

IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FITOPATÓGENOS ASOCIADOS AL ROBLE (*QUERCUS HUMBERTII* BONPL.), EN LOS MUNICIPIOS DE ENCINO (SANTANDER), ARCABUCO, Y TIPACOQUE (BOYACÁ)¹

Identification of phytopathogenic fungi associated with oak (Quercus humboldtii Bonpl.), in the municipalities of Encino (Santander), Arcabuco and Tipacoque (Boyacá)

Palabras clave: filósfera, microorganismos antagonistas, *Quercus humboldtii*, rizósfera, suelo total.

Key words: phyllosphere, antagonistic microorganisms, *Quercus humboldtii*, rhizosphere, bulk soil.

Leidi Yunari Monroy Castro²
Luz Marina Lizarazo Forero³

RESUMEN

Los objetivos del presente estudio fueron aislar y determinar la presencia del patógeno *Phytophthora ramorum* y de otros posibles patógenos de *Quercus humboldtii*, y la posibilidad de utilizar la capacidad antagonista de bacterias aisladas de rizósfera y filosfera sobre estos. El estudio se realizó en la zona central del corredor de conservación Guantiva – La Rusia – Iguaque, en los municipios de Encino (Santander), Arcabuco y Tipacoque (Boyacá). Los aislamientos de los hongos fitopatógenos, se realizaron mediante siembra directa de hojas con sintomatología fúngica, en medios selectivos sólidos OGY, Sabouraud, y PDA + ácido láctico al 0.2%. Se utilizó la técnica de recuento en placa para el aislamiento de bacterias de suelo rizosférico y suelo total. No se aisló el hongo *Phytophthora ramorum*, pero si otros hongos fitopatógenos de los géneros *Fusarium* spp. y *Pestalotia* spp. Las poblaciones bacterianas de suelo rizosférico y suelo total fueron bajas y poco diversas, y dominadas por algunos morfotipos. Se identificaron cuatro especies de bacterias: *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus macerans*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus epidermidis*. La comunidad de la filosfera estuvo

dominada por *Pseudomonas fluorescens*. Los géneros *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis*, no mostraron propiedades antagonicas contra el hongo *Pestalotia* spp. Es indispensable realizar estudios adicionales, para confirmar si los géneros *Fusarium* spp. y *Pestalotia* spp., actúan como patógenos del *Quercus humboldtii*.

ABSTRACT

The objectives of this study were to isolate and determine the presence of the pathogen *Phytophthora ramorum* and other potential pathogens of *Quercus humboldtii*, and evaluate the possibility of using the antagonistic capacity of bacteria isolated from rhizosphere and phyllosphere against them. The study was conducted in the conservation corridor Guantiva – La Rusia – Iguaque, in the municipalities of Encino (Santander), Arcabuco and Tipacoque (Boyacá). The phytopathogenic fungi were isolated using direct seeding of leaves with symptoms of fungal infection in OGY, Sabouraud, and PDA + Lactic acid at 0.2%. We used the plate counting technique for the isolation of bacteria from rhizospheric and bulk soil. *Phytophthora ramorum* was not isolated, but phytopathogenic fungi of the

¹ Trabajo enmarcado dentro del proyecto “Corredor de Conservación de Robles, una Estrategia para la Conservación y el Manejo Forestal en Colombia” Fundación MacArthur-Fundación Natura y DIN-UPTC.

² Investigadora del Grupo de investigación Biología Ambiental, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Boyacá.

³ Coordinadora Grupo de investigación Biología Ambiental, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Boyacá. luz.lizarazo@uptc.edu.co. Autor para correspondencia:

genus *Fusarium* spp., and *Pestalotia* spp., were obtained in the isolates. Microbial populations of rhizospheric and bulk soil were scarce, exhibited low diversity, and were dominated by few morphotypes. We identified four species of bacteria: *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus macerans*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus epidermidis*. The phyllosphere community was dominated by *Pseudomonas fluorescens*. The species *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* did not exhibited antagonistic properties against *Pestalotia* spp. Further studies are required to confirm *Fusarium* spp., and *Pestalotia* spp., pathogenic activity against *Quercus humboldtii*.

INTRODUCCIÓN

Los bosques de roble colombianos se encuentran compuestos por dos especies de la familia Fagaceae, el roble negro o morado (*Colombobalanus excelsa* Lozano *et al.* 1979), y el roble blanco o común (*Quercus humboldtii* Bonpl.). Estas dos especies adicionalmente son exclusivas de Colombia (Fundación Natura, 2000).

Quercus humboldtii se distribuye en las tres cordilleras de Colombia y en una localidad del Darién panameño. Cubre un rango altitudinal desde 1100 hasta 3450 m de altitud, con abundancia marcada en las laderas más secas, especialmente en la vertiente occidental de la Cordillera Oriental. En el Límite de los departamentos de Santander y Boyacá se encuentran los relictos de robles más extensos de Colombia. (Fundación Natura 2000, Solano 2002).

El hongo *Phytophthora ramorum* (Werres *et al.* 2001), provocó a partir del año 1995 mortalidad elevada entre las poblaciones de robles (*Quercus*), y especies del género *Lithocarpus* en la costa central de California, desde Monterey hasta el sur de Oregón. La enfermedad que ocasiona este hongo se denomina *sudden oak death* (SOD), muerte súbita del roble. Existen estudios recientes, que confirman que esta enfermedad ya se encuentra en el continente europeo, específicamente en Rumania y Bulgaria y otros países de la Comunidad Económica Europea (Rizzo *et al.* 2002, Rizzo & Garbelotto 2003, Meentemeyer *et al.* 2004, McPherson *et al.* 2005, Brown & Allen-Díaz 2009).

En árboles adultos el síntoma más evidente de la enfermedad, es la aparición de chancros sobre la corteza del tronco, en estas zonas se observan manchas café oscuro con exudados de savia. Las lesiones pueden presentarse desde el cuello de la planta hasta una altura de 20 metros (Jung *et al.* 2005, Balci *et al.* 2008).

Las bacterias además de incrementar el crecimiento de las plantas, también actúan como agentes de bio-control de bacterias y hongos. Sus mecanismos de acción se centran en la producción de antibióticos y toxinas que reducen el crecimiento del patógeno y su potencial de infección (Handelsman & Stabb 1996, Alexandrova *et al.* 2003, Chin-A-Weng *et al.* 2003). Competencia por el sitio de infección o nutrientes requeridos por el patógeno para penetrar al hospedero, parasitismo, inducción de enzimas extracelulares o de mecanismos de resistencia en las planta (Zhou & Paulitz 1993, Dunne *et al.* 1997, Van Loon *et al.* 1998, De Meyer *et al.* 1999, Loper & Henkels 1999, Yang & Crowley 2000, Michaud *et al.* 2002).

El objetivo del presente estudio fue aislar e identificar hongos fitopatógenos, haciendo énfasis en la búsqueda de la especie *Phytophthora ramorum*, los cuales presumiblemente estarían afectando los bosques de robledales en algunos sectores de los municipios de Encino (Santander), Arcabuco y Tipacoque (Boyacá), y realizar pruebas de antagonismo con bacterias aisladas de la rizósfera y filosfera

METODOLOGÍA

ÁREA DE ESTUDIO

El proyecto se realizó en la zona central del corredor Guantiva – La Rusia – Iguaque, en los municipios de Encino (Santander), Arcabuco y Tipacoque (Boyacá).

Los robledales del Encino esta ubicados en un rango entre 1865 y 2535 m de altitud con geoformas rizadas a ondulantes y de cuevas escalonadas en las partes más altas. La temperatura promedio es de 18-14°C y presenta una pluviosidad de 1000 a 4000 mm anuales. En Arcabuco los robledales se

localizan en la franja entre 2200 y 3100 m de altitud; el área se encuentra sobre escarpes, laderas desde rectas a irregulares con formas complejas, cóncavo convexas y longitudes desde cortas hasta largas y pendientes entre 17% y más del 100%. Los suelos de esta área son de textura franco arenosa y franco arcillosos, con pH entre 4.0 y 4.6. El área de bosque de roble en el Parque Natural Municipal “Robledales de Tipacoque” (PNMRT), se encuentra ubicado en un paisaje de montaña conformado geológicamente por materiales originados a partir de rocas devónicas y paleozoicas. Comprende un rango altitudinal que va desde los 2800 a los 3300 m. de altitud la precipitación calculada para el área de estudio es 1081.85 mm/año y la temperatura promedio de 17.4 °C (Solano *et al.* 2005).

MUESTREO

El área de muestreo se seleccionó de forma aleatoria dentro de los robledales de las tres áreas, tomando como criterio la búsqueda de árboles con los síntomas característicos de la enfermedad producida por *Phytophthora ramorum*: follaje amarillento, necrosis en el interior de la corteza que se manifiesta por un exudado de color rojo a negro viscoso, especialmente en la parte inferior del tronco. Al no encontrarse árboles con los anteriores síntomas, se determinó tomar muestras con otros síntomas presuntivos de enfermedades fúngicas (Figuras 1 y 2). En total se colectaron hojas con manchas color café, de diez árboles de Arcabuco y Tipacoque y de ocho árboles de Tipacoque. Las muestras de trozos de troncos de color negro, se tomaron de Arcabuco y Tipacoque. Solamente del municipio de Encino se recogieron unas muestras de semillas, las cuales presentaban manchas de color café. También se recogieron hojas sanas (árboles jóvenes y adultos), suelo rizosférico y de suelo total. La toma de muestra de la rizosfera se realizó de raíces de 3 árboles caídos. De cada uno de los individuos, se cortó la raíz y se colocó en bolsas plásticas, posteriormente se sacudió la raíz y se separó el suelo adherido a ésta. Se recogieron tres muestras por árbol. A todas las muestras se le eliminaron los restos vegetales. Las muestras del suelo total (6 muestras por área de estudio), se tomaron a una profundidad de 10 cm alrededor del árbol, retirando previamente hojarasca. El tamaño

de muestra fue de aproximadamente de 1 kg. Todo el material colectado en bolsas plásticas estériles se llevó al laboratorio y se preservaron a 4° C hasta el momento de su análisis que no fue superior a 72 h.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FITOPATÓGENOS

Las hojas enfermas, los trozos de tronco y semillas se colocaron en cámara húmeda con papel filtro estéril, humedecido con agua destilada estéril y fueron mantenidas por siete a diez días con doce horas de luz y doce de oscuridad. Al mismo tiempo se realizaron siembras de hojas y trozos de troncos en cajas de Petri con el medio V8 agar suplementado con pimáricina 5 mg/l, y rifampicina 25 mg/l, Mansilla *et al.* (1993) y otros medios de cultivo selectivos OGY (Merck)[®], Sabouraud (Scharlau)[®] + Ácido Láctico al 0.2%, Papa Dextrosa Agar (PDA - Scharlau)[®] y Papa Dextrosa Agar (PDA) + Ácido Láctico al 0.2%). Igualmente los crecimientos fungosos que se obtuvieron de la cámara húmeda se sembraron. Los medios de cultivo fueron incubados a una temperatura de 28°C durante 5-10 días. Los aislamientos obtenidos, en ambos casos, se clasificaron de acuerdo a sus características morfológicas con la ayuda de claves taxonómicas especializadas (Barnett & Hunter 1972).

RECuento DE MICROORGANISMOS DE LOS SUELOS RIZOSFÉRICOS Y SUELO TOTAL

Se empleó el método de recuento en placa realizando diluciones seriadas en solución salina al 0.85%, y siembras por triplicado en Agar Trypticase Soya (ATS - Scharlau)[®]. Las cajas fueron incubadas a 28 °C y las unidades formadoras de colonias (UFC) se contaron a las 48 horas.

AISLAMIENTO DE BACTERIAS FILOSFÉRICAS

Tanto las hojas de árboles jóvenes como las adultas (por separado), fueron colocadas en una solución buffer (0.1 M fosfato de potasio, pH 7.0, peptona 0.1%). Las células bacterianas fueron removidas por 7 min en un agitador a 120 r.p.m. 0.1 ml de la muestra se sembró en medio King's B (KB - Scharlau)[®] con cicloheximida (Scharlau)[®], para inhibir el crecimiento de hongos saprofitos.



Figura 1. Hojas de roble con síntomas de infección fúngica (Fuente: Fausto Sáenz).



Figura 2. Tronco de roble con síntomas de infección fúngica (Fuente: Fausto Sáenz).

Se incubó a una temperatura de 25 °C durante 96 horas (Thompsons *et al.* 1993).

Las colonias fueron descritas con base en la elevación, borde, aspecto, consistencia y color. Se tuvieron en cuenta las colonias pigmentadas y no pigmentadas.

Con el fin de determinar a qué géneros y/o especies pertenecían las bacterias que se aislaron de rizósfera, suelo total y filosfera, se realizaron pruebas bioquímicas API 20 E (para Enterobacterias-Biomérieux)[®] y API 20 NE (para no Enterobacterias- Biomérieux)[®]. También se realizaron pruebas bioquímicas tradicionales para algunos de los aislados.

PRUEBAS DE ANTAGONISMO

Se realizó la siembra por triplicado del hongo (*Pestalotia* spp.) en Agar Papa Dextrosa (PDA-Scharlau)[®], esto se incubó a una temperatura de 30°C durante 8 días, posteriormente se sembraron las bacterias a una concentración de 10⁶ UFC/ml⁸ (*Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis*), en estrías horizontales, tanto en la parte superior como en la parte inferior del medio de cultivo para enfrentarlas al hongo, se incubó a una temperatura de 28°C. El efecto antagónico se evaluó determinando el microorganismo que inhibió el crecimiento del otro (Páez *et al.* 2005).

RESULTADOS

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FITOPATÓGENOS

Se aislaron e identificaron los géneros *Fusarium* spp., *Pestalotia* spp., y otros tres géneros, tanto de hojas como de los trozos de troncos. En la tabla 1, se presentan los géneros determinados en cada uno de los tres sitios de muestreo. Ni en el medio V8 agar suplementado con antibióticos, que es específico para el aislamiento de especies del género *Phytophthora*, ni en los demás medios selectivos en donde se sembraron las hojas con manchas café, trozos de corteza negros y semillas, se pudo aislar el hongo *Phytophthora ramorum*.

AISLAMIENTO DE BACTERIAS DE SUELO RIZOSFÉRICO Y SUELO TOTAL

El mayor promedio de bacterias totales fue obtenido de las muestras analizadas para suelo rizosférico y suelo total de los robledales de Encino (Tabla 2). Se lograron identificar los géneros *Pseudomonas fluorescens* de rizósfera de Tipacoque, *Bacillus macerans* de rizósfera y *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* de suelo total de Arcabuco, y por último *Staphylococcus epidermidis* de suelo total de Encino.

Tabla 1. Hongos aislados de hojas y troncos según zona de estudio y síntomas.

LOCALIDAD	SÍNTOMAS	GÉNEROS	NÚMERO DE AISLADOS
Encino	Manchas Café	<i>Pestalotia</i> spp.	2
	Manchas Café	<i>Penicillium</i> spp.	2
Arcabuco	Manchas Café	<i>Pestalotia</i> spp.	1
	Manchas Café	<i>Fusarium</i> spp.	1
	Manchas Negras	<i>Penicillium</i> spp.	1
	Manchas Café*	<i>Alternaria</i> spp.	1
Tipacoque	Manchas Café	<i>Monilia</i> spp.	1
	Manchas Negras**	<i>Fusarium</i> spp.	1

*De muestras de hojas

**De muestras de trozos de tronco

Tabla 2. Resultados del recuento en placa de suelo rizosférico y suelo total para las zonas de estudio

LOCALIDAD	SUELO RIZOSFÉRICO	SUELO TOTAL
	UFC g-l suelo*	UFC g-l suelo*
Encino	147x10 ⁴	203x10 ⁴
Arcabuco	95x10 ⁴	2.28x10 ⁴
Tipacoque	93x10 ⁴	0.79x10 ⁴

*Valor promedio para los 6 muestreos analizados por área

AISLAMIENTO DE BACTERIAS FILOSFÉRICAS

Se logró aislar y determinar el género *Pseudomonas fluorescens*, tanto de hojas de árboles jóvenes como de adultos.

PRUEBA DE ANTAGONISMO

Estas pruebas dieron negativas, ya que las bacterias enfrentadas *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* no lograron inhibir el crecimiento del hongo *Pestalotia* spp .

DISCUSIÓN

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FITOPATÓGENOS

De los cinco hongos aislados e identificados, solo *Fusarium* spp., y *Pestalotia* spp., se han documentado como fitopatógenos de plantas agrícolas y de otro tipo de forestales, causando grandes daños. *Fusarium* spp., se ha asociado con la enfermedad de la pudrición de la corona de banano en diferentes partes del mundo (O'Donnell *et al.* 1998). Es uno de los hongos más frecuentemente encontrado en leguminosas y en la pos cosecha de varios cultivos, causando grandes pérdidas anuales a los productores de flores (Toledo *et al.* 2002). En general puede causar marchitamiento de las plantas de papa, de tomate y de otras solanáceas. Se ha identificado que las especies *F. oxysporum*, *F. solanum*, *F. moniliforme*, y otras, pueden ser capaces de ocasionar muerte en forestales y es común encontrar dos o tres especies actuando juntas (Kistler 1997).

Con relación a *Pestalotia* spp., Sosa de Castro *et al.* (2003), lo registran como causante de lesiones necróticas en plantas ornamentales, siendo la

sintomatología característica de manchas de color castaño en las hojas, las cuales son muy similares a las observadas en las muestras de hojas que se tomaron de los robles de este estudio. Tal como se indico anteriormente, el género *Pestalotia* spp., no está reportado como fitopatógeno de los robles, aunque si para otros árboles forestales. Hay que destacar que a partir de las hojas con manchas café se aislaron *Fusarium* spp y *Pestalotia* spp., pero con mayor prevalencia este último.

En la bibliografía consultada se cita a *Pestalotia* spp., como patógeno de enfermedades en coníferas. El género *Pestalotia funerea* Desm var *discolor* Speg., es causante del marchitamiento y muerte de hojas y ramas jóvenes de *Cupressus sempervirens* var *fastigiata* en España. En Chile *Pestalotia veronicae* Herr., es promotor del tizón y caída de las acículas de *Pinus radiata*. También en ese país han determinado sobre *Boldoea boldus*, una nueva especie a la que se denominó *Pestalotia matildae mujica*. Se han observado plantas con muerte de porciones apicales de las ramas, la enfermedad comienza en la zona basal de los árboles y por la parte externa del follaje, y las partes muertas permanecen adheridas al árbol. En el tallo de las ramas afectadas se observan lesiones (cancros) que afectan a la corteza (González *et al.* 2002, Solano 1999). Adicionalmente se ha reportado la presencia de este patógeno en frutales en el rango altitudinal en que se pueden encontrar algunos robledales. Farfán *et al.* (2006), constataron que *Pestalotia* spp., es la causante de la “enfermedad de las costuras o clavo del fruto de guayaba” y la severidad de la enfermedad fue mayor en el sistema guayaba x café, entre 1901 y 1960 m de altitud y en densidades superiores a 490 árboles por hectárea.

AISLAMIENTO DE BACTERIAS DE SUELO RIZOSFÉRICO Y SUELO TOTAL

Se registraron valores promedios bajos de bacterias para suelos rizosféricos, pero se evidenció un menor tamaño poblacional para suelos totales, para las áreas de Arcabuco y Tipacoque. Se observó que las poblaciones son poco diversas y con una clara dominancia de un morfotipo/especie microbiana. Así de las muestras de rizosfera y suelo total, se logró aislar la especie *Bacillus subtilis*, la cual es considerada como una de las bacterias más eficientes para controlar enfermedades foliares, al igual que *Pseudomonas fluorescens* (Rodgers 1993, Patkowska 2002, Kloepper *et al.* 2004). Con respecto a investigaciones en poblaciones rizosféricas en forestales, en estudios de bosques de pinos boreales, encontraron principalmente bacterias del orden Bacillales y proteobacterias asociadas a la micorrizósfera de micorizosfera (Timonen & Hurek 2006, Bending *et al.* 2002).

AISLAMIENTO DE BACTERIAS FILOSFÉRICAS

El morfotipo predominante fue el género *Pseudomonas fluorescens*, bacteria con mecanismo de acción para el control biológico de microorganismos patógenos (Kong *et al.* 1997). El estudio de la filósfera se ha enfocado hacia la especies fitopatógenas de los géneros *Pseudomonas*, *Xanthomonas* y *Erwinia*. En particular hacia la *Pseudomonas syringae*, una especie que participa en las comunidades bacterianas filoeféricas como un patógeno, y como epífita (Morris *et al.* 1998, Wilson *et al.* 1999, Mercier & Lindow 2000, Hirano & Upper 2000).

PRUEBA DE ANTAGONISMO

El efecto de inhibición del crecimiento de *Pestalotia* spp. por *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* fue negativo, a pesar de ser estas bacterias unas de las más eficientes en el control biológico de algunos patógenos. El género *Pseudomonas*, especialmente el grupo de las *Pseudomonas fluorescentes* y *Bacillus subtilis*, produce metabolitos secundarios con actividad antagónica y/o antibiótica contra varios patógenos rizosféricos (Ferrera & Alarcón 2007). Entre estos metabolitos, están los sideróforos, inhibidores del crecimiento de varios

hongos fitopatógenos, tales como *Phytophthora parasitica* (Seuk *et al.* 1988, Xiao & Kisaalitaw 1998, Yang *et al.* 1994), *Phythium ultimum* (Hamdan *et al.* 1991) *Fusarium oxysporum* var. *dianthi* (Buysens *et al.* 1996 y *Sclerotinia sclerotiorum* (McLoughlin *et al.* 1992).

CONCLUSIONES

En ninguna de las tres poblaciones de robledales (Tipacoque, Arcabuco y Encino), monitoreadas, se constató ataque del género *Phytophthora ramorum*, a los árboles de roble (*Quercus humboldtii*), por lo que se puede afirmar que el agente patógeno no fue hallado en el presente estudio. No se encontró en las tres zonas monitoreadas sintomatología (aparición de chancros sobre la corteza del tronco, manchas marrón oscuro con exudados de savia) relacionada con *Phytophthora ramorum*.

Se aislaron *Pestalotia* spp., y *Fusarium* spp. El género *Pestalotia* ha sido asociado en Colombia con problemas fitosanitarios relevantes en frutales como la feijoa (*Acca sellowiana* Berg) y de guayaba (*Psidium guajava* L.), a altitudes de 1500-1900 m.s.n.m.

No se pudo demostrar que las especies *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* puedan actuar como agentes biocontroladores de *Pestalotia* spp.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras del trabajo expresan un agradecimiento muy especial a la Fundación Natura y a la DIN de la UPTC, por el aporte de los recursos con los cuales se financiaron las diferentes actividades experimentales y para el logro de los objetivos propuestos. Al Biólogo Fausto Sáenz Jiménez, por su colaboración durante la fase de campo y fotos. Al Ingeniero Forestal Luis Mario Cárdenas por sus observaciones. Al fitopatólogo y profesor de la escuela de Biología- UPTC Jorge Blanco, por su ayuda en la confirmación de los géneros fúngicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexandrova, M. Bazzi, C. & P. Lameri. 2003. *Bacillus subtilis* strain BS-F3: colonization of pear organs and its action as a biocontrol agent. Acta Horticulturae 590: 291-297.

- Balci, Y. Balci, S. Blair, J.E. Park, S-Y. Kang, S. & W.L. Macdonald.** 2008. *Phytophthora quercetorum* sp. nov., a novel species isolated from eastern and north-central USA oak forest soils. *Mycological Research* 1: 906–916.
- Barnett, H. L. & B. Hunter.** 1972. *Illustrated general of imperfect fungi*. 4 ed. New York: Mc Millan Publishing Company. 241 p.
- Bending, G. D., Poole, E. J., Whipps, J. M. & D.J. Read.** 2002. Characterization of bacteria from *Pinus sylvestris*-*Suillus luteus* mycorrhiza and their effects on root-fungus interactions and plant growth. *FEMS Microbiology Ecology* 39: 219-227.
- Buysens, S., Heungens, K., Poppe, Y & M. Jhofte.** 1996. Involvement of Pyochelin and pioverdin in suppression of *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 865-871.
- Brown, L. B. & B. Allen-Diaz.** 2009. Forest stand dynamics and sudden oak death: mortality in mixed-evergreen forests dominated by coast live oak. *Forest Ecology and Management* 257: 1271–1280
- Chin-A-Weng, T. F. C., Bloenberg, G. V. & B. J. J. Lugtenberg.** 2003. Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. *New Phytologist* 57: 503-523.
- De Meyer, G., Capieau, K., Audenaert, K., Buchala, A., Métraux, J. P. & M. Hofte.** 1999. Nanogram amounts of salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 activate the systemic acquired resistance pathway in bean. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 12: 450-458.
- Dunne, C., Crowley, Y., Moenne-Loccoz, D.N. Dowling, F.J. deBruijin, & F. O'Hara.** 1997. Biological control of *Pythium ultimum* by *Stenotrophomonas malophilia* W81 is mediated by an extracellular proteolytic activity. *Microbiology* 143: 3921-3931.
- Farfán, P. D., Insuasty, O. & F. Casierra.** 2006. Distribución espacio temporal y daño ocasionado por *Pestalotia* spp. en frutos de guayaba. *Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 7: 89-98.
- Ferrera, R. & A. Alarcón.** 2007. *Microbiología agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo*. Ed. Trillas, México. 568 p.
- Fundación Natura.** 2000. Plan integral para la conservación biológica y el desarrollo sostenible en el municipio de Encino, Santander. Informe final preparado por la Alcaldía municipal de Encino y Fundación Natura.
- Gonzalez, V. C. A., Seleme, F-V. & C. M. Juri.** 2002. Identificación del patógeno que causa el tizón de las coníferas en Catamarca. Universidad Nacional de Catamarca. Congreso Regional de Ciencia y Tecnología. Catamarca. Argentina. p. 7.
- Hamdan, H., Weller, D. & L. Thomashow.** 1991. Relative importance of fluorescens siderophores and other factors in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 and M4-80R. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 3270-3277.
- Handelsman, J. & E. V. Stabb.** 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *Plant Cell* 8: 1855-1869.
- Hirano, S. S. & CH. D. Upper.** 2000. Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae* pathogen, ice nucleus and epiphyte. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64: 624-653.
- Jung, T., Hudler, G.W., Jensen-Tracy, S. L., Griffiths, H. M., Fleischmann, F. & W. Oswald.** 2005. Involvement of *Phytophthora* species in the decline of European beech in Europe and the USA. *Mycologist* 19: 159-166.
- Kistler, H. C.** 1997. Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 87: 474-479.
- Kong, G. A., Kochman, J. K. & J. F. Brown.** 1997. Phylloplane bacteria antagonistic to the sunflower pathogen *Alternaria helianthi*. *Australasian Plant Pathology* 26: 85-97.
- Kloepper, J. W., Ryu, Ch. & S. Zhang.** 2004. The nature and application of biocontrol microbes: *Bacillus* spp.-induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94: 259-1266.

- Loper, J. E. & J. S. Henkels.** 1999. Utilization of heterologous siderophores enhances levels of iron available to *Pseudomonas putida* in the rhizosphere. *Applied Environmental Microbiology* 65: 5357-53-63.
- Lozano, C. G., Hernández, C. J. I. & S. J. E. Henao.** 1979. Hallazgo del género *Trigonobalanus* Forman en el Neotrópico. *Caldasia* 112: 517-537
- Mansilla, J. P., Pintos, C. & M.C. Salinero.** 1993. Aislamiento e identificación en la provincia de Pontevedra de *Phytophthora cinnamoni* Rands como patógeno de la viña. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 19: 545-549.
- Meentemeyer, R., Rizzo, D. M., Mark, W. & E. Lotz.** 2004. Mapping the risk of establishment and spread of sudden oak death in California. *Forest Ecology and Management* 200: 195-214.
- Mercier, J. & S. E. Lindow.** 2000. Role of leaf surface sugars in colonization of plants by bacterial epiphytes. *Applied Environmental Microbiology* 66: 369-374.
- Michaud, M., Martinez, C., Simao-Beunir, A. M., Belander, R. R. & R. J. Tweddell.** 2002. Selection of antagonist microorganisms against *Helminthosporium solani*, causal agente of potato silver scurf. *Plant Disease* 86: 717-720.
- Morris, C.E., Monier, J-M. & M-A. Jacques.** 1998. A technique to quantify the population size and composition of the biofilm component in communities of bacteria in the phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 4789-4795.
- McLoughlin, T. J., Quinn, J. P., Bettermann, A. & R. Bookland.** 1992. *Pseudomonas cepacia* suppression of sunflower *Pseudomonas cepacia* Wilt fungus and role of anti-fungal compounds in controlling the disease. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 1760-1763.
- McPherson, B.A., Mori, S. R., Wood, D. L., Storer, A. J. Svihra, P. Kelly, N. M. & R. B. Stan-diford.** 2005. Sudden oak death in California: Disease progression in oaks and tanoaks. *Forest Ecology and Management* 213: 71-89.
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E. & R. C. Ploetz.** 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of National Academy Sciences* 95: 2044-2049.
- Páez, M., Martínez-Nieto, P. & J. Bernal-Castillo.** 2005. Siderophore producing *Pseudomonas* as pathogenic *Rhizoctonia solani* and *Botrytis cinerea* antagonists. *Universitas Scientiarum* 10: 65-74.
- Patkowska, E.** 2002. The role of rhizosphere antagonistic microorganisms in limiting the infection of underground parts of spring wheat. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* 5(2): 1-9.
- Rizzo, D. M., Garbelotto, M., Davidson, J. M., Slaughter, G. W. & S. T. Koike.** 2002. *Phytophthora ramorum* as the cause of extensive mortality of *Quercus* spp. and *Lithocarpus densiflorus* in California. *Plant Disease* 86: 205-214.
- Rizzo, D. M. & M. Garbelotto.** 2003. Sudden oak death: endangering California and Oregon forest ecosystems. *Frontiers in Ecology and Management* 1: 197-204.
- Rodgers, P. B.** 1993. Potential of biopesticides in agriculture. *Pesticide Science* 39:117-129.
- Seuk, C., Paulita, T. & R. Baker.** 1988. Attributes associate with increased bio-control activity of fluorescent *Pseudomonas*. *Journal of Plant Pathology* 4: 218-225.
- Solano, C.** 2002. Paisaje productivo sostenible para el mejoramiento de la calidad de vida de los pobladores rurales y la conservación de los bosques de roble y ecosistemas asociados en los municipios de Encino, Coromoro (Santander) y Belén (Boyacá). Fundación Natura. Bogotá.
- Solano, C., Roa, C. & Z. Calle.** 2005. Estrategia de desarrollo sostenible. Corredor de conservación Guantiva-La Rusia-Iguaque. Boyacá-Santander/Colombia. Colombia: Fundación Natura-The Nature Conservancy. 92 p.
- Solano, L.** 1999. Efecto del embolsado del fruto sobre la incidencia de *Pestalotia versicolor* Speng. Producción y calidad en dos variedades de guayaba *Psidium guajava* L. Trabajo de grado

- (Ingeniero Agrónomo). Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia–UPTC. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela de Ingeniería Agronómica. UPTC. Tunja. 91 p.
- Sosa de Castro, N. T. Álvarez, R. E. & M. G. Cabrera.** 2003. Ocurrencia de *Pestalotia* sp. causando lesiones necróticas en plantas de Jazmín del Cabo (*Gardenia Augusta*). Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Corrientes. Argentina. 3p.
- Timonen, S. & T. Hurek.** 2006. Characterization of culturable bacterial populations associating with *Pinus sylvestris*-*Suillus bovinus* mycorrhizospheres. *Canadian Journal of Microbiology* 52: 769-778.
- Toledo, Y., Hernández, A. & M. Álvarez.** 2002. Determinación del efecto antagónico de un biopreparado a partir de una cepa de *Burkholderia cepacia* ante *Fusarium* sp en un cultivo de Gladiolo (*Gladiolus* sp). Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba. *Cultivos Tropicales* 23:11-15.
- Thompsons, I. P., Baley, M. J., Fenlon, J. S., Ferrer, T. R., Lilley, A. K., Lynch, J. M., McCormack, P. J., McQuilken, M. P., Purdy, K. J., Rainey, P. B. & J.M. Whipps.** 1993. Quantitative and qualitative seasonal changes in the microbial community from the phyllosphere of sugar beet (*Beta vulgaris*). *Plant and Soil* 150: 177-191.
- Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M. & C. M. J. Pieterse.** 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 36: 453-483.
- Werres, S., Marwitz, R., Man In'tVeld, W. A., De Cock, A. W. A. M., Bonants, P. J. M., De Weerd, M., Themann, K., Ilieva, E. & R.P. Baayen.** 2001. *Phytophthora ramorum* sp. nov., a new pathogen on *Rhododendron* and *Viburnum*. *Mycological Research* 105: 1155-116.
- Wilson, M., Hirano, S. S. & S. E., Lindow.** 1999. Location and survival of leaf-associated bacteria in relation to pathogenicity and potential for growth within the leaf. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 1435-1443.
- Xiao, R. & W. Kisaalita.** 1998. Fluorescent pseudomonad pyoverdines bind and oxidize ferrous ion. *Applied and Environmental Microbiology* 54: 1472-1476.
- Yang, C. H. & D. E. Crowley.** 2000. Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. *Applied Environmental Microbiology* 66: 345-351.
- Yang, C. H., Menge, J. & D. Cooksey.** 1994. Mutations affecting hyphal colonization and Pyoverdine production in pseudomonads antagonistic toward *Phytophthora parasitica*. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 473-481.
- Zhou, T. & T. C. Paulitz.** 1993. In vitro and in vivo effects of *Pseudomonas* spp. on *Pythium aphanidermatum*: Zoospore behavior in exudates and on the rizoplane of bacteria-treated cucumber roots. *Phytopathology* 83: 872-876.