

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**USO DE CEPAS DE *PSEUDOMONAS PROTEGENS* PARA EL CONTROL
DE *RHIZOCTONIA CEREALIS* EN TRIGO INVERNAL**

POR

NATALY EDITH VERA PALMA

**MEMORIA PRESENTADA A LA FACULTAD
DE AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE
CONCEPCIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO
DE INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CHILLÁN – CHILE
2022**

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**USO DE CEPAS DE *PSEUDOMONAS PROTEGENS* PARA EL CONTROL
DE *RHIZOCTONIA CEREALIS* EN TRIGO INVERNAL**

POR

NATALY EDITH VERA PALMA

**MEMORIA PRESENTADA A LA FACULTAD
DE AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE
CONCEPCIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO
DE INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CHILLÁN – CHILE
2022**

Aprobada por:

Profesor Asociado, Ernesto Moya E.
Ing. Agrónomo, Mg. Cs., Ph.D.

Guía

Carola Vera P.
Ing. Agrónomo, M. Sc., INIA

Guía externo

Profesor Asociado, Macarena Gerding B.
Ing. Agrónomo, Ph. D.

Asesor

Profesor Asociado, Marisol Vargas C.
Ing. Agrónomo, Dr.

Asesor

Profesor Asociado, Guillermo Wells.
Ing. Agrónomo, Mg. Cs.

Decano

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Resumen	1
Summary	1
Introducción	3
Materiales y Métodos	4
Resultados y Discusión	10
Conclusiones	22
Referencias	22

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

		Página
Figura 1	Emergencia de plantas de trigo en cultivares Maxwell y Rocky tratados con dos cepas de <i>Pseudomonas protegens</i> y fungicidas (F) e inoculado con <i>R. cerealis</i> , agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en terreno en estado de seis hojas desplegadas (Escala Zadock, Z 1.6)	11
Figura 2	Evaluación de incidencia de la enfermedad en los cultivares Maxwell y Rocky tratados en la semilla con cepas de <i>Pseudomonas protegens</i> y fungicida (F) e inoculado con <i>R. cerealis</i> , agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en terreno en el estado de embuche (Escala Zadock, Z 4.5)	13
Figura 3	Evaluación de severidad de síntomas de la enfermedad en cultivares Maxwell y Rocky tratados en la semilla con dos cepas de <i>Pseudomonas protegens</i> y fungicidas (F) e inoculado con <i>R. cerealis</i> , agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en primer nudo (Escala Zadock, Z 3.1)	14
Figura 4	Evaluación de severidad de síntomas de la enfermedad en cultivares Maxwell y Rocky tratados a la semilla con dos cepas de <i>Pseudomonas protegens</i> y fungicidas (F) e inoculado con <i>R. cerealis</i> , agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en el estado de embuche (Escala Zadock, Z 4.5)	15
Figura 5	Evaluación de incidencia radicular en cultivares Maxwell y Rocky tratados a la semilla con dos cepas de <i>Pseudomonas protegens</i> y fungicidas (F) e inoculado con <i>Rhizoctonia cerealis</i> , agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en terreno en el estado lechoso (Escala Zadock, Z 7.0)	16
Figura 6	Evaluación de severidad radicular en cultivares Maxwell y Rocky tratados a la semilla con dos cepas de <i>Pseudomonas protegens</i> y fungicidas (F) e inoculado con <i>Rhizoctonia cerealis</i> , agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en estado de grano lechoso (Escala Zadock, Z 7.0)	17
Figura 7	Rendimiento de grano (qq ha ⁻¹) en cultivares Maxwell y Rocky tratados en la semilla con dos cepas de	

	<i>Pseudomonas protegens</i> y fungicidas (F) e inoculado con <i>Rhizoctonia cerealis</i> , agente causal de la mancha ocular aguda.....	18
Tabla 1	Tratamientos a la semilla e inoculación artificial con <i>Rhizoctonia cerealis</i> , utilizados en los ensayos con los cultivares de trigo de hábito invernal Maxwell y Rocky-INIA.....	7
Tabla 2	Escala de cinco dígitos para determinar en porcentaje la severidad de la enfermedad en los tallos de las plantas.....	9
Tabla 3	Altura de planta de trigo medida en los cultivares Maxwell y Rocky tratados con dos cepas de <i>Pseudomonas protegens</i> y fungicidas (F) e inoculado con <i>R. cerealis</i> , agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en terreno en dos estados fenológicos Chillán durante temporada 2020-21.....	12
Tabla 4	Condiciones meteorológicas registradas mensualmente en Chillán, Región de Ñuble, durante el desarrollo de dos experimentos de campo en trigo en la temporada 2020-2021.....	12
Tabla 5	Peso 1000 granos y peso hectólitro en plantas de trigo en cultivares Maxwell y Rocky tratados con dos cepas de <i>Pseudomonas protegens</i> y fungicidas (F) e inoculado con <i>R. cerealis</i>	19

USO DE CEPAS DE *PSEUDOMONAS PROTENGENS* PARA CONTROL DE *RHIZOCTONIA CEREALIS* EN TRIGO INVERNAL

USE OF *PSEUDOMONAS PROTENGENS* STRAINS TO CONTROL *RHIZOCTONIA CEREALIS* IN WINTER WHEAT

Palabras índice adicionales: *Pseudomonas protegens*, control biológico, mancha ocular aguda.

RESUMEN

El trigo es uno de los principales cereales cultivados mundialmente, siendo afectado por diversos patógenos radiculares entre los que se encuentra la mancha ocular aguda, causada por el hongo basidiomycete *Rhizoctonia cerealis*. Actualmente no existe tratamientos adecuados que controlen de esta enfermedad. Durante la temporada 2020-2021 se realizó un experimento con los cultivares de trigo invernal, 'Maxwell' y 'Rocky-INIA' en la Estación Experimental Santa Rosa del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Chillán, donde se evaluó la eficacia de dos cepas de *Pseudomonas protegens* (cepas Ca6 y Chc7), solas y en mezcla con fungicida (i.a.s: sedaxano + fludioxonilo + difenoconazol + tiametoxan) en el control de *R. cerealis*, que fue inoculado al suelo. Las parcelas tratadas a la semilla con *P. Protegens* cepa Chc7 aumentaron de forma significativa el rendimiento del cultivar 'Rocky – INIA' respecto a un testigo inoculado y otro sin inocular, aumentando está variable en 8,2 qq ha⁻¹. El análisis de variables como emergencia de plantas, altura de planta, y variables de calidad de grano, mostró que no hubo mayor efecto al usar como tratamiento de semillas las bacterias *P. protegens*, además no redujeron síntomas atribuibles a la infección por mancha ocular aguda.

SUMMARY

Wheat is one of the main cereals cultivated worldwide, which is affected by various rot root pathogens, such as the sharp eyespot, caused by the basidiomycete fungus *Rhizoctonia cerealis*. Currently there are no adequate treatments to control the disease. During the 2020-2021 season, an experiment was carried out with the winter wheat cultivars 'Maxwell' and 'Rocky-INIA' at the Santa Rosa Experimental Station of the Institute of Agricultural Research (INIA), Chillán, where the efficacy of two strains of *Pseudomonas protegens* (strains Ca6 and Chc7), alone and mixed with fungicide (i.a.s: sedaxane + fludioxonil +

difenoconazole + thiamethoxan) were assessed in the control of *R. cerealis*, which was inoculated into the soil. Seed plots treated with *P. protegens* strain Chc7 significantly increased the yield of this cultivar compared to an inoculated control and another without inoculation in the cultivar 'Rocky-INIA', increasing this variable in 8.2 qq ha⁻¹. The analysis of variables such as plant emergence, plant height, and grain quality variables, showed that there was no greater effect when using *P. protegens* bacteria, and its use did not reduce symptoms attributable to sharp eyespot infection.

INTRODUCCIÓN

El trigo (*Triticum aestivum* L.) es uno de los principales cereales cultivados a nivel mundial (Madariaga, 2020), debido al amplio rango de adaptación, pudiendo sembrarse tanto en invierno como en primavera y posicionándose como uno de los alimentos más influyentes de la cadena alimenticia humana (Plana *et al.*, 2006). En Chile, el trigo es la más importante especie vegetal que produce granos, ocupando la mayor área de siembra a nivel nacional (Rodríguez *et al.*, 2019). Durante la temporada de cultivo 2018-2019, este cultivo alcanzó un total de 222.705 ha sembradas, con una producción de 13.399.919 q y un rendimiento promedio nacional de 62,8 qq ha⁻¹ (García *et al.*, 2020).

La producción de trigo es afectada por factores abióticos y bióticos (Beddow *et al.*, 2015), siendo las enfermedades foliares y radicales una de las principales problemáticas que afectan al cultivo. Los patógenos radicales son habitantes comunes del suelo y afectan principalmente raíces y corona de las plantas, generando diversos síntomas (Cárcamo, 2017). Para revertir esta condición es necesaria la búsqueda de nuevos manejos para el cultivo (Lemańczyk, 2013).

Dentro de los diversos patógenos radicales que afectan al trigo se encuentra el hongo necrotrófico *R. cerealis* (Van der Hoeven), agente causal de la mancha ocular aguda, enfermedad observada a nivel mundial y detectada por primera vez en Chile el año 2004 (Madariaga, 2015). La enfermedad produce lesiones ovaladas en las bases del tallo de borde marrón oscuro, con un centro más amarillento, pudiendo presentarse uno o más síntomas dentro del mismo tallo, según la intensidad de la enfermedad (Lemańczyk, 2013). Este patógeno destruye los tallos y los tejidos del floema, alterando el correcto transporte de agua y nutrientes en la planta (Tunali *et al.*, 2008). Esta enfermedad puede desarrollarse durante cualquier etapa del crecimiento del trigo, siendo recurrente

su infección en etapas avanzadas de desarrollo (Lemańczyk, 2012), donde principalmente los taques tardíos pueden favorecer la tendadura de la sementera (Zhu *et al.*, 2014). Dependiendo de la intensidad del ataque se generan granos pequeños y maduración prematura (Lemańczyk, 2013), causando pérdidas de rendimiento que fluctúan entre 10 a 40 % (Zhu *et al.*, 2014). La enfermedad se ve favorecida por climas fríos y húmedos (Lemańczyk 2010), lo que, sumado a suelos ligeramente ácidos, generan un ambiente propicio para su desarrollo (Lemańczyk, 2013). *R. cerealis* sobrevive durante el invierno en restos vegetales y/o suelo en la forma de micelio o esclerocio, los que sirven como inóculo primario para iniciar la infección (Schroeder, 2008; Lemańczyk, 2013).

Durante las últimas temporadas agrícolas, en la zona centro sur y sur de Chile se ha registrado un aumento de la presencia de mancha ocular aguda en cultivares (Vera, Comunicación personal). En esta área se cultiva la mayor superficie de trigos de hábito invernal, los que presentan una mayor incidencia de la enfermedad, asociado a las condiciones climáticas y de suelo predisponentes en la zona, que favorecen la colonización de los tejidos vegetales por el patógeno, lo que se agrava con el uso de manejos culturales deficientes (Lemańczyk, 2012; Schillinger, 2006)

El mejoramiento genético y el uso de fungicidas se han establecido como posibles estrategias de control para enfrentar la enfermedad; sin embargo, a la fecha no existen herramientas satisfactorias que logren erradicarla (Lemańczyk, 2013), es por esto que los agentes biológicos surgen como una alternativa al uso de productos químicos (Doussoulin *et al.*, 2011; Glick, 2014; Hernández, 2018).

Las bacterias del género *Pseudomonas* han sido estudiadas como potenciales agentes de biocontrol, ya que promueven la salud de los cultivos, estimulan la germinación de semillas y emergencia de plántulas aumentando además el desarrollo de las plantas mediante la síntesis de vitaminas, fitohormonas, solubilización de fósforo e inhibición de etileno (Raudales *et al.*, 2009; Ramette *et al.*, 2011; Vega *et al.*, 2017). En nuestro país se han detectado interacciones entre estas bacterias y hongos del suelo que afectan al trigo (Moya-Elizondo *et al.*, 2015; Moya-Elizondo *et al.*, 2022) y existen antecedentes de que la presencia de *Pseudomonas* disminuye la intensidad de enfermedades radiculares asociado al trigo de manera natural (Andrade *et al.*, 2011; Vera *et al.*, 2019). Bacterias del género *Pseudomonas* puede inhibir en diferentes grados el crecimiento de

hongos fitopatógenos y bacterias al secretar compuestos antibacterianos (Santoyo *et al.*, 2010; Arseneault *et al.*, 2013; Duke *et al.*, 2017; Hernández *et al.*, 2018). Existen más de 20 grupos genéticos asociados al gen *phlD*+ en especies del grupo de las *P. fluorescens* (Mavrodi *et al.*, 2001; McSpadden *et al.*, 2005; De la Fuente *et al.*, 2006 y Landa *et al.*, 2006; Doussoulin *et al.*, 2022) que se asocia a la producción del metabolito policétido 2,4-diacetilfloroglucinol (2,4-DAPG), que está también presente en especie de *P. protegens* (Raudales *et al.*, 2009; Vásquez, 2011; Vera *et al.*, 2019), el que inhibe diversos patógenos radiculares (Ramette *et al.*, 2011; Vera *et al.*, 2019), presentando una alta efectividad para el combate de este tipo de enfermedades (Mavrodi *et al.*, 2002; Paulin *et al.*, 2009; Raudales *et al.*, 2009; Doussoulin *et al.*, 2011; Vera *et al.*, 2019). El 2,4-DAPG, además de inhibir el crecimiento de hifas, genera alteraciones de la membrana plasmática, vacuolización y pérdida del potencial de membrana mitocondrial (Troppens *et al.*, 2013). En base a los antecedentes descritos, esta investigación evaluó la actividad antagónica de *P. protegens* en el control de *R. cerealis* y su efecto en el rendimiento y calidad de grano en dos variedades de trigo bajo las condiciones de la zona centro-sur de Chile.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material microbiológico

Se utilizó un aislado patogénico de *R. cerealis* M33C (rce_2016_3 UDEC) obtenido el año 2015 desde plantas de trigo 'Maxi-Baer' que presentaban síntomas de mancha ocular aguda en una sementera localizada en Osorno, Región de Los Lagos, Chile (Doussoulin *et al.*, 2022). El aislado fue identificado en base a características morfológicas y moleculares, manteniéndose en el laboratorio de Fitopatología de Cultivos del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA-Quilamapu Chillán, Chile).

Las cepas bacterianas correspondieron a *P. protegens* cepas Ca6 y Chc7, aisladas previamente desde la rizosfera de trigo de diferentes suelos de tipo Andisol ubicados en el sur de Chile en la zona de cajón a 8 km de la ciudad de Temuco (Moya-Elizondo *et al.*, 2013), las cuales presentan el gen *phlD* el cual se encarga de producir 2,4-DAPG (Castro *et al.*, 2020) y mecanismos metabólicos para promover el crecimiento (Vega, 2017). Estas bacterias se encuentran almacenadas en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía en la Universidad de Concepción, Campus Chillán.

La preparación de inóculo de *R. cerealis* se realizó sobre granos de avena (*Avena sativa* L.) donde se multiplicó por 30 días el hongo en medio agar papa dextrosa (APD) en placas Petri por 20 días. Matraces Erlenmeyer de 500 mL fueron llenados con 200 g de avena y 100 mL de agua destilada, la que cubrió en su totalidad los granos. La avena contenida en los matraces se sometió a dos autoclavados, (autoclave Deltalab AT 50) en condiciones que permitieron una óptima esterilización durante 15 minutos, a 120 °C y presión de 15 libras pulgada⁻². El material fue de los matraces fue dejado enfriar para inocular con trozos circulares de agar colonizado por *R. cerealis* de 9 mm de diámetro crecidos en APD.

Sitio experimental

Se realizaron dos experimentos durante la temporada 2020-2021 en el Campo Experimental Santa Rosa perteneciente al Centro Regional INIA Quilamapu ubicado a 21 km de la ciudad de Chillán, región de Ñuble, Chile (36°31'53" S, 71°54'50,1" O, 220 m.s.n.m.) y fueron establecidos en un suelo del tipo Andisol de la serie Arrayán, regado (Stolpe, 2006). Estos experimentos correspondieron a un ensayo utilizando el cultivar 'Maxwell' y otro con 'Rocky-INIA'. Ambos cultivares son trigos harineros (*Triticum aestivum* L.) con hábito de desarrollo de tipo invernal. En ambos cultivares se utilizaron los mismos tratamientos (Tabla 1) y estructuras para las unidades experimentales, que consistieron en parcelas de 2,4 m² con seis hileras de 2 m de largo a 0,2 m entre hileras. Las parcelas fueron sembradas con 8 g de semilla por hilera, equivalente a una dosis de 200 kg ha⁻¹ de semilla. En cada ensayo se consideró dos tratamientos testigo, uno de ellos inoculado con el patógeno *R. cerealis* y otro sin inocular (Tabla 1).

Previo a la siembra, todas las semillas fueron tratadas con el insecticida i.a. imidacloprid (Punto 600 FS, Anasac Chile S.A, Santiago, Chile), en dosis de 120 mL en 100 kg semilla, para el control de áfidos. El tratamiento se realizó mezclando el producto dentro de una bolsa plástica junto a la dosis de semilla correspondiente, agitándolas hasta lograr un uniforme cubrimiento de los granos, siendo secadas a temperatura ambiente. Posteriormente, en cada ensayo las semillas de dos de los tratamientos fueron tratadas con el fungicida i.a. sedaxano + fludioxonilo + difenoconazol + tiametoxan (Vibrance® Integral, Syngenta S.A) en dosis 200 mL en 100 kg de semilla, para posteriormente mezclar con las semillas utilizando el mismo procedimiento descrito anteriormente para el

insecticida. Finalmente, uno de los dos tratamientos con fungicida se combinó con la cepa Ca6 de *P. protegens* en cada uno de los ensayos.

En las parcelas cada hilera se sembró manualmente utilizando dos granos de avena infestado con *R. cerealis* por cada grano de trigo, los que fueron puestos juntos en el surco de siembra en los tratamientos correspondientes.

Las semillas fueron tratadas con las cepas bacterianas en estudio, de manera separada para cada tratamiento correspondiente, descrito en la Tabla 1. Para ello las cepas bacterianas fueron disueltas en el equivalente a 10 mL de agua por kg de semilla, para posteriormente mezclarlo con las semillas dentro de una bolsa plástica, la cual se agitó hasta lograr el cubrimiento uniforme de los granos donde se dejó secar totalmente a temperatura ambiente.

Al momento de la siembra el control de malezas se realizó con herbicida cuyos i.a. corresponden a flufenacet + flurtamone + diflufenican (Bacará® Forte 360 SC, Bayer S.A, Santiago, Chile), en estados posteriores se realizó manualmente.

Tabla 1. Tratamientos a la semilla e inoculación artificial con *R. cerealis*, utilizados en los ensayos con cultivares de trigo de hábito invernal Maxwell y Rocky-INIA.

Tratamiento	Inóculo <i>R. cerealis</i>
Testigo	(-) ⁴
Testigo	(+)
<i>P. protegens</i> Ca6 ¹	(+)
<i>P. protegens</i> Chc7 ²	(+)
<i>P. protegens</i> Ca6 + Fungicida ³	(+)
Fungicida	(+)

¹ Ca6: correspondiente a *Pseudomonas protegens* cepa Ca6, aplicada a la semilla en dosis de 10⁸ UFC mL.

² Chc7: correspondiente a *Pseudomonas protegens* cepa Chc7, aplicada a la semilla en dosis de 10⁸ UFC mL.

³ Fungicida: Vibrance® integral (i.a. sedaxano + fludioxonilo + difenoconazol + tiametoxan) en dosis de 200 mL de producto químico para 100 kg de semilla.

⁴ Signos indican sin inóculo (-) y con inóculo (+) de *R. cereales*.

Las plantas fueron fertilizadas a la siembra con 153 unidades de N como salitre sódico (NaNO₃) en dos parcializaciones: 93 unidades a media macolla (375 kg ha⁻¹) y 60 unidades al término de la macolla (580 kg ha⁻¹); estado Z 2.4 y Z 3.0 respectivamente (Zadoks y Schein, 1979).

Para corroborar la correcta inoculación de *R. cerealis* en las parcelas experimentales, se recolectaron plantas con síntomas desde parcelas que presentaban mayor severidad de la enfermedad en los estados Z 2.9 (brote principal y nueve macollos) y Z 3.5 (quinto nudo). Para ello en laboratorio se tomó tejido sintomático del tallo, el que se lavó hasta eliminar en su totalidad residuos de suelo y tejido vegetal descompuesto. Posteriormente, en agua corriente se depositaron durante 24 h trozos superficiales de dicho tejido, para luego lavar durante un minuto el material con solución al 1 % de hipoclorito de sodio (NaClO). Finalmente se enjuagó tres veces con agua destilada estéril (ADE) previo a siembra en placas con APD. Se determinó la presencia del hongo al observar que transcurridos 7 días comenzó el desarrollo de un micelio que conforme pasaron los días se fue tornando café claro, con aspecto levemente algodonoso que formaba halos a lo largo de la placa. Al transcurrir aproximadamente 30 días se habían formado esclerocios característicos del patógeno de color café oscuro. Al ser observado en microscopio se permite corroborar la presencia de hifas transparentes, delgadas y bifurcadas en ángulo recto respecto a la hifa principal.

EVALUACIONES DE DESARROLLO Y PRODUCCIÓN.

Todas las evaluaciones realizadas en el presente estudio se llevaron a cabo en las cuatro hileras centrales, siendo descartadas las hileras borde de la parcela.

Evaluación de desarrollo del cultivo.

Emergencia de plantas. Para esta evaluación se realizó el recuento del nº de plantas emergidas en un metro lineal por parcela (plantas m lineal⁻¹) durante estado Z 1.6 (seis hojas desplegadas).

Altura de planta. Esta medición se realizó en dos estados de desarrollo, macolla (Z 2.2) y madurez de cosecha (Z 9.0) considerando para la medición la altura de la planta desde la superficie desde el suelo hasta el extremo superior de la espiga en cm, exceptuando sus aristas.

Evaluación de la enfermedad

Incidencia de la enfermedad en terreno. Se realizó una evaluación de incidencia de la enfermedad en terreno en el estado de embuche (Z 4.5), donde se determinó el número de plantas afectadas por el patógeno *R. cerealis*, determinando la cantidad de plantas con síntomas respecto al total de plantas presentes en un metro lineal de la segunda hilera de la parcela y se determinó el porcentaje de plantas afectadas del total de plantas analizadas.

Severidad de síntomas de la enfermedad. De manera visual se determinó la severidad de la enfermedad mediante la estimación del porcentaje de plantas con menor tamaño y síntomas de amarillamiento sobre el total de plantas presentes en cada parcela. Este proceso se realizó utilizando una escala subjetiva que comprende de 0 % (ausencia de síntomas en las plantas de la parcela) a un 100 % (presencia de síntomas de la enfermedad en la totalidad de plantas de la parcela). Estas evaluaciones se realizaron en el estado primer nudo Z 3.1 (15 de octubre de 2020) y en el estado embuche Z 4.5 (30 de octubre de 2020).

Evaluaciones de lesiones en el cuello de la planta. Durante el estado de grano lechoso (Z 7.0) se arrancó 1 m lineal de plantas, tomando la planta completa incluyendo la zona radicular. Se evaluó la incidencia de la enfermedad mediante el conteo de tallos que presentaron síntomas de mancha ocular aguda respecto al total de tallos presentes en el metro lineal extraído desde la parcela. Además, se determinó la severidad en zona de los dos primeros internudos de la planta, mediante una escala visual de cinco dígitos (Vera *et al.*, 2019) descrita en la Tabla 2, que se utilizó para determinar un índice de severidad de oscurecimiento (ISO), que se cuantificó en base a la siguiente fórmula.

$$ISO = \left(\frac{\sum (\text{N}^\circ \text{ de plantas de la categoría} \times \text{valor de cada categoría})}{\text{N}^\circ \text{ total de plantas} \times \text{número de categorías}} \right) \times 100$$

Tabla 2. Escala de cinco dígitos para determinar en porcentaje la severidad de la enfermedad en los tallos de las plantas.

Dígito	Porcentaje de síntoma
0	0 %
1	1 % – 25 %
2	25 % - 50 %
3	50 % - 75 %
4	75 % - 100 %

Componentes de características de calidad

Rendimiento de grano. Para esta evaluación fueron cosechadas solamente las cuatro hileras centrales con una máquina cosechadora combinada de ensayos Winterstager (Elite, Ried, Upper Austria). Posteriormente se pesaron los granos de forma manual, previa limpieza, para determinar el rendimiento en qq ha⁻¹.

Peso de hectólitro. Posterior a la cosecha y limpieza de los granos, se determinó el peso de hectólitro (kg hL^{-1}) mediante una balanza (Schopper 250 cm^3 , Seuzach, Suiza).

Peso de 1000 granos. Posterior a la cosecha se realizó el recuento al azar de 1000 granos para determinar el peso de ellos en g.

Diseño experimental y análisis estadístico.

Para ambos experimentos se consideró un diseño experimental de bloques completos al azar con seis tratamientos y cuatro repeticiones. Los resultados de cada variable se analizaron, mediante un análisis de varianza (ANDEVA) para determinar diferencias entre tratamientos. Los datos porcentuales se ajustaron a la distribución normal mediante la fórmula $Y = \sqrt{(x + 0,5)}$ donde $x =$ valor porcentual (Little y Hills, 1976). De encontrarse diferencias significativas ($\alpha = 0,05$), se realizó una comparación de medias entre tratamientos mediante la prueba de separación de medias DMS (Diferencia Mínima Significativa) considerando un nivel de significancia del 95 %. Todos los análisis se realizaron con el software estadístico SAS versión 8 (SAS, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de características agronómicas

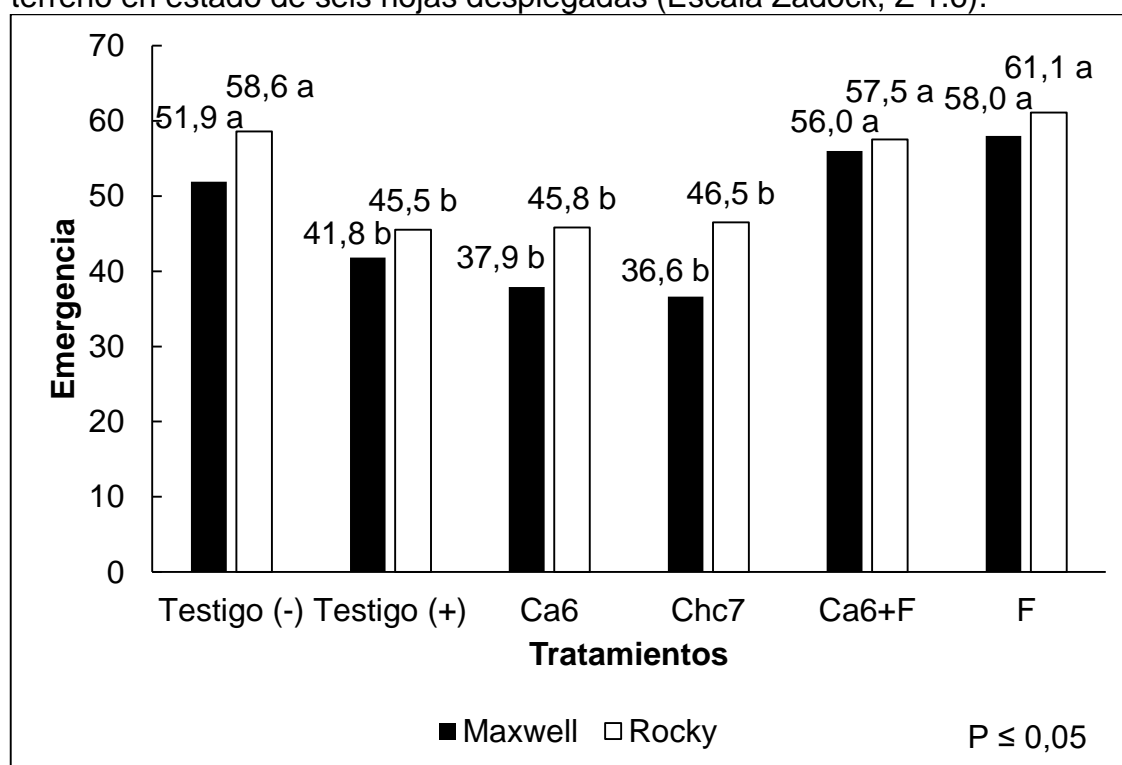
Emergencia de plantas. Los tratamientos en estudio tuvieron un efecto sobre la emergencia de las plantas, ya que se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en ambos cultivares ($P \leq 0,05$; Figura 1); En el caso del cultivar Maxwell (C.V.: 14,2; $P \leq 0,05$), los tratamientos *P. protegens* cepa Ca6 + Fungicida y Fungicida por sí solo aumentaron su emergencia en un 34 % y 38,9 % respectivamente en comparación al Testigo inoculado. En el cultivar Rocky - INIA se evidenció la misma tendencia (C.V.: 10,9; $P \leq 0,05$), ya que el tratamiento *P. protegens* cepa Ca6 + Fungicida y el tratamiento sólo con fungicida, aumentaron el número de plantas emergidas en un 26,4 % y 34,3 % en comparación al Testigo inoculado con el hongo, respectivamente (Figura 1). Ambos tratamientos mencionados fueron similares al Testigo no inoculado para ambos cultivares de trigo invernal.

Las cepas bacterianas de *P. protegens* utilizadas de forma individual no tuvieron diferencias con el Testigo inoculado con *R. cerealis*.

Altura de planta. Se realizaron dos evaluaciones de altura, una en el estado de macolla (Z 2.2) y la otra en madurez (Z 9.0). La primera evaluación de altura (Z

2.2) no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de semilla evaluados para los dos cultivares en estudio ($P > 0,05$; Tabla 3). Al igual que en macolla (Z 2.2) no se observaron diferencia entre los tratamientos de semilla para ambos cultivares ($P > 0,05$; Tabla 3). Sin embargo, en el cultivar Rocky se observó una tendencia del tratamiento *P. protegens* cepa Ca6 + Fungicida de aumentar la altura promedio en un 6,5 % (5 cm) con la altura de las plantas, respecto al Testigo inoculado, no obstante, no hubo diferencias entre tratamientos (Tabla 3).

Figura 1. Emergencia de plantas de trigo en cultivares Maxwell y Rocky tratados con dos cepas de *Pseudomonas protegens* y fungicidas (F) e inoculado con *R. cerealis*, agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en terreno en estado de seis hojas desplegadas (Escala Zadock, Z 1.6).



Evaluación de la enfermedad. La enfermedad se puede generar durante todo el desarrollo del cultivo y está demostrado que estadios más avanzados del desarrollo de las plantas se observan de forma más notoria los daños de la enfermedad. Las condiciones ambientales que se presentaron en el desarrollo de los experimentos con ambos cultivares fueron de una temperatura promedio anual de 13,6 °C (Mínima promedio: 5,5 °C, Máxima promedio: 21,7 °C) y precipitación acumulada 745,8 mm, tal como se muestra en la Tabla 4. Durante el presente estudio se pudieron observar los primeros síntomas asociados a la

enfermedad el 20 de agosto de 2020, aproximadamente tres meses después de la siembra, observándose un aumento de la severidad desde macolla en adelante en los diferentes tratamientos.

Tabla 3. Altura de planta de trigo medida en los cultivares Maxwell y Rocky tratados con dos cepas de *Pseudomonas protegens* y fungicidas (F) e inoculado con *R. cerealis*, agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en terreno en dos estados fenológicos Chillán durante temporada 2020-21.

Tratamientos	Altura macolla (Z 2.2)		Altura madurez (Z 9.0)	
	Maxwell	Rocky	Maxwell	Rocky
Testigo	13,5	11,6	80,0	81,3
Testigo inoculado	15,1	12,9	81,3	77,5
<i>Pp</i> ¹ Ca6	14,5	12,8	77,5	78,8
<i>Pp</i> Chc7	15,3	12,8	80,0	81,3
<i>Pp</i> Ca6 + Fungicida	15,5	12,2	80,0	82,5
Fungicida	14,4	13,0	80,0	80,0
C. V. ²	8,6	8,9	2,4	3,1
P-valor	0,3	0,1	0,2	0,5

¹ *Pp* = *Pseudomonas protegens*

² C.V. = Coeficiente de variación

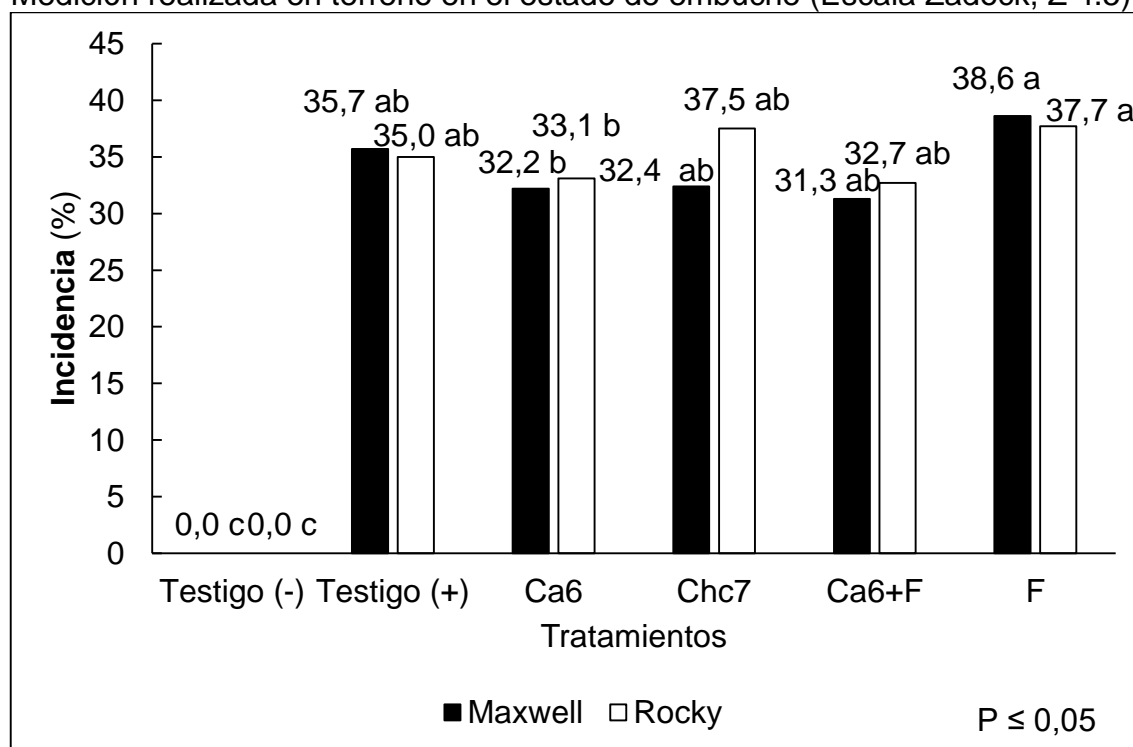
Tabla 4. Condiciones meteorológicas registradas mensualmente en Chillán, Región de Ñuble, durante el desarrollo de dos experimentos de campo en trigo en la temporada 2020- 2021.

Mes	Temperatura mínima (° C)	Temperatura máxima (° C)	Precipitación acumulada (mm)	Humedad relativa (%)
Mayo	3,7	18,2	40	76,1
Junio	4,2	12,2	301	84,2
Julio	3,3	12,5	163,4	81,2
Agosto	2,3	14,3	87,4	74,2
Septiembre	3,1	17,7	27,5	72,0
Octubre	3,5	21,7	23,8	65,0
Noviembre	7,3	25,3	0,2	64,5
Diciembre	8,1	27,7	15,5	59,9
Enero	9,7	29,7	114,5	58,2

Fuente: Agrometeorología INIA (<https://agrometeorologia.cl>).

En la evaluación de incidencia de la enfermedad realizada en terreno en estado de embuche (Z 4.5) se determinó que en un metro lineal de la segunda hilera del testigo inoculado alcanzó un 35,7 % de los tallos presentaban síntomas de mancha ocular aguda en 'Maxwell' y un 35,0 % en el 'Rocky-INIA', observándose diferencias entre tratamientos ($P \leq 0,05$; Figura 2). Sin embargo, las diferencias se dieron gracias a que el Testigo no inoculado, no presentó síntomas de la enfermedad en los tallos evaluados, mientras los tratamientos inoculados no fueron diferentes entre sí para ambos cultivares de trigo (Figura 2).

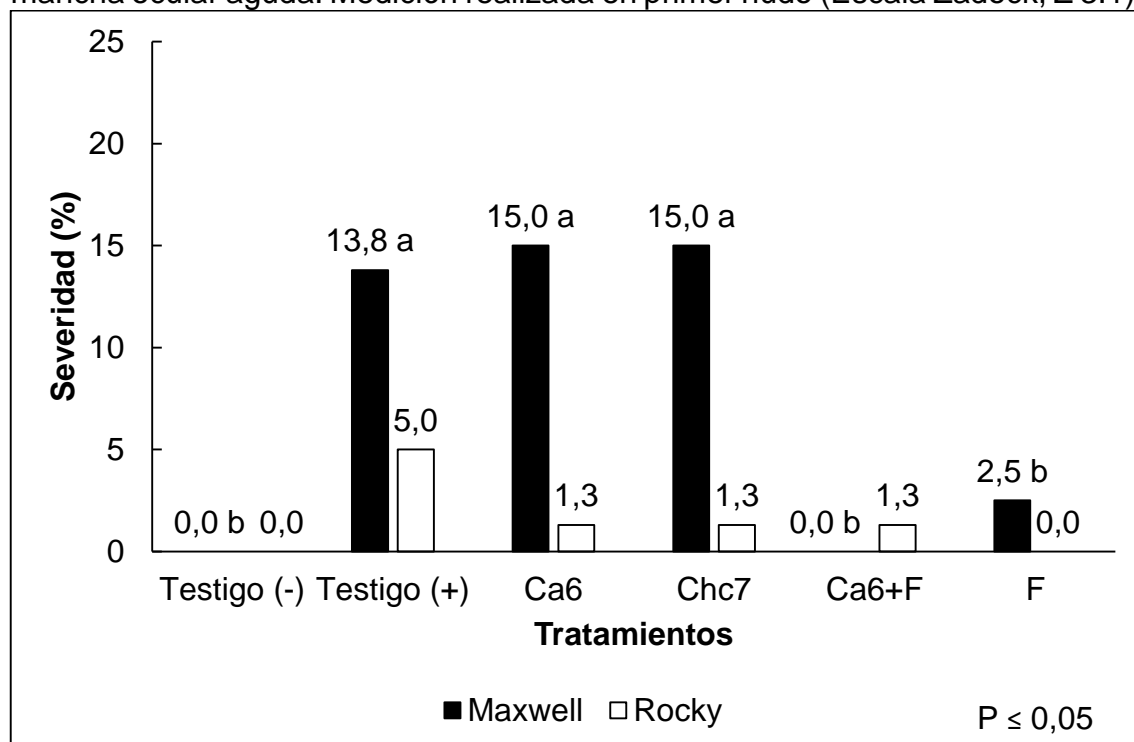
Figura 2. Evaluación de incidencia de la enfermedad en los cultivares Maxwell y Rocky tratados en la semilla con cepas de *Pseudomonas protegens* y fungicida (F) e inoculado con *R. cerealis*, agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en terreno en el estado de embuche (Escala Zadock, Z 4.5).



No obstante, lo anterior, durante la evaluación de incidencia de síntomas de la enfermedad en 'Maxwell' el tratamiento *P. protegens* Ca6 + Fungicida presentó una disminución de un 12,2 % respecto al testigo inoculado con el hongo y en el caso del 'Rocky-INIA', este tratamiento disminuyó un 6,6 % los síntomas. Por su parte, las cepas de *P. protegens* Ca6 y Chc7 aplicadas solas como tratamiento de semilla, disminuyeron en un 9,8 % y 9 % respectivamente la incidencia en tallos con síntomas de *R. cerealis* en Maxwell. En el caso de 'Rocky - INIA' la cepa Ca6 logró una disminución de 5,4 %.

En la primera evaluación de severidad de síntomas de la enfermedad sobre las parcelas, realizada el 15 de octubre de 2020 en estado Z 3.1 (primer nudo), se observó que en general el cultivar 'Maxwell' se ve más afectado que el 'Rocky-INIA' en un 63,8 %, si se considera el promedio de severidad observada sobre los testigos inoculados. Se determinó que en 'Maxwell', el tratamiento a la semilla del Fungicida y la mezcla de este con *P. protegens* cepa Ca6, disminuyeron entre un 81,8 % y 100 % la severidad de los síntomas, siendo significativamente diferente del testigo inoculado ($P \leq 0,05$; C.V.: 35,5; Figura 3). Por su parte, en 'Rocky-INIA', en esta primera evaluación de severidad no se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos ($P > 0,05$; C.V.: 71,7; Figura 3), a pesar de que el tratamiento Fungicida, a base de sedaxano + fludioxonilo + difenoconazol + tiametoxan, no presentó síntomas de la enfermedad en las plantas evaluadas al igual que el testigo no inoculado.

Figura 3. Evaluación de severidad de síntomas de la enfermedad en cultivares Maxwell y Rocky tratados en la semilla con dos cepas de *Pseudomonas protegens* y fungicidas (F) e inoculado con *R. cerealis*, agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en primer nudo (Escala Zadock, Z 3.1).

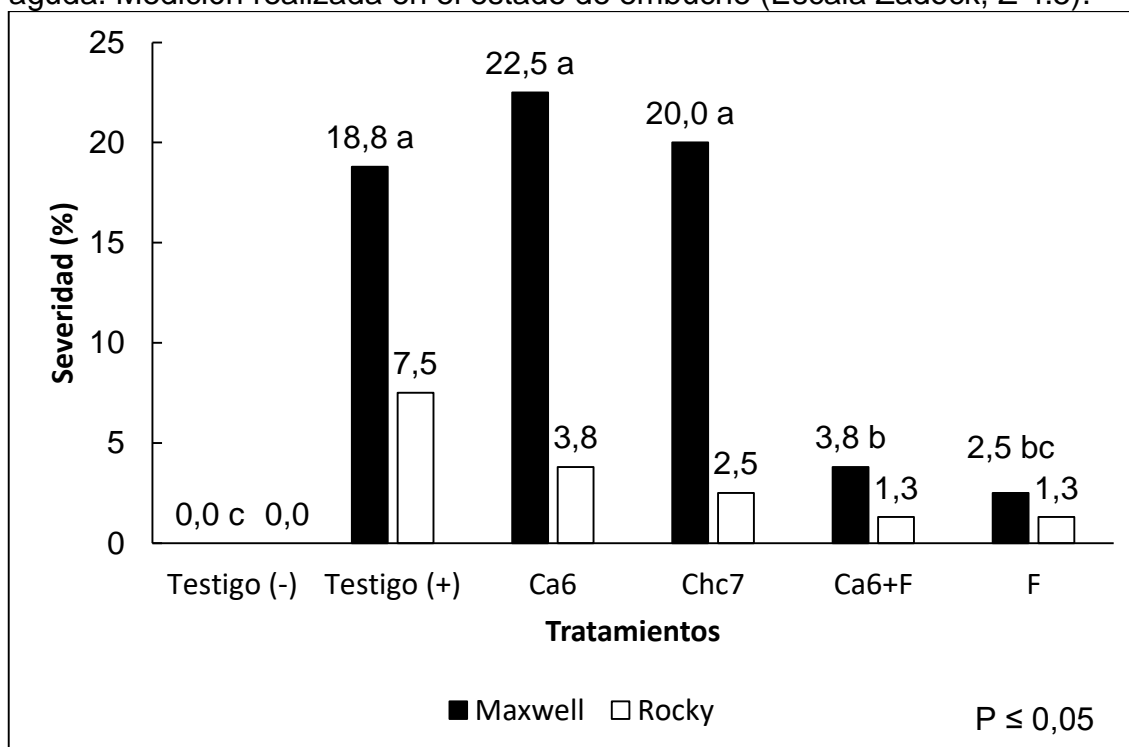


Del mismo modo en 'Rocky' se observó que en promedio ambas bacterias benéficas evaluadas redujeron el daño en un 75 % con respecto al testigo inoculado. Además, al comparar los testigos inoculados de ambas variedades se

pudo determinar que la variedad 'Rocky' tuvo 8,8 puntos porcentuales menos de severidad que 'Maxwell'.

En la segunda evaluación de severidad, realizada el 30 de octubre de 2020 en el estado Z 4.5 (embuche), se observó en el 'Maxwell' un aumento del daño por *R. cerealis* en el testigo inoculado y los demás tratamientos con respecto a la primera evaluación, situación que se replicó en la variedad 'Rocky' (Figura 4). Este resultado sugiere que, tal como concluye Cromey y colaboradores (2005), la intensidad de la mancha ocular aguda es incrementada por el medio ambiente y las prácticas agronómicas. Los aumentos en la intensidad de la enfermedad presumiblemente son resultado de condiciones de temperatura favorables durante el desarrollo del cultivo, es decir, otoño y primavera fría, acompañados de lluvia y alta humedad (Lemańczyk, 2012).

Figura 4. Evaluación de severidad de síntomas de la enfermedad en cultivares Maxwell y Rocky tratados a la semilla con dos cepas de *Pseudomonas protegens* y fungicidas (F) e inoculado con *R. cerealis*, agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en el estado de embuche (Escala Zadock, Z 4.5).

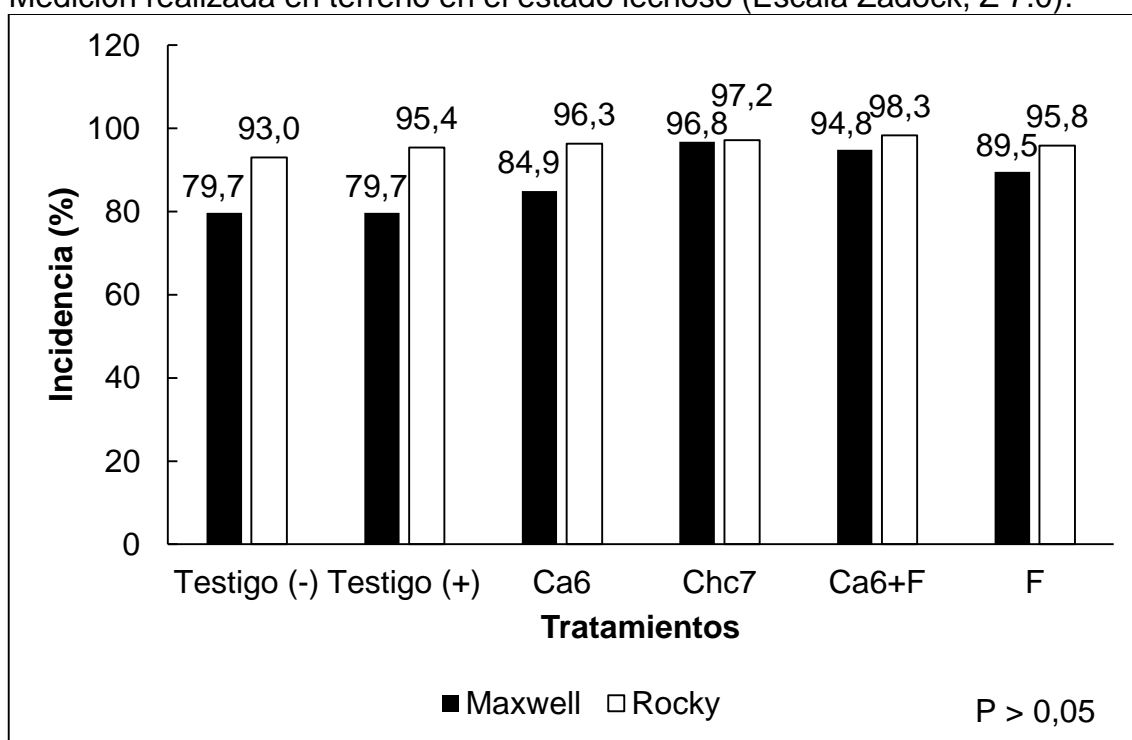


La efectividad de los tratamientos en 'Maxwell' no varió de lo observado en la primera evaluación. Así el tratamiento *P. protegens* Ca6 + Fungicida y el fungicida disminuyeron en un 80,0 % y 86,7 % la severidad con respecto al testigo inoculado en el cultivar Maxwell. El ensayo 'Rocky' por su parte no

presentó diferencias significativas ($P > 0,05$), pero destacó el tratamiento *P. protegens* Ca6 + Fungicida que disminuyó un 83,3 % esta variable.

Evaluación de lesiones en cuello de la planta. En la evaluación de incidencia radicular de mancha ocular aguda realizada durante estado lechoso (Z 7.0), (Figura 5) se determinó que no existían diferencias significativas en ambos cultivares y en promedio se observó una incidencia radicular en el testigo inoculado del 79,7 % para 'Maxwell' y del 95,4 % para Rocky sin presentar ninguna diferencia estadística significativa ($P > 0,05$) (figura 5).

Figura 5. Evaluación de incidencia radicular en cultivares Maxwell y Rocky tratados a la semilla con dos cepas de *Pseudomonas protegens* y fungicidas (F) e inoculado con *Rhizoctonia cerealis*, agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en terreno en el estado lechoso (Escala Zadock, Z 7.0).

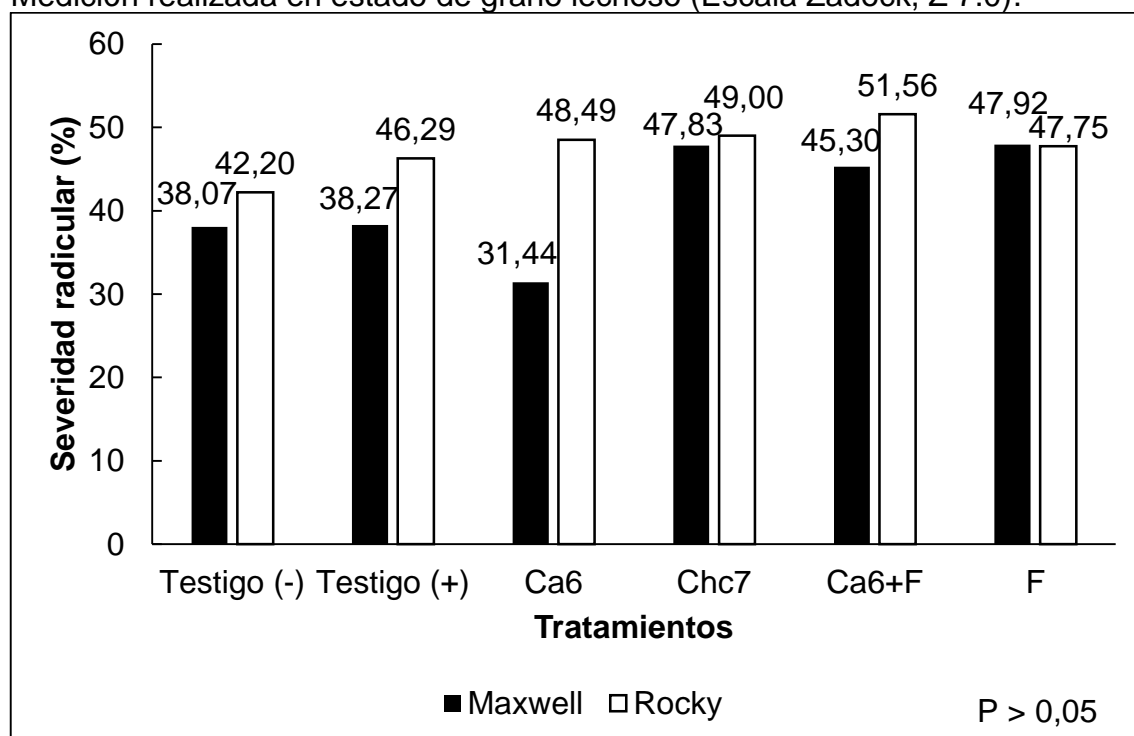


En cuanto a la severidad de lesiones en el cuello de la planta para ambas variedades no se pudieron observar diferencias estadísticas entre los tratamientos en estudio ($P > 0,05$). El uso de la cepa de *P. protegens* Ca6 disminuyó esta variable en un 9,9 %. Esta variable mostró niveles de daño en el primer internudo que variaron entre 6,5 y 64 % entre los tratamientos tal como se observa en la Figura 6.

Evaluación del efecto de los tratamientos a la semilla sobre características de calidad.

Rendimiento de grano. Los tratamientos de semilla sobre 'Maxwell' mostraron diferencias significativas en cuanto a rendimiento de grano ($P \leq 0,05$; C.V.: 6,5; Figura 7). El Testigo inoculado disminuyó un 5,4 % el rendimiento del grano respecto al Testigo sin inóculo en 'Maxwell'. Este nivel de reducción del rendimiento fue bajo comparado con señalado por Zhu y colaboradores (2014), quienes plantean que *R. cerealis* genera pérdidas de rendimiento en trigo que fluctúan entre 10 % y 40 %. En general, la inoculación realizada y las condiciones ambientales predisponentes durante el desarrollo del cultivo no favorecieron el desarrollo de la macha ocular aguda en el sitio experimental. 'Maxwell' tendió a ser más susceptible a la enfermedad con respecto al 'Rocky-INIA'.

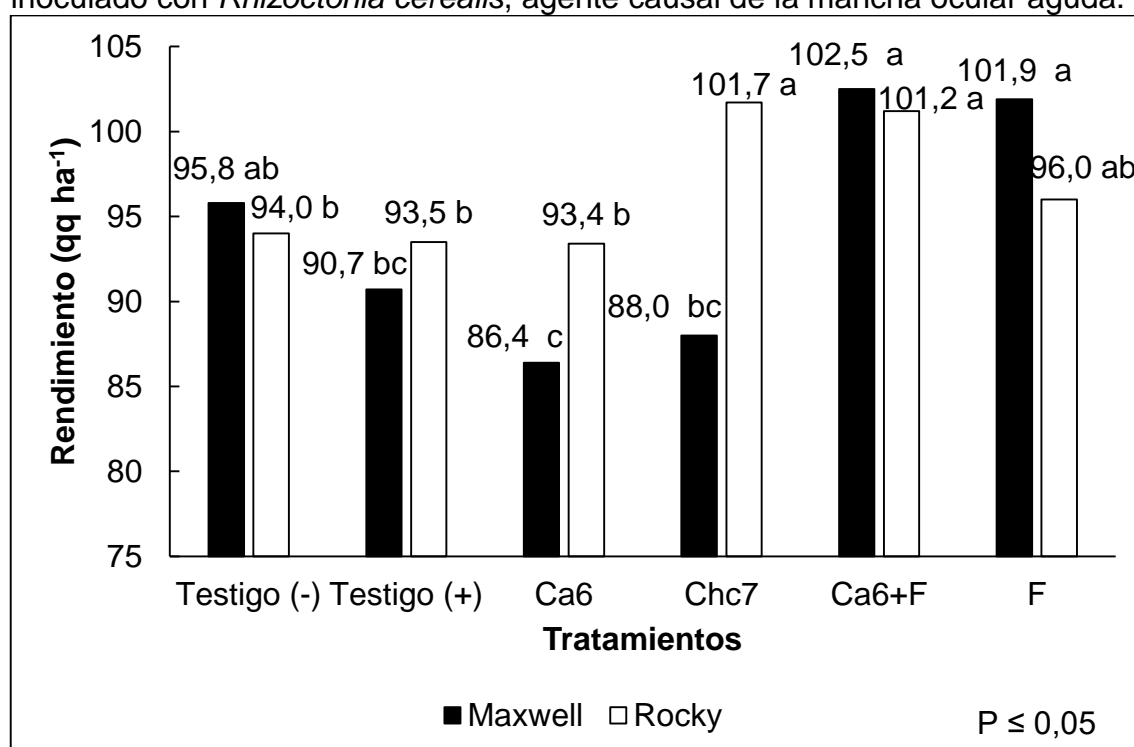
Figura 6. Evaluación de severidad radicular en cultivares Maxwell y Rocky tratados a la semilla con dos cepas de *Pseudomonas protegens* y fungicidas (F) e inoculado con *Rhizoctonia cerealis*, agente causal de la mancha ocular aguda. Medición realizada en estado de grano lechoso (Escala Zadock, Z 7.0).



En 'Maxwell', las bacterias *P. protegens* por si solas no incrementaron el rendimiento. Sin embargo, el uso de *P. protegens* cepa Ca6 + Fungicida aumentó en 11,8 qq ha⁻¹ el rendimiento de grano (13,1 %), mientras el tratamiento Fungicida, incrementó este parámetro en 11,3 qq ha⁻¹ (12,4 %).

En el caso del 'Rocky-INIA', el uso de *P. protegens* Ca6 + Fungicida y de *P. protegens* Chc7 por si sola permitieron incrementar esta variable entre 7,8 y 8,2 qq ha⁻¹ (8,3 a 8,8 %, respectivamente) con respecto al Testigo inoculado ($P \leq 0,05$; C.V.: 4,3; Figura 7). Del mismo modo, el uso de la cepa Chc7 y la mezcla Ca6 + Fungicida generó en promedio un aumento con respecto al Testigo no inoculado de 7,7 qq ha⁻¹ y 7,2 qq ha⁻¹ respectivamente, mientras que con el uso de sólo la mezcla fungicida se aumentó en 2,0 qq ha⁻¹ esta variable ($P > 0,05$).

Figura 7. Rendimiento de grano (qq ha⁻¹) en cultivares Maxwell y Rocky tratados en la semilla con dos cepas de *Pseudomonas protegens* y fungicidas (F) e inoculado con *Rhizoctonia cerealis*, agente causal de la mancha ocular aguda.



Estos resultados concuerdan con estudios que indican que la inoculación con bacterias del género *Pseudomonas* produce incrementos significativos en rendimiento y calidad de grano del trigo (Valverde *et al.*, 2009), ya que la interacción fitohormonal entre *Pseudomonas* y este cultivo incrementan el rendimiento y otros parámetros (Ferraris, 2014). Vega y colaboradores (2017) describen que el género *Pseudomona* es capaz de solubilizar el fósforo transformándolo a ortofosfato lo que permite que la planta lo absorba y como resultado aumente el rendimiento. Además, se ha podido determinar que la combinación de bacterias con fungicida resulta más efectiva que utilizarlas de

manera individual (Andrade, 2013; Vera *et al.*, 2019), tal como lo observado en el presente estudio al utilizar el tratamiento *P. protegens* cepa Ca6 + Fungicida, el cual generó un incremento en el rendimiento.

Peso de 1000 granos y peso de hectolitro. Lemańczyk (2013) y Brown *et al.* (2021) describen que la enfermedad mancha ocular aguda (*R. cerealis*) provoca como consecuencia una disminución en variables de calidad del cultivo como un menor peso de los granos debido a que estos son más pequeños y arrugados. Sin embargo, en el presente estudio no se pudo observar diferencias significativas en el peso de 1000 granos para ambos cultivares ($P > 0,05$; Tabla 5), esto a pesar de que el uso del tratamiento Fungicida aumentó en promedio 5,8 g esta variable con respecto a los testigos inoculados de 'Maxwell' y en un 8,6 g en 'Rocky-INIA'.

Tabla 5. Peso 1000 granos y peso hectólitro en plantas de trigo en cultivares Maxwell y Rocky tratados con dos cepas de *Pseudomonas protegens* y fungicidas (F) e inoculado con *R. cerealis*.

Tratamientos	Peso 1000 granos (g)		Peso hectólitro (kg hL ⁻¹)	
	Maxwell	Rocky	Maxwell	Rocky
Testigo	477,00	399,50	77,10	73,70
Testigo inoculado	477,30	401,40	76,40	73,50
<i>Pp</i> Ca6	470,80	402,00	76,80	72,80
<i>Pp</i> Chc7	466,80	408,50	77,30	73,50
<i>Pp</i> Ca6 + Fungicida	459,30	399,50	76,80	73,80
Fungicida	483,10	410,00	77,10	73,00
C. V. ¹	3,08	5,40	1,46	1,53
P-valor	0,29	0,97	0,91	0,77

¹ C.V. = Coeficiente de variación.

Estos resultados coinciden con los reportados por Cromey y colaboradores (2002), quienes no detectaron una disminución evidente sobre el peso de granos, puesto que al no alcanzar un nivel severo de la enfermedad el resultado es poco significativo. Del mismo modo, en la evaluación de peso hectólitro no se determinaron diferencias entre testigos, ni tampoco al compararlos con los tratamientos de semillas en el caso de 'Maxwell' y del cultivar 'Rocky' ($P > 0,05$).

En Chile las enfermedades que afectan la raíz y el primer internudo de las

plantas de trigo pueden generar considerables pérdidas en el rendimiento y otras variables de importancia en el cultivo. Sin embargo, actualmente no existen métodos de control efectivos para estos patógenos de plantas (De Cornick *et al.*, 2015). Por esto el presente estudio buscó un método de control que además de ser efectivo afectará positivamente el cultivo y el ambiente al utilizar en menor medida productos químicos, mediante la utilización de bacterias antagónicas. Doussoulin y colaboradores (2022), observaron en sementeras del sur de Chile que los hongos capaces de afectar el primer entrenudo de las plantas de trigo se ven afectados por la existencia de poblaciones de bacterias productoras de 2,4-DAPG y PCA como son las del género *Pseudomonas*, ya que éstas regulan la presencia de estos fitopatógenos y desarrollan una menor incidencia y gravedad del daño de la enfermedad, lo que contrasta con lo ocurrido durante este experimento. Paralelamente, el grado de incidencia y severidad de la mancha ocular aguda afectan negativamente los parámetros de altura y rendimiento de la planta en esos puntos de muestreo sin la presencia de poblaciones de *Pseudomonas* (Zhu *et al.*, 2014; Castro *et al.*, 2019; Vera *et al.*, 2019), lo que es confirmado en este experimento, ya que en presencia de la cepa Ca6 y Chc7 el rendimiento aumentó en 'Rocky-INIA' sugiriendo que la presencia de bacterias con el gen *phlD+* aumenta la protección del cultivo dependiendo del cultivar.

Se ha demostrado que la inoculación de bacterias antagónicas a la semilla es una herramienta que favorece la correcta colonización de la rizósfera por bacterias antagónicas no solo de las estudiadas (*P. protegens*) sino que esto también ha sido descrito en otras especies de *P. fluorescens* (Fox *et al.*, 2016; Imperiali *et al.*, 2017), además mediante la cuantificación de poblaciones bacterianas se ha podido determinar que la inoculación de semillas con bacterias aumenta la concentración natural de estas en las raíces (Vera *et al.*, 2019; Castro *et al.*, 2020). Sin embargo, al no haberse cuantificado la población de bacterias presentes en las raíces no existe claridad si estas colonizaron las raíces y/o las poblaciones presentes fueron suficientes para controlar el daño generado por *R. cerealis*, pudiendo ser la razón por la que las bacterias no tuvieron efecto positivo en el control de la enfermedad y síntomas que causa la mancha ocular aguda.

CONCLUSIONES

1. El tratamiento de semillas con dos cepas de *P. protegens* no redujeron síntomas atribuibles a la infección por *R. cerealis*, agente causal de la mancha

ocular aguda, en dos variedades de trigo bajo las condiciones que se presentaron en la temporada 2020 – 2021 en la zona centro-sur de Chile.

2. El tratamiento de semillas con la cepa *P. protegens* cepa Chc7 aumentó el rendimiento en el cultivar de trigo invernal 'Rocky' comparado con testigo inoculado y no inoculado.

3. El tratamiento de semillas con las cepas de *P. protegens* no tuvo efectos significativos en la emergencia, altura de la planta y variables de calidad de grano en dos variedades de trigo bajo las condiciones que se presentaron en la temporada en la zona centro-sur de Chile.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andrade, V. 2013. Control biológico de la pudrición radical, o mal del pie del trigo, en la zona sur de Chile. pp: 89-98. En: J.R. Montealegre y L.M. Pérez (Eds.). Control biológico de enfermedades de las plantas en Chile. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile.
2. Arseneault, T., C. Goyer and M. Fillion. 2013. Phenazine production by *Pseudomonas* sp. LBUM223 contributes to the biological control of potato common Scab. *Phytopathology* 103(10): 995-1000.
3. Beddow, J.M., P.G. Pardey, Y. Chai, T.M. Hurley, D.J. Kriticos, H.J. Braun, R.F. Park, W.S. Cuddy and T. Yonow. 2015. Research investment implications of shifts in the global geography of wheat stripe rust. *Nature Plants* 1: 15132(Art. N°). DOI: 10.1038/NPLANTS.2015.132 [en línea].
4. Brown, M., D.P. Jayaweera, A. Hunt, J.W. Woodhall and R.V. Ray. 2021. Yield losses and control by sedaxane and fludioxonil of soilborne *Rhizoctonia*, *Microdochium*, and *Fusarium* species in winter wheat. *Plant Dis.* 105(9): 2521-2530.
5. Cárcamo, T. 2017. Caracterización de aislados chilenos de *Rhizoctonia oryzae* Ryker & Gooch, y verificación de su patogenicidad en catorce variedades de trigo (*Triticum aestivum* L.) cultivadas en Chile. Memoria de título, Ingeniero Agrónomo. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía. Valdivia, Chile.
6. Castro, M.P., R.P. Madariaga, B. Ruiz, M. Vargas, C. Vera and E.A. Moya-Elizondo. 2020. Antagonistic activity of Chilean strains of *Pseudomonas protegens* against fungi causing crown and root rot of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Front. Plant Sci.* 11: 951(Art. N°). DOI: 10.3389/fpls.2020.00951 [en línea].

7. Cromeey, M.G., R.C. Butler, H.J. Boddington and A.R. Moorhead. 2002. Effects of sharp eyespot on yield of wheat (*Triticum aestivum*) in New Zealand. N. Z. J. Crop Hortic. Sci. 30(1): 9-17.
8. Cromeey, M.G., R.C. Butler, C.A. Munro and S.C. Shorter. 2005. Susceptibility of New Zealand wheat cultivars to sharp eyespot. N. Z. Plant Prot. 58: 268-272.
9. De Coninck, B., P. Timmermans, C. Vos, B.P. Cammue and K. Kazan. 2015. What lies beneath: belowground defense strategies in plants. Trends Plant Sci. 20(2): 91-101.
10. Doussoulin, H.A. y E.A. Moya. 2011. Suelos supresivos a enfermedades radicales: Declinación el mal de pie (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) en trigo. Agro Sur 39(2): 67-78.
11. Doussoulin, H.A., N.L. Arismendi and E.A. Moya-Elizondo. 2022. *Pseudomonas* spp. producing antimicrobial compounds regulate fungal communities inhabiting wheat crown in southern Chile. Agronomy 12(3): 710(Art. N°). <https://doi.org/10.3390/agronomy12030710> [en línea].
12. Duke, K.A., M.G. Becker, I.J. Girard, J.L. Millar, W.G. Fernando, M.F. Belmonte and T.R. Kievit. 2017. The biocontrol agent *Pseudomonas chlororaphis* PA23 primes *Brassica napus* defenses through distinct gene networks. BMC Genom. 18: 467(Art. N°). <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3848-6> [en línea].
13. Ferraris, G.N. 2014. Inoculación con microorganismos con efecto promotor de crecimiento (pgpm) en trigo. Conocimientos actuales y experiencias realizadas en la región pampeana Argentina [en línea]. International Plant Nutrition Institute. <[http://lacs.ipni.net/ipniweb/region/lacs.nsf/e0f085ed5f091b1b852579000057902e/f8b97d9fdafd5f510325790300536221/\\$FILE/Ferraris%202009%20-%20Microorganismos%20PGPM%20en%20trigo.pdf](http://lacs.ipni.net/ipniweb/region/lacs.nsf/e0f085ed5f091b1b852579000057902e/f8b97d9fdafd5f510325790300536221/$FILE/Ferraris%202009%20-%20Microorganismos%20PGPM%20en%20trigo.pdf)>. [Consulta: 23 marzo 2022].
14. Fox, A.R., G. Soto, C. Valverde, D. Russo, A. Lagares, A. Zorreguieta, K. Alleva, C. Pascuan, R. Frare, J. Mercado-Blanco, R. Dixon and N.D. Ayud. 2016. Major cereal crops benefit from biological nitrogen fixation when inoculated with the nitrogen-fixing bacterium *Pseudomonas protegens* Pf-5 X940. Environ. Microbiol. 18(10): 3522-3534.
15. Fuente, L. de la, D.V. Mavrodi, B.B. Landa, L.S. Thomashow and D.M. Weller. 2006. pHID based genetic diversity and detection of genotypes of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens*. FEMS (Fed. Eur. Microbiol. Soc.) Microbiol Ecol. 56(1): 64-78.
16. García, A. y E. Laval. 2020. Boletín de cereales, octubre 2020 [en línea]. ODEPA, Chile.

<<https://www.odepa.gob.cl/publicaciones/boletines/boletin-de-cereales-octubre-2020>>. [Consulta: 02 mayo 2021].

17. Glick, B. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol. Res.* 169(1): 30-39.
18. Hernández-Salmerón, J.E., B.R. Hernández-Flores, M. Rocha-Granados, P.D. Loeza-Lara y G. Santoyo. 2018. Hongos fitopatógenos modulan la expresión de los genes antimicrobianos *phlD* y *hcnC* de la rizobacteria *Pseudomonas fluorescens* UM270. *Biotecnia* 20(2): 110-116.
19. Imperiali, N., X. Chiriboga, K. Schlaeppi, M. Fesselet, D. Villacrés, G. Jaffuel, S. Bender, F. Dennert F, R. Blanco-Pérez, M. Van der Heijden, M. Maurhofer, F. Mascher, T. Turlings, C.J. Keel and R. Campos-Herrera. 2017. Combined field inoculations of *Pseudomonas* bacteria, arbuscular Mycorrhizal fungi, and entomopathogenic nematodes and their effects on wheat performance. *Front. Plant Sci.* 8: 1809(Art. N°). doi: 10.3389/fpls.2017.01809 [en línea].
20. Landa, B.B., O.V. Mavrod, K.L. Schroeder, R. Allende-Molar and D.M. Weller. 2006. Enrichment and genotypic diversity of *phlD*-containing fluorescent *Pseudomonas* spp. in two soils after a century of wheat and flax monoculture. *FEMS (Fed. Eur. Microbiol. Soc.) Microbiol Ecol.* 55(3): 351-368.
21. Lemańczyk, G. 2010. Occurrence of sharp eyespot in spring cereals grown in some regions of Poland. *J. Plant Prot. Res.* 50: 505-512.
22. Lemańczyk, G. 2012. Susceptibility of winter triticale cultivars to *Rhizoctonia cerealis* (Sharp eyespot) and *R. solani*. *J. Plant Prot. Res.* 52(4).
23. Lemańczyk, G. and H. Kwaśna. 2013. Effects of sharp eyespot (*Rhizoctonia cerealis*) on yield and grain quality of winter wheat. *Eur. J. Plant Pathol.* 135(1): 187-200.
24. Little, T.M. y F.J. Hills. 1976. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Trillas. México D.F., México.
25. Madariaga, R. 2015. Rastrojos y su relación con las enfermedades de trigo. pp: 106-118. En: C. Ruiz (Ed.). Rastrojo de cultivos y residuos forestales. Programa de transferencia de prácticas alternativas al uso de fuego en la Región del Biobío. Boletín INIA N°308. INIA Quilamapu. Chillán, Chile.
26. Madariaga, P.A. 2020. Evaluación de la PAR interceptada por el cultivo, NDVI y caracteres agronómicos en cultivares de trigo invernal liberados en Chile desde 1965 a 2020. Tesis, Magíster. Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Agrarias. Talca, Chile
27. Mavrodi, D.V., O.V. Mavrodi, B.B. McSpadden-Gardener, B.B. Landa, D.M. Weller and L.S. Thomashow. 2002. Identification of differences in genome

- content among *phlD*-positive *Pseudomonas fluorescens* strains by using PCR-based subtractive hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(10): 5170-5176.
28. McSpadden, B.B., D.V. Mavrodi, L.S. Thomashow and D.M. Weller. 2001. A rapid polymerase chain reaction-based assay characterizing rhizosphere populations of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing bacteria. *Phytopathology* 91(1): 44-54.
 29. Moya-Elizondo, E., N. Arismendi, M.P. Castro and H. Doussoulin. 2015. Distribution and prevalence of crown rot pathogens affecting wheat crops in southern Chile. *Chilean J. Agric. Res.* 75: 78-84.
 30. Paulin, M.M., A. Novinscak, M. St-Arnaud, C. Goyer, N.J. DeCoste, J.-P. Privé, J. Owen and M. Fillion. 2009. Transcriptional activity of antifungal metabolite-encoding genes *phlD* and *hcnBC* in *Pseudomonas* spp. using qRT-PCR. *FEMS (Fed. Eur. Microbiol. Soc.) Microbiol Ecol.* 68(2): 212-222.
 31. Plana, R. M. Álvarez y M. Varela. 2006. Evaluación de una colección del género *Triticum*: trigo harinero (*Triticum aestivum* ssp. *aestivum*), trigo duro (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) y triticale (*X Triticum secale* Wittmack) en las condiciones del occidente de Cuba. *Cultivos Tropicales* 27(4): 49-52.
 32. Ramette, A., M. Frapolli, M. Fischer-Le Saux, C. Gruffaz, J.-M. Meyer, G. Défago and Y. Moëne-Loccoz. 2011. *Pseudomonas protegens* sp. nov., widespread plant-protecting bacteria producing the biocontrol compounds 2,4-diacetylphloroglucinol and pyoluteorin. *Syst. Appl. Microbiol.* 34(3): 180-188.
 33. Raudales, R.E., E. Stone and B. McSpadden. 2009. Seed treatment with 2,4-diacetylphloroglucinol-producing pseudomonads improves crop health in low-pH soils by altering patterns of nutrient uptake. *Phytopathology* 99(5): 506-511.
 34. Rodríguez-García, M.F., R.I. Rojas-Martínez, J. Huerta-Espino, H.E. Villaseñor-Mir, E. Zavaleta-Mejía, J.S. Sandoval-Islas y J.F. Crossa-Hiriart. 2019. Genética de la resistencia a roya amarilla causada por *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* W. en tres genotipos de trigo (*Triticum aestivum* L.). *Rev. Fitotec. Mex.* 42(1): 31-38.
 35. Santoyo, G., E. Valencia-Cantero, M.C. Orozco-Mosqueda, J. Peña-Cabriales y R. Farías-Rodríguez. 2010. Papel de los sideróforos en la actividad antagonista de *Pseudomonas fluorescens* ZUM80 hacia hongos fitopatógenos. *Terra Latinoamericana* 28(1): 53-60.
 36. SAS Institute. 1999. The SAS system for Windows [cd-rom]. Ver. 8. Cary, USA: SAS Institute. 1 cd-rom.

37. Schroeder, K.L. and T.C Paulitz. 2008. Effect of inoculum density and soil tillage on the development and severity of *Rhizoctonia* root rot. *Phytopathology* 98(3): 304-314.
38. Stolpe, N.B. 2006. Descripciones de los principales suelos de la VIII Región de Chile. Publicaciones del Departamento de Suelo y Recursos Naturales N°1. Universidad de Concepción. Chillán, Chile.
39. Tunali, B., J.M. Nicol, D. Hodson, Z. Uçkun, O. Büyük, D. Erdurmuş, H. Hekimha H. Aktaş, M. Aydın Akbudak and S. Bağci. 2008. Root and crown rot fungi associated with spring, facultative, and winter wheat in Turkey. *Plant Dis.* 92(9): 1299-1306.
40. Troppens, D.M., R.I. Dmitriev, D.B. Papkovsky, F. O'Gara and J.P. Morrissey. 2013. Genome-wide investigation of cellular targets and mode of action of the antifungal bacterial metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS (Fed. Eur. Microbiol. Soc.) Yeast Res.* 13(3): 322-334.
41. Valverde, C. y G. Ferraris. 2009. Las *Pseudomonas*: un grupo heterogéneo con diversos mecanismos promotores del desarrollo vegetal. pp: 22-23. En: Uso actual y potencial de microorganismos para mejorar la nutrición y el desarrollo en trigo y maíz. INTA. Buenos Aires, Argentina.
42. Vásquez, J.K. 2011. Identificación molecular de cuatro aislamientos de *Pseudomonas* spp y caracterización del gen *phlD*. Trabajo de grado, Microbióloga Industrial. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia.
43. Vega Orrego, Y. S. (2017). Evaluación in vitro de mecanismos de promoción del crecimiento vegetal en bacterias con actividad antimicrobial sobre hongos fitopatógenos. Memoria de título, Ingeniero Agrónomo. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía, Chillán.
44. Vera, C.A., R.P. Madariaga, M. Gerding, B. Ruiz and E.A. Moya-Elizondo. 2019. Integration between *Pseudomonas protegens* strains and fluquinconazole for the control of take-all in wheat. *Crop Prot.* 121: 163-172.
45. Zadoks, J.C. and R.D. Schein. 1979. *Epidemiology and plant disease management*. Oxford University Press. New York, USA.
46. Zhu, X., L. Qi, X. Liu, S. Cai, H. Xu, R. Huang and Z. Zhang. 2014. The wheat ethylene response factor transcription factor pathogen induced ERF1 mediates host responses to both the necrotrophic pathogen *Rhizoctonia cerealis* and freezing stresses. *Plant Physiol.* 164(3): 1499-1514.