

ASPECTOS RELEVANTES DEL BIOCONTROL DE ENFERMEDADES DEL SUELO

GREAT ASPECTS OF GROUND BIOCONTROL DISEASES

Germán F. Sepúlveda Chavera

Control biológico es un concepto usado tanto en fitopatología como en entomología o malherbología, que explica el control de un organismo dañino por otro. Sin embargo, el concepto se ha desarrollado por diferentes líneas en las disciplinas mencionadas. Así, en cuanto los entomólogos introducen un insecto parásito-específico desde un lugar (región o país) para el control de un determinado insecto-plaga en otro, el mismo trabajo en fitopatología enfatiza el manejo de microorganismos antagonísticos residentes a través de prácticas, tales como aplicación de fertilizantes orgánicos, rotación de cultivos e incorporación de residuos de plantas infectadas.

De acuerdo con Cook y Baker (1983), el control biológico corresponde a la 'reducción de la suma de inóculo o de las actividades determinantes de la enfermedad provocada por un patógeno, realizada por, o a través de, uno o más organismos que no es el hombre'. Así, alteraciones en el crecimiento, infectividad, virulencia, agresividad u otras características del patógeno o en procesos que determinan la infección, desarrollo de síntomas y reproducción pueden obedecer a un proceso de control biológico. La dinámica del equilibrio biológico prevaeciente en los ecosistemas naturales depende, entre otros factores, de la relación entre los habitantes microbianos (Henis y Chet, 1975). La categoría de tales interacciones se puede agrupar en **Neutra**, donde no existe interacción; **Benéfica**, donde los organismos que interactúan resultan mutuamente favorecidos y, **Detrimental**, donde

uno de los organismos que participan de la interacción resulta perjudicado.

En la actualidad, los tópicos investigados van desde la identificación de nuevos microorganismos como potenciales Agentes de Control Biológico (ACB) hasta la identificación de los mecanismos de expresión génica de los microorganismos comprobadamente eficientes (Corbel y Loper, 1995; Laville *et al.*, 1992; Omero *et al.*, 1999), buscando mejorar su efectividad (Fuchs *et al.*, 1997; Limón *et al.*, 1999; Lorito *et al.*, 1998; Noronha y Ulhoa, 1996) y entender la dinámica ecológica entre ellos (Kim *et al.*, 1997; Raaijmakers *et al.*, 1997; Shanahan *et al.*, 1992). O sea, desde la investigación tradicional hasta la aplicación de modernas técnicas de genética molecular (Broglie *et al.*, 1991). Para entender adecuadamente el estado actual del control biológico de las enfermedades del suelo, se debe recorrer la historia y sumergirse en aspectos tales como suelos supresivos y el efecto de las rotaciones y de los cultivos múltiples, como prácticas culturales "tradicionales", promovidas por la llamada agricultura "alternativa".

MECANISMOS DE ACCIÓN DEL CONTROL BIOLÓGICO

Los mecanismos de las interacciones entre microorganismos patógenos y biocontroladores se pueden dividir en: **antibiosis**, en la cual uno o más metabolitos producidos por un organismo tiene un

¹ Facultad de Agronomía, Universidad de Tarapacá, Avda. General Velásquez 1775, Arica. E-mail: 'gsepulve@uta.cl

efecto dañino sobre otro. Usualmente ocurre inhibición en el crecimiento y/o en la germinación de las esporas del fitopatógeno, como ocurre con *Pseudomonas fluorescens* 2-79 contra *Gauemannomyces graminis*; **competición**, la cual es una interacción entre dos o más organismos que tienen el mismo objetivo. A nivel de microorganismos ocurre principalmente competición por carbohidratos, nitrógeno y factores del crecimiento, como se verifica entre *Fusarium* no patogénico y *Fusarium* patogénico; **parasitismo**, se refiere principalmente a la acción de hiperparásitos que atacan hifas y estructuras de reproducción y de sobrevivencia de los patógenos de plantas, reduciendo la infección y el inóculo del patógeno como ocurre entre *Trichoderma harzianum* contra *Sclerotium rolfsii*; **predación** corresponde a un mecanismo más agresivo que implica una acción físico-mecánica en la captura de energía, tal como se verifica con el hongo *Arrobotrys* spp especializado en la captura de nematodos; **resistencia sistémica inducida** ocurre cuando el microorganismo o sus metabolitos tienen acción dirigida en la planta hospedera y no en el patógeno propiamente. Se verifica, en este caso, una alteración de los mecanismos bioquímicos de respuesta de la resistencia de la planta con reflejos en la expresión de la resistencia, como ocurre entre *Fusarium* no patogénico y *Fusarium* patogénico; en la **hipovirulencia** un linaje del patógeno menos agresivo o no patogénico puede competir o inducir resistencia en la planta contra el patógeno agresivo o patogénico. Un antagonista puede actuar a través de uno o más mecanismos de interacción, lo que se constituye en una característica deseable ya que aumenta las oportunidades de éxito.

En general, la ocurrencia de las enfermedades de plantas denota que existe un desequilibrio en el balance biológico del suelo, que interactúa con otros factores. Actualmente, están siendo mejor entendidas las interacciones y correlaciones de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo que influyen en el crecimiento, sobrevivencia del patógeno y el desarrollo de las enfermedades en cada ambiente y las respectivas reacciones de las plantas cultivadas.

NECESIDAD DE CONTROL BIOLÓGICO

Seleccionar organismos antagonistas a hongos fitopatógenos en diversos cultivos, ha sido el objetivo de varios centros de investigación en todo el

mundo y actualmente representa una necesidad, considerando:

1. Especificidad geográfica de los organismos antagonistas.
2. Aumento de la variabilidad específica de fitopatógenos con producción rápida de formas resistentes a diversos agrotóxicos.
3. Costo cada vez mayor en la producción de moléculas para fabricación de agrotóxicos.
4. Prohibición en la fabricación de fumigantes potentes, tales como BrCH_3 .
5. Contaminación de operadores, suelo, napas freáticas y alimentos durante la aplicación de agrotóxicos.

En la Universidad de Cornell, USA, la experiencia de más de 20 años de investigación con *Trichoderma harzianum* Rifai, está produciendo una mudanza en la perspectiva; y la creación del strain T22 a través de fusión de protoplastos, *in vitro*, resultó en un microorganismo altamente competitivo en la rizosfera. Así, se pudieron desdiseñar algunos prejuicios respecto del control biológico: el control biológico es tan efectivo para controlar una determinada enfermedad del suelo como el control químico (Mathre *et al.*, 1999); los ACB pueden ser efectivos durante un largo período de tiempo y, por tanto, no es efectivo que su aplicación sea dirigida sólo a aplicaciones en semillas. *Trichoderma* spp puede ser un colonizador eficiente de raíces, y ese hecho tiene consecuencias importantes en el control de enfermedades del suelo y sobre la productividad de las plantas (Baker *et al.*, 1984).

Los cambios generados en él como se entienden los ACB significaron un impacto en el número de productos comerciales basados en ACB disponibles; así, si en 1995 el USDA-ARS registraba sólo 10 productos comerciales a base de ACB, hoy el número de esos productos es mucho mayor, alcanzando a 48 productos comerciales a base de 19 microorganismos (Tabla 1), y todo indica que en el futuro ese número se multiplicará aún más. La investigación actual con *Trichoderma* está orientada a la identificación, en detalle, de los mecanismos que participan del antagonismo (Messner *et al.*, 1988; Noronha & Ulhoa, 1996; Omero *et al.*, 1999). *Trichoderma* produce distintos tipos de enzimas (celulasas, quitinasas, proteasas, glucanasas) responsables de la lisis de la pared celular en varios hongos fitopatógenos.

Tabla 1
Algunos agentes biocontroladores formulados como productos comerciales
en los Estados Unidos de Norteamérica (Fuente: ARS-USDA, 2001)

Bacterias		
Microorganismo Biocontrolador	Nombre producto comercial	Enfermedad Objetivo
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Galltrol-A®, Nogall®, Diegall®, Norbac 84C®	Agalla de la corona causada por <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .
<i>Bacillus subtilis</i>	Subtilex®, Companion®, Kodiak®, Rhizo Plus®, Serenade®, System3®, HiStick N/T®	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Phytophthora</i> , <i>Alternaria</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp. Que atacan raíces, <i>Sclerotinia</i> , <i>Verticillium</i> , <i>Streptomyces scabies</i> ; <i>Oidio</i> , cercosporosis, tizón temprano, tizón tardío, pudrición café y otros.
<i>Burkholderia cepacia</i>	Intercept®	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium</i> , <i>Fusarium</i> y enfermedades causadas por lesiones y nematodos fitoparásitos.
<i>Pseudomonas aureofaciens</i> TX-1	Spot-Less	Antracnosis, <i>Pythium aphanidermatum</i>
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	Cedomon®	Bandeado de hojas, manchas foliares, <i>Fusarium</i> sp., y otras.
<i>Pseudomonas fluorescens</i> A506	BlightBan A506®, Conquer®	Daño por frío, <i>Erwinia amylovora</i> , y bacterias inductoras de russet; <i>Pseudomonas tolaassii</i> .
<i>Pseudomonas syringae</i>	Bio-save 100®, Bio-save 110®	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Mucor pyroformis</i> , <i>Geotrichum candidum</i>
<i>Streptomyces griseoviridis</i>	Mycostop®	<i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria brassicola</i> , <i>Phomopsis</i> spp., <i>Botrytis</i> spp., <i>Pythium</i> spp., y <i>Phytophthora</i> spp. que causan pudrición de raíces, semillas y marchitez.
Hongos		
<i>Ampelomyces quisqualis</i>	AQ10®	Peste ceniza (<i>Oidio</i> spp.)
<i>Candida oleophila</i> I-182	Aspire®	<i>Botrytis</i> spp., <i>Penicillium</i> spp.
<i>Coniothyrium minitans</i>	Constans®, KONI®	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y <i>S. minor</i>
<i>Fusarium oxysporum</i>	Biofox C®, Fusaclean®	<i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Fusarium moniliforme</i> .
<i>Gliocladium virens</i> GL21	SoilGard ®	Caída de plántulas y pudrición de raíces causadas por <i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Pythium</i> spp.
<i>Gliocladium catenulatum</i>	PreStop®, Primastop®	<i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> spp., <i>Botrytis</i> spp., <i>Didymella</i> spp.
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Paecil®	Varias especies de nematodos.
<i>Phlebia gigantea</i>	Rotstop®, P.g. Suspension®	<i>Heterobasidium annosum</i>
<i>Pythium oligandrum</i>	Polyversum®	<i>Alternaria</i> spp., <i>Aphanomyces</i> spp., <i>Botrytis</i> spp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Gaeumannomyces graminis</i> , <i>Phytophthora</i> spp., <i>Pseudocercospora herpotrichoides</i> , <i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Tilletia caries</i> , <i>Sclerotium cepivorum</i>
<i>Talaromyces flavus</i>	Protus WG®	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Verticillium dahliae</i> y <i>V. albo-atrum</i> .
<i>Trichoderma harzianum</i>	Bio Fungus®, Binab T®, Root Pro®, RootShield®, T-22G®, T-22 Planter Box®, Bio-Trek®, Supresivit®, Trichodex®, Trichopel®, Trichoject®, Trichodowels®, Trichoseal®, Trichoderma 2000®	hongos que causan marchitez, pudrición de raíces, y decaimiento de hortalizas y árboles; <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Collectotrichum</i> spp., <i>Fulvia fulva</i> , <i>Monilia laxa</i> . <i>Plasmodium viticola</i> , <i>Pseudoperonospora cubensis</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Armillaria</i> , <i>Botryosphaeria</i> , <i>Chondrosternum</i> , <i>Nectria</i> ; <i>Sclerotinia</i> , <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium</i> spp., <i>Fusarium</i> , <i>Verticillium</i> patógeno
<i>Trichoderma viride</i>	Trieco®, EcoSOM®	<i>Rhizoctonia</i> spp., <i>Pythium</i> spp., <i>Fusarium</i> spp., pudrición de raíces, pudrición de semillas, pudrición roja, damping-off, Fusariosis.

Uno de los mecanismos estudiados en profundidad en *Trichoderma* es el reconocimiento entre el antagonista y el hospedero. Después del contacto, el antagonista crece y se enrolla sobre la hifa hospedera. A través del uso de un sistema biomimético (sistema artificial que simula condiciones naturales), fue demostrado que el enrollamiento en torno de la hifa hospedera no ocurre solo debido a un estímulo por contacto. Denis y Webster (1971) en un experimento clásico, colocaron en contacto al antagonista *T. harzianum* y fibras de nylon con el mismo espesor de las hifas hospederas y por microscopía electrónica de barrido comprobaron que no ocurrió enrollamiento alguno. Experiencias posteriores indican que las lectinas parecen estar relacionadas directamente en el proceso de reconocimiento así como en el enrollamiento del antagonista sobre el hospedero (Inbar y Chet, 1992). Estos investigadores demostraron en un experimento semejante al de Denis y Webster (1971), que en presencia de fibras de nylon del espesor de las hifas del hospedero tratadas con lectina aislada de *R. solani*, el antagonista *T. harzianum* presenta comportamiento micoparásito, o sea, reconoce y se enrolla en torno de la fibra de nylon "hospedera" con la formación de estructuras en forma de gancho. Omero *et al.* (1999) propusieron un modelo regulador de dos componentes que desencadena una reacción en cascada. En este modelo, las proteínas de superficie (tipo lectinas) son fundamentales en el reconocimiento antagonista-hospedero.

Otro tópico bien estudiado es el mecanismo de defensa inducido en las plantas por rizobacterias contra enfermedades radiculares (Cook *et al.*, 1995), especialmente el papel de los antibióticos en la supresión del "mal-del-pie" del trigo (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) efectuada por *Pseudomonas fluorescens* 2-97 (Weller y Cook, 1983; Raaijmakers *et al.*, 1997). Así, David Weller y Linda Thomashow (Thomashow y Weller, 1988) del ARS-USDA, en una investigación sistemática de más de 30 años demostraron la eficiencia de Phenazina-1-carboxilato sobre el "mal-del-pie". Sin embargo, existen desventajas que dificultan su uso comercial, tales como que el mecanismo de producción de Phenazina no trabaja en suelos arcillosos y, al controlar una única enfermedad, se pueden favorecer otros fitopatógenos como *Rhizoctonia* y *Pythium* (Mathre *et al.*, 1999). En este caso, desde el punto de vista comercial, la alta especificidad condiciona un mercado restringido

(para una única enfermedad en un único cultivo). Así, los strains productores de Phenazina fueron discontinuados. El aislamiento de otro producto antibiótico, el 2,4-diacetil-phloroglucinol (DAPG), reorientó la investigación de la producción de compuestos antibióticos producidos por *Pseudomonas fluorescentes* (Shanahan *et al.*, 1992; Bonsall *et al.*, 1997); del mismo modo que, para Phenazina, se estudiaron los mecanismos moleculares que regulan la producción y acción de estos antibióticos (Cook *et al.*, 1995).

Los compuestos sintetizados por *Pseudomonas* presentan nuevos desafíos para el conocimiento de la diversidad de compuestos generados vía padrón poliketido y se constituyen en una fuente valiosa de material genético para sintetizar nuevas estructuras vía reprogramación genética (Bender *et al.*, 1999). *Pseudomonas fluorescentes* presentes en el suelo promueven el crecimiento vegetal por inhibición de microorganismos perjudiciales a las plantas. La producción de metabolitos secundarios por estos strains contribuye a suprimir los principales patógenos de las raíces. *Pseudomonas* spp produce, además, 4 antibióticos derivados de poliketidos. Los estudios de estos compuestos amplían el conocimiento de los factores de virulencia en la interacción bacteria-planta y el conocimiento de los mecanismos de control biológico (DAPG, Pyoluteorina). Estos estudios han demostrado que la producción de DAPG y Pyoluteorina es controlada por redes reguladoras que integran el metabolismo base de la célula con factores ambientales tales como temperatura y fuentes de carbono utilizadas. DAPG es sintetizado por muchas *Pseudomonas* asociadas a plantas, estos productos antibióticos además de la actividad antimicrobiana son fitotóxicos y supresores de hongos fitopatógenos incluyendo *Thielabiopsis basicola*, *Pythium ultimum* y *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *In vitro*, Sucrosa, fructosa y manitol promueven altos rendimientos de DAPG, contrariamente, glucosa y sorbosa reprimen la producción de este antibiótico. La fase actual de la investigación busca obtener un producto comercial que sea capaz de producir Phenazina y Phloroglucinol.

Una dificultad adicional en el desarrollo de estos ACB, es la existencia de un único strain altamente eficiente (como el strain 2-79 de *P. fluorescens*). Sin embargo, vale la pena comentar dos casos ilustrativos: La producción a escala comercial de Penicilina durante la segunda guerra mundial

siguió al descubrimiento de un strain “bonanza” de *Penicillium*, llamado *P. chrysogenum* NRRL 1951, aislado de un melón podrido encontrado en un mercado, y aislado en el laboratorio de Investigación Regional Norte de Peoria por un residente local (Rapel, 1978).

COMENTARIOS FINALES

Un resultado obvio de este acumulo de información al respecto de los ACB es su potencial como fuentes de genes para biotransformación, tanto de microorganismos como de plantas, a fin de mejo-

rar su eficiencia. De hecho, ya existen resultados de esta línea de trabajo (Limón *et al.*, 1999; Lorito *et al.*, 1998). Algunos aspectos fisiopatológicos de la interacción ACB–patógeno–hospedero se refieren a los mecanismos de acción asociados a aislados no-patogénicos, o sea, competición y resistencia sistémica inducida, tal como lo ilustra claramente el caso de *F. oxysporum* Fo47 que induce resistencia en tomate contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Larkin y Fravel, 1999).

Así se puede verificar que los microorganismos juegan un papel muy importante en el control de enfermedades de las plantas, tal como ocurre en el ambiente natural y en algunos ecosistemas agrícolas.

LITERATURA CITADA

- BAKER, R.; Y. ELAD E I. CHET. 1984.** The controlled experiment in the scientific method with special emphasis on biological control. *Phytopathology* 74: 1019-1021
- BENDER, C. L.; F. ALARCÓN-CHAIDEZ Y D. C. GROSS. 1999.** *Pseudomonas syringae* Phytotoxins: Mode of Action, regulation, and biosíntesis by Peptide and poliketide synthetases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63(2): 266.
- BONSALL, R.; D. WELLER Y L. THOMASHOW. 1997.** Quantification of 2,4-diacetylphloroglucinol produced by fluorescent *Pseudomonas* spp. *In vitro* and in the rhizosphere of wheat. *Appl. And Environmental Microbiology* 63(3): 951-955.
- BROGLIE, K.; I. CHET; M. HOLLIDAY; R. CRESSMAN; P. BIDDLE; S. KNOWLTON; J. MAUVAIS Y R. BROGLIE. 1991.** Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. *Science* 254: 1194-1197.
- COOK, R. J. Y K. F. BAKER. 1983.** The Nature and Practice of Biological Control Plant Pathogens. APS Press, St. Paul. M. N. 539 p.
- COOK, J.; L. THOMASHOW; D. WELLER; D. FUJIMOTO; M. MAZZOLA; G. BANGERA Y D. KIM. 1995.** Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 92: 4197-4201.
- CORBEL, N. Y J. LOPER. 1995.** A global regulator of secondary metabolite production in *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Journal of Bacteriology* 177(21): 6230-6236.
- DENIS, C. Y J. WEBSTER. 1971.** Antagonic properties of species group of *Trichoderma*. III hyfal interaction. *Trans. British Mycological Society* 57: 363-369.
- FUCHS, J.; Y. MOËNNE-LOCCOZ Y G. DÉFAGO. 1997.** Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Strain Fo47 induces resistance to *Fusarium* wilt in tomato. *Plant Disease* 81: 492-496.
- HARMAN, G. E. 2000.** Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease* 84(4): 377-393.
- HENIS, Y. E I. CHET. 1975.** Microbial control of Plant Pathogens. *Adv. Appl. Microbiol.* 19: 85-111.
- INBAR, J. E I. CHET. 1992.** Biomimics of fungal cell-cell recognition by use of lectin coated nylon fibers. *Journal of Bacteriology* 174(3): 1055-1059.
- KIM, D.; J. COOK Y D. WELLER. 1997.** *Bacillus* sp. L324-92 for biocontrol of three root diseases of wheat grown with reduced tillage. *Phytopathology* 87: 551-558.
- LARKIN, R. Y D. FRAVEL. 1999.** Mechanisms of action and dose-response relationships governing biological control of *Fusarium* wilt of tomato by nonpathogenic *Fusarium* spp. *Phytopathology* 89: 1152-1161.
- LAVILLE, J.; C. VOISARD; C. KEEL; M. MAURHOFER; G. DEFAGO Y D. HAAS. 1992.** Global control in *Pseudomonas fluorescens* mediating antibiotic synthesis and suppression of black root rot of tobacco. *Pro. Nat. Acad. Sci. USA.* 89: 1562-1566.
- LIMÓN, C.; J. PINTO-TORO Y T. BENÍTEZ. 1999.** Increased antifungal activity of *Trichoderma harzianum* transformants that overexpress a 33-kDa chitinase. *Phytopathology* 89: 254-261.
- LORITO, M.; S. WOO; L. GARCÍA-FERNÁNDEZ; G. COLUCCI; G. HARMAN; J. PINTOR-TORO; E. FILIPPONE; S. MUCCIFORA; C. LAWRENCE; A. ZOINA; S. TUZUN Y F. SCALA. 1998.** Genes from mycoparasitic fungi as a source for improving plant resistance to fungal pathogens. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 95: 7860-7865.
- MATHRE, D.; R. COOK Y N. CALLAN. 1999.** From discovery to use: traversing the world of commercializing biocontrol agents for plant disease control. *Plant Disease* 83(11): 972-983.
- MESSNER, R.; F. GRUBER Y C. KUBICEK. 1988.** Differential regulation of synthesis of multiple forms of soecific endoglucanases by *Trichoderma reesei* QM 9414. *Journal of Bacteriology* 170(8): 3689-3693.
- NORONHA, E. Y C. ULHOA. 1996.** Purification and characterization of an endo- β -1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum*. *Can. J. Microbiol.* 42: 1039-1044.
- OMERO, C.; J. INBAR; V. ROCHA-RAMÍREZ; A. HERRERA-ESTRELLA; I. CHET Y B. HORWITZ. 1999.** G protein activators and cAMO promote mycoparasitic be-

haviour in *Trichoderma harzianum*. Mycol. Research. 103(12): 1637-1642.

RAAIJMAKERS, J.; D. WELLER Y L. THOMASHOW.

1997. Frequency of antibiotic-producing *Pseudomonas* spp. In natural environments. Applied and Environmental Microbiology 63(3): 881-887.

RAPEL, K. 1978. The penicillin saga. ASA News. 12: 645-653.

SHANAHAN, P.; D. O'SULLIVAN; P. SIMPSON; J.

GLENNON Y F. O'GARA. 1992. Isolation of 2,4-Diacetylphloroglucinol from a fluorescent Pseudomonad and

Investigate of physiological parameters influencing its production. Applied and Environmental Microbiology 58(1): 353-358.

THOMASHOW, L. Y D. WELLER. 1988. Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*. Journal of Bacteriology 170(8): 3499-3508.

WELLER, D. Y R. COOK. 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatment with fluorescens pseudomonads. Phytopathology 73: 463-469.