

Artículo de investigación

Comparación de la eficacia de tres antagonistas comerciales para el control de *Plasmodiophora brassicae* Wororin en condiciones de laboratorio

Comparison of the efficacy of three commercial antagonists for the control of *Plasmodiophora brassicae* Wororin under laboratory conditions

Castellanos Leónides¹, Fuentes Yerson Y.², Mondragón Yeison. D.

¹Programa de Ingeniería Agronómica, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Pamplona, Vía Bucaramanga km 1. Pamplona, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-9285-4879>. Email: lclcastell@gmail.com. ²Ingeniero Agrónomo en Ejercicio Libre. Pamplona, Colombia: Email: fuentesyerson@gmail.com. ³Ingeniero Agrónomo en Ejercicio Libre. Pamplona, Colombia. Email: mecanico.ydm1996@gmail.com

RESUMEN

La hernia de la col es la enfermedad más importante de las crucíferas en el mundo y también en Colombia. El objetivo de la presente investigación fue comparar la eficacia de tres productos de antagonistas comerciales a bases de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Burkholderia cepacia* para el control de *P. brassicae* en condiciones de laboratorio. Para obtener un inóculo del protozoo fitopatógeno se tomaron 10 g de raíces de brócoli con síntomas típicos de hernia, las cuales se picaron en pedazos de 2 cm², se trituraron en una licuadora por un minuto con 200 mL de agua destilada y posteriormente se filtraron con gasa estéril. Se probaron dos concentraciones (diluciones 1/10 y 1/100) se enfrentaron al patógeno comparando el resultado contra la suspensión de quistes de un testigo sin tratamiento. Se compararon los efectos en enfrentamiento en placas de Petri en un diseño completamente aleatorizado 7x4. Las evaluaciones se realizaron a los tres y siete días. La aplicación del biológico comercial a base de *T. harzianum* bajo condiciones controladas de laboratorio demostró el potencial biocontrolador del antagonista contra los quistes inactivos de *Plasmodiophora brassicae* tanto a los tres como a los siete días, lo que lo ubica como un buen candidato para el control de la hernia de las crucíferas en condiciones de campo debido a su efecto in vitro. y *B. cepacia* y *B. subtilis* mostraron determinados efectos a los tres y siete días respectivamente, por los que deben continuarse las investigaciones.

Palabras clave: Hernia de las crucíferas, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Burkholderia cepacia*

ABSTRACT

Club root is the most important disease of crucifers all over the world and also in Colombia. The present investigation aimed to compare the efficacy of three commercial antagonist products to bases of *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* and *Burkholderia cepacia* for the control of *Plasmodiophora brassicae* under laboratory conditions. To obtain an inoculum of the phytopathogenic protozoan, 10 g of broccoli roots with typical hernia symptoms were taken, which were chopped into 2 cm² pieces, crushed in a blender for one minute with 200 mL of distilled water and subsequently filtered with sterile gauze. Two concentrations (1/10 and 1/100 dilutions) were tested against the pathogen, comparing the result against the suspension of cysts from a control without treatment. Facing effects were compared in Petri dishes in a completely randomized 7x4 design. The evaluations were carried out at three and seven days. The application of the commercial biological based on *T. harzianum* under controlled laboratory conditions demonstrated the biocontroller potential of the antagonist against the inactive cysts of *P. brassicae* at both three and seven days, which makes it a good candidate for the control of club root under field conditions due to its in vitro effect. *B. cepacia* and *B. subtilis* showed certain effects at three and seven days respectively, for which investigations should be continued.

Keywords: Club root, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Burkholderia Cepacia*

Recibido: 10-02-2019

Aceptado: 17-03-2019

Publicado: 17-03-2019

Autor de correspondencia: Castellanos Leónides,
Universidad de Pamplona, Facultad de Ciencias Agrarias,
Pamplona, Norte de Santander, Colombia, correo:
lclcastell@gmail.com

Introducción

El protozoo *Plasmodiophora brassicae* Woronin es causante de la enfermedad comúnmente llamada hernia de las crucíferas, el cual afecta a las plantas de esta familia (coliflor, brócoli, repollo), causando afecciones en las raíces al propiciar la elongación y división celular en los hipocótilos y la formación de agallas en las raíces de las plantas. Como resultado, las plantas infectadas no pueden obtener suficiente agua o nutrientes (Pengjie *et al.*, 2019). Woronin determinó esta especie como el agente causal de la hernia, y elaboró el primer informe sobre la morfología y la fisiología del patógeno en 1878, o sea, que la enfermedad se conoce más de 140 años y se considera emergente en muchos lugares como en Canadá (Gossen *et al.*, 2015). El protozoo, agente causal, se comporta como parásito obligado. En su ciclo de vida se distinguen diferentes estructuras biológicas: esporas de resistencia, zoosporas, plasmodios y zoosporangios.

Las esporas de resistencia son las estructuras esenciales en la supervivencia y diseminación del patógeno. Una vez que éstas llegan al suelo, pueden sobrevivir casi 20 años en ausencia de un hospedero, sin embargo, pueden iniciar su germinación rápidamente en presencia de un hospedero susceptible. Al germinar, forman esporas móviles (zoosporas) que, en suelos con alta humedad, encuentran condición óptima para infectar nuevas plantas. En las raíces infectadas se forma una estructura microscópica conocida como plasmodio, que invade las células de las raíces conduciendo a la formación de tumores o agallas. Posteriormente, se produce una nueva generación de zoosporas que reinfectan las raíces y plantas cercanas, tornándose el proceso de infección invasivo con la formación de nuevos plasmodios.

Las agallas formadas en las raíces de las plantas infectadas se descomponen y nuevamente las esporas de resistencia llegan al suelo (Galdames, 2017). A medida que los plasmodios pasan a través de las células se van establecido en algunas de las raíces, que se estimulan para agrandar, dividir de forma anormal, y llegar a ser cinco o más veces el tamaño normal.

Las células infectadas de una hernia resultan en pequeños grupos a lo largo del tejido enfermo, y los grupos suelen estar separados por células no infectadas, raramente se infectan todas las células de una hernia; generalmente, solo alrededor del 30% del tejido está ocupado por plasmodium. Sin embargo, incluso las células no invadidas de los tejidos enfermos se estimulan a crecer de forma anormal. Las hernias infectadas con plasmodio interfieren con la absorción y

translocación de nutrientes minerales y agua a través del sistema radicular esto da lugar a un retraso gradual en el crecimiento y al marchitamiento de las partes aéreas de la planta, además, el rápido crecimiento de las células agrandadas de los tejidos de la hernia son incapaces de formar una capa de corcho en su superficie y son fácilmente rotas e invadido por microorganismos secundarios, débilmente parasitarios (Agrios, 2005). La enfermedad puede causar entre un 70 a 80% de pérdidas en los rendimientos (Castillo y Guerrero, 2012).

El patógeno tiene tres etapas en su vida. Ciclo: supervivencia en suelo, infección del vello radicular e infección cortical. Las esporas de *P. brassicae* en reposo tienen una gran capacidad para sobrevivir en el suelo. Estas esporas en reposo liberan zoosporas primarias. Cuando una de ellas alcanza la superficie de una raíz de pelo, penetra a través de la pared celular. Esta etapa es denominada etapa de infección del pelo radicular.

Dentro de los pelos de la raíz el patógeno forma plasmodios primarios. Las divisiones ocurren sincrónicamente en los plasmodios, seguidas de por escisión en zoosporangios. Más tarde, 4-16 zoosporas secundarias se forman en cada zoosporangio y se liberan en el suelo. Las zoosporas secundarias penetran en los tejidos corticales de las raíces, en un proceso llamado infección cortical. Dentro de las células de las raíces invadidas, el patógeno se desarrolla en plasmodios secundarios que se asocian con una hipertrofia celular, seguida de formación de agallas en los tejidos.

Los plasmodios finalmente se convierten en una nueva generación de esporas latentes, seguidas de su liberación de nuevo en el suelo como estructuras de supervivencia. Se han desarrollado *in vitro* cultivos duales con pelos de raíces y suspensiones de esporas latentes de *P. brassicae* y se ha podido observar de una forma no destructiva el crecimiento de este patógeno dentro de las células hospederas (Kageyama y Asano, 2009).

Botero (2016) buscó evaluar el efecto de *Trichoderma asperellum* cepa Th034, *T. brevicompactum* cepa Th201 y *T. koningiopsis* cepa Th003 sobre la reducción de la hernia en repollo 'Delus'. Para tal fin se llevaron a cabo experimentos en cuartos de crecimiento de plantas y en un campo infestado. Para los ensayos en cuartos de crecimiento de plantas, se emplearon dos concentraciones del patógeno, y *Trichoderma* se aplicó una o dos veces; la enfermedad se evaluó 60 días después de la inoculación. En condiciones controladas, se observó disminución de la enfermedad únicamente

en bajas concentraciones del patógeno; la mayor reducción de la enfermedad se encontró con una sola aplicación de *T. koningiopsis* y *T. brevicompactum*. La reducción de la enfermedad por parte de *T. asperellum* fue proporcional al número de aplicaciones efectuadas. Pengjie (2019) evaluó la efectividad de diferentes períodos de control para la enfermedad de clubroot (hernia) de la col China. Una cepa muy potente de *Bacillus subtilis*, XF-1, que se aisló de la rizosfera de coles chinas con severa raíz de club en el distrito de Guandu de Kunming, provincia de Yunnan, China, tuvo fuertes efectos inhibitorios tanto en la supervivencia como en la germinación de las esporas en reposo de *P. brassicae*. Se evaluaron varias estrategias para administrar de manera eficiente la enfermedad en la col china, y se investigaron diferentes mecanismos. La capacidad de los pelos de la raíz del repollo chino para reducir la infección por *P. brassicae* en el crecimiento y la eficiencia de la colonización de XF-1 en raíces de plántulas también se estudió. Las respuestas a la supresión de la hernia aumentaron con el aumento de la edad de las plántulas en condiciones de macetas y campos, y la tasa de pelo de la raíz no infecciosa aumentó con la inoculación de patógenos, lo que sugiere que la edad de las plántulas afecta la infección por *P. brassicae*. Se comprobó que la prevención y el tratamiento por *B. subtilis* XF-1 en una etapa temprana es la mejor manera de reducir el daño causado por la enfermedad. En el caso de *Burkholderia cepacia* no tiene un registro como tal en control para *P. brassicae*. Pero según, Doncel y Cordero (2017) la actividad anfifúngica de *B. cepacia* contra el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* la cual inhibe el crecimiento micelial y la germinación de la espora entre un 41 y 100% respectivamente, comprobando así su actividad antifúngica.

La preservación de las estructuras de resistencia de *P. brassicae*, en condiciones de laboratorio, es dificultada por el hecho de tratarse de un parásito obligatorio. Por tal razón Cruz *et al.* (2008) realizaron ensayos para la preservación de estas por congelación usando un congelador común. Hubo una diferencia estadística entre el testigo y los tratamientos con materiales congelados en el período de 21 a 242 días, los cuales preservaron sus características patógenas, mostrando que el método de congelación es una buena opción para la preservación de las estructuras de reposo de este patógeno.

En un estudio de patogenicidad con fuentes de inoculo del patógeno de diferentes zonas de Brasil mostró que al inocular sobre varias especies de crucíferas no se observaba un patrón genético específico en cuanto al

lugar de origen de las poblaciones evaluadas, mostrando que incluso en lugares distantes y con diferencias en cuanto a la patogenicidad, tales poblaciones son genéticamente similares (Cruz *et al.*, 2009).

La enfermedad de la hernia de la crucífera es muy común en la provincia de Pamplona, con daños muy severos en el Municipio de Mutiscua donde se producen pedidas notables a causa de la enfermedad. Ante las incógnitas aun existentes en la literatura con relación al control biológico de la enfermedad y su importancia en el territorio el objetivo de la presente investigación fue comparar la eficacia de tres productos de antagonistas comerciales a bases de *T. harzianum*, *B. subtilis* y *B. cepacia* para el control de *P. brassicae* en condiciones de laboratorio.

Materiales y métodos

Para obtener un inoculo del protozoo fitopatógeno se tomaron 10 g de raíces extraídas de las parcelas de brócoli mostrando síntomas típicos de hernia. Las raíces se picaron en pedazos de 2 cm² se trituraron en una licuadora por un minuto con 200 mL de agua destilada y posteriormente se filtraron con gasa estéril para retirar las partes sólidas de las líquidas (Figura 1). Se obtuvo el material biológico de *P. brassicae* y se conservó en un refrigerador común como han sugerido Cruz *et al.* (2009).

De esta forma se obtuvo un inoculo de quistes inactivos de *P. brassicae* para enfrenarlo a las suspensiones de los bioproductos.

Los bioinsumos comerciales utilizados para evaluar su efecto sobre el protozoo fueron los siguientes:

T. harzianum (Trichox WP):

Es un producto con una composición garantizada de 1x10⁸ esporas/g, con registro de venta (ICA) 9121. Posee un porcentaje de pureza microbiológica $\geq 95\%$. Tiene una germinación: 95% a las 24 horas. Su pH oscila entre los 5,0 – 7,0. Humedad $\leq 5\%$. Dosis de 1cc/L de agua. Categoría toxicológica III – Moderadamente toxico.

Este formulado con el hongo *T. harzianum* controla hongos fitopatógenos mediante parasitismo y antagonismo, estimula los mecanismos de defensa de las plantas y la resistencia sistemática, aumenta el vigor de las plantas y el volumen radicular, mejora el proceso fotosintético lo que incrementa la producción, estimula la proliferación de microorganismos benéficos en el suelo (Valle, 2016).

B. subtilis (Bactox SL):

Es un producto con viabilidad de 5x10⁹ esporas/mL de producto. Contiene un porcentaje de pureza

microbiológica: 95% - 98%. Su pH oscila entre 5,0 - 7,0. Registro de venta ICA 9824. Categoría toxicológica IV – Ligeramente tóxico.

Es un bioinsumo formulado con la bacteria *B. subtilis*, controla enfermedades causadas por hongos y bacterias, solubiliza fósforo, fija nitrógeno e induce la producción de hormonas de crecimiento vegetal, disminuye el estrés de la planta, optimiza el desempeño del cultivo, estimula la proliferación de microorganismos benéficos (Valle, 2016).

B. cepacia (Botrycid SL)

Producto con base en cepas de la bacteria *B. cepacia* 1×10^8 unidades formadoras de colonia por centímetro cúbico (UFC/cc), que inhiben el crecimiento y desarrollo de microorganismos fitopatógenos. Esta bacteria es endófito, coloniza el interior de los tejidos vegetales, estimulando su crecimiento, además, fija nitrógeno atmosférico, incrementa y modifica los pelos radiculares aumentando la capacidad de absorción de elementos nutritivos, registro ICA 6204, categoría toxicológica III – Moderadamente tóxico (Control, 2018).

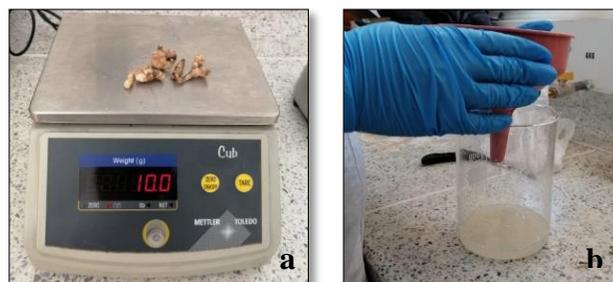


Figura 1. Proceso de extracción del patógeno. a) Peso de raíces con síntomas de hernia. b) Filtración del patógeno. Fuente: Elaboración propia

Para el ensayo de laboratorio se utilizó un diseño completamente aleatorizados que consistió se en el empleo de 28 cajas de Petri de 6 cm de diámetro previamente esterilizadas. Se implementaron 7 tratamientos cada uno con 4 repeticiones para un total de 24 cajas de Petri.

Modelo matemático que rige un diseño completamente aleatorizado:

$$Y_{ij} = m + t_i + e_{ij}$$

Dónde: m es la media

t_i : es el efecto del i-ésimo tratamiento

e ij : es la variación aleatoria del i-ésimo tratamiento y de la j-ésima observación o repetición (error experimental).

Los bioproductos comerciales en diferentes concentraciones se enfrentaron al patógeno comparando el resultado con la suspensión del testigo. Se probaron dos concentraciones 1/10 y 1/100 de cada bioproducto: *T. harzianum*, *B. subtilis* y *B. cepacia*. Para preparar estas concentraciones se tomaron 2 mL del producto comercial y se diluyeron en 18 mL de agua destilada estéril y se obtuvo la concentración 1/10 y de esta concentración se tomaron 2 mL y se diluyeron en 18 mL de agua destilada estéril para obtener la concentración 1/100. Este procedimiento se realizó para todos los bioproductos. Seguidamente se tomaron las cajas de Petri a las cuales se les añadió 4 mL de zumo de raíces y 2 mL de la suspensión microbiana en sus diferentes concentraciones según el tratamiento, y en cuanto al testigo se le suministro 6 mL del zumo de raíz (Figura 2).



Figura 2. Tratamientos evaluados en laboratorio. Fuente: Elaboración propia

Los tratamientos quedaron de la siguiente forma:

1. Testigo
2. *B. subtilis* concentración 1/100
3. *B. subtilis* concentración 1/10
4. *B. cepacia* concentración 1/100
5. *B. cepacia* concentración 1/10
6. *T. harzianum* concentración 1/100
7. *T. harzianum* concentración 1/10

Se realizaron observaciones microscópicas en cámara de Neubauer a los 3 y 7 días después de ser inoculados. Se utilizaron micropipetas para tomar 2 microlitros por tratamiento combinados con 1 mL de agua estéril para su posterior montaje con el fin de que esta estuviera a una concentración de 1/1000, el recuento de quistes consistió en tomar 4 cuadros generales los cuales contaban con 16 cuadrículas más pequeñas, para un total de 64 cuadrículas por unidad experimental. Las observaciones se realizaron con ayuda de un microscopio realizándose con el lente de ampliación de 40X. Se contaron el número de quistes sobrevivientes en los diferentes tratamientos, registraron en una base de datos (Figura 3).



Figura 3. Recuento de quistes inactivos en laboratorio: Fuente: Elaboración propia.

Para determinar la concentración de quistes (UFC) se utilizó la fórmula:

$$\text{UFC} = \frac{\text{Total de quistes contados}}{\text{Número de cuadros}} \times 10000$$

Con la información obtenida de UFC/ml se hizo un análisis de varianza unifactorial. Las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey con un 5% de probabilidad de error. Se empleó el paquete SPSS versión 21 para Windows.

Resultados

Los plasmodios y quistes eran abundantes en el zumo de las raíces, sin embargo, al inicio conservaban los quistes dentro (Figura 3) los cuales salieron en mayor medida hacia el exterior a partir del día 3 (Figura 4).

En el primer recuento a los tres días de iniciados los tratamientos de *T. harzianum* 1/100 y 1/10 (53,50 y 89,50 quistes, respectivamente) tuvieron diferencia estadística significativa con el testigo y con el tratamiento *B. subtilis* 1/10 con (230,50 quistes). Tampoco los tratamientos de *B. cepacia* en concentraciones 1/10 y 1/100 no difirieron estadísticamente con *T. harzianum* 1/100, ni difirieron del testigo. En el segundo recuento a los 7 días hubo diferencia estadística entre el tratamiento *T. harzianum* 1/10 con (52,25 quistes) y el testigo, y con los tratamientos *B. cepacia* 1/100 y *B. cepacia* 1/100 (471,00 y 468,00 quistes respectivamente). En el caso de *B. subtilis* en la dilución 1/10 se mantuvieron casi similares el número de quistes con respecto al primer muestreo y aunque no se diferencia del testigo, tampoco se diferencia de los tratamientos de *Trichoderma* (Tabla 1).

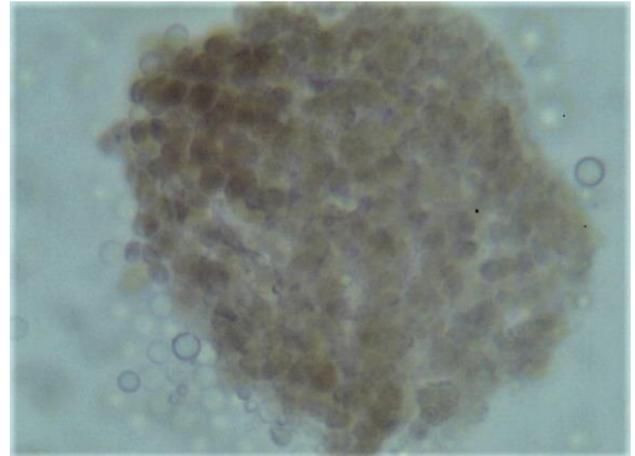


Figura 3: Plasmodio con quistes dentro.

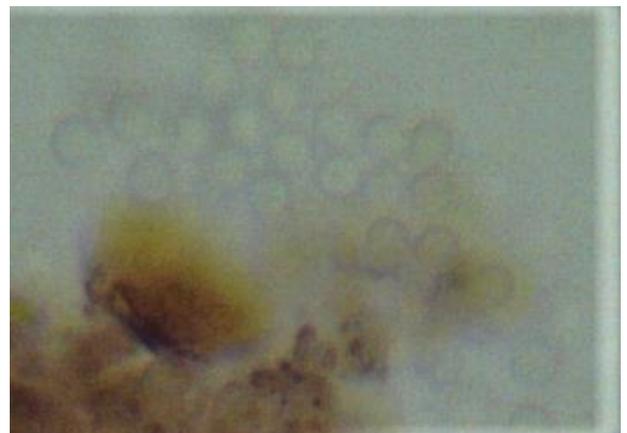


Figura 4. Plasmodio con muchos quistes fuera

Tabla 1. Descripción de los resultados de laboratorio.

999Tratamientos	Laboratorio	
	Recuento 3 día	Recuento 7 día
<i>Testigo</i>	192,25 ab	291,02 ab
<i>B. subtilis</i> 1/100	180,25 bc	182,00 bc
<i>B. subtilis</i> 1/10	230,50 a	335,00 ab
<i>B. cepacia</i> 1/100	113,75 bcd	471,00 a
<i>B. cepacia</i> 1/10	151,00 abcd	468,00 a
<i>T. harzianum</i> 1/100	53,50 d	233,25 bc
<i>T. harzianum</i> 1/10	89,50 cd	52,25 c
CV (%)	29,94	34,71
ET*	21,74	50,4

*Letras desiguales en las columnas difieren para ($P \leq 0,05$) por la prueba de Tukey. Fuente: Elaboración propia.

Discusión

En los resultados obtenidos en laboratorio a los 3 y 7 en los días después de iniciado el ensayo, se evidenció que los tratamientos de *T. harzianum* con dosis 1/10 y 1/100 fueron efectivos contrarrestando el número de quistes inactivos de *P. brassicae*, lo que se puede explicarse debido a que cuando el micoparásito hace contacto físico con su huésped, sus hifas se enrollan alrededor de este o se le adhieren por medio de estructuras especializadas. Observaciones al microscopio de otras investigaciones han permitido sugerir que *Trichoderma* spp. produce y secreta enzimas micolíticas responsables de la degradación parcial de la pared celular de su huésped. Algunos resultados que apoyan esta hipótesis han mostrado que *Trichoderma* spp. produce extra celularmente glucanasas, quitinasas, lipasas y proteasas (Velandia *et al.*, 1998).

Se pudo observar también que, aunque los bioproductos comerciales utilizados de *B. cepacia* y *B. subtilis* no tuvieron la misma reducción de los quistes que el biopreparado de *Trichoderma*, el primero no se diferenció del efecto de este a los 3 días y el segundo a una concentración tampoco se diferenció a los 7 días, lo que sugiere que estaban haciendo algún tipo de efecto.

Se dice que *Trichoderma* spp., probablemente sea el hongo beneficioso más versátil y polifacético que abunda en los suelos capaces de aportar una inmensa gama de beneficios que demuestran su incalculable valor desde el punto de vista agrícola, beneficios que lo convierten en un microorganismo de imprescindible presencia en los suelos y cultivos (Valdés, 2014), por lo que no sorprenden los resultados obtenidos, no obstante se hace necesario probar mas productos comerciales y a partir de cepas nativas para ver si mejoran los presentes resultados, debiendose pasar a la fase de invernadero para verificar los resultados antes

pasar a la fase de campo como ha sugerido Strelkov *et al.* (2006).

Se deben continuar también los estudios con *B. cepacia* y *B. subtilis*, con otros productos comerciales y cepas nativas tanto en laboratorio como en posturas en condiciones controladas en invernaderos, para tratar de incorporar alternativas de control biológico de la enfermedad en una zona de un ecosistema tan sensible por su proximidad al páramo de Santurbán como Mutiscua, ya que se conoce que la utilización de microorganismos como agentes de CB ha demostrado ser una alternativa para mantener una alta producción con un bajo impacto económico en diferentes sistemas agrícolas. Por otra parte, la utilización de especies de *Trichoderma* spp., en el CB de enfermedades de plantas se ha relacionado principalmente con sus habilidades antagonistas, por mucho tiempo frente a hongos y oomicetos fitopatógenos (Hermosa, 2017) y tambien sobre nematodos del género *Meloidogyne* (Pérez *et al.*, 2010).

Estos resultados permiten presuponer que se pudieran obtener resultados favorables de control en campo en las condiciones de Mutiscua como ya se han señalado en Venezuela por Labrador *et al.* (2013) sobre la efectividad de especies del género *Trichoderma* como antagonista de los patógenos vegetales, fundamentalmente sobre aquellos que viven en el suelo como *Plasmodiophora* y *Phytophthora* logrando reducir la severidad de las enfermedades sobre el sistema radical de la planta.

Conclusiones

La aplicación del formulado biológico comercial a base de *T. harzianum* bajo condiciones controladas de laboratorio demostró el potencial biocontrolador del antagonista contra los quistes inactivos de *Plasmodiophora bassicae* tanto a los tres como a los siete días, lo que lo que ubica como un buen candidato para el control de la hernia de las crucíferas en condiciones de campo debido a su efecto in vitro. *B. cepacia* y *B. subtilis* mostraron determinados efectos a los tres y siete días respectivamente por los que deben continuarse las investigaciones.

Referencias

- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. Florida University. Elsevier Academic Press.
- Botero, A. (2016). *Effect of three Trichoderma species on clubroot disease in cabbage*. Universidad Nacional de Colombia Tesis para obtener el grado de magisyster en Ciencias agrarias. Faculty of Agricultural Sciences, Agronomy Department. "Recuperado el 20 de Junio del 2019", de

- <http://bdigital.unal.edu.co/53648/1/andreaboteror-amirez.2016.pdf>
- Castillo, J. y Guerrero, O. (2008). *Efecto de controladores biológicos sobre hernia de las crucíferas en Tabio, Cundinamarca*. INVENTUM, 1-11.
- Cotrina, F. (2003). *Cultivo de la coliflor. Hojas Divulgadoras del Ministerio de Agricultura y Pesca*. España. 28 p. "Recuperado el 25 de Noviembre del 2019", de https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1981_21.pdf
- Cruz, J. C. S., Souza, N. L., Padovani, C. R., Furtado, E., L. (2009). *Preservação do inóculo de Plasmodiophora brassicae utilizando o método de congelamento*. Summa Phytopathologica, 35(1), 57-59.
- Cruz, J. C. S., Souza, N. L., Nakatani A. K., Rosa D. D., Basseto M. A., Padovani C. R. y Furtado E. L. (2008). *Caracterização patogênica e molecular de Plasmodiophora brassicae*. Tropical Plant Pathology, 33(6): 415-424.
- Doncel M, P., y Cordero, A. (2017). *Burkholderia cepacia aisladas de variedades de ñame con actividad antimicrobiana contra Colletotrichum gloeosporioides*. Rev Colombiana de Cienc. Animal, 9 (Supl): 31-38. https://www.researchgate.net/publication/316770582_Burkholderia_cepacia_aisladas_de_variedades_de_ñame_con_actividad_antimicrobiana_contra_Colletotrichum_gloeosporioides
- Galdames, R. (2017). *Hernia o "clubroot" del raps*. Ficha técnica 91. INIA. Chile. "http://www.inia.cl/wp-content/uploads/FichasTécnicasSanidadVegetal/Ficha%2091%20Hernia%20o%20clubroot%20del%20raps.pdf"
- Gossen, B. D., Strelkov, S. E., Manolii, S. E., Rennie, D. C., Cao Hwang, D. C., Peng, G. y McDonald, M. R (2015). *Spread of Plasmodiophora brassicae on canola in Canada, 2003-2014: Old pathogen, new home*. Canadian Journal of Plant Pathology, 37:4, 403-413. DOI: 10.1080/07060661.2015.1105871
- Hermosa, M. (2017). *Trichoderma un agente de control biológico que ayuda a las plantas a tomar decisiones correctas*. Farmajournal, 2, (2), 141-142.
- Kageyama, K. y Asano, T. (2009). *Life Cycle of Plasmodiophora brassicae*. Plant Growth Regul 28:203-211. DOI 10.1007/s00344-009-9101-z
- Labrador, M., Pozo, E. d., y García, I. (2013). *Efecto de Trichoderma harzianum Rifai sobre Plasmodiophora brassicae Woronin, en brócoli, en la localidad de Escagüey, municipio Rangel, estado Mérida*. Centro Agrícolas, 1 (2): 85-90.
- Pengjie, H., Wenyan, C., Shahzad, M., Xingyu, L., Yixin, W., Xumang, Y., Yueqiu, H. (2019). *Plasmodiophora brassicae root hair interaction and control by Bacillus subtilis XF-1 in Chinese cabbage*. Biological Control, 128: 56-63.
- Pérez, Y., Castellanos, L., y Almarales, M. (2010). *Manejo Integrado de nemátodos (Meloidogyne spp.) para hortalizas en casas de cultivos protegidos*. Tesis para obtener el grado de master en Agricultura sostenible. Universidad de Cienfuegos. DOI: 10.13140/RG.2.2.23148.26244
- Strelkov, S. E., Tewari, J. P., y Smith-Degenhardt, E. (2006). *Characterization of Plasmodiophora brassicae populations from Alberta, Canada*. Canadian Journal of Plant Pathology. 28: 467-474.
- Valdés, E. (2014). *Caracteres principales, ventajas beneficios agrícolas que aporta el uso de Trichoderma como control biológico*. Agroecosistemas, 2(1): 254-264. doi:40-40-1-PB
- Valle. (2016). *Semillas Valle*. <http://semillasvalle.com/site/archivos/pdf/trichox/ficha-tecnica-trichox-wp.pdf>
- Velandia, J. (1992). *Evaluación de cinco niveles de cal apagada en el control de Plasmodiophora brassicae en repollo Bola Verde*. Informe Anual de Actividades, Sección de Hortalizas, ICA-TIBAITATA. pp. 7-11. Bogotá. Colombia
- Velandia, J., Galindo, R. y Avila, C. (1998). *Evaluación de la Gallinaza en el Control de Plasmodiophora brassicae en repollo*. Revista de Agronomía Colombiana. XV (1): 1-6.

Ciencia y Tecnología Agropecuaria es una revista publicada por la Universidad de Pamplona bajo la licencia: [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/) (CC BY-NC-SA 4.0).

