



## BIOPROSPECCIÓN DE MICROORGANISMOS NATIVOS COMO ALTERNATIVA DE MANEJO DE ENFERMEDADES EN CULTIVOS DE LA SABANA DE BOGOTÁ



Paulo Germán García Murillo

*Biólogo, Especialista en Ambiente y Desarrollo Local, Magíster en Ciencias Agrarias énf. en Fitopatología. Docente del programa de Administración Ambiental y de los Recursos Naturales, Especialización en Ordenamiento y Gestión Integral de Cuencas Hidrográficas. Universidad Santo Tomás. email:paulogarcia@ustadistancia.edu.co*

### Introducción

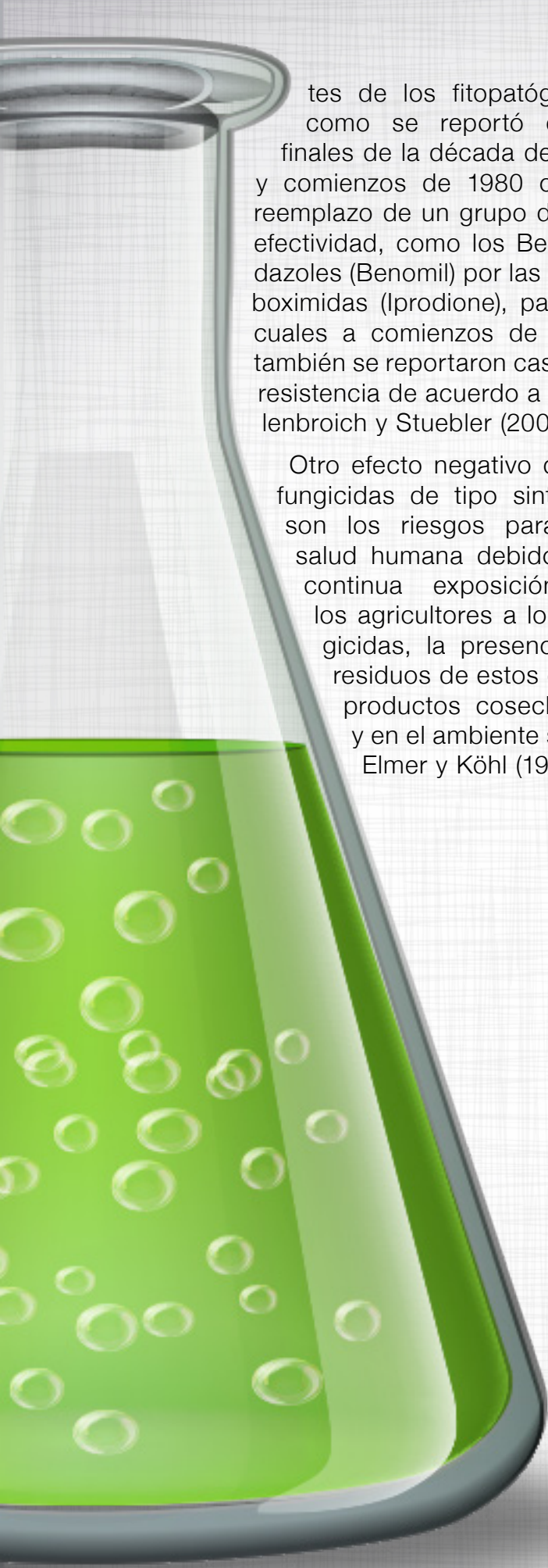
### Resumen

Tradicionalmente los problemas de enfermedades han sido tratados mediante el uso de fungicidas químicos; sin embargo esta medida presenta efectos no deseados, como la aparición de resistencia a las enfermedades, la contaminación de los suelos, y fuentes de aguas y sobre la salud humana. Por tal motivo se propone el uso del control biológico mediante microorganismos nativos, para el control de enfermedades de cultivos comerciales; ya que estos no se acumulan en las cadenas tróficas y presentan muy baja toxicidad. Dentro de estos se destaca el hongo *Trichoderma*, este ha presentado un alto control de la marchitez vascular, volcamiento, moho gris entre otras; estas son enfermedades de importancia en cultivos de la Sabana de Bogotá y Boyacá.

El uso de fungicidas obtenidos a partir de síntesis química, se ha dado tradicionalmente para el control de enfermedades en cultivos de hortalizas, frutas y ornamentales en cultivo y post cosecha, tanto en cultivos de la Sabana de Bogotá como en el Departamento de Boyacá según Cotes (2004).

Sin embargo, el uso del control químico es actualmente cuestionado por los efectos de los fungicidas sobre las enfermedades causadas principalmente por hongos y bacterias fitopatógenas, en donde el uso continuo y la poca rotación de estos, trae como consecuencia la generación de resistencia de estos microorganismos, lo que genera el incremento de la dosis de los fungicidas y su frecuencia de aplicación según Benito, Arrana, y Eslava (2002).

Lo dicho anteriormente ha sido demostrado por Sirjusingh (citado por Elmer y Köhl, 1998); quienes determinaron que las aspersiones de fungicidas en intervalos de tiempo regulares, causaron la aparición de poblaciones resisten-



tes de los fitopatógenos, como se reportó desde finales de la década de 1970 y comienzos de 1980 con el reemplazo de un grupo de alta efectividad, como los Benzimidazoles (Benomil) por las Dicarboximidias (Iprodione), para los cuales a comienzos de 1990, también se reportaron casos de resistencia de acuerdo a Rosslenbroich y Stuebler (2000).

Otro efecto negativo de los fungicidas de tipo sintético, son los riesgos para la salud humana debido a la continua exposición de los agricultores a los fungicidas, la presencia de residuos de estos en los productos cosechados y en el ambiente según Elmer y Köhl (1998).

Recientemente las presiones regulatorias dirigidas principalmente hacia la disminución del uso de plaguicidas químicos y el aumento del conocimiento sobre los efectos toxicológicos adversos de algunos químicos tradicionales, han estimulado la búsqueda de alternativas de control de plagas y enfermedades más seguras según Warrior, (2000).

Algunos investigadores señalan que el estudio de otros métodos de control de enfermedades en cultivos comerciales, diferentes al control químico, permitiría avanzar en el logro de la reducción del número de aplicaciones de fungicidas; así mismo permitiría producciones más limpias que pueden tener mejor posicionamiento en mercados nacionales y extranjeros según menciona Cotes (2002).

Es por eso que se propone el control biológico de fitopatógenos, mediante el uso de microorganismos preferiblemente nativos, tanto de hongos filamentosos y levaduriformes, así como bacterias, para el control de enfermedades en cultivo y postcosecha. Dentro de las ventajas del uso del control biológico, frente a otras estrategias de manejo de enfermedades, está su baja toxicidad hacia mamíferos y organismos no blanco, y su relativa facilidad de registro de acuerdo a Cotes (2002).

En este sentido se define control biológico como la disminución del inóculo o de la actividad de un patógeno que causa enfermedad llevada a cabo a través de uno o más organismos incluyendo la planta hospedero pero excluyendo al hombre según lo mencionado por Jarvis (1992).

## 1. Uso de control biológico en Colombia

Existen una gran diversidad de microorganismos potencialmente antagonistas, algunos de estos productores de antibióticos, los cuales presentan interacciones interespecíficas negativas, reduciendo las poblaciones de microorganismos fitopatógenos causantes de enfermedades en el suelo; a pesar de esto, hasta el momento no se

ha alcanzado su máximo potencial de uso, para el control de enfermedades en cultivo según Elad y Freeman (2002).

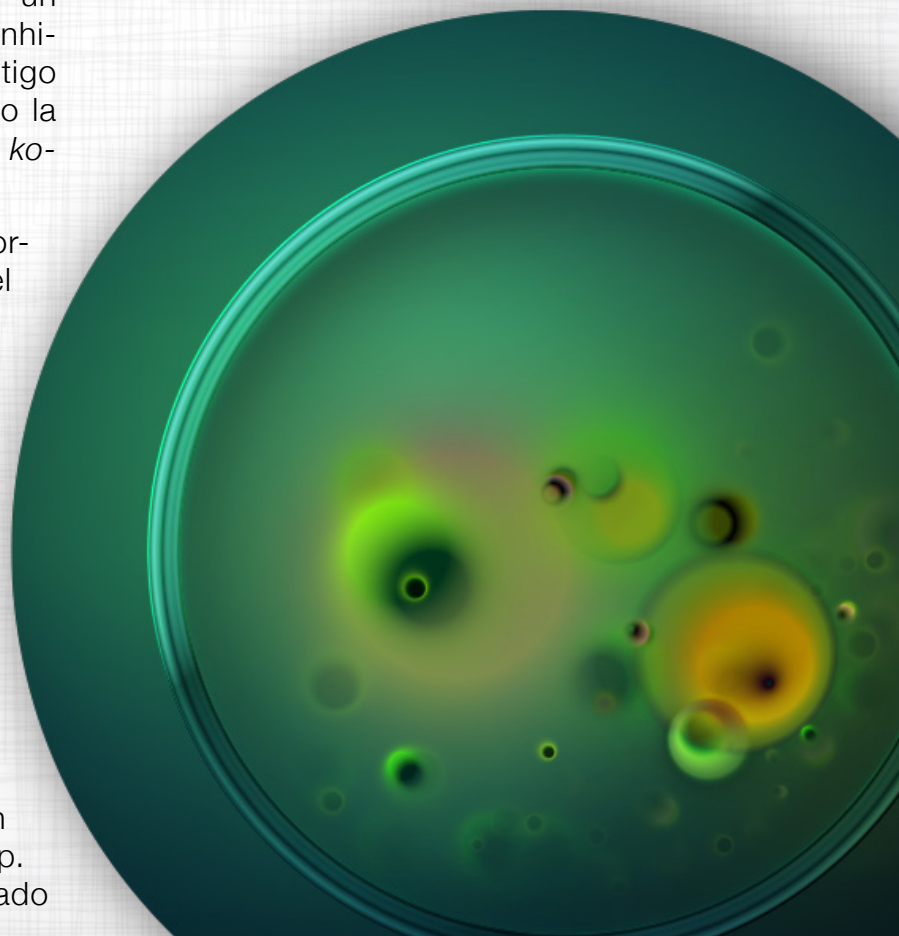
Algunos investigadores han observado el control de hongos fitopatógenos de suelo, en presencia de hongos antagonistas correspondientes a los géneros *Trichoderma* spp. y *Gliocladium* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas fluorescens* y varias especies de estreptomicetos según lo mencionado por Funk (citado por Elad y Freeman, 2002).

En Colombia en Corpoica C. I. Tibaitatá (Mosquera Cundinamarca) según Moreno (2003), en un ensayo hecho bajo condiciones de invernadero con tomate larga vida (var. Rocio), el cual presentó una alta incidencia de la enfermedad mildew polvoso ocasionada por *Oidium* sp., se encontró una reducción de la mencionada enfermedad en presencia del producto comercial TRICHODEX® a base del hongo biocontrolador *Trichoderma harzianum*, con el cual se presentó un porcentaje de inhibición de 51,31% en el área bajo la curva de progreso de la incidencia de mildew polvoso, mientras que *Trichoderma koningiopsis* presentó un 49,52% y *Clonostachys rosea* 45,11% de inhibición comparados con el tratamiento testigo absoluto. El producto TRICHODEX® redujo la severidad de mildew polvoso en 92,1%, *T. koningiopsis* en 91,7% y *C. rosea* en 75,7%.

De forma similar a lo presentado anteriormente, en la Universidad Santo Tomas en el programa de Administración Ambiental y Los Recursos Naturales de la VUAD; García-Murillo (2014) evaluó como alternativa de control de *Botrytis cinerea* y *Rhizoctonia solani*, tres aislamientos del género *Trichoderma* procedentes de suelos en bosques secundarios del departamento de Cundinamarca (Colombia), dos pertenecientes a los municipio de Tenjo (USTA\_Tri\_004 y USTA\_Tri\_005) y uno al municipio de Madrid (USTA\_Tri006), respectivamente. Se seleccionó el aislamiento USTA\_Tri\_004, con el que se alcanzó 100% de eficacia en un modelo in planta en tallos tiernos de rosa (*Rosa* spp. var. Vendela) contra *B. cinerea*. Este resultado

contrasta con la aplicación en el mismo modelo del fungicida Carbendazim 500 EC® (I. A. Carbendazim/dosis de 1,0 g\*l-1) con el cual obtuvo eficacia del 80%. En un segundo ensayo se evaluó la actividad biocontroladora del aislamiento USTA\_Tri\_004 contra *Rhizoctonia solani* Kuhn; para lo cual se inocularon semillas de frijol (var. Diacol Andino), las cuales fueron sometidas posteriormente a un proceso de pregerminación controlada de semillas. Este tratamiento presentó un porcentaje de germinación de semillas del 90% en presencia *R. solani*, en comparación el testigo comercial correspondiente al fungicida Vitavax® (I. A. Carboxin 20%, Thiram 20%/dosis de 100 g/100 kg Semillas) y sometidas a pregerminación con el que se alcanzó 74% y el testigo patógeno con el que solo se alcanzó 62% de germinación.

El aislamiento USTA\_Tri\_004 es una alternativa promisoriosa, ya que su principal interacción con los fitopatógenos se basa en el micoparasitismo, lo que no genera riesgos de contaminación ambiental.



La alta actividad biocontroladora de *Trichoderma* y otros hongos antagonistas contra *B. cinerea* también fue evaluada en Corpoica C. I. Tibaitatá (Cundinamarca) en un modelo in planta correspondientes a segmentos de tallo de tomate híbrido (Var. Rocío®), encontrándose que el hongo *C. rosea* cepa CcStt de origen canadiense evitó completamente la incidencia del moho gris, *Trichoderma asperellum* cepa Th034 presentó un nivel de reducción de la incidencia del 97,2% seguido de *Trichoderma koningiopsis* cepa Th003 con 91,7% y *C. rosea* cepa Cc001 con 88,9%, mientras que el producto biológico comercial TRICHODEX® presentó un nivel de protección del 50% según lo obtenido por Moreno (2003).

También se han evaluado alternativas de control biológico de *Phytophthora cactorum*, agente causal de la Pudrición radical y de la corona en manzano en el departamento de Boyacá; en el cual se evaluaron en un modelo in vivo correspondiente a plántulas de manzano (var: MM-106), un total de 525 microorganismos; encontrándose que un control significativo de la enfermedad se logró con el producto químico Fosetyl-Al + mancozeb (Rhodax®), el producto biológico formulado Trichodex®, y con los hongos antagonistas *C. rosea* (Cr 13, Cr 39) procedente de la rizosfera de manzano, *C. rosea* (Cr 45) aislado del suelo y *Trichoderma* sp. (Th 59) obtenido del tallo, con los cuales se obtuvo protección del 79, 75, 79 y 75%, respectivamente según Carreño, Blanco y Villegas (2006).

Los anteriores resultados demuestran que la aplicación preventiva de algunas especies del género *Trichoderma*, puede controlar la infección causada por *B. cinerea* y otros fitopatógenos; sin embargo podría presumirse que estos no podrían controlar las enfermedades, una vez la infección y la pudrición logre establecerse de acuerdo a lo observado por Cheng, Yang y Peng (2012).

La alta actividad antagónica de algunas especies de *Trichoderma* se puede explicar a la luz de los mecanismos de acción que posee este hongo frente a fitopatógenos como *B. cinerea*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*, tales como: micoparasitismo, competencia por nutrientes y espacio e inducción respuestas de resistencia según los resultados de Jaimes, Moreno y Cotes (2009).

En relación con los fitopatógenos en suelo, encontramos dentro de las más limitantes a *Rhizoctonia solani*, agente causal de la pudrición de cuello de raíz o volcamiento, en plántulas a nivel de semillero de tomate, pepino cohombro según Cotes (2002).

De acuerdo a los resultados de Hoyos, Chaparro, Abramsky, Chet y Orduz (2008), se evaluaron 8 aislamientos de *Trichoderma* spp., de los cuales los aislamientos T-26 y T 109 de *Trichoderma asperellum* (T-26 y T 109), presentaron una incidencia de la enfermedad causada por *R. solani* en semillas de algodón bajo condiciones de invernadero del 20,20% y del 21,10% respectivamente en comparación con el testigo enfermedad que alcanzó 50,34%; estos mismos autores evaluaron la actividad biocontroladora contra *Sclerotium rolfsii* en plantas de frijol de 7 aislamientos de *Trichoderma* spp., encontrando que los aislamientos de *T. asperellum* T-71 y T-86 presentaron incidencia de solo 3,33 en comparación con el testigo relativo que alcanzó una incidencia de 42,22%.

Estos resultados demuestran que los aislamientos de los biocontroladores en este caso son altamente específicos contra cada fitopatógeno según los resultados de Hoyos et al. (2008); la razón de este fenómeno podría explicarse las interacciones bioquímicas entre diferentes



especies de hongos biocontrolador/fitopatógeno según Elad (citado por Hoyos et al. 2008).

Sin embargo la evaluación en laboratorio y campo de los agentes de control biológico, no es suficiente para garantizar el control de enfermedades. Se hace necesario al igual que con las moléculas químicas, hacer un proceso de formulación de los ingredientes activos (biocontroladores), para ser protegidas a los cambios abruptos ambientales, tales como la humedad, radiación UV, temperatura, incidencia del viento entre otras, y deben poseer una estabilidad para su aplicación en campo y almacenamiento, esto se logra mediante el procesos de formulación de acuerdo a lo obtenido por Cotes, Villamizar, Díaz, Grijalba, García, Fuentes, Flórez, Benito, Poveda, Ramón (2003).



Un ejemplo de lo anterior lo demuestra el trabajo realizado por Santos, García, Cotes y Villamizar (2012), quienes evaluaron 4 prototipos de bioplaguicidas formulados como polvos secos para espolvoreo y granulados dispersables a base de 2 aislamientos colombianos de *Trichoderma koningiopsis* Cepa Th003 y *Trichoderma asperellum* cepa Th034, microorganismos con actividad antagonista frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* agente causal de la marchitez vascular y *Rhizoctonia solani* causante de la pudrición de cuello de raíz, con una reducción de la incidencia de entre el 70 y el 100% en cultivos de

tomate y papa, respectivamente. En donde el tipo de formulación afectó la estabilidad de los conidios de los 2 aislamientos colombianos de *Trichoderma* spp., siendo el polvo para espolvoreo el bioplaguicida que presentó la mayor estabilidad y vida útil a 8°C y 18 °C.

## 2. Uso de control biológico en poscosecha

Las pérdidas en poscosecha son altas a nivel mundial y más en los países del tercer mundo en donde estas pueden alcanzar hasta un 50%; muchas de ellas son producidas por agentes fitopatógenos según Wilson y Wisniewski (citado por García, 2001), esto debido principalmente a la mala manipulación desde el momento de la cosecha, comercialización, ausencia de sistemas de refrigeración y empaques adecuados; las condiciones anteriores generan heridas y magulladuras que permiten la entrada de hongos y bacterias que inician procesos de pudrición; situación que se incrementa en el periodo de almacenamiento en donde frutas, hortalizas y especies ornamentales una vez cosechadas entran a un procesos de senescencia de acuerdo a lo mencionado con García (2001).

De forma similar a los problemas fitosanitarios en cultivo, la primera medida de control es de tipo químico, pero con el uso de desinfectantes y fungicidas de baja toxicidad en la poscosecha. Sin embargo existen diversas razones que motivan la reducción y uso de estos productos, pero en especial para el caso de la poscosecha a los problemas de toxicidad provocados en los productos cosechados de acuerdo a lo mencionado por Wilson y Wisniewski (citado por García y Cotes, 2002).

De otra parte, actualmente el consumidor prefiere productos frescos, tratados con prácticas que garanticen nulos niveles residuales de fungicidas de síntesis y por otro la que eviten la formación de resistencia en las diferentes variantes del hongo fitopatógeno *B.*

*cinerea*, lo que motiva la búsqueda de nuevas alternativas de control de la fresa de acuerdo a Amiri, Heath y Peres (2014).

Por lo dicho anteriormente, el control biológico de los agentes fitopatógenos mediante la utilización de levaduras, parece como una de las alternativas de control promisorias, dadas sus ventajas de sostenibilidad ambiental según Jijakli y Lepoive (citado por García, 2002).

Las levaduras presentan dentro sus principales mecanismos de acción contra los fitopatógenos tales como: antibiosis, micoparasitismo, competencia por nutrientes y espacio y supresión de esporulación dentro de sus principales mecanismos de acción de estos microorganismos levaduriformes de acuerdo a Huang, Li, Zhang, Yang, Che, Jiang, y Huang (2011).

Dentro de los biocontroladores las levaduras epifíticas también han demostrado tener alta actividad biocontroladora contra diversos fitopatógenos en frutas y hortalizas como lo es el caso de *B. cinérea* causante del moho gris y otros patógenos de postcosecha como *Penicillium* sp y *Rhizopus stolonifer* según lo observado por Lima, Ippolito, Nigro y Salerno (1997).

Se ha reportado la eficacia de la levadura *Pichia membranifaciens* para el control de *B. cinerea* en cultivos de vid de acuerdo a los resultados de Masih, Slezack-Deschaumes, Ait Barka, Vernet, Charpentier, Adholeya, y Paul. (2001), inhibiendo al patógeno por coagulación del citoplasma.

La levadura *Candida sake* fue eficaz en manzanas y peras contra *Penicillium expansum* y *B. cinerea* según los resultados de Nunes, C., Usal, J., Teixido, N., Torres, R., Viñas, I (2002).

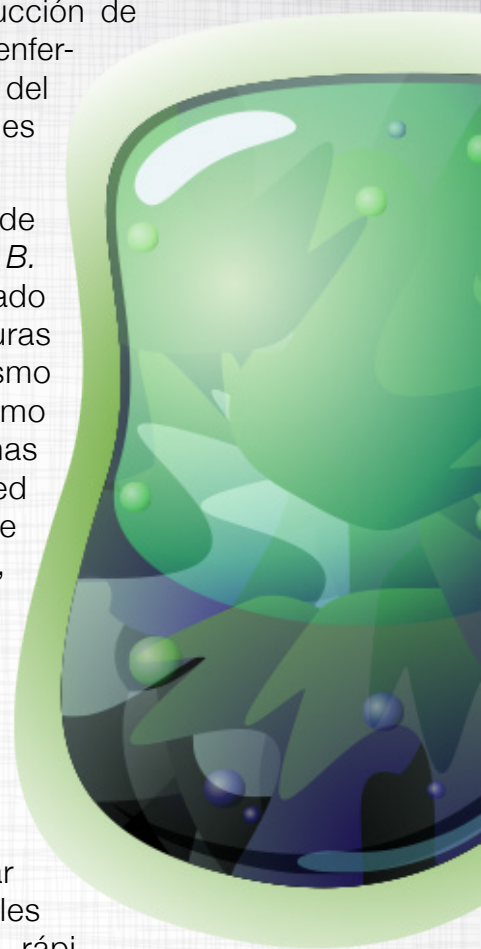
Así mismo, Saligkarias, Gravanis y Epton (2002) reportaron niveles de control para *B. cinerea* en plantas de tomate cultivadas bajo invernadero del 83% con las levaduras *Candida guilliermondii* aislamiento 101 y US 7 y del 62% con *Candida oleophila* I-182, al ser aplicadas 24 horas antes del patógeno.

Kalogiannis, Tjamos, Stergiou, Antoniou, Ziogas, y Tjamos (2006) seleccionaron y evaluaron 30 aislamientos de levaduras de la filósfera de tomate con una reducción de la incidencia de la enfermedad del moho gris del 90% bajo condiciones de invernadero.

Como agentes de control biológico de *B. cinerea*, se ha reportado que las levaduras presentan mecanismo de acción tales como producción de enzimas que degradan la pared celular, producción de metabólicos volátiles, inducción de resistencia, competencia por nutrientes y espacio; siendo este criterio una herramienta útil para producirlas eficientemente y para diseñar formulaciones que les permita activarse rápidamente y proteger las células cuando son aplicadas en campo de acuerdo a lo dicho por Nunes et al. (2002).

En el laboratorio de Control Biológico perteneciente a Corpoica C. I. Tibaitatá en Mosquera Cundinamarca; se han seleccionado aislamientos nativos de levaduras con alta eficacia y actividad biocontroladora contra patógenos en postcosecha de tomate, cebolla de bulbo y mora de castilla según Cotes et al. (2004).

Las levaduras *Pichia onychis* aislamientos Lv027 y Lv031 aisladas a partir de rizósfera en cultivos de cebolla de bulbo en suelos del municipio de Cucaita del departamento de Boyacá, fueron seleccionadas por ejercer un control superior al 85% tanto a 5°C como a 22°C de *Botrytis alli* en postcosecha de cebolla de bulbo de acuerdo a los resultados Jimenez y Neisa (2004), igualmente en postcosecha de tomate, estos aislamientos controlaron la



podrición blanda causada por *Rhizopus stolonifer* según García (2004), *Alternaria alternata* de acuerdo a Fuentes (2004) y *Botrytis cinerea* según los resultados Pava (2004).

Con el aislamiento de la levadura Lv027, se desarrollaron dos prototipos de bioplaguicida, un concentrado emulsionable recomendado para su aplicación en postcosecha de acuerdo a lo observado por Gutierrez, Gómez, García y Cotes (2004) y un granulado dispersable en agua, recomendado para aplicarse foliarmente en campo de acuerdo a Higuera, Villamizar, García y Cotes (2003).

La levadura *Pichia anomala*, aislamiento Lv050 aislada de tomates comercializados en la ciudad de Bogotá, presentó porcentajes de protección del 88,50% contra *R. stolonifer*, durante la postcosecha de tomate a temperatura ambiente y del 89,53% a temperatura de refrigeración (García y Cotes, 2004).

De otra parte fueron evaluadas los aislamientos de las levaduras denominadas Lv297, Lv298 y Lv299, aisladas de frutos de mora de castilla procedentes de mercados locales en Bogotá; las cuales redujeron la incidencia de la enfermedad causada por *B. cinerea* en frutos de mora de Castilla entre el 67,4% y 78% en condiciones de evaluación in planta de

acuerdo a lo observado por Zapata, Forero y Cotes (2004).

A pesar de los resultados anteriormente expuestos, hasta el momento no se han registrado en Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario ICA) levaduras para el control de enfermedades en poscosecha; sin embargo en el ámbito mundial se encuentran en el mercado productos a base de levaduras, tales como ASPIRE® cuyo principio activo es la levadura *Candida oleophila* para el control de las pudriciones causadas por *B. cinerea*, y *Penicillium expansum* en manzana, *Monilinia* y la pudrición húmeda causada por *Rhizopus* ambos en durazno según Droby, Wisniewski, El Ghaouthb, y Wilson (2003) y YIELPLUSD® a base de la levadura *Cryptococcus albidus* con alta eficacia contra *B. cinerea*, *P. expansum* y *Mucor priformis* según Fravel (2005).

También se ha desarrollado el producto Shemer®, registrado en Israel es basado en la levadura identificada *Metschnikowia fructicola*, para el control de fitopatógenos en postcosecha tales como *Aspergillus*, *Botrytis*, *Rhizopus* y *Sclerotinia* según Kurtzman y Fell (1999).

## Conclusiones

Como consideraciones finales, se puede afirmar que el uso del control biológico de enfermedades en frutas, hortalizas y ornamentales, mediante el uso de microorganismos en pre y postcosecha es por lo general de tipo preventivo y no curativo según lo mencionado por García (2001).

El control biológico con hongos antagonistas, es compatible con estrategias de manejo integrado de plagas y enfermedades, tales como el manejo cultural, físico y químico de acuerdo a Harman, Obregón y Samuels (2010).

A nivel nacional es limitado el número de biofungicidas en el mercado colombiano y registrados ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), en comparación con la oferta de fungicidas de síntesis; lo cual debe seguir

motivando la evaluación de la actividad biocontroladora de la diversidad microbiana nativa, procedente de los diferentes ecosistemas colombianos según Cotes (2002).

El control biológico mediante el uso de microorganismos es más seguro en los ecosistemas circundantes a los cultivos comerciales, ya que no se transmite por las cadenas tróficas como si ocurre con muchos fungicidas de síntesis química como lo menciona Cotes (2002).

Cotes (2002) mencionó que el bajo nivel de utilización de bioplaguicidas puede atribuirse a varios factores tales como las inadecuadas formulaciones comúnmente desarrolladas, la inconsistencia de los resultados producidos en campo, la corta vida útil de estos, su falta de competitividad económica en relación con los fungicidas químicos. Sin embargo, estos productos también presentan ventajas relacionadas con su baja toxicidad y poco riesgo de contaminación de suelos y fuentes hídricas.

## Referencias bibliográficas

Amiri, A.; Heath, S. & Peres, Natalia. (2014). Resistance to Fluopyram, Fluxapyroxad, and Penthiopyrad in *Botrytis cinerea* from Strawberry. *Plant Disease*, 98, 532-539.

Arras, G. (1996). Mode of action of an isolate of *Candida famata* in biological control of *Penicillium digitatum* in orange fruits. *Postharvest Biol Technol.*, 8, 191-198.

Benito, E., Arrana, M. & Eslava, A. (2002). Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. *Rev Iberoam Micol.*, 17, 43-46.

Carreño, A.; Blanco, J. & Villegas, B. (2006). Selección de hongos biocontroladores de *Phytophthora cactorum*, agente causal de la pudrición radical y de corona en manzano. *Agron.*, 14, 89-96.

Cheng, C.; Yang, C. & Peng, K. (2012) Antagonism of *Trichoderma harzianum* ETS 323 on *Botrytis cinerea* Mycelium in Culture Conditions. *Phytopatology*, 102, 1054-1063.

Cotes, A. (2002, julio) Control Biológico de Patógenos del Suelo. Memorias XXIII Congreso ASCOLFI Nuevas Tendencias en Fitopatología. Ciencia y Técnica cada vez más cerca. Bogotá.

Cotes, A., Villamizar, L., Díaz, A., Grijalba, E., García, P., Fuentes, O., Flórez, J., Benito, L., Poveda, C. & Ramón, L. (2003). Optimización de un bioplaguicida a base de la levadura *Pichia onychis* (Lv027), para el control de *Rhizopus stolonifer* de postcosecha de tomate. En A. Cotes (Eds). *Las Levaduras Como Alternativa De Control Biológico De Fitopatógenos En Postcosecha De Frutas Y Hortalizas*. (pp. 12-13) Colombia. Promedios.

Droby, S.; Wisniewski, W.; El Ghaouth, A. & Wilson, C. (2003). Influence of food additives on the control of postharvest rots of apple and peach and efficacy of the yeast-based biocontrol product *aspire*. *Postharvest Biology and Technology*, 27, 127-135.



Elad, Y. & Freeman, S. (2002). Biological Control of Fungal Plant Pathogens. En: K. Esser y J. W. Bennett (eds.). The Mycota XI. Ed. Springer – Verlag, Berlin. pp. 93-109.

Elad, Y., Kohl, J. & Fokkema, N. (1994). Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeast. *Phytopathology*, 84, 1193-1200.

Elmer, P. & Köhl, J. (1998). The survival and saprophytic competitive ability of the *Botrytis* spp. antagonist *Ulocladium atrum* in lily canopies. *European Journal of Plant Pathology*, 104: 435 – 47.

Harman, G.; Obregón, M. & Samuels, G. (2010). Changing Models for Commercialization and Implementation of Biocontrol in the Developing and the Developed World. *Plant Disease*, 94, 928-939.

Hoyos, L.; Chaparro, P.; Abramsky, M.; Chet, LL. & Orduz, S. (2008). Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones in vitro y de invernadero. *Agronomía Colombiana*, 26, 451-458.

Huang, R.; Li, G.; Zhang, J.; Yang, L.; Che, H.; Jiang, D. & Huang, H. (2011). Control of Postharvest *Botrytis* Fruit Rot of Strawberry by Volatile Organic Compounds of *Candida intermedia*. *Phytopathology*, 101, 589-869.

Fravel, D. 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. *Ann Rev Phytopathol.*, 48, 16.1-16.23.

Fuentes, O. (2001). Selección de Levaduras Potencialmente Biocontroladoras de *Alternaria alternata* en Poscosecha de Tomate (*Lycopersicon esculentum*). (Tesis Pregrado inédita) Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

García, P. (2014). Evaluación de tres aislamientos del género *Trichoderma*, en combinación con pregerminación controlada de semillas, contra *Botrytis cinerea* y *Rhizoctonia solani*. *Actualidades Biológicas*. 36: 236 - 237.

García, P. (2004). Búsqueda de alternativas de control biológico de *Rhizopus stolonifer* (Ehr.: Fr) Vuill., en la postcosecha de tomate, mediante la utilización de levaduras. En A. Cotes (Eds). *Las Levaduras Como Alternativa De Control Biológico De Fitopatógenos En Postcosecha De Frutas Y Hortalizas*. (pp. 7-8) Colombia. Promedios.

García, P. (2002). Uso de levaduras: Una nueva alternativa de control biológico de fitopatógenos en postcosecha de frutas y hortalizas. Memorias XXIII Congreso ASCOLFI Nuevas Tendencias en Fitopatología. Ciencia y Técnica cada vez más cerca. Bogotá.

García, P. (2001). Búsqueda de alternativas de control biológico de *Rhizopus stolonifer* en la postcosecha de tomate, mediante la utilización de levaduras. (Tesis Maestría inédita) Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Gutierrez, C.; Gómez, M.; García, P. & Cotes A. (2004). Control de calidad de un preformulado oleoso a base de la levadura *Pichia onychis* para el control de *Rhizopus stolonifer* en postcosecha del tomate. . En A. Cotes (Eds). Las levaduras como alternativa de control biológico de fitopatógenos en postcosecha de frutas y hortalizas. (p. 11) Colombia. Promedios.

Higuera, N.; Villamizar, L.; García, P. & Cotes A. (2004). Desarrollo, caracterización y determinación de la estabilidad de un bioplaguicida granular a base de la levadura *Pichia onychis* para el control de *Rhizopus stolonifer* en postcosecha del tomate. . En A. Cotes (Eds). Las levaduras como alternativa de control biológico de fitopatógenos en postcosecha de frutas y hortalizas. (pp. 11-12) Colombia. Promedios.

Jaimes, Y.; Moreno, C. & Cotes, A. (2009). Inducción de resistencia sistémica contra *Fusarium oxysporum* en

tomate por *Trichoderma koningiopsis* Th003. Acta biol. Colomb., 14, 111 – 120.

Jarvis, W. R. (1992). Managing diseases in greenhouse crops. APS press. St. Paul, Minnesota, USA. 288 p.

Jiménez, Y.; Neisa, A. & Cotes, A. (2004). Selección de levaduras para el control de *Botrytis alli* en cebolla de bulbo. . En A. Cotes (Eds). Las levaduras como alternativa de control biológico de fitopatógenos en postcosecha de frutas y hortalizas. (pp. 6-7) Colombia. Promedios.

Kalogiannis, S., Tjamos, S., Stergiou, A., Antoniou, P., Ziogas, B. & Tjamos, E. (2006). Selection and evaluation of phyllosphere yeasts as biocontrol agents against grey mould of tomato. Plant Pathol., 116, 69-76.

Kurtzman, C. & Fell, J. (1999). The yeast, a taxonomic study. Four edition. Elsevier Science. Amsterdam, The Netherlands, 77-105.

Lima, G., Ippolito, A., Nigro, F., Salerno, M. (1997). Effectiveness of *Aureobasidium pullulans* and *Candida oleophila* against postharvest strawberry rots. Postharvest Biol. Technol., 10, 169-178.

Masih, E.I., Slezack-Deschaumes, S., Ait Barka, E., Vernet, G., Charpentier, C., Adholeya, A. & Paul, B. (2001). Characterization of the yeast *Pichia membranifaciens* and its possible use in the control of *Botrytis cinerea*, causing grey mold disease of the grapevine. FEMS Microbiol. Lett. 202, 227-233.

McLaughlin, R., J., Wilson, C., Droby, S., Ben-Arie, R. & Chalutz, E. (1992). Biological control of postharvest diseases of grape, peach, and apple with the yeast *Kloeckera apiculata* and *Candida guilliermondii*. Plant Disease, 76, 470-473.

Moreno, C. (2003). Control biológico de

enfermedades foliares del cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) con énfasis en mildew polvoso (*Oidium* sp). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Nunes, C., Usal, J., Teixido, N., Torres, R. & Viñas, I. (2002). Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on apples and pears with the combination of *Candida sake* and *Pantoea agglomerans*. *J. Food Protect.*, 65, 178-184.

Lurie, S., Droby, S., Chalupowics, L., Chalutz, E. (1995). Efficacy of *Candida oleophila* strain-182 in preventing *Penicillium expansum* infection of nectarine fruits. *Phytoparasitica*, 23, 231-234.

Pava, E.; Cotes A. & García; P. (2004). Búsqueda de alternativas de control biológico de *Botrytis cinerea* en la postcosecha de tomate mediante el uso de levaduras. . En A. Cotes (Eds). *Las levaduras como alternativa de control biológico de fitopatógenos en postcosecha de frutas y hortalizas.* (pp. 17-18) Colombia. Promedios.

Rosslénbroich, J. & Stuebler D. (2000). *Botrytis cinerea*-History of chemical control and novel fungicides for its management. *Crop protection*, 19, 557-561.

Saligkarias, I.D., Gravanis, F. & Epton, H. (2002). Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato plants by the use of epiphytic yeast *Candida guilliermondii* strains 101 and US 7 and *Candida oleophila* strain I-182: I. in vivo studies. *Biol. Control*, 25, 143-150.

Santos, A.; García, M.; Cotes, A. & Villamizar, L. (2012). Efecto de la formulación sobre la vida útil de bioplaguicidas a base de dos aislamientos colombianos de *Trichoderma koningiopsis* Th003 y *Trichoderma asperellum* Th034. *Rev. Iberoam. Micol*, 29, 150-156.

Viñas, I., Usal, J., Teixido, N. & Sanchia, V. (1998). Biological control of major postharvest pathogens on apple with *Candida sake*. *Int. J. Food Microbiol*, 40, 9-6.

Warrior, P. (2000). Living Systems as Natural Crop – Protection Agents. *Pest Management Science*, 56, 681 – 687.

Zapata, J. (2004). Selección de levaduras aisladas de estructuras reproductivas de la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth), para el control del moho producido por *Botrytis cinerea*. (Tesis de pregrado inédita) Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.