</i>	<i>0,9975</i>
<i>P. variotii</i>	80,00±9,79	2,37±1,30	1,66±0,55	323,00±127,07
T0	76,00±7,30	2,26±1,24	1,98±0,56	322,93±119,36
TOMATE				
P-value	<i>0,0020</i>	<i>0,0013</i>	<i>0,0036</i>	<i>0,0000</i>
<i>P. variotii</i>	89,00±3,82	4,41±1,33	3,30±1,15	686,7±210,40
T0	75,00±3,82	3,73±1,32	2,80±1,02	498,70±164,28

*Los datos se analizaron mediante la prueba t de Student ($P < 0,05$).

3.4. Efectos promotores de aislamientos de *P. variotii* en plántulas de tomate y pimiento: Experimento 1

Los efectos de la aplicación de *P. variotii* sobre los parámetros morfológicos y el ICD se muestran en la Tabla 9. La mayoría de los parámetros de crecimiento evaluados en tomate y pimiento fueron mejorados por *P. variotii*, al compararlos con los del testigo experimental, mostrando los mejores resultados en el desarrollo de plántulas de pimiento.

Estos aumentos fueron estadísticamente significativos para la mayoría de los parámetros. Los incrementos evaluados en plántulas de pimiento y tomate (P/T) fueron 9,7/6,9 % para longitud de tallo; 4,9/0,8 % para diámetro de tallo; 10,6/6,0% para número de hojas; 18,2/-6,7 % para peso seco de raíz; 16,7/10,7 % para peso seco aéreo; y 10,1/7,5 % para el área foliar. En tomate, las aplicaciones de *P. variotii* resultaron en una disminución del peso seco de la raíz, aunque sin diferencias significativas con respecto al control. La aplicación de *P. variotii* mejoró la calidad de la planta, aunque sin diferencias significativas para las plantas de tomate ($P = 0,2059$).

En todas las pruebas (experimentos 1 y 2) se observó *P. variotii* en raíces de tomate y pimiento analizadas en medio PDA.

3.5. Efectos de la dosis de aplicación de aislamientos de *P. variotii* en plántulas de tomate y plantas trasplantadas: Experimento 2

Los efectos de la aplicación de tres dosis en el desarrollo de plántulas de tomate en condiciones de semillero comercial y el posterior trasplante al suelo en condiciones de invernadero se muestran en la Tabla 10. Como podemos observar, la aplicación de diferentes dosis de *P. variotii* promovió significativamente el desarrollo de los brotes de las plántulas, disminuyendo, en algunos casos, el desarrollo radicular. Los mejores resultados se evaluaron para la dosis 3, que resultó en un aumento del 30,2 % en la longitud del tallo; 15,7 % en el diámetro del tallo; 19,5 % en el número de hojas y 46,2 % en el peso seco aéreo. Sin embargo, el peso seco de la raíz disminuyó 25,0 %. La disminución de la longitud de la raíz puede causar estrés al trasplantar plántulas de tomate, disminuyendo así la calidad de la planta.

El ICD [45] expresa la aptitud global de una planta para superar con éxito la fase de trasplante, basándose en el desarrollo general de la planta, considerando el equilibrio entre brotes y raíces de la misma. Los valores más altos de este índice indican una mayor calidad de siembra. En este caso, a pesar de la disminución de la longitud de la raíz, se observó un valor mayor de este índice para la dosis 3, con una diferencia significativa para todas las dosis ensayadas, pero no con el tratamiento control.

Una vez trasplantadas en suelo, los hallazgos mostraron que las tres dosis favorecieron varios parámetros morfológicos estudiados en el desarrollo de las plantas de tomate en relación a las plantas testigo, con valores más altos de peso seco y el ICD pero sin diferencias significativas para las tres dosis probadas.

Tabla 9. Parámetros morfológicos e índice de calidad de plántulas de pimiento y tomate tratadas con el aislado de *P. variotii*.

Tratamiento	Longitud tallo (cm)	Diámetro (mm)	Número hojas	Peso seco aéreo (g)	Peso seco Raíz (g)	Área foliar (mm ²)	DQI
PIMIENTO							
P-valor	0,0000*	0,0008	0,0000	0,0000	0,0022	0,0020	0,0054
<i>P. variotii</i>	29,63±1,75	3,83±0,21	7,39±0,54	0,42±0,05	0,13±0,02	83,58±11,27	0,051±0,00
T0	27,01±2,07	3,65±0,23	6,68±0,70	0,36±0,04	0,11±0,03	75,88±11,15	0,046±0,00
TOMATE							
P-valor	0,0002	0,0039	0,0330	0,0042	0,1443	0,0397	0,2059
<i>P. variotii</i>	27,37±2,06	3,81±0,27	4,40±0,54	0,62±0,07	0,14±0,02	74,45±11,85	0,067±0,01
T0	25,61±2,07	3,78±0,22	4,15±0,48	0,56±0,10	0,15±0,02	69,28±10,17	0,063±0,01

*Los datos se analizaron mediante la prueba t de Student (P<0,05).

Tabla 10. Parámetros morfológicos de plántulas y plantas de tomate tratadas con diferentes dosis de *P. variotii* [10^4 , 10^5 y 10^6 conidios planta $^{-1}$, (D1, D2, D3, respectivamente)].

Tratamiento	Longitud tallo (cm)	Diámetro (mm)	Número hojas	Peso seco aéreo (g)	Peso seco Raíz (g)	Área foliar (mm 2)
PLÁNTULAS DE TOMATE						
P-value	<i>0,0000</i>	<i>0,0000</i>	<i>0,0002</i>	<i>0,0000</i>	<i>0,0028</i>	<i>0,0422</i>
<i>Pae D1</i>	$16,12 \pm 2,11$ a*	$3,72 \pm 0,38$ b	$3,58 \pm 0,53$ b	$0,27 \pm 0,09$ b	$0,039 \pm 0,01$ a	$0,046 \pm 0,017$ b
<i>Pae D2</i>	$14,46 \pm 2,58$ b	$3,50 \pm 0,38$ c	$3,71 \pm 0,84$ ab	$0,26 \pm 0,08$ b	$0,035 \pm 0,01$ a	$0,046 \pm 0,020$ b
<i>Pae D3</i>	$16,27 \pm 3,05$ a	$3,99 \pm 0,28$ a	$3,93 \pm 0,78$ a	$0,38 \pm 0,09$ a	$0,027 \pm 0,01$ b	$0,056 \pm 0,018$ a
T0	$12,57 \pm 2,22$ b	$3,45 \pm 0,36$ c	$3,29 \pm 0,61$ c	$0,26 \pm 0,09$ b	$0,036 \pm 0,01$ a	$0,053 \pm 0,023$ ab
PLANTAS DE TOMATE						
P-value	<i>0,1876</i>	<i>0,1244</i>	<i>0,9759</i>	<i>0,0048</i>	<i>0,7796</i>	<i>0,0283</i>
<i>Pae D1</i>	$82,75 \pm 12,97$ ab	$11,57 \pm 1,08$ ab	$14,20 \pm 1,93$ a	$50,67 \pm 10,80$ a	$4,22 \pm 1,20$ a	$24,84 \pm 7,68$ a
<i>Pae D2</i>	$87,20 \pm 9,42$ a	$11,59 \pm 1,02$ ab	$14,30 \pm 1,25$ a	$49,19 \pm 10,21$ a	$4,26 \pm 1,64$ a	$24,23 \pm 8,16$ a
<i>Pae D3</i>	$77,60 \pm 7,75$ b	$11,84 \pm 1,08$ a	$14,10 \pm 1,28$ a	$49,38 \pm 10,53$ a	$4,20 \pm 1,37$ a	$25,78 \pm 7,66$ a
T0	$84,00 \pm 7,10$ ab	$10,58 \pm 0,91$ b	$14,00 \pm 1,63$ a	$39,13 \pm 7,99$ b	$3,73 \pm 0,91$ a	$16,84 \pm 3,79$ b

*Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba ANOVA de una vía ($P = 0,05$). Las medias de los tratamientos se compararon de acuerdo con el procedimiento estadístico LSD de Fisher (prueba F en $P < 0,05$).

4. Discusión

En este estudio, se recolectaron aislados fúngicos de segmentos de raíces de plantas nativas esterilizadas en superficie y suelo del Parque Nacional Cabo de Gata (PNCG, Almería, España). Este parque está ubicado en una región mediterránea árida a semiárida donde los géneros de hongos predominantes son *Penicillium* y *Aspergillus*, así como aislados del grupo denominado hongos Endofíticos Septados Oscuros (ESO), que colonizan las raíces de las plantas. Los hongos DSE aislados en el presente documento formaron estructuras parecidas a microesclerocios de color marrón oscuro. Se ha considerado que el papel de los hongos ESO en la naturaleza es similar al de los hongos micorrízicos [46,47]. Estos aislamientos serán analizados en futuros estudios.

Entre todos los aislados, en este estudio se analizó la capacidad promotora del crecimiento vegetal del único aislado de *P. variotii*. Esta especie fue seleccionada por su capacidad promotora del crecimiento tras un cribado previo con semillas de lechuga y ensayos preliminares de antagonismo *in vitro* frente a diferentes fitopatógenos (datos no mostrados).

Además, se seleccionó *P. variotii* dada la escasez de literatura sobre esta especie como promotor del crecimiento de las plantas. La capacidad de *P. variotii* para estimular el crecimiento de las plantas está poco estudiada, mientras que para otras especies del mismo género, el efecto promotor del crecimiento generalmente se asocia con una mejora en el estado de la planta por su efecto nematicida para el control de enfermedades causadas por diferentes especies de nematodos [48].

Un requisito clave para vender microorganismos con capacidad bioestimulante es que tengan una alta capacidad de producción de esporas en sustratos con un bajo costo de producción. Sin embargo, para obtener la formulación se deben seleccionar granos cuya agitación provoque una rápida liberación de esporas. Por esta razón, se seleccionó el trigo sarraceno y la avena debido a su alto rendimiento en la producción de esporas de *P. variotii*. Esta producción se

***Paecilomyces variotii* como agente promotor del crecimiento vegetal en hortícolas**

produjo en todo el sustrato, no sólo en la superficie. En general, los métodos comerciales de producción de esporas a menudo solo usan granos de cereal, arroz u otros sustratos a base de almidón [49]. La composición nutricional del medio en el que se multiplica el promotor de crecimiento puede afectar a su capacidad biocontroladora o bioestimulante [50]. Según nuestros resultados, *P. variotii* puede estimular el desarrollo de las plantas en las condiciones de producción descritas en este documento.

El aislado de *P. variotii* ha mostrado capacidad para producir sideróforos y AIA. La bioestimulación generalmente se asocia con una mayor disponibilidad de nutrientes, similar a la biofertilización [51], pero también es causada por muchos otros factores, incluyendo mecanismos como la mejora de la resistencia sistémica de la planta [52]. Por lo tanto, la producción de sideróforos juega un papel clave al mejorar la absorción de Fe de las plantas y puede considerarse una alternativa ecológica al uso de fertilizantes químicos y pesticidas en el sector agrícola [53]. Vala et al. [54] describen la producción de sideróforos de tipo hidroxamato y carboxilato por parte de *P. variotii* aislado de la superficie de las plantas de manglar. Previamente se ha demostrado que una cepa terrestre de *P. variotii* secreta el sideróforo trihidroxamato ferrirrubina [55].

El aislado de *P. variotii* ha mostrado una producción de AIA relativamente alta en relación con su género, y la incorporación de triptófano aumentó ligeramente la biosíntesis de AIA *in vitro* por parte de *P. variotii*. Otros estudios también informaron que el Trp estimuló considerablemente el rendimiento microbiano de AIA *in vitro* [56-58]. Ali [59] describió una producción de AIA por parte de *P. variotii* inferior a 2 ng mL⁻¹ producida en medio Czapek suplementado con triptófano. En nuestro estudio, describimos una producción mucho mayor para la misma especie. Waqas et al. [60] cuantificaron la producción de AIA por parte de *P. formosus* en 34,07 ± 3,92 µg mL⁻¹, resultado muy similar a los hallazgos de este estudio y, en consecuencia, un efecto promotor del crecimiento de las plantas. Sin embargo, Waqas et al. [61] analizaron la variabilidad de la producción de AIA en función del medio de cultivo utilizado y, por el contrario, encontró que *P. variotii* tenía una actividad de fosfatasa prácticamente indetectable. Estos resultados diferían de la alta producción de fosfatasa de una cepa de *P. variotii* aislada de la planta medicinal *Caralluma acutangula* [59]. En el suelo, los hongos solubilizadores de P constituyen aproximadamente del 0,1 al 0,5 % de la población total de hongos [62]. El uso de inoculantes microbianos (biofertilizantes) que poseen actividades de solubilización de fósforo en la productividad de los cultivos se considera una alternativa a la aplicación adicional de fertilizantes de fósforo mineral [63]. La co-inoculación de endófitos de las plantas mejoró exponencialmente la actividad de la fosfatasa en el suelo en comparación con la de las plantas no inoculadas en condiciones de estrés [64].

La aplicación de microorganismos benéficos (*bioprimer*) no solo puede ayudar a mejorar la germinación y los parámetros de vigor, sino también aliviar una amplia gama de tensiones fisiológicas, abióticas y bióticas tanto en las semillas como en las plántulas [65]. Además, potencialmente puede conducir a una planta más resistente después del trasplante. Esto puede depender de numerosos factores, como la especie vegetal, los microorganismos, la dosis aplicada y los sustratos, entre otros. Así, en este estudio, el aislado de *P. variotii* mejoró la germinación y el vigor de la raíz en las semillas de tomate. Sin embargo, los resultados con las plantas de pimiento fueron diferentes, sin diferencias significativas con los controles e incluso con una disminución del 19,27% en la longitud de los brotes ($P < 0,05$). *P. variotii* mejoró varios parámetros de plántulas de tomate y pimiento. Las dosis de aplicación para diferentes cultivos

deben ser estudiadas para obtener resultados óptimos. En este estudio, la aplicación de una dosis mayor (10^6 conidios mL^{-1} frente a 10^5 conidios mL^{-1}) mejoró el valor de diferentes parámetros morfológicos en plántulas de tomate en condiciones de semillero comercial. Después del trasplante en invernadero, los efectos bioestimulantes persistieron 4 meses después de aplicar las tres dosis sin ninguna aplicación adicional.

El establecimiento del hongo endófito en la raíz (Imagen 18), por lo tanto, permitió que sus efectos persistieran después del trasplante. Se han observado beneficios similares como resultado de la aplicación de otras especies del género *Paecilomyces*. Waqas et al. [66] describieron mejoras en la germinación de semillas de soja y en el IVS al aplicar el endófito *Paecilomyces* sp. La aplicación de extractos de *P. variotii* aumentó significativamente el rendimiento del rábano cereza, la acumulación de materia seca, la relación raíz-brote y la calidad. Este extracto tiene una actividad biológica muy alta, con un bajo costo, lo que tiene una gran perspectiva de aplicación [67]. Estudios similares realizados por Anis et al. [68] mostraron un aumento del vigor de las plántulas de girasol en condiciones de estrés biótico al aplicar esporas de *P. variotii* y *Macrophomina phaseolina*, *in vitro*, sin resultados favorables al realizar las pruebas en macetas. A su vez, Maitlo et al [69] evaluaron la bioestimulación de plantas de garbanzo al inocularlas con *P. lilacinus* y *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, que también redujo la marchitez en plantas de garbanzo.

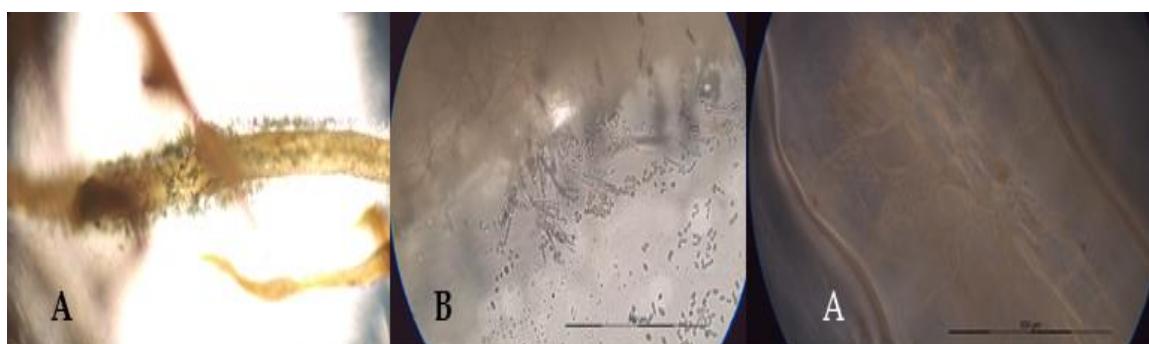


Imagen 18. Micelio y conidióforos de *P. variotii* colonizando raíces de tomate (A) y pimiento (B).

En la horticultura intensiva bajo plástico, los beneficios de la aplicación de bioestimulantes o biofungicidas a base de microorganismos, están en entredicho, ya que los agricultores perciben una baja eficacia de estos productos como controladores de enfermedades en comparación con la rápida respuesta que presentan los fertilizantes químicos o fungicidas. Los cambios legislativos actuales en cuanto a la reducción de principios activos y la comercialización de bioestimulantes y biopesticidas, junto con la necesidad de aumentar la sostenibilidad de la agricultura en términos de salud pública y medio ambiente, exigen el uso de MPV como elemento clave en la horticultura.

Hasta donde sabemos, el presente estudio demuestra por primera vez la capacidad bioestimulante de *P. variotii* en plantas de pimiento y tomate en condiciones comerciales de semillero e invernadero.

5. Patentes

Este aislado ha sido patentado con número de patente española ES2684858A1: Nueva cepa de *Paecilomyces variotii*, composiciones y aplicaciones.

Referencias

1. Nguyen, T.T.; Paul, N.C.; Lee, H.B. Characterization of *Paecilomyces variotii* and *Talaromyces amestolkiae* in Korea based on the morphological characteristics and multigene phylogenetic analyses. *Mycobiology* **2016**, *44*(4), 248–259.
2. Mioso, R.; Toledo, F.J.; Herrera, I. The chemical diversity of the ascomycete fungus, *Paecilomyces variotii*. *Appl. Biochem. Biotech.* **2015**, *177*, 781–791.
3. Herrera, I.; Toledo, F.J.; Mioso, R. Enzymes and bioproducts produced by the ascomycete fungus *Paecilomyces variotii*. *J. Appl. Microbiol.* **2015**, *119*, 1455–1466.
4. Akinfala, T.O.; Houbraken, J.; Sulyok, M.; Adedeji, A.R.; Odebode, A.C.; Krska, R.; Ezekiel, C.N. Moulds and their secondary metabolites associated with the fermentation and storage of two cocoa bean hybrids in Nigeria. *Int. J. Food Microbiol.* **2020**, *316*, 108490.
5. López-Fernández, S.; Campisano, A.; Schulz, B.J.; Steinert, M.; Stadler, M.; Surup, F. Viriditins from *Byssochlamys spectabilis*, their stereochemistry and biosynthesis. *Tetrahedron Lett.* **2020**, *61*(5), 151446.
6. Al-Qasim, M.; Abu-Gharbieh, W.; Assas, K. Nematophagal ability of Jordanian isolates of *Paecilomyces variotii* on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Nematol. Mediterr.* **2009**, *37*, 53–57.
7. Perveen, Z.; Shahzad, S. A comparative study of the efficacy of *Paecilomyces* species against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Pak. J. Nematol.* **2013**, *31* (2), 125–135.
8. Ahmad, R.Z.; Sidi, B.B.; Endrawati, D.; Ekawasti, F.; Chaerani. *Paecilomyces lilacinus* and *P. variotii* as a predator of nematode and trematode eggs. *IOP Conf. Series: Earth Environ. Sci.* **2019**, *299*, 012056.
9. Rodrigo, S.; Santamaría, O.S.; Halecker, S.; Lledó, M.S. Antagonism between *Byssochlamys spectabilis* (anamorph *Paecilomyces variotii*) and plant pathogens: Involvement of the bioactive compounds produced by the endophyte. *Ann. Appl. Biol.* **2017**, *171*, 464–476.
10. Mohammadi, S.; Soltani, J.; Piri, K. Soilborne and invertebrate pathogenic *Paecilomyces* species show activity against pathogenic fungi and bacteria. *J. Crop. Prot.* **2016**, *5* (3), 377–387.
11. Zhang, P.; Li, X.M.; Wang, J.N.; Wang, B.G. Oxepine-containing diketopiperazine alkaloids from the algal-derived endophytic fungus *Paecilomyces variotii* EN-291. *Helv. Chim. Acta* **2015**, *98*, 800–804.
12. Hajano, J.U.D.; Lodhi, M.; Pathan, M.A.; Khanzada, A.; Shah, G.S. In-vitro evaluation of fungicides, plant extracts and bio-control agents against rice blast pathogen *Magnaporthe oryzae* couch. *Pak. J. Bot.* **2012**, *44*(5), 1775–1778.
13. Nakajima, M.; Itoi, K.; Takamatsu, Y.; Sato, S.; Furukawa, Y.; Furuya, K.; T.; Honma, Kadotani, J.; Ozasa, M.; Haneishi, T. Cornexistin: a new fungal metabolite with herbicidal activity. *J. Antibiot.* **1991**, *44* (10), 1065–1072.
14. Song, X.B.; Zhang, L.H.; Peng, A.T.; Cheng, B.P.; Ling, J.F. First report of *Paecilomyces variotii* isolated from citrus psyllid (*Diaphorina citri*), the vector of huanglongbing of citrus, in China. *Plant Dis.* **2016**, *100*(12), 2526.

15. Hyung, J.J.; Kang, H.; Jong J.J.; Soo K.Y. *Paecilomyces variotii* extracts for preventing and treating infections caused by fish pathogenic microorganisms. **2013**, KR Patent, 2013051523.
16. García-Peña, I.; Hernández, S.; Auria, R.; Revah, S. Correlation of biological activity and reactor performance in biofiltration of toluene with the fungus *Paecilomyces variotii* CBS115145. *Appl. Environ. Microbiol.* **2005**, 71(8), 4280–4285.
17. García-Peña, I.; Ortiz, I.; Hernández, S.; Revah, S. Biofiltration of BTEX by the fungus *Paecilomyces variotii*. *Int. Biodeter. Biodegr.* **2008**, 62(4), 442–447.
18. Liu, Z.; Liu, G.; Cai, H.; Shi, P.; Chang, W.; Zhang, S.; Zheng, A.; Xie, Q.; Ma, J. *Paecilomyces variotii*: A fungus capable of removing ammonia nitrogen and inhibiting ammonia emission from manure. *Plos one* **2016**, 11(6), e.0158089.
19. Steiner, B.; Aquino, V.R.; Paz, A.A.; da Rocha Silla, L.M.; Zavascki, A.; Goldani, L.Z. *Paecilomyces variotii* as an emergent pathogenic agent of pneumonia. *Case Rep. Infect. Dis.* **2013**, 273848, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/273848>.
20. Santamaría, O.; Lledó, S.; Rodrigo, S.; Poblaciones, M.J. Effect of fungal endophytes on biomass yield, nutritive value and accumulation of minerals in *Ornithopus compressus*. *Microb. Ecol.* **2017**, 74, 841–852.
21. Lu, C.; Liu, H.; Jiang, D.; Wang, L.; Jiang, Y.; Tang, S.; Hou, X.; Han, X.; Liu, Z.; Zhang, M.; Chu, Z.; Ding, X. *Paecilomyces variotii* extracts (ZNC) enhance plant immunity and promote plant growth. *Plant Soil* **2019**, 441, 383–397.
22. Sánchez-Montesinos, B.; Diánez, F.; Moreno-Gavíra, A.; Gea, F.J.; Santos, M. Plant growth promotion and biocontrol of *Pythium ultimum* by saline tolerant *Trichoderma* isolates under salinity stress. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2019**, 16(11), 2053–2063.
23. Raja, N. Biopesticides and biofertilizers: ecofriendly sources for sustainable agriculture. *J Biofertil. Biopestici.* **2013**, 1000e112.
24. Adesemoye, A.O.; Kloepfer, J.W. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *App Microbiol. Biotechnol.* **2009**, 85(1), 1–12.
25. Porto de Souza, L.; Blandon, L.M.; Rodrigues, C.; Cándido, M.; de Melo, G.V.; Pereira, G.; de Oliveira, J.; Soccol, C.R. Potential applications of plant probiotic microorganisms in agriculture and forestry. *AIMS Microbiol.* **2017**, 3, 629–648.
26. Diánez, F.; Santos, M.; Carretero, F.; Marín, F. *Trichoderma saturnisporum*: a new biological control agent. *J. Sci. Food Agric.* **2016**, 96(6), 1934–1944.
27. Diánez, F.; Santos, M.; Carretero, F.; Marín, F. Biostimulant activity of *Trichoderma saturnisporum* in melon (*Cucumis melo*). *Hortscience* **2018**, 53(6), 810–815.
28. Smith, S.E.; Manjarrez, M.; Stonor, R.; et al. Indigenous arbuscular mycorrhizal (AM) fungi contribute to wheat phosphate uptake in a semi-arid field environment, shown by tracking with radioactive phosphorus. *Appl. Soil Ecol.* **2015**, 96, 68–74.
29. Bhardwaj, D.; Ansari, M.W.; Sahoo, K.; et al. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microb. Cell Fact.* **2014**, 13, 1–10.
30. Begum, N.; Qin, C.; Ahanger, M.A.; Raza, S.; Khan, M.I.; Ashraf, M.; Ahmed, N.; Zhang, L. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. *Front. Plant. Sci.* **2019**, 10, 1068.
31. Khan, M.R.; Mohiddin, F.A. *Trichoderma*: Its multifarious utility in crop improvement. In *Crop improvement Through Microbial Biotechnology. New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, Aligarh Muslim University, Aligarh, India, Srinagar, India. **2018**; chapter 13, pp. 263–291.

Paecilomyces variotii como agente promotor del crecimiento vegetal en hortícolas

32. Murali, M.; Amruthesh, K.N. Plant growth-promoting fungus *Penicillium oxalicum* enhances plant growth and induces resistance in pearl millet against downy mildew disease. *J. Phytopathol.* **2015**, *163*(9), 743–754.
33. Shimizu, K.; Hossain, M.M.; Kato, K.; Kubota, M.; Hyakumachi, M. Induction of defense responses in cucumber plants by using the cell-free filtrate of the plant growth-promoting fungus *Penicillium simplicissimum* GP17-2. *J. Oleo. Sci.* **2013**, *62*(8), 613–621.
34. Bitas, V.; McCartney, N.; Li, N.; Demers, J.; Kim, J.E.; Kim, H.S.; Brown, K.M.; Kang, S. *Fusarium oxysporum* volatiles enhance plant growth via affecting auxin transport and signaling. *Front. Microbiol.* **2015**, *10*(6), 1248.
35. Kojima, H.; Hossain, M.M.; Kubota, M.; Hyakumachi, M. Involvement of the salicylic acid signaling pathway in the systemic resistance induced in *Arabidopsis* by plant growth-promoting fungus *Fusarium equiseti* GF19-1. *J. Oleo. Sci.* **2013**, *62*(6), 415–426.
36. Zhou, L.S.; Tang, K.; Guo, S.X. The plant growth-promoting fungus (PGPF) *Alternaria* sp. A13 markedly enhances *Salvia miltiorrhiza* root growth and active ingredient accumulation under greenhouse and field conditions. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 270.
37. Islam, S.; Akanda, A.M.; Sultana, F.; Hossain, M.M. Chilli rhizosphere fungus *Aspergillus* spp. PPA1 promotes vegetative growth of cucumber (*Cucumis sativus*) plants upon root colonisation. *Arch. Phytopathol. Plant Protect.* **2014**, *47*(10), 1231–1238.
38. Naznin, H.A.; Kimura, M.; Miyazawa, M.; Hyakumachi, M. Analysis of volatile organic compounds emitted by plant growth-promoting fungus *Phoma* sp. GS8-3 for growth promotion effects on tobacco. *Microbes Environ.* **2013**, *28*(1), 42–49.
39. Schwyn, B.; Neilands, J.B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem.* **1987**, *160*, 47–56.
40. Louden, B.C.; Harmann, D.; Lynne A.M. Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *J. Microbiol. Biol. Educ.* **2011**, *12*(1), 51–53.
41. Nautiyal, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* **1999**, *170*, 265–270.
42. Lima-Rivera, D.L.; Lopez-Lima, D.; Desgarennes, D.; Velázquez-Rodríguez, A.S.; Carrion, G. Phosphate solubilization by fungi with nematicidal potential. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **2016**, *16*(2), 507–524.
43. Fiske, C.H.; Subbarow, Y. The colorimetry determination of phosphorous. *J. Biol. Chem.* **1925**, *66*, 375–400.
44. Murali, M.; Amruthesh, K.N.; Sudisha, J.S.; Niranjana, R.; Shetty, H.S. Screening for plant growth promoting fungi and their ability for growth promotion and induction of resistance in pearl millet against downy mildew disease. *J. Phytol.* **2012**, *4*(5), 30–36.
45. Dickson, A.; Leaf, A.L.; Hosner, J.F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *Forest Chron.* **1960**, *36*, 10–13.
46. Peterson, R.L., Wagg, C., Paulter, M. Associations between microfungal endophytes and roots: do structural features indicate function? *Can. J. Bot.* **2008**, *86*, 445–456.
47. Della Monica, I.F.; Saparrat, M.C.N.; Godeas, A.M.; Scervino, J.M. The coexistence between DSE and AMF symbionts affects plant P pools through P mineralization and solubilization processes. *Fungal Ecol.* **2015**, *17*, 10–17.
48. Huang, W.K.; Liu, S.M.; Kong, L.A.; Wu, Q.S.; Peng, H.; He, W.T; Sun, J.H.; Peng, D.L. Testing various biocontrol agents against the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in cucumber plants identifies a combination of *Syncephalastrum racemosum* and *Paecilomyces lilacinus* as being most effective. *Biol. Control* **2016**, *92*, 31–37.

49. Goettel, M.S.; Roberts, D.W. Mass production, formulation and field application of entomopathogenic fungi. In *Biological Control of Locusts and Grasshopper*, Lomer, C.J.; Prior, C., Eds; CAB International, Wallingford, UK. **1992**.
50. Lane, B.S.; Trinci, A.P.J.; Gillespie, A.T. Influence of culture conditions on the virulence of conidia and blastospores of *Beauveria bassiana* to the green leafhopper, *Nephotettix virescens*. *Mycol. Res.* **1991**, *95*, 829–833.
51. Vessey, J.K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Sci.* **2003**, *255*, 571–586.
52. Schuster, A.; Schmoll, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2010**, *87*, 787–799.
53. Saha, M.; Sarkar, S.; Sarkar, B.; Sharma, B.Q.; Bhattacharjee, S.; Tribedi, P. Microbial siderophores and their potential applications: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2016**, *23*(5), 3984–3999.
54. Vala, A.K.; Vaidya, S.Y.; Dube, H.C. Siderophore production by facultative marine fungi. *Indian J. Mar. Sci.* **2000**, *29*, 339–340.
55. Renshaw, J.C.; Robson, G.D.; Trinci, A.P.J.; et al. Fungal siderophores: structures, functions and applications. *Mycol. Res.* **2002**, *106*, 1123–1142.
56. Ivanova, E.G., Doronina, N.V.; Trotsenko, IA. Aerobic methylobacteria are capable of synthesizing auxins. *Mikrobiologia* **2001**, *70*, 452–458.
57. Khalid, A.; Arshad, M.; Zahir, Z.A. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J. Appl. Microbiol.* **2004**, *96*, 473–480.
58. Egamberdieva, D.; Kucharova, Z. Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Biol. Fertil. Soil* **2009**, *45*, 563–571.
59. Ali, S. Endophytic fungi from *Caralluma acutangula* can secrete plant growth promoting enzymes. *Fresenius Environ. Bull.* **2019**, *28*(4), 2688–2696.
60. Waqas, M.; Khan, A.L.; Shahzad, R.; Ullah, I.; Khan, A.R.; Lee, I.J. Mutualistic fungal endophytes produce phytohormones and organic acids that promote japonica rice plant growth under prolonged heat stress. *J. Zhejiang Univ-Sci. B* **2015**, *16*(12), 1011–1018.
61. Waqas, M.; Khan, A.L.; Lee, I.J. Bioactive chemical constituents produced by endophytes and effects on rice plant growth. *J. Plant Interact.* **2014**, *9*(1), 478–487.
62. Kucey, R.M.N. Effect of *Penicillium bilaji* on the solubility and uptake of P and micronutrients from soil by wheat. *Can. J. Soil Sci.* **1988**, *68*, 261–270.
63. Ahemad, M.; Wani, P.A. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi - Current perspective. *Arch. Agron. Soil Sci.* **2010**, *56*(1), 73–98.
64. Bilal, S.; Shahzad, R.; Khan, A.L.; Kang, S.; Imran, Q.M.; Al-Harrasi, A.; Yun, B.; Lee, I.J. Endophytic microbial consortia of phytohormones-producing fungus *Paecilomyces formosus* LHL10 and bacteria *Sphingomonas* sp. LK11 to *Glycine max* L. regulates physio-hormonal changes to attenuate aluminum and zinc stresses. *Front. Plant. Sci.* **2018**, *9*, 1273.
65. Mastouri, F.; Bjorkman, T.; Harman, G.E. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. *Phytopathology* **2010**, *100*(11), 1213–1221.
66. Waqas, M.; Khan, A.L.; Hamayun, M.; Kamran, M.; Kang, S.M.; Kim, Y.H.; Lee I.J. Assessment of endophytic fungi cultural filtrate on soybean seed germination. *Afr. J. Biotechnol.* **2012**, *11*(85), 15135–15143.
67. ChunHua, Jia.; ZhiGuang, Liu.; Zhang, Min.; JiWen, J.; Zheng, L.; QingBin, W.; HongFeng, W. Effects of extracts from *Paecilomyces variotii* on the yield and quality of cherry radish (*Raphanus sativus* L. var. *radculus pers*). *J. Agric. Res. Environ.* **2019**, *36*(2), 176–183.

***Paecilomyces variotii* como agente promotor del crecimiento vegetal en hortícolas**

68. Anis, M.; Abbasi, W.; Zaki, M.J. Bioefficacy of microbial antagonists against *Macrophomina phaseolina* on sunflower *Pak. J. Bot.* **2010**, *42*(4), 2935–2940.
69. Maitlo, S.A.; Rajput, N.A.; Syed, R.N.; Khanzada, M.A.; Rajput, A.Q.; Lodhi, A.M. Microbial control of *Fusarium* wilt of chickpea caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Pak. J. Bot.* **2019**, *51*(6), 2261–2268.

CAPITULO 3: Efecto biocontrol de *Paecilomyces variotii* frente a enfermedades fúngicas en plantas

Alejandro Moreno-Gavíra, Fernando Diánez, Brenda Sánchez-Montesinos and Mila Santos

Departamento de Agronomía, Escuela Superior de Ingeniería, Universidad de Almería, 04120 Almería, España; alejanmoga@gmail.com (A.M.-G.); fdianez@ual.es (F.D.); brensam@hotmail.com (B.S.-M.); msantos@ual.es (M.S.).

Cita: Moreno-Gavíra, A., Diánez, F., Sánchez-Montesinos, B., & Santos, M. Biocontrol effects of *Paecilomyces variotii* against fungal plant diseases. *Journal of Fungi* **2021**, 7(6), 415. <https://doi.org/10.3390/jof7060415>.

Revista: *Journal of Fungi*

Factor de impacto (JCR, 2022): 5,816

Cuartil: Q1

Resumen

El género *Paecilomyces* es conocido por su potencial aplicación en el control de plagas y enfermedades, sin embargo, su uso en agricultura está limitado a pocas especies. El interés en la investigación de nuevas formulaciones basadas en microorganismos para el control de patógenos está creciendo exponencialmente; por lo tanto, es necesario estudiar nuevos aislados, que puedan ayudar a controlar enfermedades de manera efectiva, y examinar su compatibilidad con los métodos de control agrícola establecidos. Analizamos la capacidad antagónica *in vitro* e *in vivo* de *Paecilomyces variotii* frente a siete fitopatógenos de alta incidencia en diferentes cultivos, y examinamos su compatibilidad con 24 fungicidas comerciales. *P. variotii* se aplicó en los siguientes patosistemas: *B. cinerea* - melón, *Sclerotinia sclerotiorum* - pimiento, *R. solani* - tomate, *F. solani* - calabacín, *P. aphanidermatum* - melón, *M. melonis* - melón y *P. xanthii* - calabacín. Los resultados mostraron fuertes efectos de control sobre *M. melonis* y *P. xanthii*, reduciendo el índice de gravedad de la enfermedad en un 78 % y un 76 %, respectivamente. La reducción de la gravedad de la enfermedad en los otros patosistemas osciló entre el 29 % y el 44 %. Sin embargo, la aplicación de metabolitos solos no provocó ningún efecto significativo sobre el crecimiento micelial de los fitopatógenos, a excepción de *F. solani*, en la que se observó hasta un 12 % de inhibición *in vitro* cuando se aplicó el extracto a una concentración del 15 % en el medio. *P. variotii* fue compatible con la mayoría de los fungicidas, y de los 24 probados a la dosis máxima autorizada, 6 actuaron como fungicidas, 4 como fungistáticos y los restantes mostraron tasas de inhibición que oscilaron entre 18,2% y 95,8%. Estos resultados indican que *P. variotii* es un agente de control biológico potencial para ser utilizado contra varias enfermedades aéreas y del suelo, por lo que debe integrarse en las estrategias modernas de manejo de plagas.

Palabras clave: *Paecilomyces*; Control biológico; Endófito; Fitopatógenos; Enfermedades aéreas y del suelo.

1. Introducción

Varias plagas y enfermedades causan pérdidas anuales significativas en la agricultura mundial al reducir el rendimiento y la calidad de los cultivos [1,2] y dichas pérdidas se estiman en alrededor del 20% al 40%, lo que representa un impacto económico significativo valorado en cientos de millones de dólares por año. [3,4]. La práctica común para el control de dichos patógenos es la aplicación indiscriminada de agroquímicos, sin embargo, el control biológico por microorganismos endófitos es una alternativa más respetuosa con el medio ambiente [5-7].

El hongo endófito *Paecilomyces variotii* es un ascomiceto que se caracteriza morfológicamente por el desarrollo de conidióforos verticilados con ramas irregulares en las que se insertan fiálicas cilíndricas con un pronunciado estrechamiento en el cuello donde se localizan las conidias de color amarillo o marrón pálido [8,9]. Este hongo produce clamidosporas con paredes lisas o ligeramente rugosas, según la cepa. *P. variotii* es termófila, ubicua y muy versátil, y sus conidios pueden soportar temperaturas superiores a 80 °C durante 15 min [10]. Además, crece rápidamente, puede desarrollarse en condiciones limitadas de oxígeno y produce una amplia gama de metabolitos, por lo que esta especie se destaca entre los hongos descomponedores [11]. Puede adaptarse a una gran variedad de hábitats (en ambientes aéreos, edáficos y acuáticos) y se

puede encontrar en desechos vegetales y compost, dentro de las plantas como endófito y en animales como parásito oportunista, contaminando alimentos para consumo humano y animal; además, se presenta en residuos sólidos municipales, en sedimentos y plantas marinas, e incluso dentro de viviendas y quirófanos [12-18].

El potencial de *P. variotii* y de sus metabolitos bioactivos para el control de enfermedades fúngicas ha sido ampliamente estudiado [19]. Esta especie puede reducir el desarrollo micelial de numerosos fitopatógenos en condiciones de cultivo *in vitro*. En particular, *P. variotii* puede inhibir los hongos *Aspergillus niger* [20], *Botrytis cinerea* [21], *Fusarium graminearum* [22], *F. moniliforme* [23], *F. oxysporum* [24-26], *F. solani* [27], *Macrophomina phaseolina* [27,28], *Magnaporthe oryzae* [29], *Pyricularia oryzae* [30], *Pythium aphanidermatum* [31,32], *P. spinosum* [33], *Saccharomyces cerevisiae* [30], *Sclerotium rolfsii* [27,33], y *Verticillium dahliae* [25], y las bacterias *Bacillus cereus* [34], *B. subtilis* [20], *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* [22,35], *Pseudomonas aeruginosa* [30,34], *Staphylococcus aureus* [22-35], *Streptococcus iniae* [35], *Vibrio parahaemolyticus* [22,34] y *Xanthomonas campestris* [24], entre otros.

De igual forma, los efectos de biocontrol *in vivo* sobre ciertos patógenos por parte de *P. variotii* han sido descritos en experimentos de campo en los que redujo significativamente la incidencia y severidad de enfermedades en diferentes cultivos. Dichos tratamientos dieron como resultado mejoras significativas en el porcentaje de germinación, la longitud y el peso de las raíces y las partes aéreas de la planta, y el rendimiento [26]. En conjunto, *P. variotii* muestra un efecto positivo cuando se inocula junto con *Alternaria alternata* [36], *Fusarium* spp. [37], *F. oxysporum* [24,26], *M. phaseolina* [28,37], *P. syringae* [38], *Rhizoctonia solani* [37], *P. aphanidermatum* [32], *X. campestris* [24] y *X. oryzae* [38].

El uso de microorganismos endófitos tiene la ventaja de ser seguro para los humanos; sin embargo, ocasionalmente pueden provocar diversos efectos adversos como fitotoxicidad o dependencia ambiental para una actividad biológica adecuada [23], por lo que el uso de extractos bioactivos y metabolitos de estos endófitos, incluido *P. variotii*, es de gran interés [39]. Se han descrito multitud de compuestos sintetizados por este hongo y capaces de actuar como agentes de control microbiano, como el ácido 6-decil salicílico [40], ácido fenopicolínico [25], ácido eicosenoico [41], ascofuranona [42], betulina [34], esfingofungina E y F [43,44], lawsozaheer [45], paecilaminol [20], paecilocina A - D [40], paecilocoxazina [44,46], peptaibols [47], quitinasas [39], varioxepina A y B [22,48], viriditina A y B [49], viriditoxina, semiviriditoxina y ácido semiviridítóxico [16,23,50].

El aislado de *P. variotii* CDG33 se ha caracterizado recientemente como un promotor del crecimiento de las plantas [51]. Los objetivos del presente estudio fueron: 1) determinar los efectos antagónicos *in vitro* de *P. variotii* CDG33 y sus extractos sobre diferentes fitopatógenos de importancia agrícola; 2) examinar la capacidad *in vivo* para controlar el desarrollo de enfermedades causadas por dichos fitopatógenos en diferentes patosistemas bajo condiciones de invernadero; y 3) evaluar la compatibilidad de *P. variotii* con diferentes fungicidas comúnmente utilizados para el control de enfermedades fúngicas.

2. Materiales y métodos

2.1. Aislados de hongos

P. variotii CDG33 se obtuvo de plantas autóctonas cultivadas en el Parque Natural Cabo de Gata, Almería, España [51]. Este aislado ha sido probado para determinar su potencial efecto biocontrolador contra *Botrytis cinerea* Pers, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc, *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp, *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, *Mycosphaerella melonis* (Pass.) y *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff.

Se recolectaron diferentes plantas de cultivo infectadas con patógenos en la provincia de Almería, España, durante 2017-2019. Se cortaron secciones seleccionadas de tallo y hojas con lesiones activas, y se colocaron secciones de tejido de los límites entre las áreas sanas y afectadas en papa dextrosa agar (PDA; Bioxon, Becton Dickinson, México). Se realizaron pruebas de patogenicidad para confirmar la capacidad patógena.

El aislado fúngico se cultivó y mantuvo en PDA en la oscuridad a $25 - 27 \pm 2$ °C durante 5 o 10 días. Se prepararon suspensiones de esporas de *P. variotii* y aislamientos de fitopatógenos (excepto *R. solani*, *S. sclerotiorum* y *P. xanthii*) inundando placas de cultivos de 10 días con agua destilada estéril, raspando la superficie con una varilla de vidrio estéril, y posterior filtrado de las suspensiones, tras lo cual se ajustaron a una concentración de 10^6 esporas mL⁻¹ utilizando un hemocitómetro Neubauer. En el caso de *R. solani* y *S. sclerotiorum*, la inoculación se realizó utilizando micelio ajustado a una concentración de aproximadamente 10^4 UFC mL⁻¹. Para producir micelio, se cortaron dos tapones de agar de una colonia y se colocaron en un matraz que contiene PDB. Los matraces se colocaron en un agitador durante cuatro días a 25 °C y se homogeneizó el contenido para su posterior inoculación. El inóculo de *P. xanthii* se recolectó directamente de las hojas afectadas.

2.2. Bioensayos de cultivo dual

Se evaluó el antagonismo *in vitro* de *P. variotii* contra seis fitopatógenos utilizando el ensayo de confrontación de Santos et al. [52]. Se prepararon placas de Petri (9 cm de diámetro) que contenían 17 mL de PDA y se cortaron tapones de 0,5 cm de micelio de todos los hongos del borde de crecimiento de cultivos de siete días de edad con crecimiento activo de cada aislado. Los tapones se colocaron al margen de cajas Petri con una distancia de 8 cm entre el hongo antagonista y fitopatógeno. Se usó un tapón de medio PDA como tratamiento de control mientras que el tapón del patógeno se colocó en el otro lado. Todas las placas se sellaron con parafilm y se incubaron en la oscuridad a 25 ± 1 °C durante diferentes períodos de tiempo, según la tasa de crecimiento del patógeno respectivo (3 a 10 días).

El crecimiento de colonias fúngicas radiales se midió diariamente. Los resultados se transformaron en Porcentajes de Inhibición del Crecimiento del Micelio (PICM). Estas pruebas se llevaron a cabo usando cinco repeticiones. Las áreas en las que se fusionaron el antagonista y el patógeno también se observaron usando un microscopio de disección y un microscopio óptico compuesto con un aumento de 100 y 400 veces.

2.3. Efectos de los metabolitos no volátiles de *P. variotii* sobre patógenos fúngicos

Para determinar los efectos de los metabolitos no volátiles de *P. variotii*, se inocularon 300 mL de medio PDB con dos tapones de 0,5 cm de micelio y se incubaron sin agitación a 25 ± 1 °C en oscuridad durante 7, 14, 21, 28, 58, 88 y 118 días. Posteriormente, el medio se filtró a través de una tela de muselina de doble capa para eliminar el micelio y se esterilizó mediante microfiltración a través de membranas esterilizadas de 0,22 µm de tamaño de poro (Merck Millipore, Burlington, MA, EE. UU.). Luego se incorporaron los extractos y se mezclaron con PDA enfriado al 5, 10 y 15% (v/v) y se vertieron inmediatamente en placas de Petri (50 mm). En los tratamientos testigo se utilizó agua destilada en lugar de extracto. Se inocularon individualmente en los medios discos de agar (0,5 cm de diámetro) cubiertos con micelios en crecimiento activo de los diferentes patógenos y se incubaron en oscuridad a 25 ± 1 °C durante 10 días, excepto *P. aphanidermatum* que se incubó durante 3 días, y *S sclerotiorum* y *B. cinerea* que se incubaron durante 5 días en las mismas condiciones. Después de la incubación, se midió el crecimiento micelial de cada hongo como el promedio de dos diámetros perpendiculares de la colonia y se calcularon los efectos inhibidores en comparación con los controles. Se utilizaron cinco repeticiones para cada tiempo de incubación y patógeno.

2.4. Bioensayo de compuestos orgánicos volátiles antifúngicos

Se determinaron los efectos de inhibición *in vitro* de compuestos orgánicos volátiles producidos por *P. variotii* contra diferentes hongos fitopatógenos. Para ello, se cortó un disco (0,5 cm de diámetro) de los bordes de crecimiento activo de las placas de *P. variotii* y se colocó en el centro de placas de Petri de 5,5 cm que contenían medio PDA. Tras dos días de incubación del antagonista, se repitió el mismo procedimiento para cada uno de los patógenos y se trazó un eje cartesiano desde el centro de cada placa para facilitar las mediciones. Ambas placas abiertas se colocaron sobre la base de una placa de Petri cuadrada de 12 cm sobre la que se colocó otra base invertida y posteriormente se sellaron con parafilm. El volumen de aire fue de aproximadamente 403,20 cm³, evitando el contacto directo entre los dos hongos. Las placas de control se prepararon siguiendo el mismo procedimiento, pero sin el disco del antagonista. Las placas se incubaron a 25 ± 1 °C y se midió el crecimiento micelial del patógeno en ambos sentidos, lo que se realizó diariamente para hongos de rápido crecimiento (*B. cinerea*, *S. sclerotiorum*, *P. aphanidermatum* y *R. solani*) y cada dos días para las de crecimiento más lento (*M. melonis* y *F. solani*) hasta llegar al borde del plato. Se examinaron tres réplicas cada día.

2.5. Ensayo de hojas desprendidas

Antes del ensayo *in vivo*, los efectos supresores de *P. variotii* sobre *B. cinerea*, *S. sclerotiorum* y *M. melonis* se evaluaron mediante un ensayo de hojas desprendidas como lo describen Novak et al. [53] y Patial et al. [54]. Hojas de plántulas de pepino (var. ‘Marketmore’), tomate (var. ‘Red cherry’) y pimiento (var. ‘Largo de Reus’) se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3% durante 30 segundos y se lavaron dos veces para eliminar los residuos. Las hojas se sumergieron durante 3 min en una solución que contenía esporas de *P. variotii* a una dosis de 10^6 conidios mL⁻¹ o se sumergieron en una solución acuosa que contenía el fungicida Switch (cyprodinil 37,5% y fludioxonil 25% (WG) p/p; Syngenta, Basilea, Suiza) a 600 ppm, para comparar la eficacia. A continuación, se colocaron hojas enteras o fragmentos sobre papel de filtro húmedo en placas de Petri, y se perforó cuidadosamente el centro de la hoja o fragmento de hoja con una aguja esterilizada. En el sitio de punción se colocó un disco de 0,5 cm que contenía el patógeno correspondiente. Luego se incubaron placas de Petri a 25 ± 1 °C y se contó y fotografió el número de hojas con síntomas 72 h después de la inoculación. Este experimento se repitió dos veces.

2.6. Compatibilidad de *P. variotii* con fungicidas

La compatibilidad *in vitro* de *P. variotii* con diferentes fungicidas seleccionados para la inhibición del crecimiento micelial se estableció mediante la técnica *Poisoned Food* [55,56]. De cada fungicida se probaron la dosis mínima recomendada (D2), la dosis máxima recomendada (D3), 0,5 x D2 y 1,5 x D3 (Tabla 11). Usando un perforador de corcho estéril, se cortaron discos de micelio (0,5 cm de diámetro) de cultivos fúngicos de siete días de crecimiento activo y se colocaron en el centro de una placa de Petri que contenía PDA suplementado con varios pesticidas. Se utilizaron cinco repeticiones por tratamiento. Los efectos fungicidas o fungistáticos de cada fungicida se determinaron transfiriendo el disco inicial de *P. variotii* que no creció con fungicida a una placa de PDA sin fungicida.

La toxicidad, es decir, la compatibilidad de *P. variotii* y el fungicida, se clasificó utilizando la escala de la Organización Internacional para el Control Biológico (OICB) [57]. Esta clasificación agrupa la compatibilidad entre microorganismos y fungicidas en función de la proporción de inhibición respecto a un control (< 30 %: inocuo; 30 % - 75 %: ligeramente tóxico; 75 % - 90 %: moderadamente tóxico; > 90 %: tóxico).

2.7. Evaluación en invernadero de *P. variotii* sobre la gravedad de la enfermedad de siete fitopatógenos

Se determinó el efecto biocontrolador de *P. variotii* en diferentes patosistemas: *B. cinerea* - melón (var. ‘Piel de Sapo’), *Sclerotinia sclerotiorum* - pimiento (var. ‘Largo de Reus’), *R. solani* - tomate (var. ‘Red cherry’), *F. solani* - calabacín (var. ‘Milenio’), *P. aphanidermatum* - melón, *M. melonis* - melón y *P. xanthii* - calabacín. Los resultados mostraron fuertes efectos de control sobre *M. melonis* y *P. xanthii*. Las semillas se desinfectaron con hipoclorito al 2% durante 3 min y se lavaron abundantemente con agua corriente para eliminar los residuos. Posteriormente, las semillas se sembraron en macetas de 500 mL que contenían una mezcla de turba comercial, a razón de una semilla por maceta, a cada maceta se le agregó 5 mL de suspensión de esporas de cada aislado de *P. variotii* (PAE) a razón de 10^6 propágulos planta⁻¹, los tratamientos testigo recibieron 5 mL de agua estéril. Para evaluar enfermedades de partes aéreas se realizó aspersión foliar a la misma dosis para humedecer toda la planta con la solución de *P. variotii*. La aspersión se realizó tres días antes de aplicar conidios/micelio del respectivo patógeno.

Para preparar inóculos de *P. aphanidermatum* se siguió el procedimiento descrito por Marin et al. [58]. Se prepararon inóculos de los demás fitopatógenos por raspado y posterior filtración, como se describió anteriormente, además de *R. solani*, *S. sclerotiorum* y *P. xanthii*. Los fitopatógenos se inocularon cuando las plantas presentaban una segunda hoja verdadera, utilizando una micropipeta estéril, la inoculación se realizó aplicando uniformemente la suspensión de zoosporas/conidios (5 mL) a una concentración de 10^4 UFC mL⁻¹ uniformemente a la superficie de la turba.

En el caso de *B. cinerea* y *M. melonis*, el patógeno se aplicó pulverizando la planta cinco veces a la misma concentración (6 mL). Antes de esto, se había cortado la primera hoja verdadera para facilitar la entrada de patógenos. La inoculación con *R. solani* se realizó mezclando micelio al sustrato; la inoculación con *S. sclerotiorum* se realizó utilizando el método de micelio por pulverización descrito por Chen y Wang [59]. El tallo fue herido para facilitar la entrada de patógenos. La severidad de los síntomas se registró continuamente y 30 - 60 días después de la inoculación, se estimó un índice final de severidad de la enfermedad de acuerdo con la siguiente escala: 0 = planta sana; 1 = síntomas iniciales; 2 = síntomas moderados (25%); 3 = planta afectada (50%); 4 = planta severamente afectada (75%); y 5 = planta muerta (Imagen 19).



Imagen 19. Ejemplo de la escala de gravedad de la enfermedad para *M. melonis*. 0 = planta sana; 1 = síntomas iniciales; 2 = síntomas moderados (25%); 3 = planta afectada (50%); 4 = planta severamente afectada (75%); 5 = planta muerta.

Efecto biocontrol de *Paecilomyces variotii* frente a enfermedades fúngicas en plantas

Para determinar el efecto control de *P. variotii* sobre el oídio, se preparó un inóculo de *P. xanthii* a partir de hojas de calabacín recolectadas en el campo afectadas por el oídio de las cucurbitáceas (Imagen 20). Usando un pulverizador, se roció agua destilada estéril bajo presión para enjuagar los conidios fúngicos. Se recolectó la suspensión y las plantas experimentales se inocularon inmediatamente a una concentración de 10^4 UFC mL⁻¹. Para determinar el efecto supresor de *P. variotii* sobre la enfermedad, se determinó el área foliar (Imagen 20) afectada por el mildiú polvoriento utilizando el software WinDIAS 3.1.lnk (Dynamax, Fresno, CA, EE. UU.) para calcular la proporción del área foliar afectada con respecto al área foliar total. Además, se contó el número de hojas y pecíolos afectados por planta.

Todas las pruebas de patogenicidad se realizaron en condiciones de invernadero y en diferentes estaciones para proporcionar condiciones ambientales óptimas para cada patógeno. Las unidades experimentales consistieron en cuatro repeticiones con 24 plantas por patosistema. Se realizaron dos experimentos utilizando un diseño de bloques completamente al azar.



Imagen 20. A) Hojas de calabacín con síntomas de oídio causado por *P. xanthii*. B) Aplicación de agua estéril para enjuagar las esporas. C) Pulverización de esporas sobre plántulas sanas previamente tratadas con *P. variotii* (PAE) o agua (T0). D) Disposición de las hojas para determinar el área foliar afectada. E) y F) Distribución de plántulas durante los diferentes ensayos.

2.8. Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante análisis de varianza con el software Statgraphics Centurion versión XVI. Se realizó una prueba preliminar para evaluar la distribución normal de los datos. La separación de medias se realizó mediante la prueba de diferencias mínimas significativas de Fisher. Los datos se probaron mediante un análisis de varianza unidireccional o la prueba t de Student; la significación estadística se informa en $p < 0,05$.

3. Resultados

3.1. Antagonismo *in vitro* de *P. variotii*

Los resultados del ensayo de cultivo dual, expresados como porcentajes de inhibición, se muestran en la Imagen 21. El crecimiento de colonias de *P. variotii* se produjo rápidamente (48 - 72 h) con colonias aisladas que cubrían la placa, lo que demuestra el efecto inhibidor del antagonista (Imagen 21). Los mayores porcentajes de inhibición se detectaron en *P. aphanidermatum* y *F. solani*. Además, *P. variotii* mostró inicialmente una inhibición de aproximadamente 2 mm (Imagen 21), que posteriormente desapareció con el contacto directo entre las dos colonias. Esta zona de inhibición indica la presencia de metabolitos fungistáticos secretados por *P. variotii*. No se observó parasitismo, aunque se observó destrucción de hifas y formación de vacuolas.

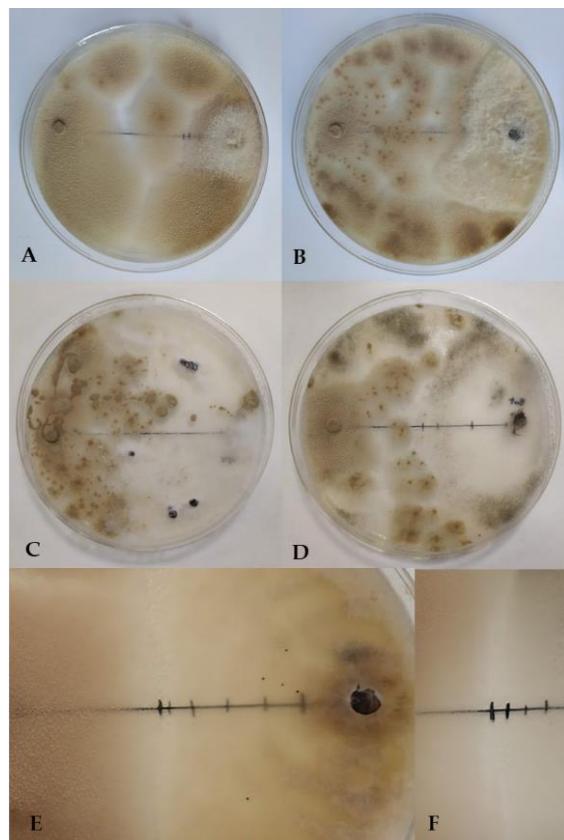


Imagen 21. Efectos antagónicos *in vitro* de *P. variotii* sobre *F. solani* (A), *M. melonis* (B), *S. sclerotiorum* (C) y *B. cinerea* (D) en placas Petri de 9 cm. Zona de inhibición entre *P. variotii* y los fitopatógenos *M. melonis* (E) y *F. solani* (F) (Imágenes aumentadas un 75 %).

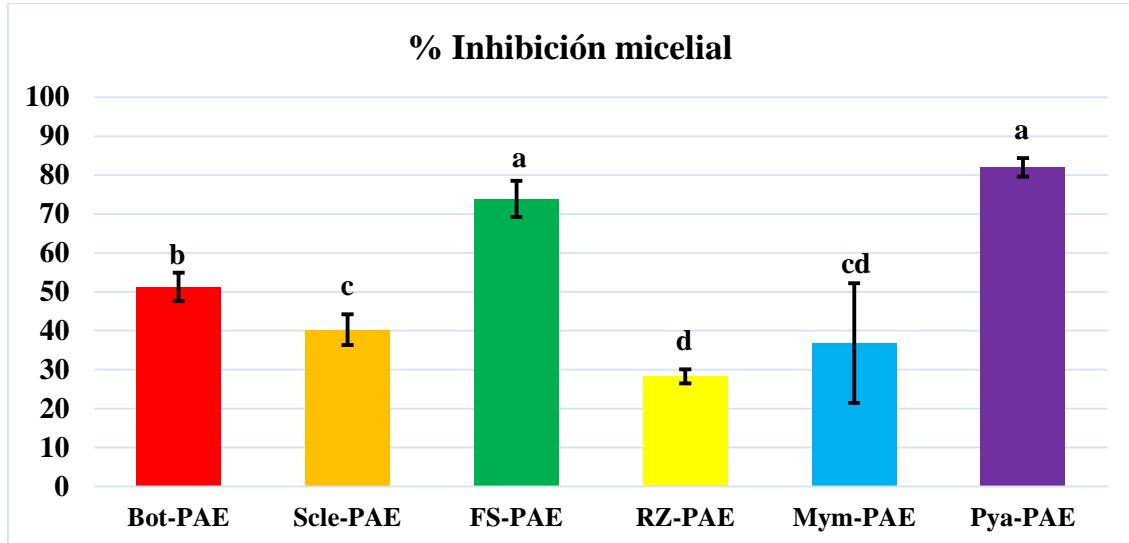


Gráfico 4. Efectos antagónicos de *P. variotii* (PAE) sobre *B. cinerea* (Bot), *S. sclerotiorum* (Scle), *F. solani* (FS), *P. aphanidermatum* (Pya), *R. solani* (Rz) y *M. melonis* (Mym) en cultivo dual en medio PDA. El porcentaje de inhibición del micelio se calculó como PICM = [(R1-R2)/R1] x 100, donde PCRM es el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio del patógeno, R1 es el crecimiento radial del patógeno en placas de control y R2 es crecimiento radial del patógeno en cultivos duales. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (test de diferencia mínima) según un análisis de varianza ($p > 0,05$).

3.2. Efectos *in vitro* del filtrado libre de células y compuestos volátiles antifúngicos de *P. variotii* sobre el crecimiento micelial de fitopatógenos

El filtrado libre de células de *P. variotii* no mostró ningún efecto inhibidor sobre el crecimiento micelial de los hongos analizados en las diferentes condiciones ensayadas, a excepción de *F. solani*, que mostró una inhibición que va del 1,7% al 12% a concentraciones del 10% y 15%, independientemente del tiempo de incubación (Gráfico 5).

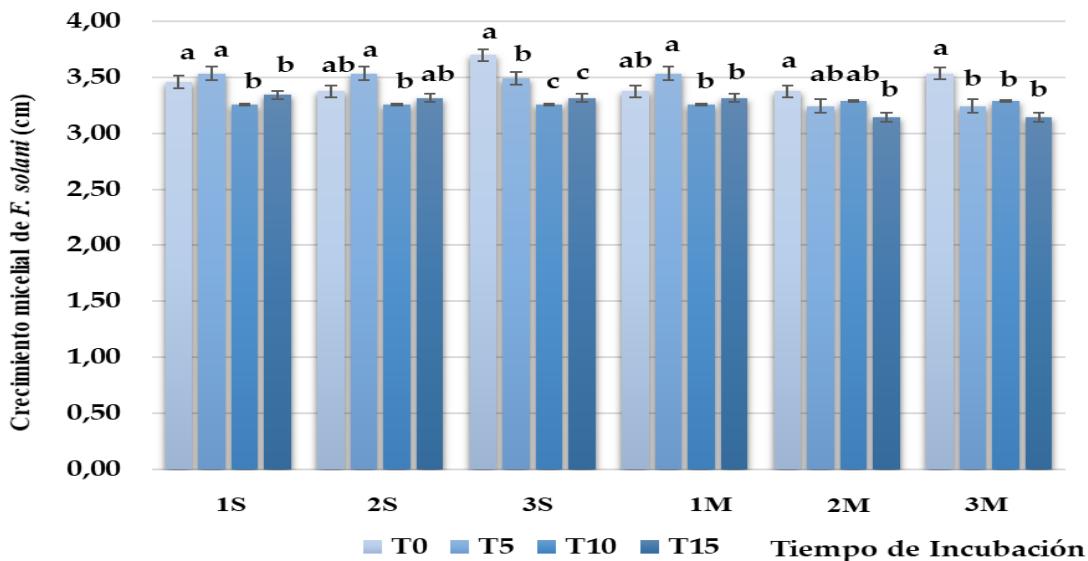


Gráfico 5. Efecto del filtrado libre de células del cultivo de *P. variotii* sobre el crecimiento micelial de *F. solani*. Tiempo de incubación: 1, 2 y 3 semanas (S); 1, 2 y 3 meses (M). T0, T5, T10, T15: % de extractos incorporados y mezclados con PDA enfriado a 0 (Control), 5, 10 y 15 % (v/v). Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (prueba de diferencia mínima) según un análisis de varianza.

Por el contrario, los metabolitos volátiles de *P. variotii* no mostraron una inhibición significativa de los hongos probados. En el caso de *M. melonis* se observó una baja inhibición del 5% y 7% para las lecturas L1 y L2, respectivamente. Para *F. solani* se detectó una inhibición del 3,2% en la lectura de L3 (Gráfico 6).

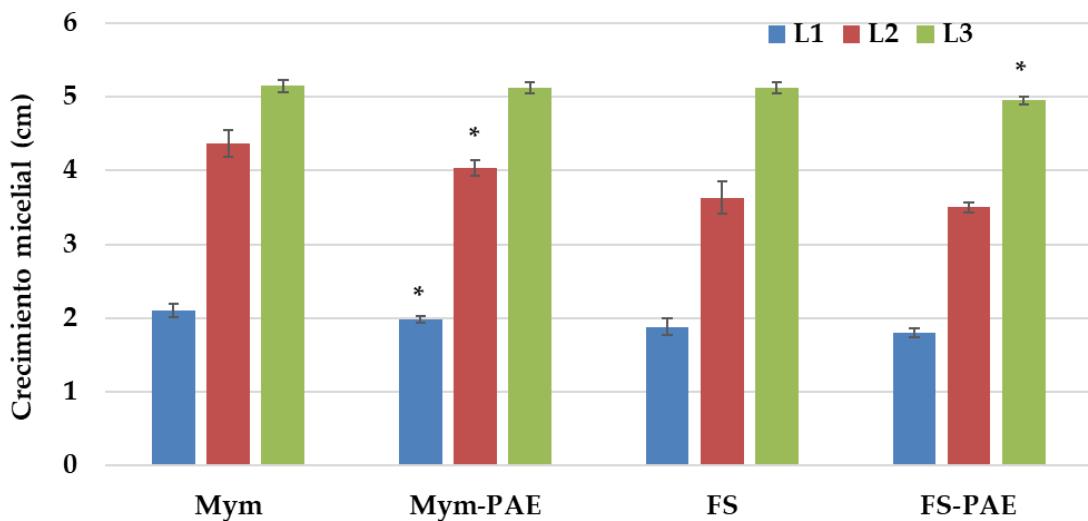


Gráfico 6. Efecto de los metabolitos volátiles de *P. variotii* sobre el crecimiento micelial de *M. melonis* y *F. solani*.
L1, L2 y L3: mediciones realizadas cada dos días. Los datos se analizaron mediante la prueba t de Student.

3.3. Compatibilidad para el uso de *P. variotii* con fungicidas

Los efectos observados de 24 fungicidas sobre el crecimiento y desarrollo de *P. variotii* se presentan en la Tabla 11. Los resultados indican que el crecimiento micelial de *P. variotii* se vio afectado por las diferentes dosis de cada uno de los fungicidas probados *in vitro*, en comparación con el control. Según la escala OICB [57], la compatibilidad de los 24 fungicidas ensayados a dosis mínima (D2) y máxima (D3) recomendada en cultivos hortícolas fue la siguiente: 2 fueron inocuos (Pencicuron y Propamocarb; inhibición < 30 %), 6 fueron levemente tóxicos (Dietofencarb, Triadimenol, Miclobutanol, Azoxistrobina, Kresoxim-metil y Fosetyl-Al; 30 % - 75 %), 4 fueron moderadamente tóxicos (Metil-Tiofanato, Flutriafol, Clorotalonil y Cimoxanilo; 75 % - 90 %), y 10 fueron tóxicos (Iprodiona, Tetraconazol, Pirimetanil, Etridiazol, Oxicloruro de cobre, Mancozeb, Ciprodinilo + Fludioxonil, Folpet + Metalaxil-M, Dimetomorf + Mancozeb y Benalaxil + Cimoxanil + Mancozeb; > 90 %). Solo dos fungicidas (Fenhexamida e Hidróxido de cobre) mostraron un comportamiento diferente según la escala a dosis máxima y mínima; ambos resultaron tóxicos a las dosis máximas (D3) y levemente tóxicos y moderadamente tóxicos, respectivamente, a las dosis mínimas (D2). Los cuatro fungicidas formulados con dos o tres principios activos resultaron tóxicos, con un 100 % de inhibición del crecimiento micelial en todas las dosis probadas; una mezcla (ciprodinil + fludioxonil) fue fungistática y los otros tres, fungicidas. De los seis fungicidas tóxicos restantes, la inhibición total del crecimiento se observó solo en tres y cinco a las dosis D2 y D3, respectivamente, con efectos fungicidas solo usando pirimetanil a la dosis mínima (D2) y con iprodiona, pirimetanil y etridiazol a la dosis máxima (D3).

Tabla 11. Efecto de diferentes fungicidas sobre el crecimiento micelial de *P. variotii* a diferentes dosis (D1-D4). Los valores medios (\pm desviación estándar) seguidos de letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) mediante la prueba de diferencia mínima significativa (LSD).

FUNGICIDA (MECANISMOS DE ACCIÓN)	D1 (0,5 · D2)				D2		D3		D4 (1,5 · D3)	
	D2	D3	Crecim	Inhib.	Crecim	Inhib.	Crecim	Inhib.	Crecim	Inhib.
Metil-Tiofanato 70% (WP) w/w (1)	500	1000	27,8±2,8 a	60,1%	13,6±1,7 b	80,5%	11,8±1,9 b	83,0%	12,6±1,5 b	81,9%
Diethofencarb 25% (WP) w/w (1)	1000	1500	42,4±2,3 a	41,4%	44,6±1,3 a	38,4%	32,8±2,9 b	54,7%	18,2±1,3 c	74,9%
Pencicuron 25% (SC) w/v (1)	5000	8000	58,2±5,8 a	19,6%	60,8±4,8 a	16,0%	59,2±3,3 a	18,2%	63,2±1,6 a	12,7%
Iprodiona 50% (SC) w/v (2)	1000	1500	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%
Flutriafol 12,5% (SC) w/v (3)	2000	2500	13,5±0,4 a	78,1%	12,6±2,1 a	79,5%	12,2±1,1 a	80,2%	11,8±1,6 a	80,8%
Triadimenol 25% (EC) w/v (3)	250	500	61,0±8,6 a	1,0%	36,8±6,0 b	40,3%	26,8±3,0 c	56,5%	29,0±1,9 c	52,9%
Miclobutanol 24% (EC) w/v (3)	200	400	17,6±2,4 a	71,4%	16,0±1,0 a	74,0%	15,4±1,1 ab	75,0%	13,2±1,6 b	78,6%
Tetraconazol 12,5% (ME) w/v (3)	200	400	21,0±1,6 a	68,7%	4,4±1,3 b	93,4%	0,0±0,0 c	100,0%	0,0±0,0 c	100,0%
Fenhexamida 50% (WG) w/w (3)	1500	2000	14,0±2,1 a	77,3%	9,2±0,4 a	85,1%	3,0±0,7 b	95,1%	3,7±0,7 c	94,0%
Pirimetanil 40% (SC) P/V (4)	500	1000	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%
Azoxistrobina 25% (SC) w/v (5)	800	1000	22,2±3,2 a	64,0%	18,0±2,2 a	70,8%	19,4±1,5 a	68,5%	19,2±2,8 a	68,8%
Kresoxim-Metil 50% (WG) w/w (5)	200	500	31,0±1,6 a	53,7%	31,4±0,5 a	53,1%	26,8±4,9 b	60,0%	28,0±2,1 ab	58,2%
Etridiazol 48% (EC) w/v (6)	2000	3000	5,6±0,9 a	92,3%	1,6±0,5 b	97,8%	0,0±0,0 c	100,0%	0,0±0,0 c	100,0%
Propamocarb 60,5% (SL) w/v (6)	2500	5000	56,4±4,9 a	22,1%	62,8±6,6 a	13,3%	59,2±3,3 a	18,2%	64,4±2,5 a	11,0%
Hidróxido de cobre 35% (WG) w/w (7)	2000	3000	29,2±2,2 a	52,6%	20,4±0,9 b	66,9%	0,0±0,0 c	100,0%	0,0±0,0 c	100,0%
Oxicloruro de cobre 38% (SC) w/v (7)	2000	3000	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%
Mancozeb 80% (WG) w/w (7)	2000	3000	6,0±1,2 a	90,3%	4,0±0,7 b	93,5%	2,6±0,9 c	95,8%	2,2±0,4 c	96,4%
Clorotalonil 50% (SC) w/v (7)	2500	3000	13,6±1,8 a	77,9%	13,4±1,8 a	78,2%	15,2±1,8 a	75,3%	15,4±1,5 a	75,0%
Fosetyl-AL 80% (WG) w/w (8)	2500	3000	52,4±1,8 a	14,9%	41,8±1,3 b	32,1%	39,2±2,5 c	36,4%	35,4±1,8 d	42,5%
Cimoxanilo 60% (WG) w/w (9)	200	300	36,2±4,0 a	46,0%	16,2±0,8 bc	75,8%	17,0±1,6 b	74,6%	13,2±1,6 c	80,3%
Ciprodinil 37,5% + Fludioxonil 25% (WG) w/w (4 + 2)	600	1000	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%
Folpet 40% + Metalaxil-M 10% (WP) w/w (7 + 10)	2000	2500	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%
Dimetomorf 7,5% + Mancozeb 66,7% (WG) w/w (11 + 7)	2000	3000	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%
Benalaxil 6% + Cimoxanilo 3,2% + Mancozeb 40% (WP) w/w (10 + 9 + 7)	2500	3500	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%	0,0±0,0 a	100,0%

Mecanismos de acción de fungicidas: (1) Citoesqueleto y proteínas motoras, (2) Transducción de señales, (3) Biosíntesis de esteroles en membranas, (4) Síntesis de aminoácidos y proteínas, (5) Respiración, (6) Síntesis de lípidos o transporte / integridad o función de la membrana, (7) Sustancias químicas con actividad multisitio, (8) Inducción de defensa de la planta huésped, (9) Modo de acción desconocido, (10) Metabolismo de los ácidos nucleicos, (11) Biosíntesis de la pared celular.

3.4. Hojas desprendidas

La inoculación de hojas desprendidas de pepino, pimiento y tomate con micelio de *B. cinerea*, *S. sclerotiorum* y *M. melonis* resultó en una marcada inhibición del desarrollo de la enfermedad en las hojas inoculadas con *P. variotii*, con la misma eficacia que el fungicida de control. Las hojas no inoculadas con *P. variotii* mostraron crecimiento micelial y síntomas evidentes de pudrición (Gráfico 7).

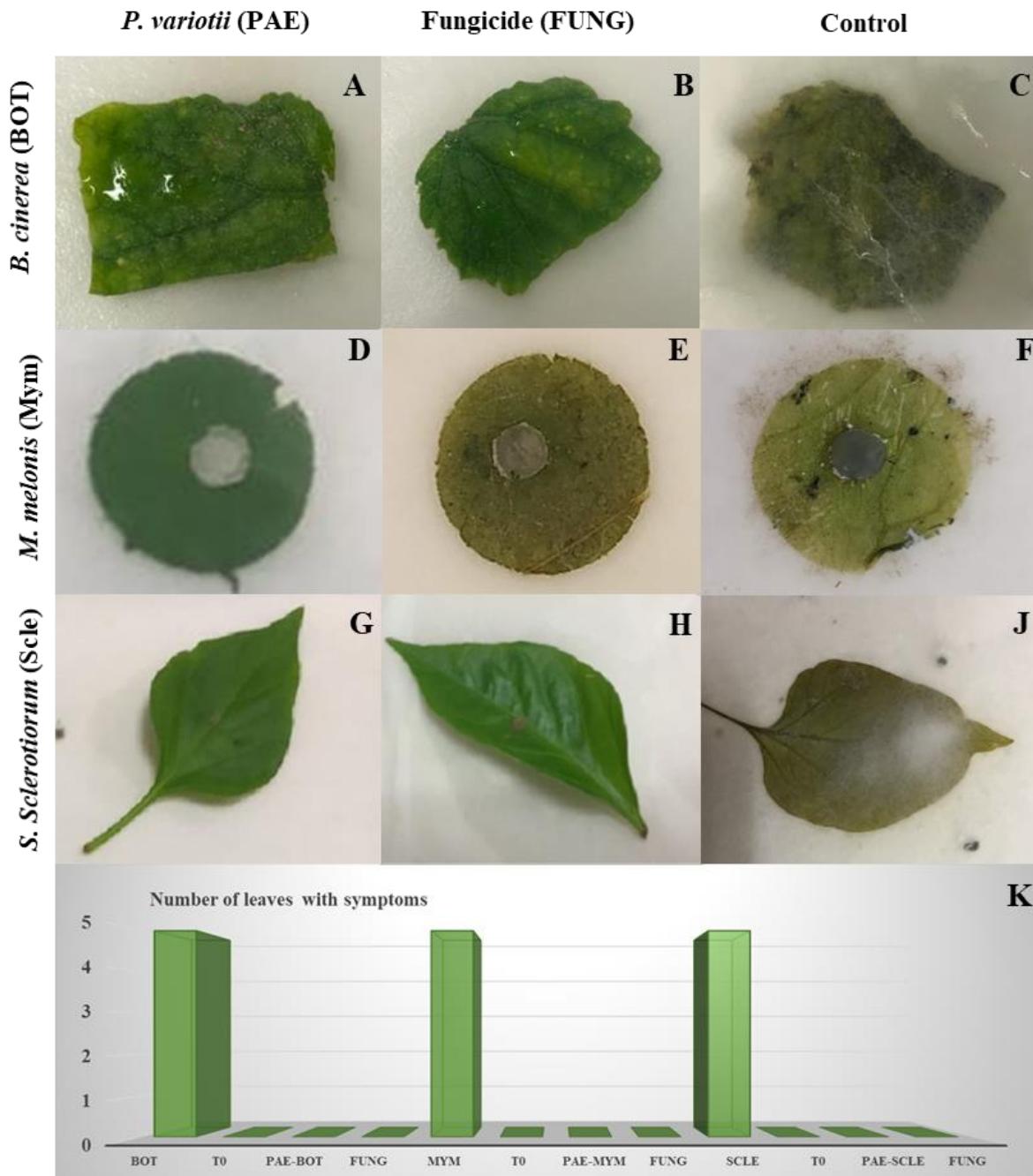


Gráfico 7. Síntomas visuales de infección por *B. cinerea* (A, B y C), *M. melonis* (D, E y F) y *S. sclerotiorum* (G, H y J) en hojas desprendidas tratadas con *P. variotii* (A, D y G) o fungicida (B, E y H). Control (C, F y J): síntomas visuales sin *P. variotii* ni fungicida. Número de hojas con síntomas en cada tratamiento (K).

3.5. Efectos supresores *in vivo* de *P. variotii* sobre enfermedades causadas por hongos fitopatógenos

En general, la severidad de la enfermedad causada por diferentes fitopatógenos del suelo y aéreos disminuyó debido a la aplicación de *P. variotii* (Gráfico 8). El efecto de biocontrol más fuerte ocurrió contra la gomosis del tallo, con una reducción del 78,00 % en la gravedad de la enfermedad después de la infección por *M. melonis* después de la fumigación con *P. variotii*. Valores más bajos ocurrieron en los otros experimentos con fitopatógenos.

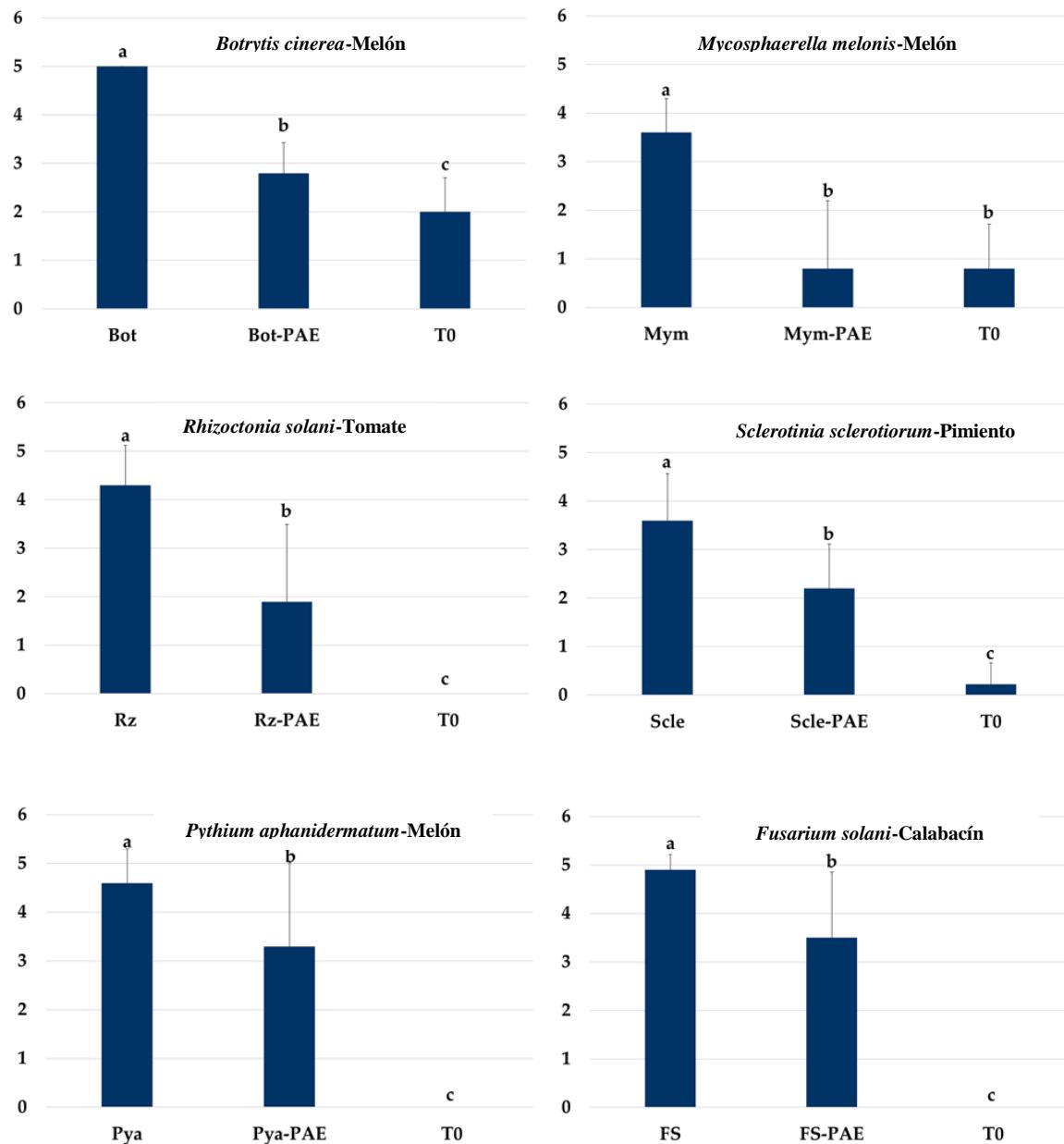


Gráfico 8. La gravedad de la enfermedad de los fitopatógenos en las plantas se evaluó entre 30 y 60 días después de la inoculación según una escala de 0 a 5, donde 0 indica que no hay síntomas visibles de la enfermedad y 5 indica una planta muerta. Las barras indican las desviaciones estándar medias (24 plantas/repetición). Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (diferencias menos significativas) según un análisis de varianza.

Se observaron reducciones del 44,00 %, 38,88 % y 37,20 % en la gravedad de la enfermedad después de la infección con *B. cinerea*, *S. sclerotiorum* y *R. solani*, respectivamente. Debido a la disposición aleatoria de los tratamientos, también se observó enfermedad en los controles no inoculados (T0) de algunos de los patosistemas. Los mayores índices de severidad de la enfermedad tras la aplicación de *P. variotii* se dieron en los tratamientos de *P. aphanidermatum* y *F. solani*, a diferencia de los resultados *in vitro*, con una reducción del 31,11 % y 28,57 %, respectivamente. En el caso de *F. solani*, todas las plantas tratadas con *P. variotii* alcanzaron el grado de enfermedad 5, presentando un retraso de aproximadamente 10 días.

La aplicación foliar de *P. variotii* suprimió considerablemente la enfermedad causada por *P. xanthii* (Gráfico 9), con una reducción del 75,80 % en la proporción de área foliar con síntomas. De igual forma, el número de hojas y pecíolos con cenicilla se redujo en 30,40 % y 17,40 %, respectivamente.

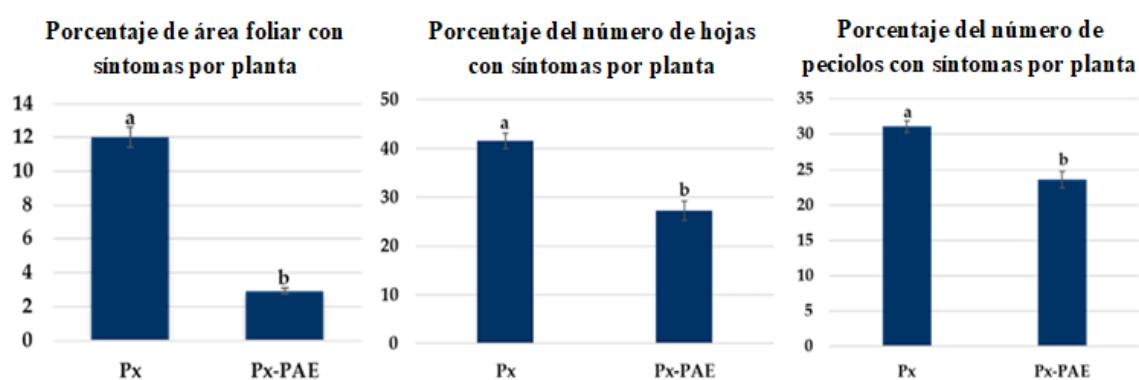


Gráfico 9. Control de *P. xanthii* mediante aspersión de plantas de calabacín con *P. variotii*. A) Porcentaje medio del área foliar con síntomas de oídio por planta. B) Porcentaje del número de hojas con síntomas por planta. C) Porcentaje del número de pecíolos con cenicilla. Px: Aplicación de *P. xanthii*. Px-PAE: Aplicación de *P. variotii* tres días antes de la aplicación de *P. xanthii*. Los datos se probaron utilizando la prueba t de Student.

4. Discusión

P. variotii se ha descrito como un agente de control biológico de enfermedades fúngicas y bacterianas. Su efecto de biocontrol se debe principalmente a su rápido crecimiento y esporulación, lo que resulta en una mayor competencia por el espacio y los recursos disponibles, en comparación con otras especies [60]. Sin embargo, pocos estudios realizaron experimentos *in vivo* sobre el control de enfermedades por *P. variotii* [19].

El estudio actual analizó los efectos supresores *in vitro* e *in vivo* de *P. variotii* CDG33 frente a varios hongos fitopatógenos que causan enfermedades en las partes aéreas de las plantas y del suelo de cultivo. Los resultados de antagonismo *in vitro* basados en la técnica de cultivo dual mostraron valores muy heterogéneos en cuanto a los porcentajes de inhibición, oscilando entre el 25,0 % y el 82,0 %. Los resultados obtenidos en los experimentos *in vitro* pueden variar sustancialmente según las condiciones experimentales y pueden diferir incluso entre aislados de la misma especie. Perveen et al., [33] informaron resultados similares del cultivo dual de *P. variotii* y *P. aphanidermatum*, con un porcentaje de inhibición del 67 % al 72 %, mientras que Rodrigo et al. [23] observaron valores inferiores que no superaron el 40%. En el presente estudio, la inhibición de *P. aphanidermatum* superó el 80 %, lo que se debe principalmente a la rápida

dispersión de las esporas de *P. variotii* durante el experimento. Además, se observó una inhibición sustancial de *F. solani*, lo que está en línea con los resultados de Ramzan et al. [27].

Sin embargo, no se encontró una relación directa entre los valores de antagonismo *in vitro* e *in vivo*, especialmente con respecto a *P. aphanidermatum* y *F. solani*. Lo mismo se observó en *R. solani* y *M. melonis* que, a pesar de mostrar los valores más bajos de antagonismo *in vitro* (de no más del 40 %), mostraron los valores más altos de reducción de enfermedades en los experimentos con plantas. Esto se ha observado comúnmente [61,62] y puede deberse, entre otros factores, a diferencias en las técnicas y componentes, como el medio de cultivo, la presencia de suelo o sustrato y la misma planta. Aun así, es una de las técnicas más utilizadas y se considera la base para el cribado de microorganismos como paso previo a los experimentos *in vivo* y para producir agentes de control biológico efectivos en la agricultura.

P. variotii produce una gran cantidad de compuestos volátiles y no volátiles [19,63,64]; sin embargo, se observó poco o ningún efecto de inhibición de los metabolitos producidos por el aislado CDG33 sobre los fitopatógenos probados. Esto puede deberse a que el efecto de los metabolitos volátiles y no volátiles sobre los fitopatógenos probados disminuye con el tiempo dentro de las primeras 24 a 48 h, y el diámetro de la colonia fúngica en los tratamientos con filtrado fue similar al del control. Solo se observó un leve efecto inhibitorio de los metabolitos no volátiles sobre *F. solani*. Rodrigo et al., [23] obtuvieron resultados similares, con una reducción significativa de *F. moniliforme* con los filtrados de *P. variotii*. Tal disminución dependiente del tiempo en el efecto de los metabolitos en *Biscogniauxia mediterranea*, el agente causal de la enfermedad del carbón vegetal en el alcornoque [65].

Es importante evaluar la compatibilidad de los agentes de control biológico y los agroquímicos mediante el uso de una combinación de herramientas químicas y biológicas. Los tratamientos químicos deben basarse en la selección de agroquímicos con el menor impacto sobre los agentes de control biológico. Muchos estudios confirmaron la incompatibilidad de *P. variotii* con varios fungicidas, incluso en entornos clínicos, ya que diferentes especies del género *Paecilomyces* causan una variedad de infecciones en pacientes inmunocomprometidos [66-68]. Además, estudios previos indicaron que los aislados de *Paecilomyces* de ambientes agrícolas son más resistentes a los fungicidas comunes. Este es el caso de *P. niveus* aislado de infecciones naturales en manzanas, donde puede causar deterioro poscosecha y acumulación de patulina [69]. Las especies del género *Paecilomyces* pueden diferir en cuanto a su compatibilidad con los fungicidas, lo que, sin embargo, también puede producirse con diferentes cepas de la misma especie debido a diferencias genéticas [70,71]. Aunque los resultados obtenidos en el laboratorio pueden no confirmar los de los experimentos de campo, debido a la mayor severidad de los ensayos *in vitro*, nuestros resultados indican que *P. variotii* puede ser compatible con muchos de los fungicidas probados en cuanto a efectos fungistáticos o reducción de las tasas de crecimiento.

De los 24 fungicidas probados, solo 4 fueron incompatibles a las dosis mínimas recomendadas y 6 a las dosis máximas. Por lo tanto, estos productos pueden interferir con el control biológico exitoso de *P. variotii*, particularmente cuando se usan mezclas de fungicidas con diferentes modos de acción, que mostraron un 100 % de inhibición fúngica con efectos fungicidas sobre *P. variotii* en tres de las formulaciones probadas. En cuanto a los fungicidas con un ingrediente activo, solo iprodiona, pirimetanil y etridiazol actuaron como fungicidas en el rango de dosis autorizado. Otros productos que inhibían completamente el crecimiento, como el tetraconazol, el hidróxido de cobre y el oxicloruro de cobre, no eran biocidas.

Er y Gökçe [72] obtuvieron resultados similares al aplicar iprodiona a 500 ppm de ingrediente activo a un aislado de *Paecilomyces fumosoroseus*, aunque se observó una reducción del 51 % en el crecimiento del micelio usando un aislado diferente. Loureiro et al., [73] clasificaron el efecto de la iprodiona sobre *P. fumosoroseus* como tóxico a 500 ppm y muy tóxico a 750 ppm; Bingo-Daniels et al. [69] analizaron la compatibilidad de 30 aislamientos de *P. niveus* con el fungicida pirimetanil para determinar la dosis efectiva de fungicida a la que se inhibió el crecimiento en un 50% (EC50). Los valores de EC50 oscilaron entre 29 % y 109 % y fueron más altos en los aislados de cultivos. En el estudio actual, la dosis más baja probada (D1; 100 ppm) inhibió completamente el crecimiento, aunque sin efecto fungicida, lo que solo se produjo con dosis más altas. En contraste, el estudio de Gallego-Velásquez et al., [74] muestra que la aplicación de etidiazol a 350 ppm inhibió completamente el crecimiento de *P. lilacinum*. En nuestro estudio, se produjo una inhibición completa del crecimiento de *P. variotii* con la dosis D3 (1440 ppm), y se observó una inhibición del crecimiento superior al 92 % solo con 960 y 480 ppm.

Otros estudios mostraron que el hidróxido de cobre a 1660 y 2592 ppm en cultivo con *P. fumosoroseus* resultó en una inhibición del crecimiento de aproximadamente 9 % y 82 %, respectivamente [75], mientras que Dermici y Denihan [76] observaron una concentración inhibitoria mínima de > 5000 ppm para *P. lilacinus*. El oxicloruro de cobre a 1500 ppm inhibió completamente el crecimiento de *P. lilacinus* [76]; sin embargo, se encontró una inhibición de solo el 44,1 % usando oxicloruro de cobre a 4200 ppm. En el estudio actual, el oxicloruro de cobre inhibió por completo el crecimiento de *P. variotii* en todas las dosis, y el hidróxido de cobre hizo lo mismo en la dosis más alta, siendo ambos compuestos fueron fungistáticos. Por el contrario, Ondráčková et al. [76] observaron una inhibición del crecimiento del 79,6 % en *P. lilacinus* tratado con mancozeb a 1500 ppm; la dosis más baja probada en nuestro estudio fue de 800 ppm, lo que resultó en una inhibición > 90 %, y no fue fungicida en ninguna de las dosis probadas. Los fungicidas pencycuron y propamocarb fueron compatibles con *P. variotii* en todas las dosis probadas. Estos resultados corroboran los de estudios previos sobre los efectos de pencycuron a 540 ppm [77] y propamocarb a 1042,5 ppm [74] en *P. lilacinus*.

El presente estudio demostró una alta capacidad de *P. variotii* CDG33 para reducir la gravedad de las enfermedades causadas por diferentes fitopatógenos aéreos y del suelo *in vivo*, aunque algunos patógenos mostraron una inhibición muy limitada *in vitro*, según un estudio previo [78]. El género *Paecilomyces* es más conocido por su papel como hongo entomopatógeno y nematófago; sin embargo, otros hallazgos también respaldan el uso de *Paecilomyces* para prevenir o tratar enfermedades fúngicas [79]. En este sentido, *P. variotii* se ha descrito previamente como un ACB en experimentos *in vivo* en los que la aplicación de este antagonista microbiano redujo la colonización de plántulas de girasol por *M. phaseolina* [28]. Del mismo modo, Maitlo et al. [26] mostró una reducción significativa en la gravedad de la enfermedad causada por *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* del 80 % (control) al 6 % y 36 % tras la aplicación de *P. variotii* y *P. lilacinus*, respectivamente. Por el contrario, los porcentajes de inhibición *in vitro* de *P. tenuis* fueron descritos previamente [80], los cuales son similares a los observados en nuestro estudio, en particular respecto a *R. solani* (28 %) y *F. oxysporum* (51 %), aunque fueron utilizados a concentraciones menores de *Pythium* sp. (24 %).

No se observó ningún efecto inhibitorio sobre fitopatógenos a través de metabolitos volátiles. Un estudio anterior mostró una inhibición *in vitro* de *B. cinerea* en aproximadamente un 43 % debido a *P. variotii* [21], que es menor que el efecto de inhibición ejercido por el aislado CDG33 de *P. variotii*, y este estudio sugirió una reducción significativa en la podredumbre del kiwi causada por *Botrytis*, que fue más efectiva que el fungicida convencional vinclozolin. Valores similares de antagonismo *in vitro* (44 %) de *Paecilomyces* sp. fueron observados en un estudio realizado por Marín-Chacón et al. [81].

5. Conclusiones

De acuerdo con nuestros resultados, la aplicación del ascomiceto *P. variotii* CDG33 como agente preventivo y/o controlador de enfermedades fúngicas de las plantas puede ser una alternativa viable al uso de compuestos sintéticos convencionales. Estos conocimientos pueden ayudar a reducir la cantidad de agroquímicos usados que pueden filtrarse en otros ecosistemas y, por lo tanto, ayudarán a reducir la carga ambiental de la agricultura.

Referencias

1. Romanazzi, G.; Smilanick, J.L.; Feliziani, E.; Droby, S. Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. *Postharvest Biol. Technol.* **2016**, *113*, 69–76.
2. Romeralo, C.; Santamaría, O.; Pando, V.; Diez, J.J. Fungal endophytes reduce necrosis length produced by *Gremmeniella abietina* in *Pinus halepensis* seedlings. *Biol. Control* **2015**, *80*, 30–39.
3. Xiong, W.; Li, R.; Ren, Y.; Liu, C.; Zhao, Q.; Wu, H.; et al. Distinct roles for soil fungal and bacterial communities associated with the suppression of vanilla *Fusarium* wilt disease. *Soil Biol. Biochem.* **2017**, *107*, 198–207.
4. Gastavsson, J.; Cederberg, C.; Sonesson, U. Global food losses and food waste. *Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome* **2011**. 37.
5. Savary, S.; Ficke, A.; Aubertot, J.N.; Hollier, C. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. *Food Secur.* **2012**, *4*, 519–537.
6. Sellem, I.; Triki, M.A.; Elleuch, L.; Cheffi, M.; Chakchouk, A.; Smaoui, S.; Mellouli, L. The use of newly isolated *Streptomyces* strain TN258 as potential biocontrol agent of potato tubers leak caused by *Pythium ultimum*. *J. Basic Microbiol.* **2017**, *57*(5), 393–401.
7. Li, H.; Guan, Y.; Dong, Y.; Zhao, L.; Rong, S.; Chen, W., et al. Isolation and evaluation of endophytic *Bacillus tequilensis* GYLH001 with potential application for biological control of *Magnaporthe oryzae*. *PloS one* **2018**, *13*(10), e0203505.
8. Samson, R.A.; Houbraken, J.; Varga, J.; Frisvad, J.C. Polyphasic taxonomy of the heat resistant ascomycete genus *Byssochlamys* and its *Paecilomyces* anamorphs. *Persoonia* **2009**, *22*, 14.
9. Nguyen, T.T.T.; Paul, N.C.; Lee, H.B. Characterization of *Paecilomyces variotii* and *Talaromyces amestolkiae* in Korea based on the morphological characteristics and multigene phylogenetic analyses. *Mycobiology* **2016**, *44*(4), 248–259.

10. Houbraken, J.; Varga, J.; Rico-Munoz, E.; Johnson, S.; Samson, R.A. Sexual reproduction as the cause of heat resistance in the food spoilage fungus *Byssochlamys spectabilis* (anamorph *Paecilomyces variotii*). *Appl. Environ. Microbiol.* **2008**, *74*(5), 1613–1619.
11. Houbraken, J.; Samson, R.A.; Frisvad, J.C. (2006). *Byssochlamys*: significance of heat resistance and mycotoxin production. In *Advances in Food Mycology*, 211–224. Springer, Boston, MA.
12. Samson, R.A.; Houbraken, J.; Summerbell, R.C.; Flannigan, B.; Miller, J.D. Common and important species of fungi and actinomycetes in indoor environments. In *Microorganisms in home and indoor work environments: diversity, health impacts, investigation and control*. **2002**, 285–473.
13. He, J.; Kang, J.; Lei, B.; Wen, T. *Paecilomyces wawuensis*, a new species isolated from soil in China. *Mycotaxon* **2011**, *115*(1), 303–310.
14. Hussain, A.; Shrivastav, A.; Jain, S.K.; Baghel, R.K.; Rani, S.; Agrawal, M.K. Cellulolytic enzymatic activity of soft rot filamentous fungi *Paecilomyces variotii*. *Adv. Biores.* **2012**, *3*(3), 10–17.
15. Marante, F.J.T.; Mioso, R.; Barrera, J.B.; González, J.E.G.; Rodríguez, J.J.S.; De Laguna, I.H.B. Structural characterization and metabolite profiling of the facultative marine fungus *Paecilomyces variotii*. *Ann. Microbiol.* **2012**, *62*(4), 1601–1607.
16. Silva, M.O.; Kawai, K.; Hosoe, T.; Takaki, G.C.; Gusmão, N.B.; Fukushima, K. Viriditoxin, an antibacterial substance produced by mangrove endophytic fungus *Paecilomyces variotii*. In *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education* **2013**, 2, 1406–1411.
17. Steiner, B.; Aquino, V.R.; Paz, A.A.; Silla, L.M.D.R.; Zavascki, A.; Goldani, L.Z. *Paecilomyces variotii* as an emergent pathogenic agent of pneumonia. *Case Reports in Infectious Diseases* **2013**, 273848.
18. Li, X.Q.; Xu, K.; Liu, X.M.; Zhang, P.A. Systematic review on secondary metabolites of *Paecilomyces* species: Chemical diversity and biological activity. *Planta Med.* **2020**, *86*(12), 805–821.
19. Moreno-Gavíra, A.; Huertas, V.; Diánez F.; Sánchez-Montesinos, B.; Santos, M. *Paecilomyces* and its importance in the biological control of agricultural pests and diseases. *Plants* **2020**, *9*, 1746.
20. Ui, H.; Shiomi, K.; Suzuki, H.; Hatano, H.; Morimoto, H.; Yamaguchi, Y. et al. Paecilaminol, a new NADH-fumarate reductase inhibitor, produced by *Paecilomyces* sp. FKI-0550. *J. Antibiot.* **2006**, *59*(9), 591–596.
21. Pratella, G.C.; Mari, M. Effectiveness of *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Paecilomyces* in postharvest fruit protection. *Postharvest Biol. Technol.* **1993**, *3*(1), 49–56.
22. Zhang, P.; Li, X.M.; Wang, J.N.; Wang, B.G. Oxepine-containing dикетопиеразин alkaloids from the algal-derived endophytic fungus *Paecilomyces variotii* EN-291. *Helv. Chim. Acta* **2015**, *98*(6), 800–804.
23. Rodrigo, S.; Santamaría, O.; Halecker, S.; Lledó, S.; Stadler, M. Antagonism between *Byssochlamys spectabilis* (anamorph *Paecilomyces variotii*) and plant pathogens: Involvement of the bioactive compounds produced by the endophyte. *Ann. Appl. Biol.* **2017**, *171*(3), 464–476.
24. Suárez-Estrella, F.; Arcos-Nievas, M.A.; López, M.J.; Vargas-García, M.C.; Moreno, J. Biological control of plant pathogens by microorganisms isolated from agro-industrial composts. *Biol. Control* **2013**, *67*(3), 509–515.

25. Arora, K.; Sharma, S.; Krishna, S.B.; Adam, J.K.; Kumar, A. Non-edible Oil cakes as a novel substrate for DPA production and augmenting biocontrol activity of *Paecilomyces variotii*. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 753.
26. Maitlo, S.A.; Rajput, N.A.; Syed, R.N.; Khanzada, M.A.; Rajput, A.Q.; Lodhi, A.M. Microbial control of *Fusarium* wilt of chickpea caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Pak. J. Bot.* **2019**, *51*(6), 2261–2268.
27. Ramzan, N.; Shahzad, S. Inhibition of *in vitro* growth of soil-borne pathogens by compost-inhabiting indigenous bacteria and fungi. *Pak. J. Bot.* **2014**, *46*(3), 1093–1099.
28. Anis, M.; Abbasi, M.W.; Zaki, M.J. Bioefficacy of microbial antagonists against *Macrophomina phaseolina* on sunflower. *Pak. J. Bot.* **2010**, *42*, 2935–2940.
29. Khanzada, M.; Shah, G.S. *In-vitro* evaluation of fungicides, plant extracts and bio-control agents against rice blast pathogen *Magnaporthe oryzae* couch. *Pak. J. Bot.* **2012**, *44*(5), 1775–1778.
30. Mohammadi, S.; Soltani, J.; Piri, K. (O). Soilborne and invertebrate pathogenic *Paecilomyces* species show activity against pathogenic fungi and bacteria. *J. Crop Prot.* **2016**, *5*(3), 377–387.
31. Al-Sheikh, H.; Abdelzaher, H.M.A. Isolation of *Aspergillus sulphureus*, *Penicillium islandicum* and *Paecilomyces variotii* from agricultural soil and their biological activity against *Pythium spinosum*, the damping-off organism of soybean. *J. Biol. Sci.* **2010**, *10*(3), 178–189.
32. Amrina, H.; Shahzad, S.; Siddiqui, Z.S. Photochemistry of *Luffa cylindrica* (L.) Roem under fungal biocontrol interaction. *Photosynthetica* **2018**, *56*(2), 743–749.
33. Perveen, Z.; Ramzan, N.; Noreen, N.; Rajput, A.Q.; Shahzad, S. *In vitro* evaluation of biocontrol potential of *Paecilomyces* species against *Sclerotium rolfsii* and *Pythium aphanidermatum*. *Int. J. Biol. Biotechnol.* **2015**, *12*, 407–411.
34. Barakat, K.; Saleh, M. Bioactive betulin produced by marine *Paecilomyces* WE3-F. *J. Appl. Pharm. Sci.* **2016**, *6*, 34–40.
35. Liu, J.; Li, F.; Lee, Y.M.; Li, J.L.; Hong, J.K.; Yoon, W.D.; Jung, J.H. An anacardic acid analog from the jellyfish-derived fungus *Paecilomyces variotii*. *Nat. Prod. Sci.* **2012**, *18*(1), 8–12.
36. Varma, P.K.; Gandhi, S.K.; Surender, S. Biological control of *Alternaria solani*, the causal agent of early blight of tomato. *J. Biol. Control* **2008**, *22*(1), 67–72.
37. Sarfaraz, H.; Tariq, M.; Dawar, S. Utilization of microbial antagonists with *Thuja orientalis* L. for the control of pathognic fungi. *Int. J. Biol. Res.* **2017**, *5*(1), 15–20.
38. Lu, C.; Liu, H.; Jiang, D.; Wang, L.; Jiang, Y.; Tang, S.; Chu, Z. *Paecilomyces variotii* extracts (ZNC) enhance plant immunity and promote plant growth. *Plant Soil* **2019**, *441*(1–2), 383–397.
39. Herrera, I.; Toledo, F.J.; Mioso, R. Enzymes and bioproducts produced by the ascomycete fungus *Paecilomyces variotii*. *J. Appl. Microbiol.* **2015**, *119*(6), 1455–1466.
40. Liu, J.; Li, F.; Kim, E.L.; Li, J.L.; Hong, J.; Bae, K.S.; Jung, J.H. Antibacterial polyketides from the jellyfish-derived fungus *Paecilomyces variotii*. *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*(8), 1826–1829.
41. Horn, W.S.; Kurtz, M.B.; Liesch, J.M.; Smith, J.L.; Martin, I.; Vicente, F. Antibiotic eicosenoic acids and their manufacture with *Paecilomyces variotii*. *US Patent* **1993**.
42. Terekhova, L.P.; Trenin, A.S.; Ozerskaya, S.M.; Rudenskaya, Y.A.; Maksimova, T.S.; Katrukha, G.S.; Kosykh, V.A. B synthesis of ascofuranone by the fungus *Paecilomyces variotii* Bainier. *Микробиология* **1997**, *66*(5), 611–615.

43. Martinková, M.; Gonda, J.; Raschmanová, J.Š.; Slaninková, M.; Kuchár, J. Total synthesis of a protected form of sphingofungin E using the [3, 3]-sigmatropic rearrangement of an allylic thiocyanate as the key reaction. *Carbohydr. Res.* **2010**, *345*(17), 2427–2437.
44. Degenkolb, T.; Vilcinskas, A. Metabolites from nematophagous fungi and nematicidal natural products from fungi as an alternative for biological control. Part I: metabolites from nematophagous ascomycetes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2016**, *100*(9), 3799–3812.
45. Abbas, Z.; Siddiqui, B.S.; Shahzad, S.; Sattar, S.; Begum, S.; Batool, A.; Choudhary, M.I. Lawsozaheer, a new chromone produced by an endophytic fungus *Paecilomyces variotii* isolated from Lawsonia Alba Lam. inhibits the growth of *Staphylococcus aureus*. *Nat. Prod. Res.* **2020**, 1–6.
46. Kanai, Y.; Fujimaki, T.; Kochi, S.I.; Konno, H.; Kanazawa, S.; Tokumasu, S. Paeciloxazine, a novel nematicidal antibiotic from *Paecilomyces* sp. *J. Antibiot.* **2004**, *57*(1), 24–28.
47. Hegde, V.R.; Silver, J.; Patel, M.; Gullo, V.P.; Puar, M.S.; Das, P.R.; Loebenberg, D. Novel fungal metabolites as cell wall active antifungals. *J. Antibiot.* **2003**, *56*(5), 437–447.
48. Zhang, P.; Li, X.M.; Mao, X.X.; Mádi, A.; Kurtán, T.; Wang, B.G. Varioloid A, a new indolyl-6, 10b-dihydro-5aH-[1] benzofuro [2, 3-b] indole derivative from the marine alga-derived endophytic fungus *Paecilomyces variotii* EN-291. *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*(1), 2012–2018.
49. López-Fernández, S.; Campisano, A.; Schulz, B. J.; Steinert, M.; Stadler, M.; Surup, F. Viriditins from *Byssochlamys spectabilis*, their stereochemistry and biosynthesis. *Tetrahedron Lett.* **2020**, *61*(5), 151446.
50. Hyung, J.J.; Kang, H.; Joong, J.J.; Soo, K.Y. *Paecilomyces variotii* extracts for preventing and treating infections caused by fish pathogenic microorganisms. *KR Patent* **2013**, *2013051523*.
51. Moreno-Gavíra, A.; Diánez, F.; Sánchez-Montesinos, B.; Santos, M. *Paecilomyces variotii* as a plant-growth promoter in horticulture. *Agronomy* **2020a**, *10*, 597.
52. Santos, M.; Díanez, F.; Gonzalez del Valle, M.; Tello, J.C. Grape marc compost: microbial studies and suppression of soil-borne mycosis in vegetable seedlings. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2008**, *24*, 1493–1505.
53. Novak, N.G.; Perez, F.G.; Jones, R.W.; Lawrence, S.D. Detached leaf assays to simplify gene expression studies in potato during infestation by chewing insect *Manduca sexta*. *J. Vis. Exp.* **2019**, 147.
54. Patial, M.; Kumar, J.; Pal, D. Detached leaf assay for evaluating resistance to leaf rust Pst. 104-2 in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Indian J. Exp. Biol.* **2017**, *55*(11), 789–794.
55. Díanez, F.; Santos, M.; Blanco, R.; Tello, J.C. Fungicide resistance in *Botrytis cinerea* isolates from strawberry crops in huelva (Southwestern Spain). *Phytoparasitica* **2002**, *30*(5), 529–534.
56. Nene, Y. L., & Thapliyal, R. N. Evaluation of fungicides for plant disease control. 3rd edition, IBH Pub. Co. New Dehli. **1993**, 33.
57. Viñuela, E.; Jacas, J.A.; Marco, V.; Adan, A.; Budia, F. Los efectos de los plaguicidas sobre los organismos beneficiosos en agricultura. Grupo de trabajo de OILB plaguicidas y organismos beneficiosos. I. Insecticidas y acaricidas. *Phytoma* **1993**, 45,18–25.
58. Marín, F.; Díanez, F.; Santos, M.; Carretero, F.; Gea, F.J.; Castañeda, C.; Navarro, M.J.; Yau, J.A. Control of *Phytophthora capsici* and *Phytophthora parasitica* on pepper (*Capsicum annuum* L.) with compost teas from different sources, and their effects on plant growth promotion. *Phytopathol. Mediterr.* **2014**, *53*, 216–228.
59. Chen, Y.; Wang, D. Two convenient methods to evaluate soybean for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Dis.* **2005**, *89*, 1268–1272.

60. Adebola, M.O.; Amadi, J.E. Antagonistic activities of *Paecilomyces* and *Rhizopus* species against the cocoa black pod pathogen (*Phytophthora palmivora*). *Afr. Sci.* **2010**, *11*(4), 235–239.
61. Comby, M.; Gacoin, M.; Robineau, M.; Rabenoelina, F.; Ptas, S.; Dupont, J.; Bailliieul F. Screening of wheat endophytes as biological control agents against *Fusarium* head blight using two different *in vitro* tests. *Microbiol. Res.* **2017**, *202*, 11–20.
62. Basset-Manzoni, Y.; Joly, P.; Brutel, A.; Gerin, F.; Soudière, O.; Langin, T.; Prigent-Combaret, C. Does *in vitro* selection of biocontrol agents guarantee success in planta? A study case of wheat protection against *Fusarium* seedling blight by soil bacteria. *Plos One* **2019**, *5*, 2–18.
63. Mioso, R.; Marante, F.J.T.; De Laguna, I.H.B. The chemical diversity of the ascomycete fungus *Paecilomyces variotii*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2015**, *177*(4), 781–791.
64. Dai, Z.B.; Wang, X.; Li, G.H. Secondary Metabolites and their bioactivities produced by *Paecilomyces*. *Molecules* **2020**, *25*, 5077.
65. Aronson J.; Pereira J.S.; Pausas J.G. Cork oak Woodlands on the edge. ecology, adaptative management and restoration. Washington DC, USA, Island Press **2009**.
66. Houben, J.; Verweij, P.E.; Rijs, A.J.M.M.; Borman, A.M.; Samson, R.A. Identification of *Paecilomyces variotii* in clinical samples and settings. *J. Clin. Microbiol.* **2010**, *48*(8), 2754–2761.
67. Chamilos, G.; Kontoyiannis, D.P. Voriconazole-resistant disseminated *Paecilomyces variotii* infection in a neutropenic patient with leukaemia on voriconazole prophylaxis. *Clin. Case Rep.* **2005**, *51*(4), 225–228.
68. Aguilar, C.; Pujol, I.; Sala, J.; Guarro J. Antifungal susceptibilities of *Paecilomyces* species. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*(7), 1601–1604.
69. Biango-Daniels, M.N.; Ayer, K.M.; Cox, K.D.; Hodge, K.T. *Paecilomyces niveus*: Pathogenicity in the orchard and sensitivity to three fungicides. *Plant Dis.* **2019**, *103*, 125–131.
70. Cantone, F.A.; Vandenberg J.D. Intraspecific diversity in *Paecilomyces fumosoroseus*. *Mycol. Res.* **1998**, *102*, 209–215.
71. Tigano-Milani, M.S.; Honeycutt, R.J.; Lacey, L.A.; Assis, R.; McClelland, M.; Sobral B.W.S. Genetic variability of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates revealed by molecular markers. *J. Invertebr. Pathol.* **1995**, *65*, 274–282.
72. Er, M.K.; Gökçe, A. Effects of selected pesticides used against glasshouse tomato pests on colony growth and conidial germination of *Paecilomyces fumosoroseus*. *Biol. Control* **2004**, *31*, 398–404.
73. Loureiro, E.; Moino, A.; Arnosti, A.; De Souza, G. Efeito de productos fitossanitarios químicos utilizados em alfase e crisantemo sobre fungus enomopatogenicos. *Neotrop. Entomol.* **2002**, *31*(2), 263–269.
74. Gallego-Velásquez, J.; Cardona-Bustos, N.L.; Restrepo-Betancur, F. Compatibility of the entomopathogenic fungus *Purpureocillium* sp. cepa UdeA0106 with biocontrollers fungi and plant protection products, used on chrysanthemum crops. *Act. Biol.* **2014**, *36*(101), 173–187.
75. Avery P.B.; Pick D.A.; Aristizábal L.F.; Kerrigan J.; Powell C.A.; Rogers M.E.; Arthurs S.P. Compatibility of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: *Cordycipitaceae*) blastospores with agricultural chemicals used for management of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: *Liviidae*). *Insects* **2013**, *4*, 694–711.
76. Ondráèková, E.; Seidenglanz, M.; Šafão, J. Effect of seventeen pesticides on mycelial growth of *Akanthomyces*, *Beauveria*, *Cordyceps* and *Purpureocillium* strains. *Czech Mycol.* **2019**, *71*(2), 123–135.

77. Jacobs, H.; Gray, S.N.; Crump, D.H. Interactions between nematophagous fungi and consequences for their potential as biological agents for the control of potato cyst nematodes. *Mycol. Res.* **2003**, *107*(1), 47–56.
78. Diánez, F.; Santos, M.; Carretero, F.; Marín, F. *Trichoderma saturnisporum*: a new biological control agent. *J. Sci. Food Agric.* **2016**, *96*(6), 1934–1944.
79. Taufik, M.; Yusuf, D.N.; Boer, D.; Botek, M. () Evaluating the ability of endophyte fungus to control VSD diseases in cocoa seedling. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* **2019**, *382*(1), 012011.
80. Sornakili, A.; Thankappan, S.; Sridharan, A.P.; Nithya, P.; Uthandi, S. Antagonistic fungal endophytes and their metabolite-mediated interactions against phytopathogens in rice. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **2020**, *112*, 101525.
81. Marín-Chacón, M.A.; Rivera-Coto, G.; Villalobos-Moya, K.; Orozco-Rodríguez, R.; Orozco-Cayasso, S. Evaluación de hongos antagonistas de *Botrytis cinerea* Pers., en plantaciones de mora, Costa Rica. *Agron. Costarric.* **2017**, *41*(1), 7–18.

Conclusiones generales

Capítulo 1:

1. El género *Paecilomyces* se ha descrito ampliamente como ACB frente a bacterias, hongos y nematodos, así como frente a artrópodos, que actúan como enfermedades o plagas vegetales y animales.
2. Este efecto biocontrol frente a estos agentes patógenos se atribuye a mecanismos tanto directos (antibiosis, competición y parasitismo), como indirectos (resistencia sistémica inducida).

Capítulo 2:

1. *P. variorii* se desarrolló y esporuló correctamente en todas las combinaciones probadas. Los mejores resultados se obtuvieron para la proporción 70 - 30 - 20 % (trigo sarraceno - avena - agua), alcanzando valores de $1,24 \times 10^8$ CFU g⁻¹.
2. En cuanto a los atributos promotores del crecimiento de las plantas, *P. variotii* es capaz de sintetizar sideróforos en medio CAS agar. Por su parte, la producción de AIA mostró valores de 0,049 mg mL⁻¹, actuando el aminoácido L-triptófano como precursor de esta hormona. Finalmente, para la solubilización de P, no se observó actividad en medio sólido, mientras que en medio líquido se produjo una solubilización del 20,1 % del fosfato inicial.
3. *P. variotii* mejoró el porcentaje de germinación de semillas, longitud de raíz y brotes y el IVS en tomate, con incrementos del 18,23 y 17,85 % para la longitud de raíz y brotes respectivamente. Sin embargo, este efecto no fue visible para las semillas de pimiento, obteniendo valores similares a los tratamientos control.
4. A diferencia del apartado anterior, los parámetros de crecimiento evaluados en plántulas mostraron los mejores resultados para el pimiento. Tras la aplicación de *P. variotii*, casi la totalidad de los parámetros evaluados se mejoraron, con incrementos entre el 4,9 - 18,2 % y 0,8 - 10,7 %, para plántulas de pimiento y tomate respectivamente.
5. Para las 3 dosis de *P. variotii* evaluadas, los mejores resultados se alcanzaron con la tercera dosis (10^6 CFU mL⁻¹). Para esta dosis se incrementaron todos los parámetros (salvo la longitud del tallo y el peso seco de la raíz) respecto del control, mostrando valores entre 15,7 - 46,2 %.
6. *P. variotii* fue capaz de colonizar endófiticamente tanto las plantas inoculadas de tomate como las de pimiento.

Capítulo 3:

- *P. variorii* inhibió el crecimiento micelial *in vitro* de todos los hongos fitopatógenos probados, observándose los mayores porcentajes de inhibición frente a *P. aphanidermatum* (82,0 %) y *F. solani* (73,9 %).
- Los metabolitos sintetizados *in vitro* por *P. variotii* mostraron poco o ningún efecto sobre los hongos fitopatógenos probados. Los metabolitos volátiles únicamente inhibieron el crecimiento de *M. melonis* en un 5 y 7 %, para las lecturas 1 y 2, respectivamente; y de *F. solani* con una inhibición del 3,2 % en la última lectura. En cuanto a los metabolitos no volátiles, la inhibición solo se hizo patente para *F. solani* con valores de entre 1,7 - 12 % a concentraciones del 10 y 15 %, para todos los tiempos de incubación estudiados.
- En los ensayos de hoja desprendida, *P. variotii* inhibió totalmente el crecimiento de los 3 hongos probados (*B. cinerea*, *S. sclerotiorum* y *M. melonis*), al igual que el fungicida químico. Por su parte, las hojas control mostraron un valor máximo de incidencia para todas las especies fúngicas.
- Para todos los patosistemas, la severidad de las enfermedades disminuyó en aquellas plantas inoculadas con *P. variotii*. Las reducciones obtenidas fueron del 78,00 % (*M. melonis*); 75,80 % (*P. xanthii*); 44,00 % (*B. cinerea*); 38,88 % (*S. sclerotiorum*); 37,20 % (*R. solani*); 31,11 % (*P. aphanidermatum*); y 28,57 % (*F. solani*). Como podemos observar, a diferencia de los ensayos *in vitro*, *P. aphanidermatum* y *F. solani* mostraron los valores más bajos de inhibición.
- El crecimiento micelial de *P. variotii* se vio reducido por todos los fungicidas y dosis evaluados. De los 24 fungicidas probados (para las dosis mínima y máxima recomendadas) 2 fueron inocuos (Pencicuron y Propamocarb), 6 fueron ligeramente tóxicos (Dietofencarb, Triadimenol, Miclobutanol, Azoxistrobina, Kresoxim-metil y Fosetyl-Al), 4 fueron moderadamente tóxicos (Metil-Tiofanato, Flutriafol, Clorotalonil y Cimoxanilo), y 10 fueron tóxicos (Iprodiona, Tetraconazol, Pirimetanil, Etridiazol, Oxicloruro de cobre, Mancozeb, Ciprodinilo + Fludioxonil, Folpet + Metalaxil-M, Dimetomorf + Mancozeb y Benalaxil + Cimoxanil + Mancozeb). Solo dos fungicidas (Fenhexamida e Hidróxido de cobre) mostraron un comportamiento diferente a las dosis máxima y mínima

Anexos

Anexos

Anexo I: Sustancias activas excluidas del Anexo I de la Directiva 91/414/CEE

https://www.mapa.gob.es/agricultura/pags/fitos/registro/fichas/pdf/Lista_Sustancias_activas_aceptadas_excluidas.pdf

Materia activa	Estado	Materia activa	Estado	Materia activa	Estado	Materia activa	Estado
2-aminobutano	-	Clorofacinona	(ex)	Flutriafol	(nr)	<i>P. gigantea</i> Cepa: FOC PG SH 1	(ex)
2-NOA	(v)	Cloropicrina	(rv)	Fomesafen	(n)	<i>P. gigantea</i> Cepa: FOC PG B22/SP1190/3.2	(ex)
4-CPA	(n)	Clorotalonil	(nr)	Fonofos	(n)	Picoxistrobina	(nr)
Acefato	-	Cloruro de calcio	(ex)	Forato	(n)	Pimetrozina	(nr)
Aceite de cacahuete	(n)	Cloruro didecidimetilamonio	(nr)	Formotion	(n)	Pimienta	(n)
Aceite de coco	(n)	Clorpirifos	(nr)	Fosalone	(ex)	Piraclofos	(n)
Aceite de maíz	(n)	Clorprofam	(nr)	Fosfamidon	(n)	Pirazofos	-
Aceite de soja etoxilado	(n)	Clortal-dimetil	(v)	Fosfuro de calcio	(nr)	Piridafenton	(n)
Aceite de huesos	(ex)	Clotianidina	(nr)	Foxim	(n)	Piridafol*	(i)
Aceite de petróleo	(v)	Clozolinato	-	Fuberidazol	(n)	Pirifenox	(n)
Aceite de pescado	(n)	Cuasia	(rv)	Furatiocarb	(n)	Pirimifos-etil	(n)
Aceite parafínico (CAS 64742-54-7)	(ex)	Cumacloro	(n)	Guazatina	(rv)	Piroquilona	(n)
Acetato amónico	(ex)	Cumatetralilo	(n)	Glufosinato amónico	(n)	Polioxina	(n)
Acetocloro	(ex)	1,3-Dicloropropeno (**)	(ex)	Haloxifop	(n)	Polisulfuro de bario	(n)
Ácido cianhídrico	(n)	Delta-endotoxina BT	(n)	Heptenofos	(n)	Profam	-
Ácido cresílico	(n)	Demeton-S-metilsulfona	(n)	Hexaconazol	(i)	Profenofos	(n)
Ácido fólico	(ex)	Desmedifam	(nr)	Hexaflumuron	(n)	Prometrina	(n)
Ácido fosfórico	(n)	Desmetrina	(n)	Hexazinona	(n)	Propaclor	(ex)
Ácido indolilacético	(rv)	Diazinon	(ex)	Hidrocluro de trimetilamina	(n)	Propanil	(ex)
Ácido láctico	(n)	Diclobenil	(ex)	Hidroxi-MCPA	(n)	Propargita	(ex)
Ácido 2-naftiloxiacético	(ex)	Diclobutrazol	(n)	Hipoclorito de sodio	(nr)	Propiconazol	(nr)
Ácido propionico	(n)	Diclofluanida	(n)	Imazametabenz	(n)	Propisocloro	(ex)
Ácido sulfúrico	(ex)	Dicloran**	(ex)	Imazapir	(n)	Propineb	(nr)
Alacloro	(ex)	Diclorofeno	(n)	Imazaquin	(nr)	Propoxur	(n)
Alanicarb *	(i)	Diclorvos	(ex)	Imazetapir	(n)	Protiosfos	(n)
Alcoholes grasos	(rv)	Dicofol	(ex)	Imazosulfurón	(nr)	<i>Pseudomonas flocculosa</i>	(n)
Aldicarb	(n)	Dicuat	(nr)	Ioxinil	(nr)	Putrescina (1,4-diaminobutano)	(nr)
Aletrin	(n)	Dienocloro	(n)	Iprodiona	(nr)	Quinalfos	(n)
Aloxidim	(n)	Difenacum	(n)	Isofenfos	(n)	Quinclorac	(n)
Alquildimetilbenzilamonio (cloruro)	(n)	Difenilamina	(ex)	Isoprotiolano	(n)	Quinoclamina	(n)
Alquildimetiletilbencilmamonio (cloruro)	(n)	Difenzocuat	(n)	Isoproturón	(nr)	Quinometionato	(n)
Alquiltrimetilamonio (cloruro)	(n)	Difetialona	(n)	Ixoaktion	(n)	Quinoxifeno	(nr)
Alquiltrimetilbenzilamonio (cloruro)	(n)	Diflubenzurón	(nr)	Kasugamicina	(n)	Quintoceno	-

cilamonio (cloruro)						
Ametrina	(n)	Dimepiperato	(n)	Lindano Linuron	(nr)	Quinalofop-etil Repelente de aceite de resina
Amitraz	(n)	Dimetenamida	(ex)	Lufenurón	(n)	(ex)
Amitrol	(nr)	Dimetipin	(ex)	Mancoceb	(nr)	Resmetrin
Ancimidol	(n)	Dimetirimol	(n)	Maneb	(nr)	Rotenona
Anetol	(ex)	Dimetoato	(nr)	Mecarbam	(n)	S,S,S-tributil fosforotritoato
Anilazina	(n)	Diniconazol-M	(ex)	Mecoprop	(n)	Secbumetona
Antraquinona	(ex)	Dinitramina	(n)	Mefenacet	(n)	Setoxidim
Arsenito sódico	(n)	Dinobuton	(n)	Mefluidida	(i)	Silicato de sodio y aluminio
Asulam	(rv)	Dinoterb	-	Merfos (tributilfosforotri tioito)	(n)	Simazina
Atrazina	(n)	Diocilsulfosucci nato sodico	(n)	Metabenzotiazur on (i)		<i>S. exigua*</i> Cepa: NPV Florida
Azaconazol	(n)	Disulfoton	(n)	Metidation	(n)	<i>S. exigua*</i> Cepa: NPV BV0004
Azafenidim *	-	DNOC	-	Metil bromido	(ex)	<i>S. exigua*</i> Cepa: SeMNPV-SP2
Azinfos-etil	-	Diurón	(nr)	Metil Clorpirimifos	(nr)	Sulfotep
Azinfos-metil	(sdc)	Endosulfan	(ex)	Metil diclofop	(rv)	Sulprofos
Azocicloextan	(n)	Endotal	(n)	Metilenbistiocia nato	(n)	TCMTB
Azociclotina	(n)	Epoxiconazol	(n)	Metil-nonil- cetona	(n)	Tecnazeno
<i>Beauveria brogniartii</i>	(ex)	EPTC	(n)	Metiocarb	(nr)	Teflubenzurón
Benalaxil	(ex)	Escilirrosido	-	Metobromuron	(n)	Temefos
Benazolina	(n)	Espirodiclofen	(n)	Metolacloro	(n)	Tepraloxidim
Bendiocarb	(n)	Etaboxam*	(i)	Metomilo	(n)	Terbacilo
Benfuracarb (***)	(ex)	Etalfuralina	(rv)	Metopreno	(n)	Terbufos
Benfuresato	(n)	Etametsulfuron- metilo	(rv)	Metoxicloro	(n)	Terbumetona
Benodanilo	(n)	Etidimuron	-	Metoxuron	(n)	Terbutrina
Benomilo	-	Etiofencarb	(n)	Metsulfovax	(n)	Tetraborato sódico
Bensulida	(n)	Etion	(n)	Mevinfos	(n)	Tetraclorvinfos
Benzoilprop-etil	(n)	Etirimol	(n)	Molinato	(nr)	Tetradifon
Benzoximato	(n)	Etoprofos	(ex)	Monocarbamida dihidrogen sul	(ex)	Tetrametrin
Beta-ciflutrina	(nr)	Etoquiquina	(ex)	Monocrotophos	(n)	Tetratiocarbonato sodio
Beta- cipermetrina	(ex)	Etoxisulfurón	(ex)	Monolinuron	-	Tiametoxam
Bifentrina	(ex)	Extracto de algas marinas	(n)	Monoxido de carbono	(ex)	Tiazzafluron
Bioresmetrin	(n)	Extracto de Equisetum	(n)	MSMA	(n)	Tiazopir
Bitertanol	(ex)	Extracto de Reynoutria sachalinensis	(rv)	Nabam	(n)	Tidiazuron
Brodifacum	(ex)	Famoxadona	(nr)	Naled	(i)	Tiobencarb
Bromacilo	(n)	Fenamidona	(nr)	Naptalam	(n)	Tiocarbazil
Bromofenoxim	(n)	Fenamifos	(nr)	Nicotina	(ex)	Tiociclam
Bromopropilato	(n)	Fenaminosulf	(n)	Nitrotal- isopropil	(n)	Tiodicarb
Bromoxinil	(nr)	Fenfuram	(n)	Nonilfenol eter polioxietenglic ol	(n)	Tiofanato

Anexos

Bromuro de metilo	(ex)	Fenitrotron	(ex)	Nonilfenol etoxilado	(n)	Tiofanato-metil	(n)
Butacloro	(n)	Fenotiocarb	(n)	Norflurazona	(n)	Tiofanox	(n)
Butilato	(n)	Fenotrin	(n)	Nuarimol	(n)	Tiometon	(n)
Butocarboxim	(n)	Fenoxyaprop	(n)	Ofurace	(n)	Tiocianato de potasio	(n)
Butralina	(ex)	Fenpropatrin	(n)	Ometoato	(n)	Tiram	(nr)
Cadusafos**	(ex)	Fenpropimorf	(n)	Ortosulfamurón	(n)	Tolifluanida	(ex)
Carbaril	(ex)	Fentin-acetato	-	Oxadiargil	(ex)	Toliftalam	(n)
Carbendazima	(ex)	Fentin-hidroxido	-	Oxadixil	(n)	Tralkoxydim	(n)
Carbofurano**	(ex)	Fention	-	Oxasulfurón	(nr)	Tralometrin	(n)
Carbosulfan**	(ex)	Fentiosulf	(n)	Oxicarboxina	(n)	Triadimefon	(n)
Cianamida	(ex)	Fentoato	(n)	Oxidemeton-metil	(ex)	Triadimenol	(n)
Cianazina	(n)	Fenvalerato	-	Oxadiazon	(n)	Triasulfurón	(nr)
Ciclanilida	(ex)	Ferbam	-	Oxinato de cobre	(n)	Triazamato	(n)
Ciclaniliprol	(n)	Fipronil	(n)	Paraquat	(a)	Triazofos	(n)
Cicloato	(n)	Flamprop	(n)	Paration-etil	(ex)	<i>Trichoderma atroviride</i> Cepa: IMI 206040	(nr)
Ciflutrín	(ex)	Flamprop-M	(n)	Paration-metil	(ex)		Triciclamol
Cihalotrin	-	Flocumafen	(n)	Pebulato	(n)	Triclorfon	(ex)
Cihexatin	(ex)	Fluazolato *	(i)	Perfluidona	(n)	Tridemorf	(n)
Cinidon-etil	(ex)	Flubenzimina	(n)	Permanganato potásico	(ex)	Triflumizol	(n)
Cinosulfuron	(n)	Flucitrinato	(n)	Permetrin	-	Trifluralina	(ex)
Ciromazina	(ex)	Flufenoxuron	(ex)	<i>Phlebiopsis gigantea</i> Cepa: VRA 1985	(ex)	Triforina	(n)
Cloridazona	(ex)	Flumetalrina	(n)	<i>P. gigantea</i> Cepa: VRA 1986	(ex)	Vamidotion	(n)
Clorsulfurón	(n)	Fluosilicato de bario	(n)	<i>P. gigantea</i> Cepa: FOC PG B20/5	(ex)	Vernolato	(n)
Clorate	(ex)	Fluosilicato sodico	(n)	<i>P. gigantea</i> Cepa: FOC PG SP log 6	(ex)	Violeta de genciana	(n)
Clorfenapir *	-	Flupirsulfuron-metilo	(nr)	<i>P. gigantea</i> Cepa: FOC PG SP log 5	(ex)	Vinclozolina	(sdc)
Clorfenvinfos	(n)	Flurprimidol	(ex)	<i>P. gigantea</i> Cepa: FOC PG BU 3	(ex)	Warfarina	(ex)
Clorfluazuron	(n)	Flurtamona	(nr)	<i>P. gigantea</i> Cepa: FOC PG BU 4	(ex)	Yoduro de potasio	(ex)
Cloridrato de quinina	(n)	Flusilazol	(ex)	<i>P. gigantea</i> Cepa: FOC PG97/1062/116/ 1.1	(ex)	Zineb	-
Clormefos	(n)	Flusulfamida*	(i)	<i>P. gigantea</i> Cepa: FOC PG B22/SP1287/3.1	(ex)	ZYMV *	(i)

(n) No defendida la inclusión

(nr) No renovación

(i) Documentación insuficiente

(v) Votada la exclusión, pendiente de publicación

(sdc) Sin decisión comunitaria

(ex) Excluida de lista positiva

(a) Anulación de directiva de inclusión

(rv) Retirada voluntaria

(*) Sustancia activa nueva

(**) Presentada de nuevo (inclusión lista comunitaria)

Anexo II: Productos a base de microorganismos comercializados en España

<https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/productos-fitosanitarios/registro/productos/consusact.asp>

PRODUCTOS FITOSANITARIOS A BASE DE MICROORGANISMOS COMERCIALIZADOS EN ESPAÑA

Nombre comercial	Empresa comercializadora	Microorganismo (cepa)	Plaga/enfermedad objetivo
Blossom Protect	Bio-Ferm GmbH	<i>A. pullulans</i> (DSM 14940) + <i>A. pullulans</i> (DSM 14941)	<i>Botrytis</i> spp., <i>Erwinia</i> spp., <i>Penicillium</i> spp. y <i>Pezicula</i> spp.
Aureo Shield	Bio-Ferm GmbH	<i>A. pullulans</i> (DSM 14940) + <i>A. pullulans</i> (DSM 14941)	Hongos postcosecha
Botector	Bio-Ferm GmbH	<i>A. pullulans</i> (DSM 14940) + <i>A. pullulans</i> (DSM 14941)	<i>Botrytis</i> spp.
Taegro	Novozymes France S.A.S.	<i>B. amyloliquefaciens</i> (FZB24)	<i>Alternaria</i> spp., <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Erysiphe cichoraceaerum</i> , <i>Leveillula taurica</i> , <i>Oidium neolycopersici</i> , <i>P. infestans</i> y <i>Podsphaera xanthii</i>
Serifel	BASF Española S.L.U.	<i>B. amyloliquefaciens</i> (MBI 600)	<i>Botrytis</i> spp., <i>Trichoderma aggressivum</i> y <i>Sclerotinia</i> spp.
Integral pro	BASF Española S.L.U.	<i>B. amyloliquefaciens</i> (MBI 600)	<i>Leptosphaeria maculans</i> , <i>Phyllotreta</i> spp. y <i>Psylliodes chrysocephala</i>
Amylo-X WG	Mitsui Agriscience International S.A./N.V.	<i>B. amyloliquefaciens</i> (subesp. <i>plantarum</i> , D747)	Bacteriosis, <i>Botrytis</i> spp., <i>Erwinia</i> spp., <i>Monilinia</i> spp., <i>Podosphaera aphanis</i> , <i>Sclerotinia</i> spp. y <i>Stemphylium</i> spp.
Valcure	Mitsui Agriscience International S.A./N.V.	<i>B. amyloliquefaciens</i> (subesp. <i>plantarum</i> , D747)	<i>Botrytis</i> spp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Phoma</i> spp., <i>Phytophtora</i> spp., <i>P. aphanises</i> , <i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia</i> spp. y <i>Sclerotinia</i> spp.
Votivo	BASF Española S.L.U.	<i>B. firmus</i> (I-1582)	<i>Ditylenchus dipsaci</i> , <i>Heterodera schachtii</i> , <i>M. incognita</i> y <i>Pratylenchus</i> spp.
Flocter	Bayer Cropscience S.L.	<i>B. firmus</i> (I-1582)	Nematodos

Anexos

			<i>Erysiphe cichoracearum, E. necator, E. suffulta, L. taurica, Microsphaera grossulariae, O. neolyopersici, Sphaeroteca fuliginea, Sphaerotheca macularis y Sphaerotheca mors-uvae</i>
Sonata	Bayer Cropscience S.L.	<i>B. pumilus</i> (QST 2808)	
Serenade AS	Bayer Cropscience S.L.	<i>B. subtilis</i> (QST 713)	<i>Botrytis</i> spp.
Mildore	Investigaciones y Aplicaciones Biotecnologicas S.L.	<i>B. subtilis</i> (IAB/BS03)	<i>Bremia</i> spp., <i>E. cichoracearum, S. fuliginea</i> y <i>Venturia inaequalis</i>
Serenade ASO	Bayer Cropscience S.L.	<i>B. subtilis</i> (QST 713)	<i>Alternaria</i> spp., Bacteriosis, <i>B. cinerea, Cercospora</i> spp., <i>Colletotrichum</i> spp., <i>Erwinia</i> spp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Fusarium oxysporum, Monilinia</i> spp., <i>Mycosphaerella</i> spp., <i>Podosphaera</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Rhizoctonia</i> spp., <i>Sclerotinia</i> spp., <i>Sphaerotheca</i> spp., <i>Stemphylium</i> spp., y <i>Xanthomonas</i> spp.
Serenade MAX	Bayer Cropscience S.L.	<i>B. subtilis</i> (QST 713)	Bacteriosis, <i>Botrytis</i> spp., <i>Cercospora</i> spp., <i>Colletotrichum</i> spp., <i>Erwinia</i> spp., <i>Monilinia</i> spp., <i>Oidium mangiferae, Podosphaera</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Sclerotinia</i> spp., <i>Sphaerotheca</i> spp. y <i>Xanthomonas</i> spp.
Turex 50 WG	Mitsui Agriscience International S.A./B.V	<i>B. thuringiensis aizawai</i>	<i>Anarsia</i> spp., <i>C. pomonella, Eupoecilia ambiguella, Grapholita molesta, Heliotis</i> spp., <i>Hyponomeuta</i> spp., <i>Lobesia botrana, Lymantria monacha, Noctuidos, Ostrinia nubilalis, Pandemis</i> spp., <i>Pieris</i> spp., <i>Prays citri, Sparganothis pilleriana, Spodoptera</i> spp., <i>Thaumetopoea pityocampa y Tuta absoluta</i>
Florbac	Kenogard S.A	<i>B. thuringiensis aizawai</i> (ABTS-1857)	<i>Acrolepia assectella, Agrotis segetum, Capua reticulana, Chrysodeixis chalcites, C. pomonella, Depressaria erinaceella, Duponchelia fovealis, H. armigera, Mythimna unipunctata, Operophtera brumata, O. nubilalis, P. rapae, Phytometra gamma, Plusia</i> spp., <i>Plutella xylostella, S. exigua, S.</i>

			<i>littoralis, Trichoplusia ni, T. absoluta y Vanessa cardui</i>
Xentari GD	Kenogard S.A	<i>B. thuringiensis aizawai</i> (ABTS-1857)	<i>A. assectella, A. segetum, C. reticulana, C. chalcites, C. pomonella, D. erinaceella, D. fovealis, H. armigera, M. unipunctata, O. brumata, O. nubilalis, P. rapae, P. gamma, Plusia spp., P. xylostella, S. exigua, S. littoralis, T. ni, T. absoluta y V. cardui</i>
Gnatrol SC	Kenogard S.A	<i>B. thuringiensis israelensis</i> (AM65-52)	<i>Sciaridae spp.</i>
Delfin	Mitsui Agriscience International S.A./N.V.	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (SA-11)	<i>Adoxophyes orana, Anarsia lineatella, Cacoecia rosana, C. pomonella, E. ambiguella, L. botrana, P. citri, Prays oleae, T. absoluta y todo tipo de orugas</i>
Foray 48B	Kenogard S.A	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (CABTS-351)	<i>Choristoneura spp., Dendrolemus pini, D. superans, Euproctis chrysorrhoea, geométridos, Lymantria dispar, L. monacha, T. pityocampa, Malacosoma neustria, T. processionea, y Tortrix viridana</i>
Foray 76B	Kenogard S.A	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (CABTS-351)	<i>E. chrysorrhoea, L. dispar, T. pityocampa y T. viridana</i>
Biobit 32	Kenogard S.A	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (CABTS-351)	<i>Aglaope infausta, Autographa spp., C. rosana, C. pomonella, E. ambiguella, Helicoverpa spp., Hyponomeuta malinellus, L. botrana, L. dispar, P. citri, P. oleae y Spodoptera spp.</i>
Bazthu-32	Kenogard S.A	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (CABTS-351)	<i>Autographa gamma, Helicoverpa spp., Mythimna unipuncta, Spodoptera spp. y T. absoluta</i>
Geoda	Kenogard S.A	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (CABTS-351)	<i>A. infausta, A. gamma, C. rosana, C. pomonella, E. ambiguella, Helicoverpa spp., H. malinellus, L. botrana, L. dispar, M. unipuncta, P. citri, P. oleae, Spodoptera spp. y T. absoluta</i>
Bactur 2X	Kenogard S.A	<i>B. thuringiensis kurstaki</i>	<i>A. infausta, A. gamma, C. rosana, C.</i>

Anexos

		(CABTS-351)	<i>pomonella, E. ambiguella, Helicoverpa spp., H. malinellus, L. botrana, L. dispar, M. unipuncta, P. citri, P. oleae, Spodoptera spp. y T. absoluta</i>
Dipel DF	Kenogard S.A	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (CABTS-351)	<i>A. infausta, A. gamma, C. rosana, C. pomonella, E. ambiguella, Helicoverpa spp., H. malinellus, L. botrana, L. dispar, M. unipuncta, P. citri, P. oleae, Spodoptera spp. y T. absoluta</i>
Belthirul-S	Probelte S.A.U	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (PB-54)	<i>E. ambiguella, Helicoverpa spp. y L. botrana</i>
Bioscrop BT 32	Probelte S.A.U	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (PB-54)	<i>A. infausta, A. lineatella, Archips rosanus, Archips podanus, Argyrotaenia pulchellana, A. gamma, C. rosana, C. pomonella, Cydia molesta, E. ambiguella, H. armigera, H. malinellus, L. botrana, M. neustria, Orgya spp., Pieris spp., P. citri, P. oleae, P. xylostella y Spodoptera spp.</i>
Epsilon	Probelte Factories S.A.U.	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (PB-54)	<i>A. infausta, A. lineatella, A. rosanus, A. podanus, A. pulchellana, A. gamma, C. rosana, C. pomonella, C. molesta, E. ambiguella, H. armigera, H. malinellus, L. botrana, M. neustria, Orgya spp., Pieris spp., P. citri, P. oleae, P. xylostella y Spodoptera spp.</i>
Merger	Corteva Agriscience Spain, S.L.U.	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (PB-54)	<i>A. lineatella, A. rosanus, A. podanus, A. pulchellana, A. gamma, C. rosana, C. pomonella, C. molesta, E. ambiguella, H. armigera, H. malinellus, L. botrana, M. neustria, Orgya spp., Pieris spp., P. citri, P. oleae, P. xylostella y Spodoptera spp.</i>
Belthirul	Probelte S.A.U	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (PB-54)	<i>A. lineatella, A. rosanus, A. podanus, A. pulchellana, A. gamma, C. rosana, C. pomonella, C. molesta, E. ambiguella, H. armigera, H. malinellus, L. botrana, M. neustria, Orgya spp., Pieris spp., P. citri, P. oleae, P. xylostella y Spodoptera spp.</i>
Lepiback	Probelte S.A.U	<i>B. thuringiensis kurstaki</i>	<i>A. infausta, A. lineatella, A. rosanus, A.</i>

			(PB-54)	<i>podanus, A. pulchellana, A. gamma, C. rosana, C. pomonella, E. ambiguella, H. armigera, H. malinellus, L. botrana, L. dispar, M. neustria, Orgya spp., Pieris brassicae, Plusia spp., P. citri, P. oleae, P. xylostella, Spodoptera spp. y T. absoluta</i>
Bioscrop BT 16	Probelte S.A.U		<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (PB-54)	<i>A. infesta, A. lineatella, A. rosana, A. podanus, A. pulchellana, A. gamma, C. rosana, C. pomonella, E. ambiguella, H. armigera, H. malinellus, L. botrana, L. dispar, P. brassicae, Plusia spp., P. xylostella, P. citri, P. oleae y Spodoptera spp.</i>
Presa 16	Industrias Afrasa S.A.		<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (PB-54)	<i>A. infesta, A. lineatella, A. rosana, A. podanus, A. pulchellana, A. gamma, C. rosana, C. pomonella, E. ambiguella, H. armigera, H. malinellus, L. botrana, L. dispar, P. brassicae, Plusia spp., P. xylostella, P. citri, P. oleae, Spodoptera spp. y T. absoluta</i>
Belthirul 16 SC	Probelte S.A.U		<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (PB-54)	<i>A. infesta, A. lineatella, A. rosana, A. podanus, A. pulchellana, A. gamma, C. rosana, C. pomonella, C. molesta, E. ambiguella, H. armigera, H. malinellus, L. botrana, Pectinophora gossypiella, Plusia spp., P. xylostella, P. citri, P. oleae, Spodoptera spp., T. pityocampa y T. absoluta</i>
Costar	Mitsui Agriscience International S.A./N.V.		<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (SA-12)	<i>A. lineatella, A. rosana, A. podanus, A. pulchellana, A. gamma, H. armigera, L. botrana, O. brumata, Plusia spp., P. citri, P. oleae y T. absoluta</i>
Rapax AS	CBC (Europe) S.R.L.		<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (EG 2348)	<i>A. orana, A. segetum, A. lineatella, A. rosana, A. podanus, A. pulchellana, C. chalcites, Ephestia spp., E. ambiguella, Euproctis spp., Evetria buoliana, Gortyna xanthenes, G. molesta, H. armigera, Hyphantria cunea, H. malinellus, L. botrana, L. dispar, L. monacha, M. neustria, Mamestra brassicae, M. oleracea, O. brumata, O.</i>

Anexos

			<i>nubilalis, Pandemis cerasana, Phthorimaea operculella, P. citri, P. oleae, S. littoralis, T. pityocampa, T. viridana y T. absoluta,</i>
Cordalene	Agrichem S.A.	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (EG 2348)	<i>A. lineatella, A. rosanus, A. podanus, A. pulchellana, A. gamma, Cacoecia spp., Capua spp., G. molesta, H. armigera, L. botrana, L. monacha, Pandemis spp., Plusia spp., P. citri, P. oleae y T. pityocampa</i>
Lepinox PLUS	Agrichem S.A.	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> (EG 2348)	<i>A. orana, A. lineatella, A. rosanus, A. podanus, Archips podana, A. pulchellana, C. chalcites, E. ambiguella, Euzophera bigella, G. xanthenes, G. molesta, H. armigera, L. botrana, M. brassicae, Mamestra oleracea, Orgyia antiqua, O. nubilalis, P. cerasana, P. brassicae, P. xylostella, S. littoralis, S. exigua y T. absoluta</i>
Cedomon	Koppert B.V.	<i>P. chlororaphis</i>	Hongos transmitidos por semillas
Cerall	Koppert B.V.	<i>P. chlororaphis</i>	Hongos transmitidos por semillas
Proradix	SP Sourcon Padena GmbH	<i>Pseudomonas</i> sp. (DSMZ 13134)	<i>Fusarium</i> spp., <i>Helminthosporium solani</i> , <i>Rhizoctonia</i> spp. y <i>Rhizoctonia solani</i>
Julietta	Agrauxine S.A.	<i>S. cerevisiae</i> (LAS02)	<i>B. cinerea</i> y <i>Monilinia</i> sp.
Naturalis	CBC Iberia S.A.U.	<i>B. bassiana</i> (ATCC 74040)	Aphidos, <i>Agriotes</i> spp., <i>Bactrocera oleae</i> , <i>Bemisia tabaci</i> , <i>Cacopsylla pyri</i> , <i>Ceratitis capitata</i> , <i>Eotetranychus carpini</i> , <i>Frankliniella occidentalis</i> , <i>Panonychus ulmi</i> , <i>Rhagoletis cerasi</i> , <i>Tetranychus urticae</i> , <i>Thrips</i> spp. y <i>Trialeurodes vaporariorum</i>
Botanigar	Certis Europe B.V.	<i>B. bassiana</i> (GHA)	Aphidos, <i>B. tabaci</i> , <i>C. pyri</i> , <i>T. urticae</i> y <i>T. vaporariorum</i>
Botanigar 22 WP	Certis Europe B.V.	<i>B. bassiana</i> (GHA)	Aphidos, <i>B. tabaci</i> , <i>F. occidentalis</i> , <i>T. urticae</i> y <i>T. vaporariorum</i>
Ostrinil	Arysta Lifescience S.A.S.	<i>B. bassiana</i> (147)	<i>Paysandisia archon</i> y <i>Rynchophorus ferrugineus</i>

Serenisim	Arysta Lifescience S.A.S.	<i>B. bassiana</i> (NPP111B005)	<i>Cosmopolites sordidus</i> y <i>R. ferrugineus</i>
Prestop	Danstar Ferment AG	<i>G. catenulatum</i> (J1446)	<i>B. cinerea</i> , <i>Didymella bryoniae</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> spp., <i>Phytophtora</i> spp. y <i>Rhizoctonia</i> spp.
Preferal	Biobest Group N.V.	<i>I.fumosorosea</i> (Apopka 97)	<i>B. tabaci</i> y <i>T. vaporariorum</i>
Mycotal	Koppert B.V.	<i>L. muscarium</i> (Ve6)	<i>B. tabaci</i> y <i>T. vaporariorum</i>
Met52 OD	Novozymes France S.A.S.	<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> (F52)	<i>B. tabaci</i> , <i>F. occidentalis</i> , <i>T. urticae</i> y <i>T. vaporariorum</i>
Futureco Nofly WP	Futureco Bioscience S.A.	<i>P. fumosoroseus</i> (FE 9901)	<i>B. tabaci</i> , <i>F. occidentalis</i> y <i>T. vaporariorum</i>
Bioact Prime	Bayer Cropscience S.L.	<i>P. lilacinus</i> (251)	<i>Meloidogyne</i> spp.
Bioact WG	Bayer Cropscience S.L.	<i>P. lilacinus</i> (251)	<i>Meloidogyne</i> spp.
Polyversum	Agrichem S.A.	<i>P. oligandrum</i> (M1)	<i>B. cinerea</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y <i>Sphaerotheca fuliginea</i>
Blindar	Isagro S.P.A	<i>T. asperellum</i> (ICC012) + <i>T. gamsii</i> (ICC080)	<i>Armillaria</i> spp., <i>Phytophtora</i> spp., <i>S. sclerotiorum</i> , <i>Stemphylium</i> spp. y <i>Verticillium</i> spp.
Bioten	Isagro España S.L.	<i>T. asperellum</i> (ICC012) + <i>T. gamsii</i> (ICC080)	<i>Pythium</i> spp., <i>Phytophtora</i> spp., <i>S. sclerotiorum</i> y <i>Verticillium</i> spp.
Remedier	Isagro S.P.A.	<i>T. asperellum</i> (ICC012) + <i>T. gamsii</i> (ICC080)	<i>Pythium</i> spp., <i>Phytophtora</i> spp., y <i>S. sclerotiorum</i>
Tusal	Timac Agro España S.A.	<i>T. asperellum</i> (T25) + <i>T. atroviride</i> (T11)	<i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> spp., <i>Phytophtora</i> spp., <i>Rhizoctonia</i> spp. y <i>S. sclerotiorum</i>
T34 Biocontrol	Biocontrol Technologies S.L.	<i>T. asperellum</i> (T34)	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i> y <i>P. aphanidermatum</i>
Xedavir	Xeda Italia S.R.L.	<i>T. asperellum</i> (TV-1)	<i>Pythium</i> spp., <i>Phytophtora</i> spp., <i>Rhizoctonia</i> spp. y <i>Verticillium</i> spp.
Vintec	Bipa N.V.	<i>T. atroviride</i> (SC1)	<i>B. cinerea</i> , <i>Eutypa lata</i> , <i>Phaeoacremonium aleophilum</i> ,

Anexos

Tri-Soil	Agrauxine S.A.	<i>T. atroviride</i> (I-1237)	<i>Phaeomoniella chlamydospora</i> y <i>S. sclerotiorum</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia</i> spp. y <i>S. sclerotiorum</i>
Esquive WP	Agrauxine S.A.	<i>T. atroviride</i> (I-1237)	<i>Botryosphaeria obtusa</i> , <i>E. lata</i> , <i>P. aleophilum</i> y <i>P. chlamydospora</i>
Trianum P	Koppert B.V.	<i>T. harzianum rifai</i> (T-22)	<i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia</i> spp. y <i>S. sclerotiorum</i>
Trianum G	Koppert B.V.	<i>T. harzianum rifai</i> (T-22)	<i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia</i> spp. y <i>S. sclerotiorum</i>
C-Xtreme	Serbios S.R.L.	Granulovirus de C. pomonella (mexicano)	<i>C. pomonella</i>
Carpovirusina	Arysta Lifescience s.a.s.	Granulovirus de C. pomonella (mexicano)	<i>G. molesta</i> y <i>C. pomonella</i>
Carpovirusine EVO2	Arysta Lifescience s.a.s.	Granulovirus de C. pomonella (R5)	<i>G. molesta</i> y <i>C. pomonella</i>
Granupom TOP	Andermatt Iberia S.L.	Granulovirus de C. pomonella (V15)	<i>C. pomonella</i>
Madex TOP	Andermatt Iberia S.L.	Granulovirus de C. pomonella (V15)	<i>C. pomonella</i>
V10	Valto B.V.	Virus del mosaico del pepino dulce (VC1) + Virus del mosaico del pepino dulce (VX1)	Virus del mosaico del pepino
Verpavex	Andermatt Iberia S.L.	<i>H. armigera</i> nucleopolyedrovirus (DSMZ: BV-0003)	<i>H. armigera</i>
Helicovex	Andermatt Iberia S.L.	<i>H. armigera</i> nucleopolyedrovirus (DSMZ: BV-0003)	<i>H. armigera</i>
Splivex	Andermatt Iberia S.L.	<i>S. littoralis</i> nucleopoliedrovirus (SplNPV) (BV-0005)	<i>S. littoralis</i>
Littovir	Andermatt Iberia S.L.	<i>S. littoralis</i> nucleopoliedrovirus	<i>S. littoralis</i>

(SpliNPV) (BV-0005)

pmv-01	de ceuster meststoffen n.v.	Virus del mosaico del pepino (CH2, 1906)	Virus del mosaico del pepino
Abioprotect	Abiopep S.L.	Virus del mosaico del pepino (EU, Abp1) + Virus del mosaico del pepino, (CH2, Abp2)	Virus del mosaico del pepino

Anexos

<https://www.mapa.gob.es/app/consultafertilizante/consultafertilizante.aspx>

**PRODUCTOS FERTILIZANTES Y ABONOS A BASE DE MICROORGANISMOS
COMERCIALIZADOS EN ESPAÑA**

Tipo de producto	Nombre comercial	Empresa comercializadora	Microorganismo	Cultivo objetivo
	MycoUp	Symborg Business Development S.L.	<i>G. iranicum</i>	Hortícolas
	Resid HC	Symborg Business Development S.L.	<i>G. iranicum</i>	Herbáceos extensivos
	Team Microgránulo	Agrotecnologías Naturales S.L.U.	<i>R. irregulare</i> y <i>F. mosseae</i>	Hortícolas
Micorrizas	Aegis SYM Pastilla	Agrotecnologías Naturales S.L.U.	<i>R. irregulare</i>	Semilleros
	Mycoup 360	Symborg Business Development S.L.	<i>G. iranicum</i>	Hortícolas
	Lanaplus Eric	Lainco S.A.	<i>P. fortinii</i> y <i>O. maius</i>	Leñosos
	Resid MG	Symborg Business Development S.L.	<i>G. iranicum</i>	Herbáceos extensivos
	TrichoSym Bio	Symborg Business Development S.L.	<i>T. harzianum</i>	Hortícolas
Microorganismos no micorrílicos (hongos)	Clamiradis	Bioera S.L.U.	<i>P. chlamydosporia</i>	Hortícolas, leñosos y semilleros
	Contribute™ Aid	Alltech Crop Science Iberia S.L.	<i>T. koningiopsis</i>	Hortícolas y leñosos
Microorganismos no micorríicos (bacterias)	Bactel Fert	Bioera S.L.U.	<i>B. altitudinis</i> , <i>B. licheniformis</i> y <i>B. megaterium</i>	Hortícolas, herbáceos extensivos, leñosos y semilleros
	Fosfogel	Bio-Iliberis Research and Development S.L	<i>P. putida</i>	Hortícolas, herbáceos extensivos, leñosos y

			semilleros
		<i>B. subtilis,</i>	
Radisane HORT	Bioera S.L.U.	<i>B. amyloliquefaciens</i> y <i>B. methylotrophicus</i>	Hortícolas y semilleros
		<i>B. subtilis,</i>	
Radisane LEÑOS	Bioera S.L.U.	<i>B. amyloliquefaciens</i> y <i>B. methylotrophicus</i>	Leñosos y semilleros
		<i>B. megaterium, B. subtilis,</i>	Hortícolas, herbáceos
Bactel FRUT	Bioera S.L.U.	<i>B. pumilus, B. licheniformis</i> y <i>B. methylotrophicus</i>	extensivos, leñosos y semilleros
		<i>B. subtilis</i> y <i>B. velezensis</i>	Hortícolas, leñosos y semilleros
Gama de productos "Bulhnova"	Bioera S.L.U.	<i>A. brasiliense</i> y <i>P. dispersa</i>	Hortícolas y leñosos
Bird-OR 500	Bio-Iliberis Research and Development S.L	<i>P. putida</i> y <i>A. chroococcum</i>	Hortícolas
BN-Azos	Biológica Nature S.L.U.	<i>A. chroococcum</i>	Hortícolas
		<i>B. subtilis, B. velezensis</i>	Hortícolas,
Radisane DS	Bioera S.L.U.	y <i>B. methylotrophicus</i>	leñosos y semilleros
Contribute ibNP	Alltech Crop Science Iberia S.L.	<i>P. putida</i> y <i>A. brasiliense</i>	Hortícolas y leñosos
Contribute ibP	Alltech Crop Science Iberia S.L.	<i>P. putida</i>	Hortícolas y leñosos
Gama de Productos Strongest	Probelte S.A.U.	<i>A. brasiliensa</i>	Hortícolas
Legumefix	Calidad Pascual S.A.U.	<i>B. japonicum</i>	Herbáceos

Anexos

			extensivos
Likuiq	Comercial Química Massó S.A.	<i>B. elkanii</i>	Herbáceos extensivos
Soluzymes	Icrop Box S.L.	<i>P. putida</i>	Hortícolas y leñosos
Fertybyo (Effective Control Organisms) - Fitoagroactiv	Arvensis Agro S.A. Instituto Biotecnologico Healthyplants S.L.	<i>A. brasiliense</i> <i>B. mojavensis y R. phaseoli</i>	Hortícolas Herbáceos extensivos
EM- Fitoagroactiv	Instituto Biotecnologico Healthyplants S.L.	<i>B. mojavensis</i>	Hortícolas y herbáceos extensivos
Quantum Light	Siorel Expansion S.L.	<i>R. palustris</i>	Hortícolas
Gama de Productos Oriola	Biogroot S.A.U.	<i>A. brasiliense y P. dispersa</i>	Hortícolas y leñosos
Biophos	Establecimientos Hefe S.L.	<i>B. velezensis</i>	Semillero
Megathec	Xem Abonos S.L.	<i>B. megaterium</i>	Hortícolas
BlueN	Symborg Business Development S.L.	<i>M. symbioticum</i>	Hortícolas
Gama de productos Bioprón	Probelte S.A.U.	<i>A. brasiliense y P. dispersa</i>	Hortícolas, leñosos y semilleros
Azonic	Establecimientos Hefe S.L.	<i>A. veterisilvae</i>	Semillero
Unigreen Avanto	Green Universe Agriculture S.L.	<i>B. amyloliquefaciens y B. licheniformis</i>	Leñosos
Unigreen Power s	Green Universe Agriculture S.L.	<i>B. amyloliquefaciens y P. fluorescens</i>	Leñosos
Susor	Avanzabio Agro S.L.	<i>B. licheniformis, B. pumilus,</i>	Hortícolas y semilleros

			<i>B. safensis</i> y <i>B. velezensis</i>	
Contribute™ ibK	Alltech Crop Science Iberia S.L.	<i>B. megaterium</i>	Hortícolas y leñosos	
Bactrium	Agrotecnologías Naturales S.L.U.	<i>B. megaterium</i>	Hortícolas	
Condor Shield	Agrotecnologías Naturales S.L.U.	<i>T. koningii</i> y <i>B. megaterium</i>	Hortícolas	
Manvert Acticrop	Biovert S.L.	<i>B. amyloliquefaciens</i> y <i>T. saturnisporum</i>	Hortícolas y leñosos	
Biobizz Microbes	Biobizz Worldwide S.L.	<i>B. megaterium</i> , <i>B. pumilus</i> ,		-
Microorganismos no micorrílicos		<i>B. licheniformis</i> , <i>B. velezensis</i> y <i>T. harzianum</i>		
(mixto: hongos + bacterias)		<i>B. siamensis</i> ,		
BN-Renov Micro	Biológica Nature S.L.U.	<i>B. amyloliquefaciens</i> , <i>B. megaterium</i> y <i>P. fluorescens</i>	Hortícolas	
Bioptimus	Lainco S.A.	<i>P. putida</i>	Hortícolas, leñosos y semilleros	
Sullicab	Corteva Agriscience Spain S.L.U.	<i>B. licheniformis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. safensis</i> y <i>B. velezensis</i>	Hortícolas y semilleros	
Tricobest	Quimicas MeristemS.L.	<i>T. harzianum</i>	Hortícolas	
Abono con microorganismos no micorríicos (bacterias)	Fertiberia abono NPK con rizobios de equilibrio 1-2-2	<i>F. rizobiaceae</i>	Herbáceos extensivos	
Fitoagroactiv	Instituto Biotecnológico Healthyplants S.L.	<i>B. mojavensis</i> y <i>R. phaseoli</i>	Herbáceos extensivos	

Anexos

BN-Fusver	Biológica Nature S.L.U.	<i>B. subtilis</i>	Hortícolas	
BN-Nova	Biológica Nature S.L.U.	<i>L. xylanilyticus</i>	Hortícolas	
Boden	Eibol Iberica S.L.	<i>B. megaterium</i> y <i>A. chroococcum</i>	Hortícolas	
Radiko	Eibol Iberica S.L.	<i>P. koreensis</i>	Hortícolas	
RizoSphere Life LET121E	Fertiberia S.A.	<i>R. leguminosarum</i>	Herbáceos extensivos	
RizoSphere Life LET123H	Fertiberia S.A.	<i>R. leguminosarum</i>	Hortícolas	
RizoSphere Life LET122E	Fertiberia S.A.	<i>R. leguminosarum</i>	Herbáceos extensivos	
RizoSphere Life LET122H	Fertiberia S.A.	<i>R. leguminosarum</i>	Hortícolas	
Pvida Soil	Biológica Nature S.L.U.	<i>B. subtilis</i> y <i>B. megaterium</i>	Leñosos	
BN-Renov	Biológica Nature S.L.U.	<i>B. subtilis</i> y <i>B. megaterium</i>	Hortícolas y leñosos	
Radisei	Sociedad Europea de Intercambio de Productos Agrícolas S.A.	<i>B. subtilis</i>	Hortícolas y leñosos	
<hr/>				
Asir Horto Bio	Agrotecnologías Naturales S.L.U.	<i>R. irregulare</i> , <i>F.</i> <i>mosseae</i> , <i>T. koningii</i> y <i>B.</i> <i>megaterium</i>	Hortícolas	
Abono con microorganismos				
Asir Horto	Agrotecnologías Naturales S.L.U.	<i>R. irregulare</i> , <i>F.</i> <i>mosseae</i> , <i>T. koningii</i> y <i>B.</i> <i>megaterium</i>	Hortícolas	
<hr/>				
Mezcla de microorganismos (micorrizas y no	Team Horticola	Agrotecnologías Naturales S.L.U.	<i>R. irregulare</i> , <i>F.</i> <i>mosseae</i> y <i>B. megaterium</i>	Hortícolas

micorrizas)

Bioradis Sol	Bioera S.L.U.	<i>R. irregularis, S. desertícola, F. mosseae, C. etunicatum,</i>	Hortícolas, herbáceos
		<i>C. claroideu, B. megaterium, B. subtilis, B. altitudinis y</i>	extensivos, leñosos y semilleros
		<i>B. licheniformis</i>	
Bioradis Tablet	Bioera S.L.U.	<i>R. irregularis, S. desertícola, F. mosseae, C. etunicatum,</i>	Hortícolas y herbáceos
		<i>C. claroideu, B. megaterium, B. subtilis, B. altitudinis y</i>	extensivos
		<i>B. licheniformis</i>	
Bioradis Difusa	Bioera S.L.U.	<i>R. irregularis, S. desertícola, F. mosseae, C. etunicatum,</i>	Herbáceos extensivos
		<i>C. claroideu, B. megaterium, B. subtilis, B. altitudinis y</i>	
		<i>B. licheniformis</i>	
Aegis SYM Irriga	Agrotecnologías Naturales S.L.U.	<i>R. irregularis y B. megaterium</i>	Hortícolas
Emeoro MIX	Timac Agro España S.A.	<i>R. irregularis, S. desertícola, F. mosseae, B. megaterium, B. subtilis,</i>	Hortícolas y leñosos
		<i>B. pumilus y S. cerevisiae</i>	
Bioradis GEL	Bioera S.L.U.	<i>R. irregularis, S. desertícola, F. mosseae, C. etunicatum,</i>	Leñosos y semilleros
		<i>C. claroideu, B. megaterium, B. subtilis,</i>	

Anexos

Bioradis Plant	Bioera S.L.U.	<i>B. altitudinis</i> y <i>B. licheniformis</i> <i>R. irregularis, S.</i> <i>desertícola, F. mosseae,</i> <i>C. etunicatum,</i> <i>C. claroideu, B.</i> <i>megaterium, B. subtilis,</i> <i>B. altitudinis</i> y	Hortícolas y leñosos
Bioradis Power	Bioera S.L.U.	<i>B. altitudinis</i> y <i>B. licheniformis</i> <i>R. irregularis, S.</i> <i>desertícola, F. mosseae,</i> <i>C. etunicatum,</i> <i>C. claroideu, B.</i> <i>megaterium, B. subtilis,</i> <i>B. altitudinis</i> y	Herbáceos extensivos
Lanaplus	Lainco S.A.	<i>B. altitudinis</i> y <i>B. licheniformis</i> <i>R. irregularis, S.</i> <i>desertícola, C.</i> <i>etunicatum, B.</i> <i>megaterium, B. subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i>	Hortícolas, herbáceos extensivos, leñosos y semilleros

Anexo III: Preparación de los medios de cultivo empleados en los ensayos

La totalidad de los medios de cultivos empleados durante los ensayos de la presente Tesis se esterilizaron en autoclave a 120 °C durante 20 minutos. Todos los medios se enrascaron con agua destilada.

Medio PDA: Potato Dextrose Agar

Reactivos	Cantidad
Potato Dextrose	26,5 g/L
Agar	20,0 g/L

Medio CAS (Chrome-azurol S) agar:

- **Solución 1: 10x MM9.** Se preparan 100 mL (se esteriliza en autoclave a 120 ± 1 °C durante 20 min).

Reactivos	Cantidad
Cloruro amónico: NH ₄ Cl	1,0 g
Cloruro de sodio: NaCl	0,5 g
Fosfato dipotásico: K ₂ HPO ₄	0,3 g
Aqua: H ₂ O	100 mL

- **Solución 2: CAS-HDTMA.** Se preparan 100 mL (se esteriliza en autoclave a 120 ± 1 °C durante 20 min).

Reactivos	Cantidad
Cromo Azurol S	60,5 mg
Cloruro de hierro (III) hexa-hidratado: FeCl ₃ ·6H ₂ O	10,0 mL
Ácido clorhídrico: HCl	10,0 mM
Hexadeciltrimetilamonio (HDTMA)	72,9 mg
Aqua: H ₂ O	40,0 mL

- **Solución 3:** Se preparan 120 mL (se esteriliza en autoclave a 120 ± 1 °C durante 20 min).

Reactivos	Cantidad
D-Glucosa	2 g
Solución de cloruro magnésico: MgCl ₂	10 mL (1 M)
Solución de cloruro cálcico: CaCl ₂	10 mL (100 mM)
Aqua: H ₂ O	100 mL

- **Solución 4:** Se esteriliza mediante microfiltración.

Reactivos	Cantidad
Tiamina + H ₂ O	2 mg + 4 mL
Ácido nicotínico + H ₂ O	2 mg + 4 mL

Anexos

- **Solución 5: Cas aminoácidos al 10 % desferrados.** Se preparan 200 mL, tomando únicamente 30 mL (se esteriliza mediante microfiltración).

Reactivos	Cantidad
CAS aminoácidos	10 g
Agua: H ₂ O	100 mL
8-Hidroxiquinolina	3 g
Cloroformo	100 mL

- **Solución 6:** Se ajusta el pH a 6,8 y se esteriliza en autoclave a 120 ± 1 °C durante 20 min.

Reactivos	Cantidad
Ácido piperazina-N	30,25 g
Hidróxido de sodio: NaOH	5,30 g
Solución 1: MM9	100,00 mL
Agar	15,00 g
Aqua: H ₂ O	750 mL

Mezcla de componentes para preparación del CAS: Una vez preparada la solución 6, se añaden (mezclando energicamente, pero evitando la formación de burbujas):

Reactivos	Cantidad
Solución 1 (CAS aminoácidos 10 %, desferrado)	30 mL
Solución 2 (CAS + HDTMA)	100 mL
Solución 3 (D-Glucosa + MgCl ₂ + CaCl ₂ + H ₂ O)	12 mL
Solución 4 (Tiamina + ácido nicotínico + H ₂ O)	8 mL

Medio GPB: Glucose Peptone Broth

Reactivos	Cantidad
Peptona	3,0000 g/L
D-Glucosa	10,0000 g/L
Fosfato monopotásico: KH ₂ PO ₄	0,6000 g/L
Sulfato de zinc: ZnSO ₄	0,0010 g/L
Sulfato de hierro: FeSO ₄	0,0005 g/L
Sulfato de manganeso: MnSO ₄	0,0500 g/L
Sulfato de magnesio: MgSO ₄	0,5000 g/L
Sulfato de cobre: CuSO ₄	0,0100 g/L

Medio PDB: Potato Dextrose Broth

Reactivos	Cantidad
Potato Dextrose	26,5 g/L

Medio NBRIP: National Botanical Research Institute's Phosphate growth medium

Reactivos	Cantidad
D-Glucosa	4,00 g/L
Fosfato tricálcico: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	10,00 g/L
Cloruro magnésico hexa-hidratado: $\text{MgCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	5,00 g/L
Sulfato de magnesio hepta-hidratado: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,25 g/L
Cloruro potásico: KCl	0,20 g/L
Sulfato amónico: $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$	0,10 g/L

Medio Pikovskaya agar:

Reactivos	Cantidad
D-glucosa	10,000 g/L
Fosfato tricálcico: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	5,000 g/L
Sulfato de amonio: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,500 g/L
Extracto de levadura	0,500 g/L
Cloruro de sodio: NaCl	0,200 g/L
Cloruro de potasio: KCl	0,200 g/L
Sulfato de magnesio hepta-hidratado: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,100 g/L
Sulfato de manganeso hidratado: $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,004 g/L
Sulfato de hierro hepta-hidratado: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,002 g/L
Agar	15,000 g/L