

Alternativas de control biorracionales sobre *Phytophthora infestans*, fitopatógeno causante de la gota en papa

Biorational control alternatives on *Phytophthora infestans*, phytopathogen causing gout in potatoes

Jessica Johanna Cruz Trujillo¹, Valentina Hernández Gutiérrez²,
Ligia Consuelo Sánchez Leal³, Luz Stella Fuentes Quintero⁴

Resumen

La gota de la papa o tizón tardío es una de las enfermedades más agresivas que atacan los cultivos de papa y en poco tiempo los destruye, ocasionando enormes pérdidas económicas, es producida por el fitopatógeno *Phytophthora infestans*, oomiceto que ha tomado gran importancia debido a sus efectos devastadores y las dificultades para lograr su erradicación. Los fungicidas de naturaleza química representan un problema debido al uso inadecuado, lo que hace muy difícil eliminar la enfermedad por la aparición de nuevas especies resistentes. Existen nuevas alternativas para su control, basadas en el uso de sustancias de naturaleza vegetal, y la aplicación de nuevas herramientas capaces de realizar edición de genes, reprogramar o eliminar secuencias de ADN/ARN, favoreciendo así, la obtención de cultivos libres de sustancias tóxicas. En esta revisión, se presentan los métodos existentes de biocontrol: como aceites esenciales, metabolitos microbianos, herramientas moleculares y el uso de sustancias biodegradables que favorecen el manejo y prevención de plagas, que ayudan a mitigar la problemática ambiental generada por el uso de fungicidas de naturaleza química.

Palabras claves: *Phytophthora infestans*, control biológico, papa, aceites esenciales, antagonista.

1. Estudiante. Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad Ciencias de la Salud. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6604-3079>

2. Estudiante. Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad Ciencias de la Salud. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8028-6840>

3. Profesora de Planta, Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad Ciencias de la Salud. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7796-1326>

4. Profesora Asociada. Universidad de Bogotá, Jorge Tadeo Lozano.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6618-870X>

Correo electrónico de correspondencia: lconsuelosanchez@unicolmayor.edu.co

Abstract

The drop of the potato or late blight is one of the most aggressive diseases that attack the potato crops and in a short time destroys them, causing great economic losses, it is produced by the phytopathogen *Phytophthora infestans*, oomycete that has taken great importance due to its devastating effects and difficulties in achieving its eradication. Fungicides of a chemical nature represent a problem due to the affected use, which makes it very difficult to eliminate the disease due to the appearance of new resistant species. There are new alternatives for its control, based on the use of substances of the plant nature, and the application of new specific tools to perform gene editing, reprogram or eliminate DNA / RNA sequences, thus favoring the obtaining of cultures free of toxic substances. In this review, specific biocontrol methods are presented, such as essential oils, microbial metabolites, molecular tools and the use of biodegradable substances that favor the management and prevention of pests, which help mitigate the environmental problems generated by the use of fungicides from chemical nature.

Keywords: *Phytophthora infestans*, biological control, potato, essential oils, antagonist.

Introducción

Los oomicetos tienen adaptaciones muy especializadas que les permiten infectar y matar innumerables especies de plantas, muchas de las cuales son importantes cultivos alimentarios y comerciales. Su progenie asexual, las zoosporas, muestran un comportamiento cinético interesante que puede ayudar a su supervivencia en ausencia de una planta huésped. La interacción planta-patógeno comienza con la llegada de las unidades de dispersión e infección del patógeno al huésped. Los síntomas de la enfermedad visual del ataque oomicetal en las hojas de las plantas sólo aparecen después de un cierto período de incubación, momento en el cual la aplicación del control biológico puede ser ineficaz (1,2). Estos mi-

croorganismos son similares a los hongos y a otros que viven en distintos tipos de ambientes, están estrechamente relacionados con los apicomplexanos, algas y diatomeas. Muchos de ellos son importantes patógenos de plantas y animales, causando graves pérdidas económicas (3). La creciente conciencia de los efectos secundarios negativos de los pesticidas sintéticos en la salud ambiental y humana ha llevado a un alto interés en los alimentos producidos orgánicamente. La producción de cultivos sostenibles enfrenta el desafío de mantener altos rendimientos para satisfacer las necesidades alimentarias de la población mundial (4). Si bien las medidas de control químico han mantenido los rendimientos, las regulaciones europeas sobre el uso de productos fitosanitarios presentan un desafío adicional

para los productores comerciales de papa en un momento en que cepas nuevas y más agresivas de *P. infestans* están dominando las poblaciones nativas (5).

El tizón tardío de la papa (enfermedad causada por *Phytophthora infestans*) causó devastación en la década de 1840 y provocó la escasez de alimentos en toda Europa. En Irlanda, donde los pobres dependían abrumadoramente de la papa, dio lugar a la hambruna irlandesa de la papa: más de un millón de personas murieron y muchas más se vieron obligadas a huir. Esta enfermedad en la papa puede darse muy rápidamente, dejando poco tiempo para que los productores respondan una vez que ha comenzado una epidemia. Es una enfermedad policíclica: la infección inicial produce una gran cantidad de esporangios (esporas asexuales), cuya dispersión conduce a infecciones posteriores (6). *P. infestans* exhibe un ciclo de vida de dos fases: la infección posterior en el huésped se caracteriza por una fase biotrófica asintomática, y una etapa necrotrófica tardía que se caracteriza por la degradación de los tejidos y la enfermedad (7).

Phytophthora infestans ha jugado un papel central en la patología vegetal como modelo para estudios de epidemiología, manejo de enfermedades e interacciones moleculares entre plantas y microorganismos (8). Este Oomiceto es una amenaza patogénica importante y continua para la producción agrícola en todo el mundo. La identificación rápida y temprana de *P. infestans* es un prerrequisito esencial para contrarres-

tar la propagación de la infección (9). En la actualidad, el control más efectivo para *Phytophthora* en el campo requiere una combinación de diferentes estrategias para el manejo integrado de los cultivos, entre las que se incluyen, controles preventivos, uso de elementos de naturaleza química, estrategias culturales, y control biológico. En este trabajo de revisión se pretende resaltar los métodos existentes de biocontrol y las herramientas moleculares que favorecen el manejo y prevención de plagas, el uso de estos puede disminuir la problemática que conlleva para el medio ambiente y los seres vivos en general el uso de fungicidas de naturaleza química.

La biodiversidad que tienen estos microorganismos así como su naturaleza única y las capacidades biosintéticas presentadas en condiciones ambientales específicas hacen que los microorganismos sean los probables candidatos para resolver problemas de control de plagas. La microbiología tecnológica tiene grandes potenciales para explorar, por lo cual la investigación en esta área resulta prometedora para los científicos (10).

Controles derivados de compuestos orgánicos

Los derivados de pirimidina poseen varias propiedades medicinales tales como agentes anticancerígenos, antibacterianos, antiprotozoarios, antivirales y antiinflamatorios y

también son relevantes en el desarrollo de agroquímicos destinados a la erradicación de fitopatógenos. Se ha sugerido que las vías de recuperación de los nucleótidos son importantes en el crecimiento y el desarrollo durante el proceso de germinación de *P. infestans*. Según el estudio, el patógeno tiene genes putativos que le permitirían realizar tanto la recuperación como la biosíntesis de *novo* de las pirimidinas. La alternativa de control se puede ver en los perfiles de expresión génica observados de DHOasa y UMPasa que apoyan la síntesis de pirimidina de *novo* siendo un objetivo atractivo especialmente durante las primeras etapas de infección (11).

Las plantas desencadenan una forma de defensa en respuesta a la infección por patógenos produciendo diversas especies reactivas de oxígeno (ROS), es decir, peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Estos ROS actúan como señales para la inducción de una muerte celular mediada por la respuesta hipersensible (HR) y la activación de genes asociados a la defensa para inhibir el crecimiento de patógenos y su mayor propagación, el problema es que el exceso de estos causa daño potencial a las súper moléculas biológicas. Según estudios las plantas de papa transgénicas *GalUR* (*D-galacturónica de ácido reductasa*) que sobreproducen AsA (ácido L-ascórbico) es decir la vitamina C, con una potente capacidad antioxidante muestran síntomas necróticos disminuidos y lesiones de la enfermedad reducidas en las etapas iniciales inducidas por *P. infestans* debido a que AsA es un compuesto antioxidante multifuncio-

nal significativo y un sustrato importante para la desintoxicación de especies reactivas de oxígeno que puede producir la planta (12).

La estrecha relación entre los oomicetos y los apicomplexanos ha llevado a plantear la hipótesis de que las estrategias que han demostrado su eficacia para el control de los parásitos humanos *T. gondii* y *P. falciparum* también podría usarse para controlar el crecimiento de *P. infestans*. De hecho, la estrategia inversa, el uso de agroquímicos oomiceticidas para controlar los parásitos de apicomplexano, parece ser eficaz. Esta caracterización de un DHODH de oomiceto recombinante purificado y primera comparación con el DHODH de planta correspondiente sugiere la posibilidad de explotarse aún más para desarrollar compuestos específicos de la especie para el manejo del cultivo. La disponibilidad y caracterización del DHODH recombinante de *P. infestans* permitió el primer cribado preliminar de posibles inhibidores enzimáticos, con la razón de interferir con el metabolismo de pirimidina, y abre el camino a la cristalización de proteínas, que es un requisito previo para el desarrollo de inhibidores específicos de especie (13).

Se ha comprobado que la melatonina puede inducir la inmunidad innata de la planta contra la infección por patógenos, pero los efectos directos de la melatonina en los patógenos de las plantas son poco conocidos. En algunos hallazgos se ha visto una nueva comprensión de las funciones directas

de la melatonina en *P. infestans* y estos han proporcionado un posible enfoque de biocontrol ecológico utilizando un paradigma basado en melatonina y una aplicación para prevenir el tizón tardío de la papa (14).

Aceites esenciales como alternativa de control

La reducción en el uso de fungicidas sintéticos en la agricultura es cada vez mayor, mientras que el uso de productos naturales es considerado como una alternativa interesante debido a sus bajos impactos negativos en el medio ambiente. El aspecto más atractivo del uso de aceites esenciales como fungicidas (o pesticidas en general) es su baja toxicidad para los mamíferos y para las especies vegetales que se ven expuestas a estos. (15,16)

Los metabolitos secundarios de algunas plantas juegan roles importantes en algunos procesos de control y protección frente a plagas. El aceite esencial de orégano *Lippia origanoides* presenta acción antifúngica debido a que muestra reducción de los porcentajes de crecimiento micelial del fitopatógeno relacionado directamente con el aumento de las concentraciones. (15)

En algunos estudios se demostró que los aceites de orégano, tomillo, hinojo, romero y lavanda inhiben el crecimiento de *Phytophthora infestans*, concluyendo que los cambios generales en la morfología de las hifas

podrían deberse a la pérdida de la integridad de la pared celular y la permeabilidad de la membrana plasmática. El efecto antifúngico de los aceites esenciales también podría explicarse por la interrupción de la morfogénesis y el crecimiento de los hongos al interferir con las enzimas responsables de la síntesis de la pared celular y, por lo tanto, conducir a cambios en la integridad hifal, alteración de la membrana plasmática y destrucción mitocondrial (16).

Extractos vegetales fermentados de ajo (*Allium sativum*) y ajeno (*Artemisia absinthium*) fueron reportados con efecto de reducción en la severidad de *P. infestans* en papa criolla, al igual que el extracto de cardón lefaria (*Cereus deficiens*) con efecto de reducción entre el 70 y 94% en el crecimiento micelial de *P. infestans* y *Sclerotium rolfsii*. (17). Los aceites esenciales de las especies *M. piperita* y *T. vulgaris* han mostrado poseer un importante efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *P. infestans* en condiciones in vitro. La creciente demanda pública de productos cultivados orgánicamente, y la eliminación prevista del uso de formulaciones que contienen cobre, generan una urgente necesidad de métodos de control alternativo. Se ha incrementado el interés en desarrollar estrategias de tratamiento basadas en productos de defensa de plantas naturales. Se ha informado previamente que la sustancia antimicrobiana natural alicina, que es producida en el ajo (*Allium sativum*) es activa contra una amplia gama de organismos fitopatógenos in vitro y en planta y de hecho hay varios informes de prepara-

ciones de ajo que contienen alicina se usan para tratar enfermedades de las plantas. La alicina (dialiltio sulfinato) se produce en el ajo cuando el sustrato alliin se mezcla con la enzima alinasa. La actividad del jugo de ajo se conoce desde hace tiempo. La alicina atraviesa la membrana celular fácilmente y sufre intercambio de reacciones con grupos tiol libres en proteínas. Se cree que estas propiedades son la base de su acción antimicrobiana. Por lo tanto, la alicina tiene varios objetivos en la célula y esto dificulta la resistencia a ella (17,18).

Otros estudios relacionados con alternativas de control bajo condiciones in vitro, demuestran que el extracto fermentado de la especie *Furcraea gigantea Vent* (bioinsumo de fique) presenta un efecto de inhibición ante el patógeno *Phytophthora infestans*, causando una respuesta similar a la obtenida por los fungicidas sistémicos (19).

Las sapogeninas (hecogenina y tigogenina) presentes en este bioinsumo han sido reportadas con grandes efectos inhibitorios sobre algunos hongos fitopatógenos y particularmente sobre *Phytophthora Infestans*. El jugo de fique por su poder antifúngico se convierte en una alternativa altamente viable para el control de la gota en la papa (20). Gracias a su contenido el jugo de fique favorece el crecimiento de algunas comunidades bacterianas que aprovechan su contenido nutricional como sustrato, debido a esto los metabolitos secundarios generados por estos microorganismos son los que generan acción antagónica sobre *P.infestans*,

el principal microorganismo antagónico es *Bacillus sp* (21).

La acción antimicrobiana in vitro del aceite esencial de *Lippia sp.* y *Piper aduncum* sobre *Phytophthora infestans* ha sido demostrada por medio de pruebas de confrontación aplicando dos experimentos: el efecto de contacto y el efecto volátil de cada uno de los aceites esenciales evaluando el crecimiento micelial que permite determinar la concentración mínima inhibitoria.(22)

El uso de productos etanólicos y metanólicos derivados de plantas de las que se extrae la resina de *Flourensia cernua*, *Origanum majorana* y *Bouvardia ternifolia* con metanol mediante el método de Sóxhlet para evaluar su efecto en el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans in vitro*, muestran resultados de inhibición aceptables mostrando efectos fungistáticos al ser expuestos a los tres extractos, para el caso de *P.infestans* se muestran resultados significativos con dosis menores de *Origanum majorana* presentando un efecto fungicida (23). Los estudios sugieren que la asociación del aceite de mejorana con PAMAM G4.0s es prometedor para combatir el tizón tardío y que los estudios posteriores deberían centrarse en determinar la concentración adecuada para la inhibición óptima y realizar ensayos de campo (24).

Los extractos de hongos de sombrero (*Estrobilurus tenacellus*) y penco azul (*Agave americana*) presentan actividad preventiva frente al patógeno *Phytophthora infestans* en el

cultivo de papa (*S. tuberosum*), esto puede deberse a su contenido de terpenos, fenoles y alcaloides; capaces de afectar la permeabilidad de la membrana del patógeno, provocando trastornos metabólicos e inhibición del crecimiento micelial (25).

Un estudio con la planta *Nigella sativa* L. cuyas semillas se utilizan tradicionalmente en medicina popular en Asia Central y Sudoriental compararon la actividad antifúngica de los extractos de semillas de *N. sativa* frente al oomiceto fitopatógeno *Phytophthora infestans*, uno de los extractos en general exhibió actividad inhibitoria significativamente mayor contra *P. infestans* que otro de los extractos trabajados. De esta forma el desarrollo de *P. infestans* en los discos de papa fue negativo tras la incubación durante 96 horas con concentraciones de extractos de 1.0 mg / mL. Sin embargo, este efecto no persistió, el grado de aparición de los síntomas de fitoforesis fue de 15 a 22% después de la incubación durante 144 horas a una concentración máxima de 1,0 mg / ml, aunque fue del 65% en el control. El efecto biológico disminuyó bruscamente si la concentración activa disminuía (26).

Se ha demostrado que los aceites esenciales (OE) tienen actividades inhibitorias contra varias enfermedades de almacenamiento. Este efecto fue demostrado claramente entre otros por Bring (1995) al exponer los tubérculos de papa a la fase de vapor de los aceites aromáticos. Se ha logrado mostrar efectos fungicidas similares in vitro mediante el uso de varios OE. Se han realizado pruebas para

estudiar los inhibidores, además de probar la supervivencia de dicho patógeno in vitro después del tratamiento con EOs, los efectos antifúngicos y potenciales fitotóxicos de los aceites representativos aplicados a las plantas de papa maduras también fueron seguidos en experimentos en invernadero. Las composiciones químicas características de cada OE, que son mezclas complejas de los compuestos volátiles (monoterpenos) y menos o no volátiles (sesquiterpenos), pueden interferir directa o indirectamente con la realización de tales diferencias. Respecto a la composición química de los aceites esenciales parece que algunos de los monoterpenos presentes en varios aceites esenciales poseen fuertes propiedades fungicidas mientras que algunos de los sesquiterpenos estimulan el crecimiento de hongos (27).

Según estudio fueron evaluadas las actividades antifúngicas in vitro de aceites esenciales derivados de plantas aromáticas cultivadas localmente contra el patógeno del tizón tardío. Las propiedades antimicrobianas de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) volátil y de contacto variaron según los aceites esenciales. Tanto la fase volátil como la fase de contacto de los aceites esenciales de orégano, tomillo, hinojo y romero han resultado ser fungicidas en su respectiva MIC. El aceite esencial de lavanda fue fungicida en su fase de contacto, pero fungistático en su fase volátil. Sin embargo, las fases volátiles y las de contacto del aceite esencial de laurel presentaron efectos fungistáticos, (28).

Microorganismos y metabolitos secundarios con potencial de inhibición sobre *Phytophthora infestans*

El control eficiente del tizón tardío por agentes de control biológico bacteriano se ha observado en pocos casos en experimentos de invernadero o incluso en campo, pero la mayoría de los estudios informaron una falta de reproducibilidad en la protección contra esta enfermedad. De hecho, a diferencia de una molécula sintética que actúa directamente sobre un objetivo específico del patógeno, los agentes de biocontrol necesitan competir de manera eficiente con la microbiota nativa y otros factores para colonizar el ambiente. Una vez establecidos, pueden producir moléculas bioactivas que activan la defensa inmunológica de la planta huésped o que inhiben directamente el desarrollo del patógeno. Los microorganismos candidatos de biocontrol para los que se demostró actividad inhibitoria contra *P. infestans* incluyen especies fúngicas de *Trichoderma*, el oomiceto *Pythium oligandrum* y varias especies bacterianas que pertenecen predominantemente a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* (4,29). La microflora existente en la rizosfera podría tener posibles efectos biocontroladores en fitopatógenos (30).

Muchas *Pseudomonas spp.* han sido identificadas como agentes de biocontrol, con cepas capaces de proteger las plantas de una amplia variedad de patógenos bacterianos, fúngicos y oomicetos. En una investigación al exponer a una cepa R47 de *Pseudomonas*

activa se observó una fuerte inhibición del crecimiento micelial para todos los aislados de *P. infestans*. Las bacterias *Pseudomonas* poseen amplios arsenales de compuestos antifúngicos, antibióticos, toxinas y otros metabolitos secundarios; por ejemplo, se sabe que *Pseudomonas* R47 produce el compuesto volátil inorgánico cianuro de hidrógeno (HCN) y fenazinas, los cuales inhiben *P. infestans*. En otro estudio se determinó que una nueva cepa de *Pseudomonas fluorescens*, LBUM636, aislada de un campo en Canadá, y que produce el antibiótico PCA, muestra una fuerte actividad antagonista contra *Phytophthora infestans* y buen potencial de biocontrol contra el tizón tardío de la papa. El uso de bacterias ofrece ventajas significativas sobre las moléculas sintéticas con respecto al manejo de la resistencia porque es extremadamente improbable que un aislado de *P. infestans* adquiera resistencia contra todas las moléculas responsables de la inhibición (29,31).

Ahora se conoce que, además de su arsenal antimicrobiano soluble bien documentado, las bacterias emiten una amplia gama de compuestos orgánicos volátiles (COV) que tienen un fuerte potencial inhibitorio contra los competidores microbianos. *P. infestans* expone alta susceptibilidad a los compuestos volátiles bacterianos; cepas cianogénicas de *Pseudomonas* han mostrado actividad significativa, lo que conduce a una inhibición completa del crecimiento del fitopatógeno, por otra parte y aunque con menor actividad las no cianogénicas también producen compuestos volátiles anti-oomicetos.

Los compuestos volátiles emitidos exponen 1-undeceno como un compuesto producido por las cepas que inducen la inhibición del crecimiento mediada por *P. infestans*. El suministro de 1-undeceno puro a *P. infestans* ha mostrado reducción en el crecimiento del micelio, la formación de esporangios, la germinación y la liberación de zoosporas de una manera dependiente de la dosis (32). En el análisis de 95 aislamientos de bacterias para determinar su biosurfactante y su actividad de biocontrol contra *Phytophthora infestans* solo cinco de estos fueron efectivos contra *P. infestans* teniendo propiedades de biocontrol. *Pseudomonas aeruginosa* mostró 62.22% de zona de inhibición después de 72 horas, este aislado es prometedor como agente de control biológico contra *P. infestans* en el campo (33,34).

Los actinomicetos, especialmente los pertenecientes al género *Streptomyces sp.*, han sido utilizados junto a otras poblaciones microbianas, no solo en la inhibición de *P. infestans*, sino también de otros fitopatógenos. Los actinomicetos presentes en purines o extractos fermentados de plantas de chipaca (*Bidens pilosa L.*), han mostrado su efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans* (35).

Los microorganismos de biocontrol con frecuencia producen distintos compuestos antibacterianos y antifúngicos. En un análisis del genoma de *B. subtilis* SZMC 6179J para identificar posibles determinantes genéticos de características de control biológico, la cepa demostró que ejerce excelentes propie-

dades antagonistas *in vitro* frente a patógenos como *Phytophthora infestans*. Previamente hay información sobre una identificación taxonómica preliminar, enzimas extracelulares y características de secreción de antibióticos, y un amplio espectro antagonista *in vitro* de la cepa. Las cepas de *Bacillus* son agentes biológicos exitosos para el control de plagas debido a la competencia que tienen por los nutrientes y el nicho ecológico en la rizosfera. (36). El género *Bacillus*, es considerado una importante alternativa como agente de control biológico, gracias a características propias como su ubicuidad en el suelo, la producción de esporas resistentes a factores ambientales como la desecación, calor, radiación UV y solventes orgánicos, por ser promotor de crecimiento en plantas (PGPR), por su sistema de resistencia inducida y por la producción de sustancias de tipo enzimático que favorece la inhibición de fitopatógenos(37). La acción biocontroladora de especies como *Bacillus brevis* y *Bacillus subtilis* está mediada por la producción de metabolitos a lo largo de la curva de crecimiento, estos metabolitos de tipo antibiótico son capaces de actuar sobre microorganismos de diversa etiología, los péptidos que produce y que tienen esta acción son variados y se ha visto que afectan directamente a algunos fitopatógenos. (38)

La mejora de la inmunidad natural de las plantas podría ser una estrategia para una protección más sostenible. Varios estudios sobre la diversidad de metabolitos secundarios microbianos, entre estos los compues-

tos orgánicos volátiles (COV) de bajo peso molecular dan a conocer que este método da como resultado una preparación potente del sistema inmune basal de la planta, denominada resistencia sistémica inducida (ISR), que concede resistencia de amplio espectro contra los patógenos. En análisis con la inmunidad activada por patrones (PTI) y el posterior montaje de la Resistencia Sistémica adquirida (SAR), la obtención de ISR no afecta negativamente el crecimiento y la productividad; por el contrario, muchos microorganismos desencadenantes de ISR son seleccionados por sus propiedades de promoción del crecimiento de las plantas y de alivio del estrés. En este estudio se pudo ver que *P. infestans* era el organismo más susceptible a COV, las especies de *Pseudomonas* mostraban la mayor actividad mediada por los compuestos orgánicos volátiles debido a su producción de cianuro de hidrógeno, esto podría explicar una gran parte de la inhibición observada. Por otra parte, tanto los micelios como los esporangios del oomiceto tienen alta sensibilidad a los compuestos que contienen azufre.(39,40)

Los aislamientos asociados naturalmente con las plantas de papa tienen la mayor probabilidad de reintroducirse artificialmente en un cultivo con fines de control. Sin embargo, los efectos protectores medidos en ensayos de cultivo y experimentos de infección de disco de la hoja aún no se han transpuesto a ensayos de campo exitosos. La contribución directa de los COV microbianos en la supresión de la enfermedad en campo abierto sigue siendo difícil de alcanzar.(39)

Las plantas solanáceas (familia Solanaceae) producen una amplia variedad de metabolitos secundarios que contienen nitrógeno, conocidos como alcaloides. Se cree que estos compuestos tienen un papel importante en la protección contra infecciones o ataques. Los glicoalcaloides esteroidales de sabor amargo (SGA) que se encuentran naturalmente en las plantas de tomate y berenjena demuestran una mayor toxicidad para *P. infestans* (inicialmente aislado de la papa) que la α -chaconina y la α -solanina derivadas propiamente de la papa. Hasta el momento no se ha presentado ninguna investigación definitiva sobre la toxicidad de los SGA para *P. infestans*. En los resultados de este estudio muestran que los SGA derivados de la patata α -chaconina y α -solanina no ejercen una inhibición directa significativa en el crecimiento micelial de *P. infestans*, mientras que la forma no glucosilada de solanidina presente en la planta solanácea tiene un fuerte efecto inhibitorio (41).

Bacillus subtilis WL-2 es considerada la cepa antifúngica con mayor potencial contra el crecimiento micelial de *P. infestans*. Además, los metabolitos funcionales extraídos de WL-2 se han identificado como lipopéptidos cíclicos (CLP) de la familia Iturina mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y espectrometría de masas por ionización por electropulverización (ESI-MS). Los análisis con microscopía electrónica de barrido y transmisión (SEM y TEM) han revelado que Iturina causó un cambio en la superficie del micelio y daño a la estructura celular interna, incluida la

interrupción de la membrana celular y la formación irregular de orgánulos. Las mitocondrias de *P. infestans* afectadas por Iturina sufrieron daños tan graves que la MMP y MRCCA disminuyeron notablemente y la capacidad de producción de ATP mitocondrial se debilitó. Por lo tanto, Iturina induce daño a la membrana celular, estrés oxidativo y disfunción de las mitocondrias, lo que resulta en la muerte de células hifales de *P. infestans* (42).

Las bacterias que pertenecen al género *Lysobacter* se encuentran con frecuencia en el suelo y el aumento de la supresión de la enfermedad de los fitopatógenos del suelo tiene correlación significativa con el aumento de las poblaciones de las mismas. El género *Lysobacter* incluye especies que son antagonistas eficientes de fitopatógenos y candidatos potenciales para el control biológico de las enfermedades de los cultivos. En un estudio realizado con el perfil transcripcional de RNA-Seq de *Lysobacter capsici* AZ78 se caracterizó por la regulación positiva de genes relacionados con la biogénesis de pilus tipo 4 y enzimas líticas, implicadas, respectivamente, en la colonización del huésped y el posterior ataque de la pared celular de *P. infestans*. La activación de los procesos de desintoxicación permitió a *L. capsici* AZ78 superar los intentos de procesos de defensa de *P. infestans*. Además, los genes implicados en la biosíntesis de antibióticos estaban regulados en *L. capsici* AZ78 y causaron la muerte celular en *P. infestans*. Las consecuencias de la muerte celular de *P. infestans* resultó en la baja regulación de las rutas metabólicas pri-

marias, como los carbohidratos, los ácidos nucleicos y el metabolismo de las proteínas. En general, el mecanismo de acción de *L. capsici* AZ78 se relacionó con el parasitismo y las actividades depredadoras que causan la muerte de *P. infestans* (43,44).

CRISPR/Cas frente a fitopatógenos

Un componente clave en el manejo de muchas enfermedades de los cultivos es el uso de genes de resistencia a las enfermedades de las plantas. Sin embargo, el descubrimiento y luego la identificación de secuencia de estos genes vegetales es un desafío, mientras que la caracterización de las moléculas que reconocen, los productos efectoros en los patógenos, es a menudo considerablemente más directa. (45) Los avances científicos se están desarrollando con miras hacia tecnologías de secuenciación de alto rendimiento, la comprensión de la patogénesis, y la inmunidad innata de las plantas, se está llevando a cabo la introducción de nuevas herramientas de control para desarrollar resistencia a las enfermedades.

La aplicación de nuevas tecnologías frente al control de enfermedades de las plantas y la protección de cultivos, incluye la interferencia de ARN (ARNi) y los sistemas de repetición palindrómica corta entrecruzados regularmente (CRISPR) / asociados a CRISPR (Cas). Se ha demostrado que RNAi es una herramienta poderosa para la aplicación en mecanismos de defensa

de plantas contra diferentes patógenos, así como sus respectivos vectores, y el sistema CRISPR / Cas se ha utilizado ampliamente en la edición de genes o reprogramar o eliminar cualquier secuencia de ADN / ARN elegida.(46)

Los organismos vivos de tipo vegetal presentan un obstáculo de importancia al llevar a cabo técnicas como CRISPR/Cas debido a la presencia de pared celular, por esta razón se han desarrollado metodologías para facilitar la inclusión de esta técnica como alternativa de mejoramiento para las especies vegetales. La pared celular vegetal obstaculiza el anclaje entre la secuencia blanco y los componentes del sistema CRISPR, la proteína Cas, el gARN y ADN donante para la recombinación homóloga, por lo anterior la eficiencia del proceso se ve afectado por el sistema empleado de entrega de estos componentes (47)

Mediante algunos estudios realizados usando la técnica CRISPR/Cas9 se determinó que este sistema no funciona con la eficiencia esperada en *P.infestans* comparada con otros *Phytophthora spp*; Una clara diferencia entre *P.infestans* y otras *Phytophthora spp*. es que se observan mutaciones inducidas por CRISPR, es su temperatura de crecimiento. Mientras que *P. infestans* se incuba típicamente a 18 ° C, las otras tres especies se cultivan a 25 ° lo cual supondría que allí se encuentra el error pero por otro lado, CRISPR / Cas9 se ha empleado en huevos de salmón a temperaturas tan bajas como 6 ° C por lo que es poco probable que la tem-

peratura de incubación sea la única razón de la ausencia de actividad de Cas9 en *P. infestans*.(48)

En un estudio se pudo demostrar que las construcciones de hp-RNA (ARN en horquilla) en la papa afectaron la colonización e invasión del huésped por *P. infestans* en varios grados. *P. infestans* tiene solo un gen de subunidad α (PiGPA1) y uno β (PiGPB1). Principalmente, PiGPB1 es importante para la formación de esporangios y no se expresa fuertemente en micelios. Cuando la infección progresa de un modo biotrófico a uno necrotrófico se requiere la formación continua de esporangios, este proceso se ve afectado en las plantas transgénicas con hp-RNA imponiendo dificultades al oomiceto para infectar nuevas células huésped que conducen a una menor colonización y propagación del patógeno.(49)

¿Por qué evitar el uso de fungicidas en el control de la enfermedad causada por fitopatógenos?

El uso de algunos productos químicos sintéticos para controlar las enfermedades fúngicas de los productos alimenticios está restringido debido a su posible carcinogenicidad y toxicidad aguda, largos periodos de degradación y contaminación ambiental. Todos los factores del crecimiento vegetativo de la planta, como la altura, la brotación, las ramas y el número de hojas, se han observado antes y después de la incidencia de

la enfermedad, en condiciones de campo, encontrándose diferencias impresionantes debido a las sustancias promotoras del crecimiento producida por los agentes biorracionales en comparación con los fungicidas químicos y los tratamientos de control. El uso de compuestos de base biológica en extractos de plantas puede ser una alternativa a los fungicidas utilizados actualmente para controlar los hongos fitopatógenos y las bacterias, ya que virtualmente constituyen una fuente rica de químicos bioactivos como fenoles, flavonoides, quinonas, taninos, alcaloides, saponinas. y esteroides (15,50).

Los fungicidas desempeñan un papel crucial en el control integrado del tizón tardío. Desde su introducción en los Países Bajos en 1992, el fluazinam se ha utilizado en estrategias de control del tizón tardío en papas de consumo y almidón. Tiene un amplio espectro de actividad y es eficaz contra una variedad de enfermedades, como el tizón tardío de la papa. Sin embargo, el *fluazinam* no es recomendado usarlo en papa de siembra porque el fluazinam mezclado con aceite mineral (usado para prevenir la transmisión del virus) produce fitotoxicidad (51).

En algunos países al igual que en la producción biodinámica, las organizaciones de agricultura orgánica no permiten el uso de fungicidas de cobre para sus agricultores. Debido a la acumulación de cobre en el suelo y los efectos secundarios perjudiciales que en el medio ambiente se requiere

con urgencia una reducción de la entrada de fungicidas de cobre. Como parte de una estrategia de control contra el tizón tardío con una entrada de cobre reducida, sería deseable un reemplazo al menos parcial de los fungicidas de cobre por sustancias alternativas que cumplan con los estándares de la agricultura orgánica (52).

Alternativa para reducir los efectos nocivos de los fungicidas químicos con elementos biodegradables

Las sustancias químicas como tratamiento de control de la enfermedad son ampliamente utilizadas en la producción de alimentos. Sin embargo, menos del 0.1% de estas sustancias alcanzan sus objetivos biológicos. Se ha trabajado en la búsqueda de controlar la enfermedad causada por *Phytophthora infestans* usando ciazofamida encapsulada en nanopartículas de ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA) biodegradables, estas nanopartículas llegaron a esporangios, zoosporas enquistadas y quistes germinados de *P. infestans*, mostrando inhibición de la liberación de zoosporas, por lo anterior se puede considerar que encapsular las sustancias químicas pesticidas-plaguicidas en nanopartículas de polímeros biodegradables es un sistema eficaz e innovador que favorece la reducción de carga química en la agricultura.(53)

Es posible obtener una reducción significativa en el desarrollo de la enfermedad del tizón tardío de la papa después del trata-

miento con ramnolípidos. Los ramnolípidos son biosurfactantes, generalmente se sabe que son menos tóxicos en comparación con los tensioactivos sintéticos y se degradan rápidamente en el medio ambiente. La bioformulación de ramnolípidos mostró una mejor inhibición a una concentración del 0.2%, y no se observó ningún signo de fitotoxicidad a esta concentración. Sin embargo, a una concentración del 0.3% se observa una ligera toxicidad (54).

Conclusiones

Phytophthora infestans al ser un fitopatógeno que no solo afecta cultivo de la papa, si no también otros cultivos de importancia económica y debido a su potencial para causar enfermedad debe ser prevenido y tratado, si bien muchos de los controles químicos han logrado mitigar los efectos del mismo también generan gran impacto ambiental, contaminación y niveles elevados de toxicidad, que se pueden moderar mediante la aplicación de otras alternativas de control.

Es de gran importancia el uso de controles de tipo biorracional para evitar efectos secundarios ocasionados por los fungicidas de naturaleza química, los cuales se siguen aplicando en algunos países pese a las consecuencias generadas por esta actividad. Se puede trabajar para implementar con más fuerza los extractos de aceites, microorganismos, metabolitos, nanopartículas biode-

gradables y otros controles orgánicos que benefician no solo al agricultor sino también a la población y al medio ambiente, llevando a cabo un manejo integral que favorece la estabilidad de los cultivos y la salud de los consumidores. Por otra parte, las herramientas tecnológicas existentes pueden ser una excelente alternativa para llevar a cabo procesos preventivos, sobre las plantas.

Referencias

1. Reinhardt D, Sharma A. Methods in Rhizosphere Biology Research. Series ISSN 2523-8442. Singapore: Springer Singapore; 2019. Available from: <https://www.springer.com/gp/book/9789811357664> [Accessed 06 June 2019]
2. Rezzonico F, Rupp O, Fahrentrapp J. Pathogen recognition in compatible plant-microbe interactions. Scientific Reports. 2017; 7, 6383. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04792-5>
3. Wang XW, Guo LY, Han M, Shan K. Diversity, evolution and expression profiles of histone acetyltransferases and deacetylases in oomycetes. BMC Genomics. 2016 ; 17(1): 927. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3285-y>
4. De Vrieze M, Germanier F, Vuille N, Weisskopf L. Combining Different Potato-Associated Pseudomonas Strains for Improved Biocontrol of *Phytophthora infestans*. Frontiers in Microbiology. 2018; 9: 2573. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02573>
5. Ortiz V, Phelan S, Mullins E. A temporal assessment of nematode community structure and diversity in the rhizosphere of cisgenic *Phytophthora infestans*-resistant potatoes. BMC Ecology. 2016 ; 16(1): 55. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12898-016-0109-5>

6. Cai G, Fry WE, Hillman BI. PiRV-2 stimulates sporulation in *Phytophthora infestans*. *Virus research*. 2019 ; 271. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197674>
7. Garcia PG, dos Santos FN, Zanotta S, Eberlin MN, Carazzone C. Metabolomics of *Solanum lycopersicum* Infected with *Phytophthora infestans* Leads to Early Detection of Late Blight in Asymptomatic Plants. *Molecules*. 2018; 23(12): 3330. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules23123330>
8. Leesutthiphonchai W, Vu AL, Ah-Fong AM v, Judelson HS. How Does *Phytophthora infestans* Evade Control Efforts? Modern Insight Into the Late Blight Disease. *Phytopathology*. 2018; 108(8): 916–924. Available from: <https://doi:10.1094/PHYTO-04-18-0130-IA>
9. Zhan F, Wang T, Iradukunda L, Zhan J. A gold nanoparticle-based lateral flow biosensor for sensitive visual detection of the potato late blight pathogen, *Phytophthora infestans*. *Analytica Chimica Acta*. 2018; 1036:153–161. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.083>
10. Ostos Ortíz O, Rosas Arango S, González Devia J. Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos. *NOVA*. 2019 ;17(31):129-63. Available from: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/950> [Accessed 12 sep.2020]
11. García-Bayona L, Garavito MF, Lozano GL, Vasquez JJ, Myers K, Fry WE, et al. De novo pyrimidine biosynthesis in the oomycete plant pathogen *Phytophthora infestans*. *Gene*. 2014; 537(2): 312–321. Available from: <https://doi:10.1016/j.gene.2013.12.009>
12. Chung I-M, Venkidasamy B, Upadhyaya CP, Packiaraj G, Rajakumar G, Thiruvengadam M. Alleviation of *Phytophthora infestans* Mediated Necrotic Stress in the Transgenic Potato (*Solanum tuberosum* L.) with Enhanced Ascorbic acid Accumulation. *Plants*. 2019; 8(10): 365. Available from: <https://doi:10.3390/plants8100365>
13. Garavito M, Narvaez H, Pulido D, Löffler M, Judelson H, Restrepo S et al. *Phytophthora infestans* Dihydroorotate Dehydrogenase Is a Potential Target for Chemical Control – A Comparison With the Enzyme From *Solanum tuberosum*. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 10:1479. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01479>
14. Zhang S, Zheng X, Reiter RJ, Feng S, Wang Y, Liu S, et al. Melatonin attenuates potato late blight by disrupting cell growth, stress tolerance, fungicide susceptibility and homeostasis of gene expression in *Phytophthora infestans*. *Frontiers in Plant Science*. 2017 ; 8: 1993. Available from: <https://doi:10.3389/fpls.2017.01993>
15. Bedoya, O., Benavides, A., Daza, D. and Chazarar, L. Actividad inhibitoria del aceite esencial de *Lippia origanoides* H.B.K sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans*. *Acta Agronómica*. 2014; 64 (2):116-124 . Available from: <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v64n2.42964>.
16. Matusinsky P, Zouhar M, Pavela R, Novy P. Antifungal effect of five essential oils against important pathogenic fungi of cereals. *Industrial Crops and Products*. 2015; 1; 67:208–15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.022>
17. Carillo Y, Gomez M, Potes J, Nústez C. Efecto de algunos aceites esenciales sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en condiciones de laboratorio. *Agronomía Colombiana*. 2010; 38 (2):245-253 Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v28n2/v28n2a14.pdf> [cited 9 June 2019]
18. Portz D, Koch E, Slusarenko A. Effects of garlic (*Allium sativum*) juice containing allicin on *Phytophthora infestans* and downy mildew of cucumber caused by *Pseudoperonospora cubensis*. *European Journal of Plant Pathology*. 2008; 122 :197–206. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9334-x>

19. Alvarez S D, Salazar G C, Hurtado B A, Delgado B D, Arango B O. In vitro sensitivity of *Phytophthora infestans* to fique extract (*Furcraea gigantea* vent.) and systemic fungicides. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 2011; 9 (2) :96-104. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612011000200011&lng=en&nrm=iso [cited 11 June 2019]
20. Solarte RD, Osorio O. Evaluación de la concentración del jugo de fique (*Furcraea* spp) para el control in vitro de *Phytophthora infestans* en plantas de papa (*Solanum tuberosum* L). *Información Tecnológica*. 2014 ;25(5):47–54 Available from: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642014000500008>
21. Otero I, Hurtado A, Arango O, Fernández P, Martínez F, Parra Z. Bacterias aisladas del jugo de fique con actividad antagónica sobre *Phytophthora infestans* (mont.) de bary. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 2014; 12(1): 28-35. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612014000100004&lng=en&nrm=iso [Accessed 11 June 2019]
22. Bacalla K. Actividad antimicrobiana in vitro de dos aceites esenciales contra *Phytophthora infestans* en Chachapoyas, Amazonas, 2018. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza - UNTRM [Internet]. 2019; Available from: <http://repositorio.untrm.edu.pe/handle/UNTRM/1697> [Accessed 13 June 2019]
23. Andrade G, García A, Cervantes L, Aíl C, Borboa J, Rueda E. Estudio del potencial biocontrolador de las plantas autóctonas de la zona árida del noroeste de México: control de fitopatógenos. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* [Internet]. 2017;49(1):127–42. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=382852189011> [Accessed 15 June 2019]
24. Thanh V, Bui L, Bach L, Nguyen N, Le Thi H, Thi T. *Origanum majorana* L. essential oil-associated polymeric nano dendrimer for antifungal activity against *Phytophthora infestans*. *Materials*. 2019;12(9). Available from: <https://doi:10.3390/ma12091446>.
25. Andrango A, Espinoza S. Uso de extractos de pen-co azul (agave americana) y hongos de sombrero (estrobilurus tenacellus) como preventivos del tizón tardío (*phytophthora infestans*) en el cultivo de papa (*solanum tuberosum*) variedad chaucha amarilla. 2017; Available from: <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/26385> [Accessed 15 June 2019]
26. Oshchepkova Y, Veshkurova O, Salikhov S, Zaitsev D, Smirnov A, Egorov T, et al. Comparative analysis of extracts of *Nigella sativa* exhibiting antifungal activity against the Oomycete *Phytophthora infestans*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2013;49(5):985–987. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10600-013-0803-x>
27. Quintanilla P, Rohloff J, Iversen T. Influence of essential oils on *Phytophthora infestans*. *Potato Research*. 2002;45(2–4):225–35. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF02736117>
28. Soyly E, Soyly S, Kurt S. Antimicrobial Activities of the Essential Oils of Various Plants against Tomato Late Blight Disease Agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*. 2006;161(2):119-128. Available from: doi:10.1007/s11046-005-0206-z
29. De Vrieze M, Gloor R, Massana Codina J, Torriani S, Gindro K, L'Haridon F, et al. Biocontrol Activity of Three *Pseudomonas* in a Newly Assembled Collection of *Phytophthora infestans* Isolates . *Phytopathology*. 2019; 109(9):1555–1565. Available from: <https://doi:10.1094/PHYTO-12-18-0487-R>
30. Benítez S, Bentley J, Bustamante P, Sánchez L, Corrales L. Aislamiento de los microorganismos cultivables de la rizosfera de *Ornithogalum umbellatum* y evaluación del posible efecto biocontrolador en dos patógenos del suelo. *NOVA*. 2007;5(8). Available from: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/212>. [Accessed 13 Sep 2020]

31. Morrison CK, Arseneault T, Novinscak A, Filion M. Phenazine-1-carboxylic acid production by *Pseudomonas fluorescens* LBUM636 alters *Phytophthora infestans* growth and late blight development. *Phytopathology*. 2017 ; 107(3):273-279. Available from: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-16-0247-R>.
32. Hunziker L, Bönisch D, Groenhagen U, Bailly A, Schulz S, Weisskopf L. *Pseudomonas* Strains Naturally Associated with Potato Plants Produce Volatiles with High Potential for Inhibition of *Phytophthora infestans*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2015 81(3):821-30. Available from:<https://doi.org/10.1128/AEM.02999-14>
33. Tomar S, Singh BP, Lal M, Ma K, Hussain T, Sharma S, et al. Screening of novel microorganisms for biosurfactant and biocontrol activity against *Phytophthora infestans*. *Journal of environmental biology*. 2014; 35(5):893–899. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25204064/> [Accessed 4 July 2019]
34. De Vrieze M, Pandey P, Bucheli TD, Varadarajan AR, Ahrens CH, Weisskopf L, et al. Volatile organic compounds from native potato-associated *Pseudomonas* as potential anti-oomycete agents. *Frontiers in Microbiology*. 2015; 6: 1295. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01295>
35. Fonseca Y, Castellanos D, León T. Efecto Antagónico in vitro de Actinomicetos Aislados de Purines de Chipaca (*Bidens pilosa* L.) Frente a *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 2011;64 (2):6111-6119. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/1799/179922664008.pdf> [Accessed 7 July 2019]
36. Bóka B, Manczinger L, Kocsubé S, Shine K, Alharbi NS, Khaled JM, et al. Genome analysis of a *Bacillus subtilis* strain reveals genetic mutations determining biocontrol properties. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2019 ; 35(3): 52. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2625-x>
37. Castañeda Alvarez E, Sánchez LC. Evaluación del crecimiento de cuatro especies del género *Bacillus* sp., primer paso para entender su efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp. *NOVA*. 2016;14(26):53-55. Available from: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/517> [Accessed 12 sep 2020]
38. Layton et al. C. *Bacillus* spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. *NOVA*. 2011 ;9(16). Available from: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/185> [Accessed 12 sep.2020]
39. Bailly A, Weisskopf L. Mining the volatiles of plant-associated microbiota for new biocontrol solutions. *Frontiers in Microbiology*. 2017;8:1638. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01638>
40. Thomas C, Mabon R, Andrivon D, Val F. The Effectiveness of Induced Defense Responses in a Susceptible Potato Genotype Depends on the Growth Rate of *Phytophthora infestans*. *Molecular plant-microbe interactions* : 2019; 32(1): 76–85. Available from:<https://doi.org/10.1094/MPMI-03-18-0064-R>
41. Dahlin P, Müller MC, Ekengren S, McKee LS, Bulone V. The impact of steroidal glycoalkaloids on the physiology of *Phytophthora infestans*, the causative agent of potato late blight. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2017 ; 30(7): 531–542. Available from:<https://doi.org/10.1094/MPMI-09-16-0186-R>
42. Wang Y, Zhang C, Wu L, Wang L, Gao W, Jiang J et al. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* WL-2 and its IturinA lipopeptides against *Phytophthora infestans*. *bioRxiv*. 2019 . Available from: <https://doi.org/10.1101/751131>

43. Tomada S, Sonogo P, Moretto M, Engelen K, Pertot I, Perazzolli M, et al. Dual RNA-Seq of *Lysobacter capsici* AZ78 – *Phytophthora infestans* interaction shows the implementation of attack strategies by the bacterium and unsuccessful Oomycete defense responses. *Environmental Microbiology*. 2017;19(10):4113–4125. Available from: doi:10.1111/1462-2920.13861
44. Lazazzara V, Perazzolli M, Pertot I, Biasioli F, Puopolo G, Cappellin L. Growth media affect the volatilome and antimicrobial activity against *Phytophthora infestans* in four *Lysobacter* type strains. *Microbiological Research*. 2017; 201:52–62. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.04.015>
45. Van de Wouw A, Idnurm A. Biotechnological potential of engineering pathogen effector proteins for use in plant disease management. *Microbial Engineering Biotechnologies*. 2019; 37 (6) Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.04.009>
46. Goulin E, Manzano D, Moreira L, Emy E, Durigan R, Machado M. RNA interference and CRISPR: Promising approaches to better understand and control citrus pathogens. *Microbiological Research*. 2019; 226:1-9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501318311704> [Accessed 9 July 2019]
47. Hernández M. CRISPR/Cas: aplicaciones y perspectivas para el mejoramiento genético de plantas. *Biología Vegetal*. 2018;18 (3):135 - 149. Available from: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/585> [Accessed 8 July 2019]
48. Van den Hoogen J, Govers F. Attempts to implement CRISPR/Cas9 for genome editing in the oomycete *Phytophthora infestans*. *bioRxiv*. 2019. Available from: <https://doi.org/10.1101/274829>
49. Jahan SN, Åsman AKM, Corcoran P, Fogelqvist J, Vetukuri RR, Dixelius C. Plant-mediated gene silencing restricts growth of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans*. *Journal of Experimental Botany*. 2015 ; 66(9): 2785–2794. Available from:doi: 10.1093/jxb/erv094
50. Bhimanagoud Kumbhar, Riaz Mahmood, S.N. Nagesha, M.S. Nagaraja, D.G. Prashant, Ondara Zablou Kerima, Arti Karosiya, Mohan Chavan. Field application of *Bacillus subtilis* isolates for controlling late blight disease of potato caused by *Phytophthora infestans*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019;22:101366 Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101366>
51. Schepers H, Kessel G, Lucca F, Förch M, van den Bosch v, Topper C et al. Reduced efficacy of fluzinam against *Phytophthora infestans* in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology*. 2018;151:947–960. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1430-y>
52. Nechwatal J, Zellner M. Potential suitability of various leaf treatment products as copper substitutes for the control of late blight (*Phytophthora infestans*) in organic potato farming. *Potato Research*. 2015;58 :261–276. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11540-015-9302-8>
53. Fukamachi K, Konishi Y, Nomura T. Disease control of *Phytophthora infestans* using cyazofamid encapsulated in poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2019; 577:315-322. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.05.077>
54. Tomar S, Lal M, Khan M, Singh B, Sharma S. Characterization of glycolipid biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* PA 1 and its efficacy against *Phytophthora infestans*. *Journal of Environmental Biology*. 2019;40(4): 725-730. Available from: <http://doi.org/10.22438/jeb/40/4/MRN-910>