



**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA**

Facultad de Ciencias de la Salud  
Programa de Maestría en Microbiología

**Revisión sistemática de actividad antagonista y posible control biológico con levaduras sobre *Botrytis cinerea*, hongo que afecta los cultivos de *Cannabis sativa* L**

María Alejandra Acero Montoya

Bogotá D.C., Colombia  
Septiembre de 2022



**Revisión sistemática de actividad antagonista y posible control biológico con levaduras sobre *Botrytis cinerea*, hongo que afecta la productividad en cultivos de *Cannabis sativa* L**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para obtener el título de  
**Magíster en Microbiología**  
**(Modalidad profundización)**

**María Alejandra Acero Montoya**  
Ingeniero Químico

Directora:

**Ligia Consuelo Sánchez Leal**  
MSc. Biología Aplicada con énfasis en Fitoprotección.  
Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Línea de Investigación:  
Línea de Investigación: Ecología y Desarrollo Sostenible  
Grupo de Investigación: Ceparium

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Programa de Maestría en Microbiología  
Bogotá D.C., Colombia  
Septiembre de 2022

## **Dedicatoria**

*El presente trabajo está dedicado a mi Padre y a mi Madre por haber sido mi apoyo a lo largo de esta etapa y a lo largo de mi vida. A todas las personas especiales que me acompañaron durante la Maestría, aportando a mi formación tanto profesional y como ser humano.*

## **Agradecimientos**

Me gustaría agradecer en estas líneas la ayuda que muchas personas me prestaron durante el proceso de investigación y redacción de este trabajo. En primer lugar, quisiera agradecer a mis padres que me han ayudado y apoyado en todo mi proyecto; quiero agradecer especialmente a mi Directora Ligia Consuelo Sánchez Leal, por haberme orientado durante todo este proceso, me brindó una guía exhaustiva, me ayudó a fortalecer mis conocimientos y sin sus enseñanzas la realización del presente trabajo no hubiera sido posible; a mis compañeros de Maestría, ya que sin ellos, mi aprendizaje hubiera sido limitado. Por último agradezco a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, por ofrecerme los conocimientos en cada una de sus materias y por permitir que este trabajo de grado pueda tener información relevante que servirá a próximos investigadores.



## **Revisión sistemática de actividad antagonista y posible control biológico con levaduras sobre *Botrytis cinerea*, hongo que afecta la productividad en cultivos de *Cannabis sativa***

### **Resumen**

*Cannabis sativa* L es una planta que ha generado bastante interés en los últimos años por su versatilidad en el uso en diferentes industrias como cosmética, médica y farmacéutica. Este cultivo requiere diferentes etapas para lograr la maduración de la flor y de aquí extraer los componentes psicoactivo y no psicoactivo. Al igual que otro tipo de cultivos, éste es susceptible a enfermedades y patógenos, entre ellos el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*, que ataca con severidad a miles de cultivos frutales y hortícolas. El moho gris es una enfermedad difícil de controlar porque tiene una variedad de modos de ataque, diversos hospederos como fuentes de inóculo y puede sobrevivir gracias a sus micelios, conidios y esclerocios en los desechos de los cultivos, los cuales promueven su supervivencia durante períodos prolongados. Para mitigar su incidencia en frutos y plantas, se ha estudiado la posibilidad de implementar el control biológico, medida que sustituye el uso de fungicidas que contaminan el medio ambiente. Si bien es cierto, este hongo se ha detectado y analizado en diferentes tipos de huéspedes, en la planta *Cannabis sativa* L los estudios son limitados. En este sentido, este proyecto realizó la revisión sistemática del uso de microorganismos levaduriformes como agentes antagonistas contra el hongo *Botrytis cinerea* y con esta información se recomienda el uso de levaduras como opción de control biológico en plantas de *Cannabis sativa* L.

**Palabras Clave:** *Cannabis sativa* L, *Botrytis cinerea*, control biológico, levaduras.

## Abstract

*Cannabis sativa* L is a plant that has generated a lot of interest in recent years due to its versatility in use in different industries such as cosmetics, medicine and pharmaceuticals. This crop requires different stages to achieve the maturation of the flower and from here to extract the psychoactive and non-psychoactive components. Like other types of crops, it is susceptible to diseases and pathogens, including the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*, that severely attacks thousands of fruit and vegetable crops. Gray mold is a difficult disease to control because it has a variety of modes of attack, diverse hosts as sources of inoculum, and can survive thanks to its mycelia, conidia, and sclerotia in crop debris, which promote its survival for prolonged periods. To mitigate its incidence on fruits and plants, the possibility of implementing biological control has been studied, a measure that replaces the use of fungicides that pollute the environment. Although it is true that this fungus has been detected and analyzed in different types of hosts, studies on the *Cannabis sativa* L plant are limited. In this sense, this project carried out a systematic review of the use of yeast-like microorganisms as antagonistic agents against the fungus *Botrytis cinerea* and with this information, the use of yeasts is recommended as a biological control option in *Cannabis sativa* L.

**Keywords:** *Cannabis sativa* L, *Botrytis cinerea*, biological control, yeasts.

# Contenido

1. Introducción .....	10
2. Marco referencial .....	15
2.1. <i>Cannabis sativa</i> L .....	15
2.1.1. Composición química de <i>Cannabis sativa</i> L .....	15
2.1.2. Cultivo de <i>Cannabis sativa</i> L .....	17
2.2. <i>Botrytis cinerea</i> .....	20
2.2.1. Morfología.....	20
2.2.2. Ciclo de infección de <i>Botrytis cinerea</i> .....	21
2.3. <i>Botrytis cinerea</i> en <i>Cannabis sativa</i> L .....	21
2.4. Control biológico y uso de microorganismos .....	25
3. Objetivos .....	31
3.1. Objetivo General.....	31
3.2. Objetivos específicos.....	31
4. Diseño metodológico .....	32
5. Resultados y discusión.....	34
6. Conclusiones .....	70
7. Recomendaciones .....	71

## Lista de figuras

Figura 1. Etapas de cultivo <i>Cannabis sativa</i> L.....	18
Figura 2. Desarrollo de la pudrición por <i>Botrytis cinerea</i> en plantas de <i>Cannabis sativa</i> L23	
Figura 3. Infección en plantas adyacentes en cultivos de <i>Cannabis sativa</i> L.....	24
Figura 4. Mecanismos de antagonismo de hongos y levaduras .....	26
Figura 5. Diagrama de flujo de proceso para selección de artículos.....	39
Figura 6. Cantidad de publicaciones por continente .....	40
Figura 7. Cantidad de publicaciones por año .....	40
Figura 8. Gráfico de géneros encontrados .....	49
Figura 9. Gráfico de levaduras epífitas en las referencias .....	51
Figura 10. Gráfico del tipo de ensayo empleado .....	53
Figura 11. Gráfico de huésped utilizado en las referencias .....	55
Figura 12. Especies de levadura con mejor porcentaje de inhibición a nivel <i>in vitro</i> .....	64
Figura 13. Especies de levadura con mejor porcentaje de inhibición a nivel <i>in vivo</i> .....	64

## Lista de tablas

Tabla 1. Cannabinoides encontrados en <i>Cannabis sativa</i> L.....	16
Tabla 2. Productos comerciales a base de levaduras .....	29
Tabla 3. Búsqueda avanzada aplicada sin criterios de inclusión y exclusión .....	35
Tabla 4. Búsqueda avanzada aplicada con criterios de inclusión y exclusión .....	35
Tabla 5. Búsqueda avanzada sin aplicar criterios de inclusión y exclusión.....	36
Tabla 6. Búsqueda avanzada aplicada con criterios de inclusión y exclusión .....	37
Tabla 7. Artículos escogidos por cada base de datos en inglés .....	38
Tabla 8. Levaduras epífitas encontradas en las referencias .....	49
Tabla 9. Tipo de ensayo empleado .....	51
Tabla 10 . Tipo de huésped utilizado en las referencias.....	54
Tabla 11. Especies de levadura con mejor porcentaje de inhibición .....	63

# 1. Introducción

La planta *Cannabis sativa* L según Ledezma *et al* “es usada desde la antigüedad con fines medicinales, recreativos y agrícolas, sin embargo, sólo hasta finales del siglo XX se comenzaron a diseñar y realizar estudios científicos orientados a evaluar sus efectos. A partir de allí, se identificó el Sistema Endocannabinoide y se inició la caracterización química y farmacológica de sus compuestos, denominados de forma genérica como cannabinoides”. (1)

Si bien, el cultivo de *Cannabis sativa* L se desarrolla hoy en día en países desarrollados como Canadá, también se cultiva desde hace años en Colombia. Bridgeman *et al* (2), *Cannabis* sostiene que este cultivo se usó con fines medicinales por primera vez en el año 400 DC y el mercado de esta planta en Colombia es bastante nuevo pero que se está incrementando cada vez más. Al respecto, EFE en la Revista Portafolio (3) menciona que “hasta este momento, en 32 municipios de 11 departamentos de Colombia han sido autorizadas las licencias para el cultivo de *Cannabis* psicoactivo, no psicoactivo, semillas para siembra y fabricación de derivados”, lo que permite cultivar legalmente y generar ingresos a partir de esta planta. Adicionalmente, como lo menciona la Cota y Torrado en la Revista El País, “el potencial macroeconómico es enorme. En el año 2020, las exportaciones colombianas de *Cannabis* medicinal fueron mayores a 5 millones de dólares, pero para 2030 pueden estar por encima de los 1.700 millones, de acuerdo con proyecciones de ProColombia, agencia gubernamental de promoción de los negocios, una cifra que superaría las exportaciones de flores. Un escenario de precios más optimista apunta a más de 2.500 millones de dólares, lo que incluso superaría las de café – el primer producto del país en exportaciones no minero-energéticas –. Eso se traduciría en 44.000 puestos de trabajo para entonces” (4). Con lo anterior, se evidencia, entonces, que Colombia es un país que tiene potencial de comercio de este tipo de plantas y su cultivo debe tener las mejores condiciones para contar con las escaladas en el mercado nacional e internacional.

Dentro de los patógenos que más afectan cultivos comerciales tanto frutales como hortícolas se encuentra *Botrytis cinerea*, el cual ataca a más de 1000 especies de plantas (5). Se ha reportado que este hongo ataca también a las plantas de *Cannabis sativa* L, especialmente las flores y cogollos (6). Esto significa que se requieren acciones que garanticen la productividad en términos de sanidad del cultivo que corresponde al buen manejo y Buenas Prácticas Agrícolas BPA (7) del cultivo de la planta de *Cannabis sativa* L como un factor clave a la hora de generar un producto con altos estándares de calidad .

Las investigaciones con relación al manejo de *Botrytis cinerea*, se han centrado particularmente a controlar la aparición del hongo en cultivos frutales, especialmente utilizando fungicidas. Hay muchas investigaciones al respecto, en las que se demuestra este uso, por citar una, el cultivo de uva de acuerdo con el trabajo de De Simone *et al* (8), informa que se utiliza dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) para controlar el deterioro de las frutas causadas por *Botrytis cinerea*. Sin embargo, implementar esta opción causa deterioro en la calidad del fruto provocando mal sabor o consecuencias con cierto grado de peligro hacia el consumidor lo que genera claramente pérdidas económicas si la alternativa de control no resulta ser positiva. Esto significa que no es conveniente utilizar químicos porque puede permanecer presente en el producto final.

Como en cualquier cultivo comercial, pero en particular en el caso de *Cannabis sativa* L, se busca que esté en las mejores condiciones sanitarias y que no tenga residuos químicos que puedan alterarlo, ya que el producto final se convertirá en medicamento utilizado para la prevención y curación de diferentes patologías en el ser humano.

Es claro que varias enfermedades pueden limitar la producción de *Cannabis sativa* L. Pero es precisamente, el moho gris una de las fitopatologías que causa pérdidas significativas. Al respecto, Llamosas cita que “En el país y en el mundo la enfermedad más limitante en este cultivo es *Botrytis cinerea*, la cual afecta el órgano de interés, sus flores o cogollos” (6)

Como se puede observar, Moho gris es una enfermedad difícil de controlar porque tiene una variedad de modos de ataque, diversos hospederos como fuentes de inóculo y puede sobrevivir tanto como micelios como en conidios y esclerocios en los desechos de los cultivos, estos últimos promueven esta supervivencia sea durante períodos prolongados.

Con este conocimiento, se plantea que es poco probable que el uso de una sola medida de control tenga éxito y es esencial una comprensión más detallada de la interacción huésped-patógeno, el microambiente en el que opera el hongo y sus competidores microbianos en el huésped.

Por otra parte, se sabe que “el costo actual de llevar al mercado un nuevo fungicida o agente de control biológico es tan alto que solo los cultivos importantes atraen el interés suficiente por parte de la agroindustria” (9). Como lo menciona García, el empleo de plaguicidas implicaría una contaminación ambiental, y además en los países en vía de desarrollo como Colombia, podría afectar de manera más elevada a comparación de países más industrializados, debido a la poca capacitación, ausencia de reglamentación, y bajos niveles de educación a las personas que pertenecen a los sectores agrícola, agronómico, entre otros (10). Esto significa que innovar en la búsqueda de alternativas a los plaguicidas sería de gran importancia y traería beneficios económicos y al medio ambiente.

Lo anterior se traduce en que las condiciones favorables para un buen manejo en el cultivo de *Cannabis* medicinal son un factor clave a la hora de obtener un producto final de calidad. El control biológico de este patógeno junto con otras alternativas de control Biorracional, podría constituir un beneficio conjunto entre cultivo y producto final.

Una opción sería implementar el control biológico durante la cosecha y postcosecha; Bustamante *et al* mencionan que “la postcosecha presenta características favorables para la utilización de técnicas de control biológico. En primer lugar, el ambiente de la postcosecha se caracteriza por ser confinado y controlado lo cual facilita la aplicación de los productos biológicos y su adaptación a las condiciones ambientales. En segundo lugar, el alto valor agregado de los productos cosechados

justifica la implementación de medidas de control que en otras circunstancias podrían no ser. Por otra parte, en muchos de los casos se pretende sustituir los baños o aspersión de fungicidas, por baños o aspersión utilizando suspensiones de antagonistas, por lo que el cambio en los equipos e instalaciones de las plantas de tratamiento no sería drástico ni económicamente excesivo” (11).

El control biológico puede realizarse con diferentes tipos de microorganismos, hongos miceliales o levaduriformes, bacterias, virus, nemátodos, entre otros. Según Parafati *et al*, citados por Vega “las levaduras han sido extensamente estudiadas porque presentan características que las hacen apropiadas para utilizarlas en control biológico: capacidad de colonizar superficies secas durante largos periodos de tiempo, no producir esporas alergénicas, generalmente no patógenas, no producen micotoxinas o antibióticos y están presentes en una variedad de nichos ambientales” (12).

En consideración al potencial de las levaduras que se ha descrito para atacar a *Botrytis cinerea* en otro tipo de cultivos, se pensó en esta alternativa para el caso del cultivo de *Cannabis sativa* L. Por esta razón, está completamente justificado realizar una búsqueda de información científica publicada previamente sobre el uso de levaduras como microorganismos que ejercen un control biológico frente a *Botrytis cinerea*, lo que podría abrir la puerta para proponer una posible aplicación de estos microorganismos como alternativa biológica contra este hongo en cultivos de *Cannabis sativa* L.

En ese orden de ideas, la pregunta problema del proyecto de investigación fue: ¿Qué tipo de microorganismos levaduriformes han sido reportados como antagonistas y con posible control biológico para el crecimiento del hongo *Botrytis cinerea* en un cultivo *Cannabis sativa* L.?

En este sentido, esta revisión tuvo como objetivo realizar una búsqueda sistemática sobre las levaduras con capacidad antagónica y posible control biológico contra *Botrytis cinerea*, con el fin de ampliar el conocimiento en cuanto al control biológico y cómo se podría utilizar esta información sobre microorganismos que pudieran mitigar la aparición y crecimiento de este hongo en cultivos de *Cannabis Medicinal*.

El presente proyecto se realizó en dos etapas. La primera etapa consistió en la búsqueda de información en diferentes bases de datos que permitiera ampliar el conocimiento sobre el uso de levaduras como microorganismos antagonistas de hongo *Botrytis cinerea* estableciendo criterios de inclusión y exclusión para delimitar la información. La segunda etapa fue el análisis de la información encontrada previamente para relacionar y discutir cómo se podría proponer un control biológico con levaduras para mitigar el hongo fitopatógeno en cultivos de *Cannabis sativa* L.

## 2. Marco referencial

### 2.1. *Cannabis sativa* L

Según López *et al*, "*Cannabis sativa* L es una planta herbácea anual de hasta 4 m de alto, dioica, de tallo erecto y hojas palmadas estipuladas, las inferiores opuestas y las superiores alternas. Las hojas se encuentran sobre pecíolos de hasta 7 cm de largo. Cada hoja se compone de entre 3 a 9 folíolos angostos, de ápice agudo, con márgenes serrados y tricomas glandulares recostados sobre el haz y el envés de un color más claro. Los tricomas glandulares producen una resina como una forma de proteger a la planta contra las agresiones externas" (13).

#### 2.1.1. Composición química de *Cannabis sativa* L.

Según López (13) "*Cannabis sativa* L. está constituida por diferentes compuestos, entre los cuales están los cannabinoides, terpenos, flavonoides, alcaloides, estilbenos, amidas fenólicas y lignanamidas."

- **Cannabinoides**

El tetrahidrocannabinol (THC) es el cannabinoide más estudiado entre los 70 metabolitos que se conocen. El THC es de naturaleza terpeno fenólica y es capaz de interaccionar con receptores endógenos (13).

Se ha investigado que estos compuestos tienen efectos terapéuticos para tratar trastornos metabólicos, neurodegenerativos, trastornos del movimiento, también se ha utilizado para tratar dolores después de la quimioterapia (Tabla 1) (14).

"Los cannabinoides son sintetizados y acumulados como ácidos cannabinoides, y no es sino hasta el proceso de secado y almacenaje, que los ácidos se descarboxilan gradualmente hasta alcanzar su forma final, como por ejemplo el THC o el canabidiol (CBD)" (13).

Tabla 1. Cannabinoides encontrados en *Cannabis sativa* L

Nombre del cannabinoide	Usual abreviatura	Masa molar (g mol <sup>-1</sup> )	Molecular fórmula
(-)-trans-D <sup>9</sup> - tetrahidrocannabinol	Δ <sup>9</sup> -THC	314.472	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>
(-)-trans-D <sup>8</sup> - tetrahidrocannabinol	Δ <sup>8</sup> -THC	314.472	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>
(-)-trans-Δ <sup>9</sup> - ácido tetrahidrocannabinólico	THCA	358.482	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>
Un			
Cannabidiol	Cdb	314.472	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>
Ácido cannabidiólico	CBDA	358.482	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>
Cannabinol	CBN	310.440	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> El <sub>2</sub>
Ácido cannabinólico	CBNA	354.450	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> Los <sub>4</sub>
Cannabigerol	CBG	316.488	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> Los <sub>2</sub>
Ácido cannabigerólico	CBGA	360.498	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> El <sub>4</sub>

Además de los cannabinoides, la planta *Cannabis sativa* L cuenta con otro tipo de compuestos como: Terpenos, flavonoides, lignamidas, amidas, alcaloides, estilbenoides; algunos de ellos encargados del olor, sabor y otros tienen actividad farmacológica (13).

### **Cultivo de *Cannabis sativa* L**

Según Rojas *et al* (15), el ciclo de cultivo de *Cannabis sativa* L se divide en 5 pasos principales: Germinación, etapa vegetativa, floración, cosecha, secado y curado (Figura 1)

**Figura 1.** Etapas de cultivo *Cannabis sativa* L



Representación gráfica de las etapas de cultivo de la planta *Cannabis sativa* desde la germinación hasta el secado y curado. Tomado de (15)

El proceso de germinación empieza colocando la semilla de *Cannabis sativa* L en la bandeja con sustrato a unos 5 mm, se debe tener en cuenta el buen manejo de la Humedad relativa (menor al 80%) y el pH debe oscilar entre 6.0 y 7.0. La temperatura también es un factor clave, el rango ideal está entre 23°C y 27°C, además las bandejas deben estar en una zona con poca luz. La etapa de germinación consta de 8 días aproximadamente. El proceso vegetativo empieza aproximadamente 2 semanas después de la germinación, en esta etapa la planta ya comienza a mostrar de 5 a 6 pares de hojas y un crecimiento acelerado, de aquí el nombre de esta etapa, la cual comprende 90 días. Esta etapa comprende dos pasos principales; el primer paso es cuando la planta ya está lo suficientemente grande y se debe trasplantar a una maceta con mayor capacidad, esto se debe a la rigidez del follaje y adicional a esto se debe realizar una poda para estimular el crecimiento, en el segundo paso, la planta llega a su etapa de madurez, aquí las plantas empiezan a mostrar su sexo y es hora de pasar a la tercera etapa, acá termina el proceso vegetativo y 48 horas después la planta estará lista para comenzar la floración. La etapa de floración tarda 90 días, para esta etapa se necesitan 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Normalmente, a la tercera semana de floración, las hojas se empezarán a tornar de un color amarillo y cuando el 75% de las hojas tengan color marrón estarán listas para la etapa de cosecha. “Los niveles de THC suelen ser más altos si se cosecha cuando el 40-70% de los pelos han cambiado de color. Al evaluar la madurez mediante el uso de lupa se observa el color de los tricomas, si el color es claro, las plantas no están maduras; si presentan un color blanquecino, los niveles de THC se encuentran en su máximo y si son ámbar, quiere decir que la

degradación ha comenzado”. El objetivo es realizar un secado uniforme, los brotes luego de ser separados de las plantas, deben ser colgados de 5 a 7 días con una temperatura aproximada de 70 °F y con una humedad aproximada de 50% en una cámara o cuarto de secado. La meta de colgar los brotes es sacar la máxima cantidad de agua, sin sacrificar los aceites esenciales (Terpenos). “Una vez el proceso de colgado, los brotes deben colocarse en recipientes herméticos, lo recomendado son frascos de vidrio, estos deben colocarse en un cuarto de secado a una temperatura entre 70-80 °F y con una humedad entre el 40 y 50% por 24 horas. El correcto secado preservará sus aceites esenciales” (15)

Hay diferentes aspectos que podrían influir durante el cultivo de Cannabis, aspectos como la luz, temperatura, riego, humedad, nutrientes juegan un papel importante para afectar el resultado final. Una consideración importante es la luz, se ha reportado que los rayos Ultravioleta UVB aumentan los niveles de THC en esta planta; Colombia posee la ventaja de tener un clima favorable para los cultivos Outdoor, y con esto, la luz natural puede influenciar de forma positiva el rendimiento del cultivo (16).

## **2.2. *Botrytis cinerea***

Según el autor Shao *et al*, citados por Matute “*Botrytis cinerea*, también conocido como “Moho gris”, es un hongo fitopatógeno que ataca a centenares de cultivos bien sea durante la cosecha o la postcosecha. Las condiciones para la aparición de esta enfermedad son principalmente humedad relativa y temperatura; una humedad relativa superior al 60% es clave para el desarrollo del patógeno; en cuanto a la temperatura, es normal encontrar este hongo a temperaturas entre los 20°C y 25°C, no obstante, *Botrytis cinerea* puede soportar temperaturas hasta de 0°C” (17).

“*Botrytis cinerea* se ha clasificado como el segundo patógeno vegetal más importante, causando moho gris en más de 1.400 huéspedes. Las pérdidas económicas a causa de esta enfermedad supera fácilmente los \$ 10 mil millones en todo el mundo, posiblemente llegando a \$ 100 mil millones” (17).

### **2.2.1. Morfología**

Álvarez (18) destaca que *Botrytis cinerea* es un hongo que produce micelio gris y dentro de su morfología se destacan, además, conidióforos, conidios y esclerocios. Este hongo es necrotrófico, es decir ataca a las células del hospedero y más adelante extrae sus nutrientes.

En su morfología se encuentran: micelio, clamidosporas, conidios clamidosporas, conidios y micelio. “*Botrytis cinerea* es considerado como un componente característico de superficies aéreas de algunas especies de plantas, mientras que está ausente o aislado con poca frecuencia de otras partes de las plantas. La frecuencia de aislamiento del hongo tiende a aumentar a medida que la temporada progresa, lo que refleja una creciente capacidad para entrar en el tejido vegetal como un parásito débil o como un saprófito durante la senescencia” (18).

### **2.2.2. Ciclo de infección de *Botrytis cinerea***

El ciclo de infección de *Botrytis cinerea* empieza cuando las esporas del hongo se depositan en la superficie del hospedero. Acá empieza la germinación y adhesión de las esporas sobre el huésped. Esta adhesión se lleva a cabo mediante la interacción de la cutícula del huésped y el patógeno. Doss *et al*, citados por Gago mencionan que “lo anterior se divide en dos etapas: en la primera, el conidio se hidrata, dando como resultado la aparición de fuerzas débiles de adhesión debidas a la interacción hidrofóbica de la cutícula del huésped y la superficie del conidio. En la segunda etapa, se producen las uniones fuertes, unas horas después de la germinación del conidio” (19).

Según Benito *et al* (20), la inserción de las esporas en el tejido vegetal se debe bien sea por heridas previas causadas en la planta por parte de plagas, o por la participación de diferentes actividades enzimáticas. Posteriormente, sucede el establecimiento del patógeno en la zona de infección dando lugar a la muerte de las células localizadas en el punto de penetración, lo que produce una respuesta de autodefensa por parte del huésped. Se inicia así una fase de latencia, donde el hospedero intenta defenderse del patógeno que se encuentra en las áreas de necrosis. Si el patógeno logra romper las barreras de defensa de la planta, empieza su colonización sobre el tejido infectado, lo cual produce un nuevo volumen de esporas, que da lugar a un ciclo de infección nuevo.

### **2.3. *Botrytis cinerea* en *Cannabis sativa* L**

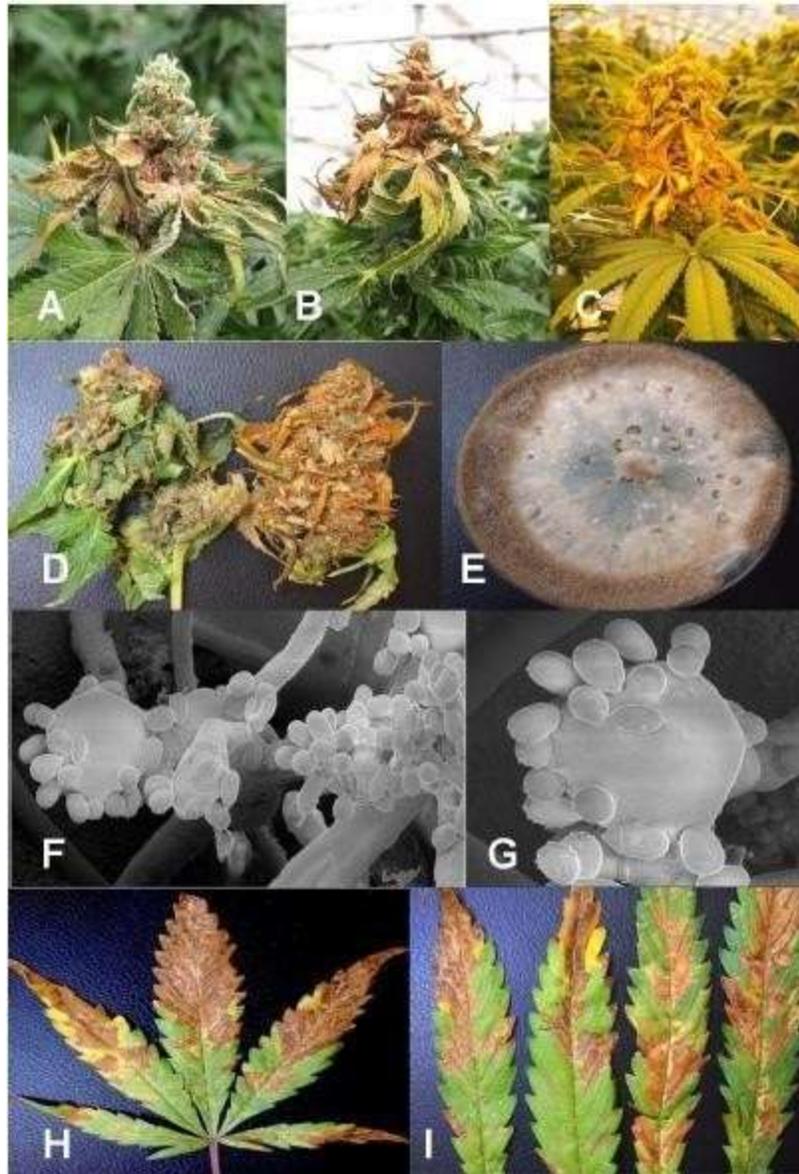
Según Fassio *et al* “*Botrytis cinerea* es una de las enfermedades más comunes que ataca la planta de *Cannabis sativa* L, además de atacar otro tipo de cultivos alrededor del mundo. Esta enfermedad se presenta a temperaturas templadas y altos índices de humedad relativa (superiores al 80%). *Botrytis cinerea*, también conocida como “Moho gris” ataca principalmente las flores y los tallos de la planta” (21)

“Las infecciones florales suelen ocurrir en cultivares usados para producir sustancias psicoactivas o semillas, dado que los grandes racimos florales femeninos retienen

la humedad y favorecen el desarrollo del hongo” (21).

*Botrytis cinerea* en los cultivos de *Cannabis sativa* L se desarrolla en un rango de temperatura de 15 a 25°C aproximadamente (22). Se considera como una de las enfermedades más relevantes e importantes que presenta este tipo de cultivo (23), ya que genera lesiones bastante fuertes principalmente en los cogollos, sin embargo estas lesiones pueden expandirse a otras áreas de la planta, como las hojas o tallos (24).

**Figura 2.** Desarrollo de la pudrición por *Botrytis cinerea* en plantas de *Cannabis sativa* L



Representación de la infección por el hongo *Botrytis cinerea* en diferentes partes de la planta *Cannabis sativa* L. Tomada y modificada de (24)

Como se ve en la Figura 2, se observa pudrición inicial en el cogollo de Cannabis causado por *Botrytis cinerea* (A), En las figuras B, C y D se evidencia la propagación de la enfermedad tanto en el cogollo como en las hojas, con un cambio de color amarillento. En la figura E se muestra la colonia de *Botrytis cinerea* aislada de las

partes enfermas de la planta. En las figuras F y G se observa por microscopía electrónica de barrido la presencia de conidióforos y conidios de *Botrytis cinerea* del cultivo. Finalmente las figuras H y la I evidencian la enfermedad colonizando las hojas de la planta de Cannabis con cambios de color severos (24).

El hongo *Botrytis cinerea* se reproduce por esporas, lo que hace fácil que el viento las deposite en otro huésped y comenzar un nuevo ciclo de infección. El cultivo de *Cannabis sativa* L es susceptible a sufrir infección por este hongo, ya que las plantaciones se encuentran muy cerca y los cogollos tienden a retener humedad (Figura 3) (22)

**Figura 3.** Infección en plantas adyacentes en cultivos de *Cannabis sativa* L



Infección por *Botrytis cinerea* en plantas de *Cannabis sativa* L adyacentes en un cultivo outdoor. Tomada y modificada de (22)

## 2.4. Control biológico y uso de microorganismos

El control biológico “es un método que consiste en la utilización de organismos vivos con el fin de controlar poblaciones que generan problemas.” (17). Consiste en controlar plagas mediante el uso de enemigos naturales, entre ellos los microorganismos. En el control biológico se pueden utilizar tres estrategias, estrategia clásica, inductiva y la inoculación (25). Los autores Arroyo *et al* (26) mencionan que este tipo de práctica de usar el control biológico especialmente en la agricultura se basó en mayor medida en la práctica y no tanto por el conocimiento, también menciona que el control biológico empezó a tener auge a mediados del siglo XX.

Se han logrado identificar diferentes microorganismos que tienen la característica de ser antagonistas contra algunos patógenos, entre ellos bacterias, hongos y levaduras; entre los géneros más utilizados como controladores biológicos están *Bacillus*, *Trichoderma*, *Rhodotorula*, *Candida*, *Pichia*, entre otros. se podría considerar que las levaduras tienen ventajas sobre otras dos especies de microorganismos debido a que los requerimientos nutricionales son simples y no son tóxicos para el hombre (27).

Sellito menciona que el control biológico con microorganismos sería una técnica ideal para incrementar la sostenibilidad agrícola, teniendo en cuenta que podría reemplazar o minimizar el uso de productos químicos que no solamente traería la reducción de combustibles fósiles, sino también reduciría la emisión de gases efecto invernadero. Además de que algunos microorganismos podrían actuar como

antagonistas de patógenos, también tendrían potencial como agentes que promuevan el crecimiento en plantas. Es interesante que además de la forma de aplicación, las mezclas de consorcios microbianos podrían tener un potencial de antagonismo diferente a comparación de la aplicación de una sola cepa (28).

Según Matute “los modos de acción pueden ser: antibiosis, inducción de resistencia en el huésped, competencia por nutrientes y/o espacio, parasitismo, adherencia a la superficie del patógeno, reducción de la patogenicidad del patógeno y supresión de la formación de inóculo y los microorganismos que se usan con más frecuencia son hongos filamentosos, levaduras, y bacterias” (17) .

El autor Punja (29) relata que una comprensión del ciclo de la enfermedad (eventos que va desde la infección inicial hasta la colonización y reproducción del patógeno) y el ciclo de vida del patógeno son cruciales para el uso exitoso de cualquier estrategia de manejo de enfermedades. El uso de hongos y levaduras para controlar estas enfermedades requiere de ciertas características que impiden la actividad del patógeno y esto se ha logrado mediante varios mecanismos diferentes (Figura 4).

**Figura 4.** Mecanismos de antagonismo de hongos y levaduras



Mecanismos de antagonismo por parte de hongos y levaduras para la reducción y mitigación de enfermedades. Tomado de y modificado de (29)

Punja también menciona que “muchos de estos microorganismos como las levaduras, entre ellas pertenecientes al género *Rhodotorula*, *Candida*, *Cryptococcus* existen naturalmente en o cerca de hojas de plantas, raíces y otras estructuras internas como epífitas saprófitas, utilizando nutrientes disponibles en varios nichos” (24).

Según Lahlali, es fundamental estudiar y elegir microorganismos que presenten un alto grado de efectividad en diferentes situaciones, como el suelo, humedad, cambios de temperaturas, entre otros. Adicional a esto, la interacción huésped patógeno difiere según la patogenicidad y la respuesta del antagonista, haciendo que el proceso de biocontrol sea específico, el autor señala también que la persistencia de una eficacia de control fitosanitario en el espacio y tiempo se denomina durabilidad y depende de dos factores principales: la presión de selección ejercida sobre las poblaciones de patógenos de plantas y la capacidad del patógeno para adaptarse a la estrategia de control. El autor también señala que en el caso de las plantas, la persistencia del control biológico no ha recibido la suficiente atención y la eficacia de los controladores biológicos en el tiempo no se ha reportado científicamente (30).

Las levaduras son microorganismos que han demostrado un excelente comportamiento como antagonistas de hongos fitopatógenos, las levaduras son un grupo de hongos eucariotas y la mayoría se reproduce por gemación, para que la levadura sea idónea para ejercer un control biológico, debe ser estable genéticamente, tener requisitos nutricionales relativamente simples, tener eficacia en diferentes condiciones ambientales, y ser versátil, es decir funcionar como antagonista contra diferentes patógenos (31).

Las levaduras son posibles candidatos para ejercer su función antagónica sobre hongos que causan pérdidas en cultivos como *Botrytis cinerea*. Las levaduras que se encuentran en diferentes hábitat, incluidos frutos o suelo, podrían desarrollar mecanismos que permitan inhibir el crecimiento de estos patógenos. Desde el descubrimiento del potencial de las levaduras como agentes de biocontrol, se ha analizado a profundidad cómo se podría desarrollar bioplaguicidas a base de

levaduras (32). Este tipo de microorganismo puede tener diferentes mecanismos de

acción frente a patógenos, entre ellos se encuentran: competencia por espacio y nutrientes, producción de compuestos orgánicos volátiles (COV), producción de toxinas e inducción de resistencia al huésped (33). Las levaduras requieren nutrientes para su crecimiento, una vez las levaduras antagónicas entran en contacto con los patógenos, ocupan el espacio de las heridas, adquieren los nutrientes del medio y esto limita la germinación de esporas del patógeno, la competencia por nutrientes y espacio se ha considerado como el mecanismo más importante de las levaduras antagonistas. Las levaduras también pueden secretar enzimas que degradan la pared celular de los hongos como:  $\beta$ -1,3-glucanasa, quitinasa y proteasas. Se ha informado que las levaduras producen compuestos orgánicos volátiles, los cuales han demostrado ser influyentes en el control biológico (31); no obstante, es importante seguir investigando y analizando el comportamiento de los COV como agentes de antagonismo, ya que se ha reportado que éstos causan daños en las células bacterianas, haciendo a algunos de estos compuestos tóxicos (34). Un aspecto importante a tener en cuenta es la aplicación de las levaduras, se ha reportado que la aplicación como método preventivo es mucho más eficaz que como tratamiento curativo (35).

Anteriormente, se asociaba a *Saccharomyces cerevisiae* como productora de “toxina asesina”, la cual básicamente inhibía a otros microorganismos, sin embargo, hoy en día se han reportado otras levaduras como productoras de toxinas asesinas, tales como *Cryptococcus*, *Candida*, *Hanseniaspora*, *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Pichia*. Esta actividad asesina comprende la secreción de compuestos volátiles tales como alcoholes, ésteres, terpenos entre otros; o enzimas como  $\beta$ 1-3 Glucanasa, quitinasa que aportan en el control biológico en la degradación de la pared celular de algunos patógenos. Se ha informado además que cepas de levadura han logrado inhibir el crecimiento de hongos patógenos en cultivos y también han contribuido en el crecimiento de las plantas (36).

Con el fin de obtener un control biológico adecuado y eficiente se debe tener en cuenta que las levaduras están expuestas a diversos factores estresantes, como altas temperaturas durante el proceso a gran escala; por consiguiente, identificar y mejorar la tolerancia al estrés mejorar la utilidad del producto y a su vez el

rendimiento de estos microorganismos para las preparaciones comerciales (37).  
Para que el control biológico sea una buena opción deberá cumplir con diferentes

condiciones. Ejemplo de esto es que sea eficaz, es decir, se debe seleccionar un agente de control biológico que tenga una eficacia estable bajo diferentes condiciones ambientales, humedad, textura del suelo, temperaturas extremas y otros factores que puedan generar disturbios (38). Entre estos factores, está que el agente de control biológico logre tener afinidad por el huésped, es decir que el antagonista pueda proliferar en la superficie del huésped de tal manera que impida el crecimiento del patógeno, los cambios de temperatura podrían influir en la disposición del huésped y con esto modificar la eficacia del control biológico y hay que tener en cuenta que el agente biocontrolador no sólo va a interactuar con el patógeno sino también con otros microorganismos presentes en el huésped (39).

Actualmente existen productos comerciales a base de microorganismos tales como hongos, bacterias y levaduras, los cuales se han creado para suplir necesidades específicas en precosecha y post cosecha; sin embargo, no se ha logrado el uso generalizado de un solo producto, se han validado gran variedad de antagonistas y de formulaciones que han llegado al mercado, no obstante, algunos productos fueron retirados, debido a que presentaban un bajo rendimiento, el costo superaba los funguicidas sintéticos, problemas de registro, entre otros (28). Adicionalmente, hay que incrementar los ensayos a nivel *in vivo* y “en campo” con el fin de demostrar su eficacia y que no sea un producto tóxico, para poder comercializarlo y que sea aceptado en las industrias y por los cultivadores (40).

En el caso de los productos comerciales a base de levaduras, hoy en día existen productos registrados, no obstante es un proceso arduo y costoso ya que requiere diferentes ensayos para comprobar su efectividad y no toxicidad. Los productos de primera generación son *Aspire* y *YiedlPlus*, basados en *Candida oleophila* y *C. albicans* respectivamente, sin embargo se han venido retirando del mercado debido a su baja rentabilidad y eficacia inconstante. A pesar de lo anterior, se registró otro producto: *Nexy* basado en *Candida oleophila* con el fin de controlar *Botrytis* en diferentes cultivos como el plátano, el producto se ha expandido, y hoy en día sigue en uso y en comercialización.

En la tabla 2 se presentan los productos comerciales a partir de levaduras.

Tabla 2. Productos comerciales a base de levaduras

<b>Producto</b>	<b>Levadura</b>	<b>Fruta</b>	<b>Patógeno objetivo</b>	<b>Fabricante</b>	<b>En uso</b>
Aspire	<i>Candida oleophila</i>	Drupa, pepita, cítricos, fresa	<i>Botrytis</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Monilinia</i>	Ecogen, EE.UU	No

Blossom Protect	<i>Aureobasidium pullulans</i>	Pepita	<i>Penicillium, Botrytis, Monilinia</i>	Bio-ferm, Austria	Si
Botector	<i>Aureobasidium pullulans</i>	Uva, fresa y tomate	<i>Botrytis cinerea</i>	Bio-ferm, Austria	Si
Candifruit	<i>Candida sake</i>	Pepita	<i>Penicillium, Botrytis, Rhizopus</i>	IRTA/Sipcam- Inagra, España	No
Nexy	<i>Candida oleophila</i>	Pepita, banano, cítricos	<i>Botrytis, Penicillium</i>	Lesaffre, Bélgica	Si
Noli	<i>Metschnikowia fructicola</i>	Fresa, arándano, uva, drupa	<i>Botrytis, Monilinia</i>	Koppert, Países Bajos	Si
Remeo	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Uva	<i>Botrytis, Erysiphe, Plasmopara</i>	BASF/Agrauxine, Francia	Si
Shemer	<i>Metschnikowia fructicola</i>	Pepita, fresa, uva, drupa	<i>Botrytis, Penicillium, Rhizopus, Aspergillus</i>	Bayer/Koppert, Países Bajos	Si
YieldPlus	<i>Cryptococcus albidus</i>	Pepita, cítricos	<i>Botrytis, Penicillium, Mucor</i>	Lallem, África	Sur No

Productos comerciales actuales de control biológico a base de levaduras para controlar patógenos en diferentes furtos. Tomado de (31)

## **3. Objetivos**

### **3.1. Objetivo General**

Realizar una revisión sistemática de literatura sobre la capacidad biocontroladora de levaduras frente al hongo *Botrytis cinerea* en plantas de *Cannabis sativa* L infectadas mediante la recopilación de información en diferentes bases de datos y otras fuentes primarias

### **3.2. Objetivos específicos**

- 1- Recopilar información relacionada con el ataque de *Botrytis cinerea* como agente causal de pérdidas en el cultivo de *Cannabis sativa* L, y de levaduras como posibles agentes para el control biológico en este cultivo.
- 2- Organizar la información relacionada con el uso de levaduras como agentes antagonistas de hongos fitopatógenos con la ayuda de diferentes bases de datos y otras fuentes primarias de búsqueda y estableciendo criterios de inclusión y exclusión
- 3- Analizar la información obtenida para evidenciar si es posible proponer las levaduras como agentes biocontroladores contra *Botrytis cinerea* en plantas de *Cannabis sativa* L.

## 4. Diseño metodológico

En el presente trabajo de investigación se recopiló información publicada sobre el empleo de microorganismos levaduriformes como agentes de control biológico en plantas de *Cannabis sativa* L.

Este trabajo de revisión se realizó de acuerdo con los parámetros establecidos para revisiones sistemáticas en el Método Prisma (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses) (41).

El proyecto se desarrolló en dos etapas. La primera hace referencia a la búsqueda de estudios científicos que den respuesta a la pregunta de investigación; en esta etapa se recolectaron artículos mediante la ayuda de diferentes bases de datos y criterios de selección. La segunda etapa permitió relacionar la información previamente encontrada para sugerir posibles métodos de control biológico en cultivos de *Cannabis sativa* L. Cada etapa a su vez con distintas fases:

### **Etapas 1: Recolección de la información**

#### **a) Bases de datos**

Se realizaron búsquedas en diferentes bases de datos (PubMed, Agrosavia, Springer) principales, y como gestor bibliográfico Mendeley el cual permitió organizar la información y la el cual contempla distintas bases de datos como: Frontiers, ScienceDirect, Google Scholar, EBSCO, GBV, BioMedCentral, SAGE, entre otros.

. La búsqueda se hizo manual con el fin de obtener artículos publicados desde el año 2000, en idioma inglés y español.

#### **b) Selección de estudios**

Como primera medida se seleccionaron los artículos según su resumen o abstract según fuera el caso, con el fin de tener en cuenta artículos que puedan servir para el presente proyecto de investigación.

Para esta fase se tomaron como criterios de inclusión:

- Artículos publicados desde el año 2000
- Artículos donde se haga uso de microorganismos levaduriformes como agentes

de control biológico

- Para la recopilación de artículos publicados se tuvo en cuenta la información sobre levaduras biocontroladoras en diferentes cultivos, tanto frutales como hortícolas.

Para este paso se tomaron como criterios de exclusión:

- Artículos publicados antes del año 2000
- Uso de otros microorganismos diferentes a levaduras para control biológico.
- Para la relación de información encontrada sólo se tuvo en cuenta el cultivo de *Cannabis* como planta medicinal.
- Artículos publicados en idiomas diferente al español o al inglés.

Los artículos con información duplicada, se tomó en cuenta aquel que tuviera un estudio más profundo y reciente.

### **c) Organización de datos**

Se aplicaron los criterios de inclusión y de exclusión, y se descartaron las publicaciones repetidas, se organizó la información encontrada por cada base de datos para lograr establecer los artículos finales que se tuvieron en cuenta para la revisión sistemática.

## **Etapas 2: Relación de la información**

### **d) Análisis de la información**

Una vez establecidos los artículos finales, se extrajo la información de cada una de las publicaciones para relacionarla y dar respuesta al objetivo de investigación.

### **e) Redacción del documento**

Reuniendo las 4 etapas anteriores, se realizó la redacción del documento final con base en las normas exigidas y formatos establecidos.

## 5. Resultados y discusión

Para la recopilación de artículos y publicaciones que proporcionó información para dar respuesta a los objetivos del proyecto de investigación, se tuvieron en cuenta 3 bases de datos (PubMed, Agrosavia, Springer) principales, y como gestor bibliográfico Mendeley el cual permitió organizar la información y la el cual contempla distintas bases de datos como: Frontiers, ScienceDirect, Google Scholar, EBSCO, GBV, BioMedCentral, SAGE, entre otros.

Con el fin de realizar una búsqueda general se establecieron diferentes criterios y palabras clave que permitieron relacionar información para el presente proyecto. Los criterios fueron los siguientes:

- *Botrytis cinerea*
- *Cannabis sativa* L
- Yeast AND biocontrol
- Biological control

Para dar respuesta a los objetivos de investigación se realizó una búsqueda específica en cada base de datos, se aplicaron cuatro (4) criterios, aplicando operadores Boleanos, que relacionaron las variables y temas a tratar en el proyecto. Los criterios fueron los siguientes:

- *Cannabis sativa* L AND *Botrytis cinerea*
- *Botrytis cinerea* AND yeast control
- *Botrytis cinerea* AND *Cannabis sativa* L AND control
- *Botrytis cinerea* AND *Cannabis sativa* L AND yeast control

Primero se realizó la búsqueda general utilizando los criterios mencionados, en la Tabla 3 se presentan los resultados de la búsqueda aplicada sin criterios de inclusión y exclusión.

Tabla 3. Búsqueda avanzada aplicada sin criterios de inclusión y exclusión

	PubMed	Mendeley	Agrosavia	Springer	Otra
<i>Botrytis cinerea</i>	2026	10891	9676	11827	231000
<i>Cannabis sativa</i> L	1760	2969	11282	5624	39900
Yeast AND biocontrol	790	1606	4957	6350	19500
Biologic control	1480238	18255	1811897	1553822	384000
Subtotal	1484814	33721	1837812	1577623	674400
Total			5608370		

Seguido a esto, como se relaciona en la Tabla 4 se aplicaron los criterios de inclusión y exclusión en la búsqueda general.

Tabla 4. Búsqueda avanzada aplicada con criterios de inclusión y exclusión

	PubMed	Mendeley	Agrosavia	Springer	Otra
<i>Botrytis cinerea</i>	1932	3303	8725	8559	72800
<i>Cannabis sativa</i> L	846	813	10761	3719	31300
Yeast AND biocontrol	392	419	4803	5801	19100
Biologic control	529840	4148	482457	824615	285000
Subtotal	533010	8683	506746	842694	408200
Total			2299333		

Como se mencionó, se aplicó una búsqueda avanzada para dar respuesta a los objetivos de investigación. Para esto se aplicaron los conceptos de búsqueda con los operadores Boleanos en cada una de las bases de datos. En la Tabla 5 se presentan los resultados obtenidos sin aplicar criterios de inclusión y exclusión.

Tabla 5. Búsqueda avanzada sin aplicar criterios de inclusión y exclusión

	PubMed	Mendeley	Agrosavia	Springer
<i>Cannabis sativa</i> L AND <i>Botrytis cinerea</i>	8	11	87	48
<i>Botrytis cinerea</i> AND yeast control	136	342	2267	2409
<i>Botrytis cinerea</i> AND <i>Cannabis sativa</i> L control	4	3	45	40
<i>Botrytis cinerea</i> AND <i>Cannabis sativa</i> L yeastcontrol	0	0	11	17
Subtotal	148	356	2410	2514
Total			5428	

En la Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos por cada criterio de búsqueda avanzada para cada base de datos seleccionada aplicando los criterios de inclusión y exclusión

Tabla 6. Búsqueda avanzada aplicada con criterios de inclusión y exclusión

	PubMed	Mendeley	Agrosavia	Springer
<i>Cannabis sativa</i>	6	6	27	4
<i>L AND Botrytis cinerea</i>				
<i>Botrytis cinerea</i>	14	98	694	356
AND				
yeast control				
<i>Botrytis cinerea</i>	3	3	3	4
AND				
<i>Cannabis sativa</i>				
L control				
<i>Botrytis cinerea</i>	0	0	0	3
AND				
<i>Cannabis sativa</i>				
L yeastcontrol				
Subtotal	23	107	724	367
Total			1221	

Finalmente, en la Tabla 7 se presenta la cantidad de artículos escogidos para la revisión sistemática.

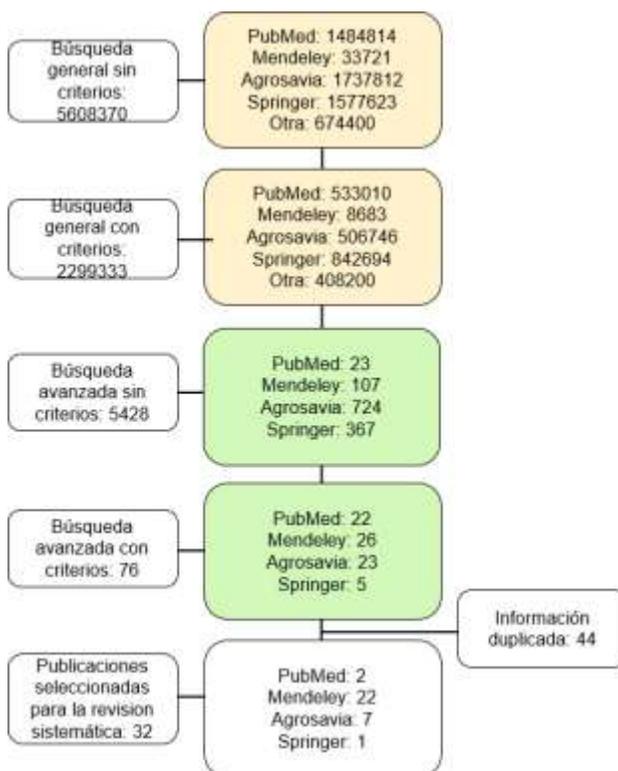
Tabla 7. Artículos escogidos por cada base de datos en inglés

	PubMed	Mendeley	Agrosavia	Springer
<i>Cannabis sativa</i> L AND <i>Botrytis cinerea</i>	4	5	3	1
<i>Botrytis cinerea</i> AND yeast control	16	18	17	3
<i>Botrytis cinerea</i> AND <i>Cannabis sativa</i> L control	2	3	3	1
<i>Botrytis cinerea</i> AND <i>Cannabis sativa</i> L yeast control	0	0	0	0
Subtotal	22	26	23	5
Total 1			76	
Información repetida			44	
Total 2			32	

En cada base de datos se aplicaron los cuatro criterios de búsqueda. Posteriormente, se aplicaron los criterios de año de publicación (2000-2022), idioma inglés y español y acceso abierto.

Con los filtros aplicados, se procedió a leer cada uno de los artículos arrojados en cada base de datos, y se seleccionaron aquellos que contenían los criterios en el título y resumen. Si el artículo cumplía con la información que permitía dar respuesta al objetivo del proyecto de investigación, se agregaba a la biblioteca de cada base de datos. En la Figura 5 se presenta el esquema metodológico aplicado para la recolección de artículos utilizados en la presente revisión.

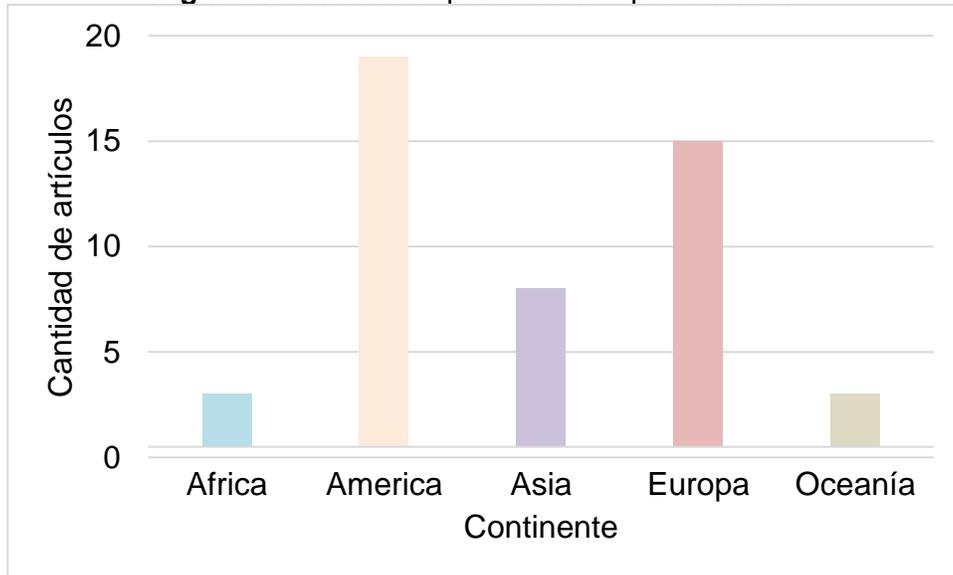
**Figura 5.** Diagrama de flujo de proceso para selección de artículos



Esquema de proceso para la selección de los artículos partiendo de cada base de datos. Fuente: Autor

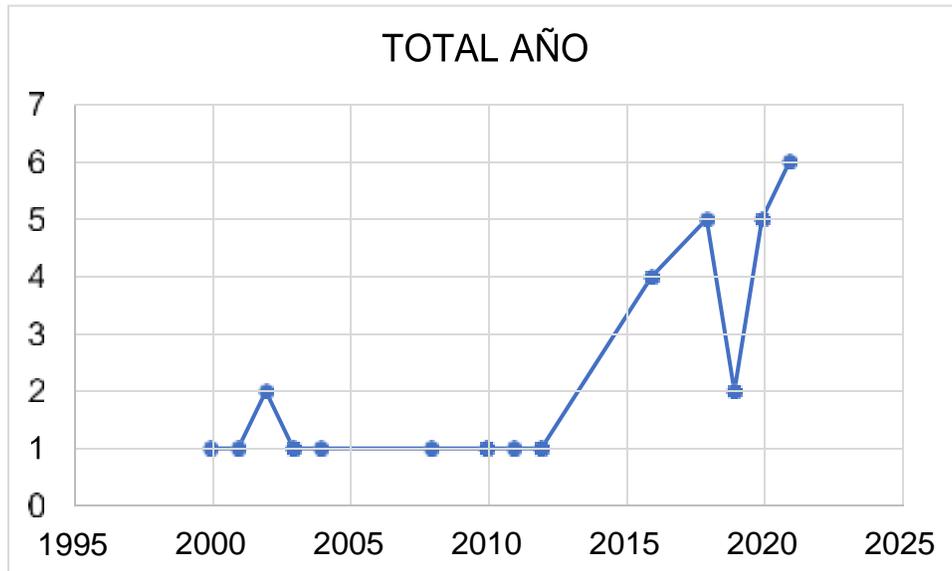
Con la información recolectada, se hizo un análisis estadístico descriptivo utilizando gráficas donde se relaciona la cantidad de publicaciones encontradas por continente. La Figura 6 evidencia que la mayoría de las publicaciones elegidas pertenecen al continente americano, seguido por el continente europeo. La menor cantidad de publicaciones se encuentran en Oceanía y África. La elevada cifra de publicaciones en América significa un potencial alto de estudio y que se puede fortalecer con la presente revisión.

**Figura 6.** Cantidad de publicaciones por continente



Representación del total de artículos encontrados relacionado por cada continente. Fuente: Autor  
De igual manera, se analizó la cantidad de publicaciones encontradas por año como se relaciona en la Figura 7.

**Figura 7.** Cantidad de publicaciones por año

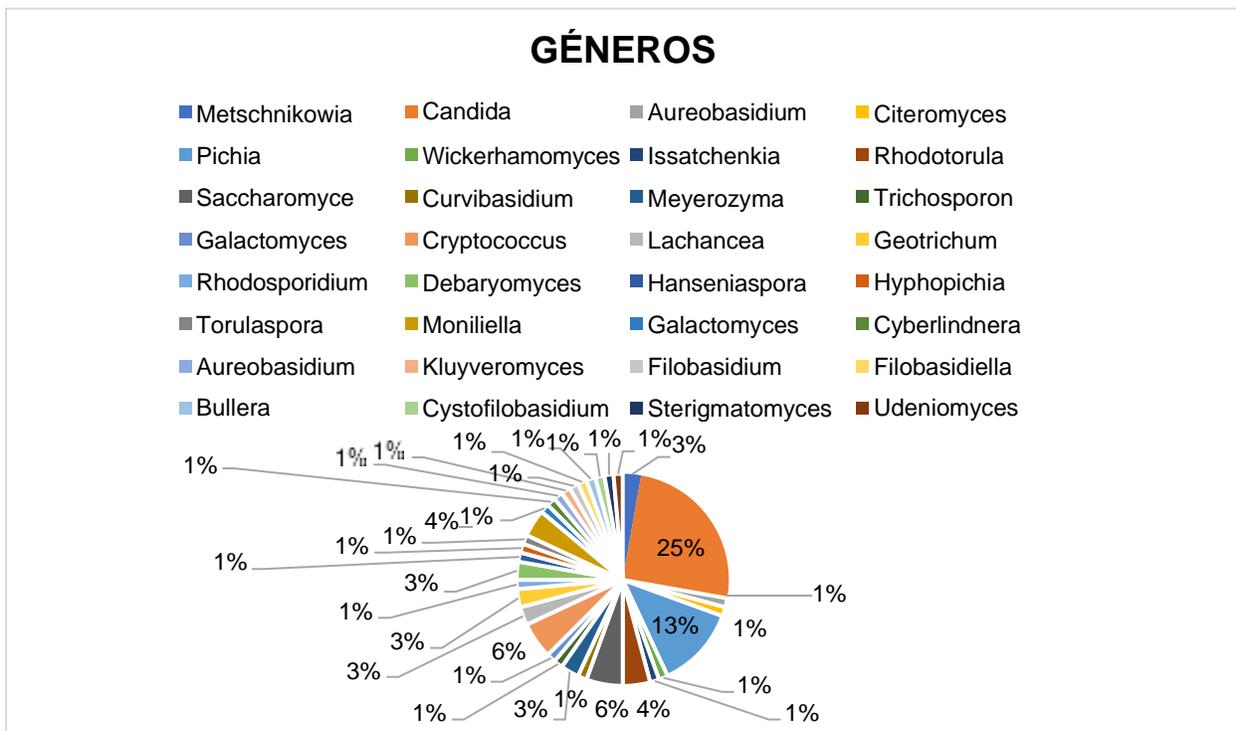


Representación del total de artículos encontrados relacionado por cada año. Fuente: Autor

Según los resultados obtenidos, la mayor cantidad de artículos recopilados fueron publicados en el 2021. Adicionalmente, se evidencia que hubo un crecimiento para el total de publicaciones a partir del año 2018. No hubo descenso de publicaciones en el año 2020, teniendo en cuenta la pandemia generada por el COVID-19.

Con la información recopilada se logró hallar un total de 72 especies de levaduras , pertenecientes a 32 géneros diferentes (Figura 8) utilizadas en los artículos, sin embargo, no todas fueron usadas para comprobar la eficacia del biocontrol, unas de ellas tuvieron mas profundidad en el análisis y estos resultados se describirán más adelante.

**Figura 8.** Gráfico de géneros encontrados



Como se muestra en la Tabla 9 y en la Figura 8. Gráfico de géneros encontrados, la mayor cantidad de especies encontradas pertenecen al género *Candida*, seguido por el género *Pichia*, sin embargo, la levadura que más se repitió en las referencias utilizadas para el presente proyecto pertenece al género *Metschnikowia*, resultados que se describirán más adelante.

Del total de referencias incluidas en relación con el estudio de levaduras como agentes de control biológico, 15 de ellas, es decir el 63% utilizó levaduras epífitas de diferentes hospederos Tabla 10. Levaduras epífitas encontradas en las referencias Tabla 10).

Tabla 8. Levaduras epífitas encontradas en las referencias

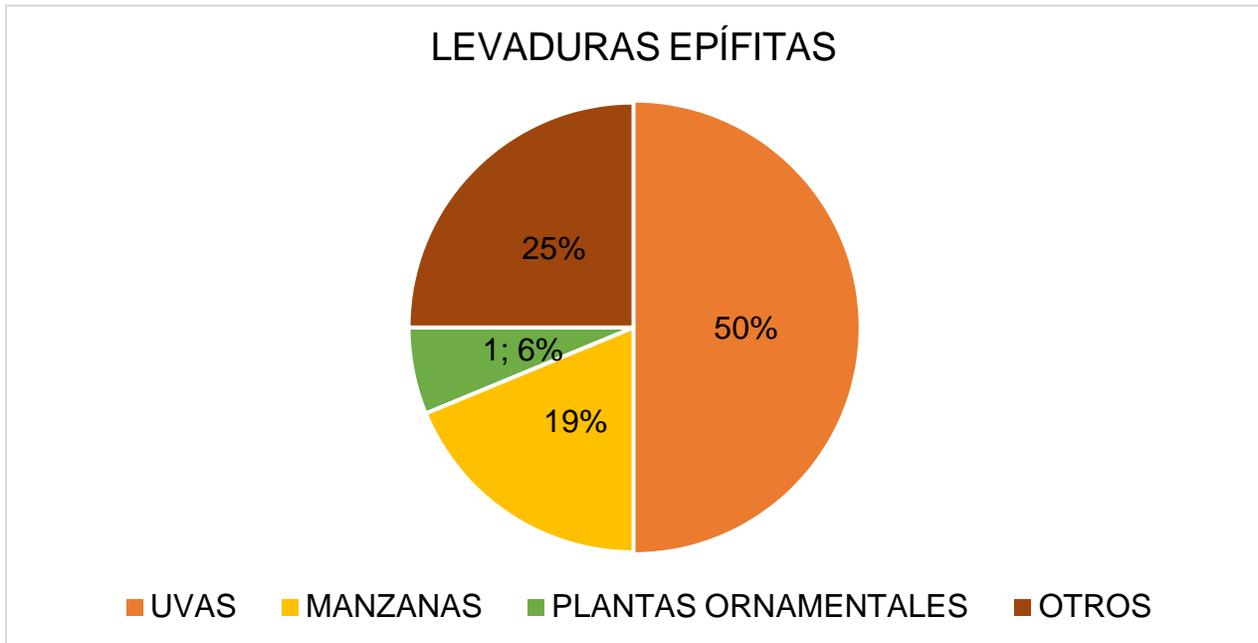
<b>HUÉSPED</b>	<b>REFERENCIAS</b>	<b>LEVADURAS</b>
<b>MANZANAS</b>	Amina, Zouaoui, Essghaier (2018); Masih, Alie, Paul (2018); Navarta, Calvo, Posetto, Benuzzi, Sanz (2020)	<i>A. pululanos</i> , <i>C. matritensis</i> , <i>C. flavescens</i> , <i>Pichia anomala</i> , <i>Cryptococcus laurentii</i>
<b>UVAS</b>	Csutak, Vassu, Sarbu, Stoica, Cornea (2012); Fernandez, Larraya, Farran, Ancin, Veramendi (2021); Wang (2018); Masih, Deschaumes, Marmaras, Barka, Vernet, Charpentier, Adholeya, Paul (2001); Kasfi, Taheri, Jafarpor, Tarighi (2018); Vargas, Zapata (2012); Marisco, Velenosi, Perniola, Bergamini, Sinonin, Vaizant, Maggiolini, Herve, Cardone, Ventura (2021); Choinska, Piasecka, Chablowska, Dumka, Lukaszewicz (2020)	<i>Pichia fermentans</i> , <i>Issatchenkia terricola</i> , <i>Wickerhamomyces anomalus</i> , <i>Metschnikowia pulcherrima</i> , <i>Rhodotorula glutinis</i> , <i>Candida saitoana</i> , <i>Curvibasidium pallidicorallinum</i> , <i>Metschnikowia chrysoperlae</i> , <i>Meyerozyma guilliermondii</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>y Wickerhamomyces</i> , <i>Pichia membranifaciens</i> , <i>Candida membranifaciens</i> , <i>Issatchenkia terricola</i> , <i>Lachancea thermotolerans</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Candida stellimalicola</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Pichia kudriavzevii</i> , <i>Pichia occidentalis</i> , <i>y Meyerozyma guilliermondii</i>
<b>CEREZAS</b>	Csutak, Vassu, Sarbu, Stoica, Cornea (2012)	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>
<b>PLANTAS ORNAMENTALES</b>	Buck (2003)	<i>Rhodotorula glutinis</i>

---

<b>OTROS</b>	Gentina, Briceño, Hen, Montenegro (2019); (2002); Chen, Chen, Chou (2018); Santos, Sanchez, Marquina (2004)	Hen, Buck (2002); Chen, Chou (2018); Sanchez, Marquina (2004)	<i>R. mucilaginosa</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida stellimalicola</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>P. membranifaciens</i>
--------------	---	---	--

Como se evidencia en la Figura 10, el 50% de las referencias utilizó levaduras aisladas de uvas, el 19% de manzanas, el 6% de cerezas y el 25% de otro tipo de huéspedes, donde incluyen: vino, flores, bebidas, alimentos, geranio, murta, aceitunas.

**Figura 9.** Gráfico de levaduras epífitas en las referencias



La información relacionada comprende levaduras epífitas extraídas de la superficie de los frutos específicamente. Esta información es relevante ya que sugiere que levaduras endófitas que albergan distintos frutos o plantas podrían ser beneficiosas y lograr mitigar la incidencia de patógenos.

Con las referencias relacionadas, se analizó el tipo de ensayo empleado para comprobar el control biológico que ejercían los diferentes tipos de levadura (Tabla 9).

Tabla 9. Tipo de ensayo empleado

TIPO DE ENSAYO	REFERENCIAS	LEVADURAS
<b>IN VIVO</b>	Wilson, Wisniewski (2003); Cook (2002); Navarta, Calvo, Posetto, Benuzzi, Sanz (2020); Fiori, Fadda, Giobbe, Berardi, Migheli (2008); Bautista, Barbosa, Uribe (2016)	<i>C. saitoana</i> , <i>Candida sake</i> , <i>C pulcherrima</i> , <i>Trichosporon pullulans</i> , <i>Galactomyces geotrichum</i> , <i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Pichia angusta</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>

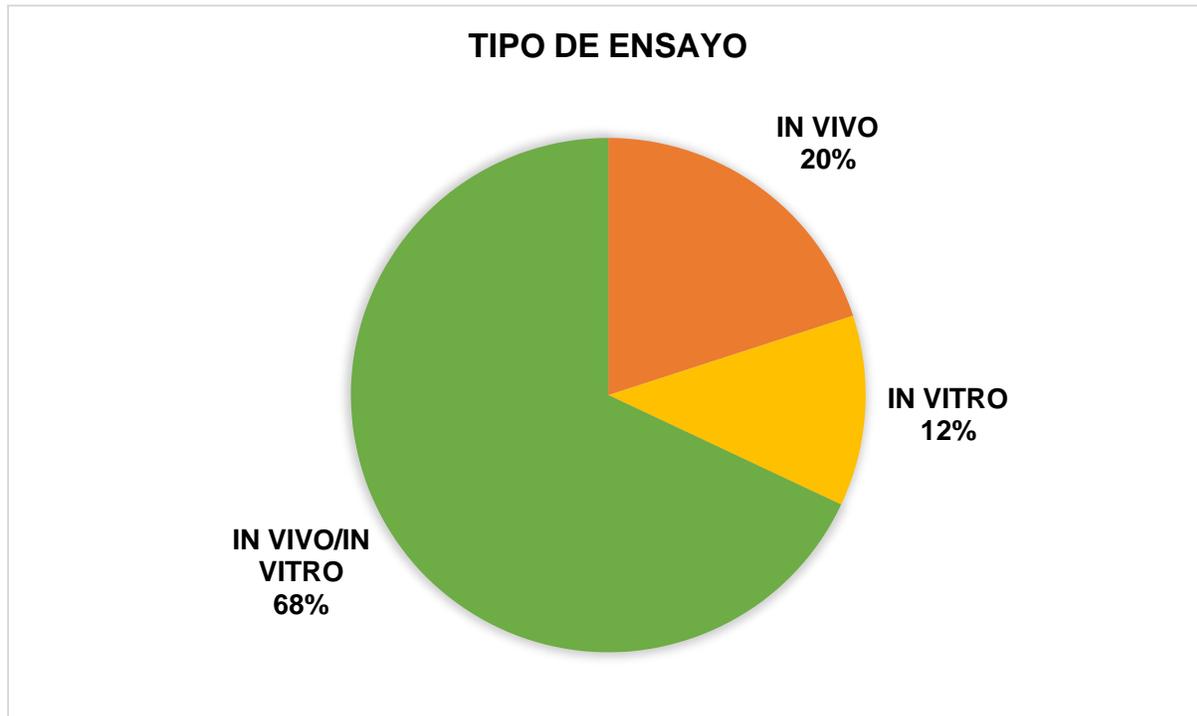
**IN VITRO-IN VIVO** Amina, Zouaoui, Essghaier A. *pululanos*, C. *matritensis* C. *flavescens*, (2018); Mewa, Silas, Plessis, *Pichia kluyveri*, *Pichia fermentans*, *Issatchenkia* Ntwampe (2021); Fernandez, *terrícola*, *Wickerhamomyces anomalus*, R. Larraya, Farran, Ancin, *mucilaginoso*, *Rhodotorula glutinis* Y, Veramendi (2021); Gentina, *Aureobasidium pullulans*, *Candida oleophila*, Briceño, Hen, Montenegro *Pichia guilliermondii*, *Saccharomyces* (2019); Li, Peng, Tian (2016); *cerevisiae*, *Candida saitoana*, *Curvibasidium* Raspor, Miklic, Avbelj, Cadez *pallidicorallinum*, , *Metschnikowia chrysoperlae*, (2010); Wang (2018); Masih, *Meyerozyma guilliermondii*, *Saccharomyces* Alie, Paul (2000); Masih, *cerevisiae*, *Pichia anómala*, *Pichia* Deschaumes, Marmaras, *membranifaciens* , *Candida intermedia*, Barka, Vernet, Charpentier, *Meyerozyma guilliermondii*, *Candida* Adholeya, Paul (2001); Huang, *membranifaciens*, *Issatchenkia terrícola*, Li, Zhang, Yang, Che, Jiang, *Metschnikowia pulcherrima*, *Lachancea* Huang (2011); Kasfi, Taheri, *thermotolerans*", *Cryptococcus albidus*, Jafarpor, Tarighi (2018); *Candida parapsilosis*, *Aureobasidium pullulans*, Vargas, Zapata (2012); *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida* Marisco, Velenosi, Perniola, *stellimalicola*, *Geotrichum candidum*, P. Bergamini, Sinonin, Vaizant, *membranifaciens* Maggiolini, Herve, Cardone, Ventura (2021); Feng, Lv, Li, Li, Liu, Chen, Zhang, Chen, Wang (2021); Chen, Chen, Chou (2018); Santos, Sanchez, Marquina (2004); Buck (2003)

---

**IN VITRO** Csutak, Vassu, Sarbu, Stoica, *Metschnikowia pulcherrima*, *R. glutinis*, *Pichia* Cornea (2012); Buck (2002); *kudriavzevii*, *Pichia occidentalis*, *Meyerozyma* Choinska, Piasecka, *guilliermondii* Chablowska, Dumka, Lukaszewicz (2020)

De las 24 referencias relacionadas con control biológico, 3 utilizaron sólo ensayo *in vitro* e *in vitro*, siendo el 12% del total, 5 utilizaron sólo ensayo *in vivo*; lo cual representa el 20% y el 68% utilizaron ambos tipos de ensayos, es decir 17 referencias (Figura 10).

**Figura 10.** Gráfico del tipo de ensayo empleado



Esta información es relevante ya que el control biológico puede verse alterado dependiendo del tipo de ensayo y del tipo de hospedero donde se pruebe. Es decir, en los cultivos *in vitro* las condiciones pueden ser adaptadas y/o modificadas, y a nivel *in vivo* las condiciones serán más aproximadas del comportamiento real del control biológico.

A su vez, se enlistó y se analizaron qué hospederos se utilizaron para los *ensayos in vivo*. En las referencias se identificaron huéspedes como: uva, manzana, fresa, pera, kiwi, tomate cherry, judías, rosas (Tabla 10).

Tabla 10 . Tipo de huésped utilizado en las referencias

HUESPED	REFERENCIAS	LEVADURAS
<b>UVA</b>	Raspor, Miklic, Avbelj, Cadez(2002); Wang (2018); Masih, Alie, Paul (2000); Masih, Deschaumes, Marmara s, Barka, Vernet, Charpentier, Adholeya, Paul (2001); Kasfi, Taheri, Jafarpor, Tarighi; Vargas, Zapata (2002); Marisco, Velenosi, Perniola, Bergamini, Sinonin, Vaizant, Maggiolini, Herve, Cardone, Ventura (2001)	<i>Pichia kluyveri.</i> , <i>Pichia fermentans</i> , <i>Issatchenkia terricola</i> , <i>Wickerhamomyces anomalus</i> , <i>Metschnikowia pulcherrima</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Candida oleophila</i> , <i>Metschnikowia pulcherrima</i> , <i>Pichia guilliermondii</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida saitoana</i> , <i>Curvibasidium</i> , <i>pallidicorallinum</i> , <i>Metschnikowia chrysoperlae</i> , <i>Pichia anomala</i> , <i>Pichia membranifaciens</i> , <i>Meyerozyma guilliermondii</i> , <i>Candida membranifaciens</i> , <i>Issatchenkia terricola</i> , <i>Lachancea thermotolerans</i>
<b>MANZANA</b>	Wilson, Wisniewski (2003); Amina, Zouaoui, Essghaier (2018); Mewa, Silas, Plessis, Ntwampe (2021); Gentina, Briceño, Hen, Montenegro (2019); Li, Peng, Tian (2016); Navarta, Calvo, Posetto, Benuzzi, Sanz (2020); Fiori, Fadda, Giobbe, Berardi, Migheli (2008); Santos, Sanchez, Marquina (2004)	<i>C. saitoana</i> , <i>A. pululanos</i> , <i>C. matritensis</i> <i>C. flavescens</i> <i>Pichia kluyveri</i> , <i>R. mucilaginosa</i> , <i>Rhodotorula glutinis</i> , <i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Pichia angusta</i> , <i>P. membranifaciens</i>
<b>FRESA</b>	Huang, Li, Zhang, Yang, Che, Jiang, Huang (2011); Chen, Chen, Chou (2018)	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida stellimalicola</i> , <i>Geotrichum candidum</i>
<b>PERA</b>	Mewa, Silas, Plessis, Ntwampe(2021)	<i>Pichia kluyveri</i>
<b>KIWI</b>	Cook (2002)	<i>Candida sake</i> , <i>C. pulcherrima</i> , <i>Trichosporon pullulans</i> , <i>Galactomyces geotrichum</i>
<b>ROSA</b>	Bautista, Barbosa, Uribe(2016)	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
<b>GERANIO</b>	Buck (2003)	<i>Rhodotorula glutinis</i>

**TOMATE  
CHERRY**

Fernandez, Larraya,  
Farran,  
Ancin, Veramendi (2021)

*Pichia fermentans, Issatchenkia terrícola,  
Wickerhamomyces anomalus,  
Metschnikowiapulcherrima*

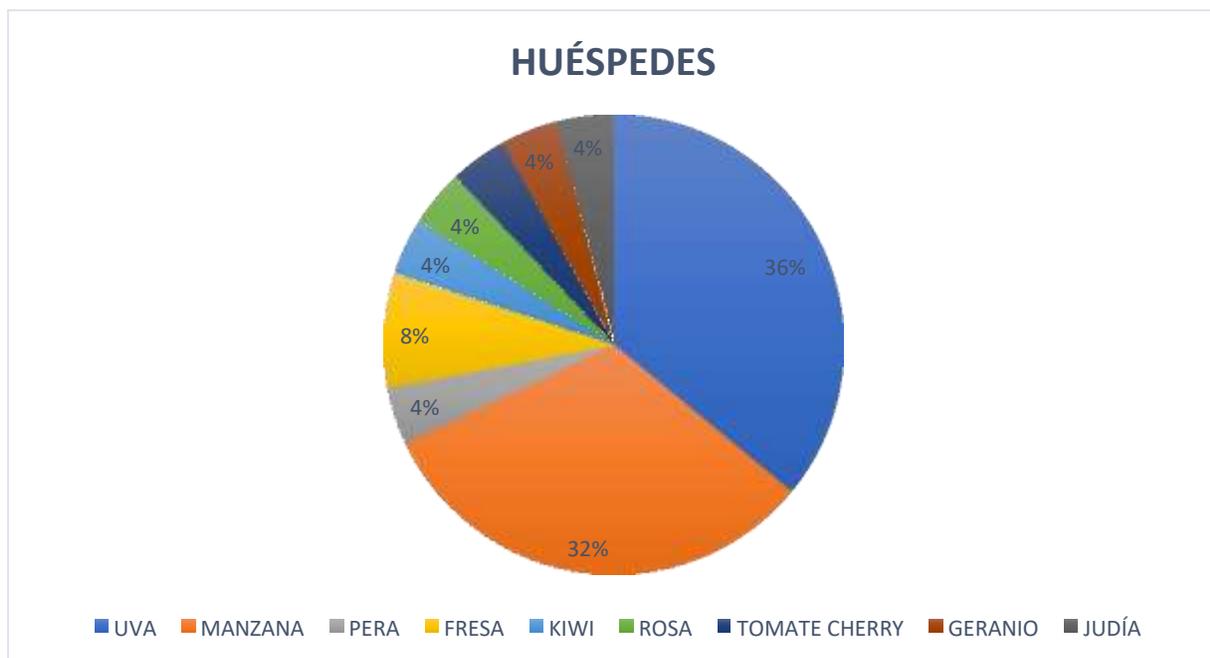
**JUDÍA**

Feng, Lv, Li, Li, Liu,  
Chen,  
Zhang, Chen, Wang (2021)

*Cryptococcus albidus, Candida parapsilosis*

La uva y la manzana fueron los frutos que más se utilizaron en las referencias consultadas, la uva con un 38% y la manzana con un 34%, los demás hospederos tuvieron un porcentaje menor al 10% (Figura 11). Estos resultados sugieren que hay una tendencia de usar frutos para este tipo de ensayo y haría falta profundizar en el uso de otro tipo de candidato a utilizar; sería interesante seguir innovando en estos proyectos y el uso de *Cannabis sativa* L podría ser un ensayo completamente innovador.

**Figura 11.** Gráfico de huésped utilizado en las referencias



Adicional a la información descrita, se analizaron aspectos importantes como los mecanismos de acción que tienen las levaduras como agentes antagonistas del hongo *Botrytis cinerea*, y, otros aspectos de relevancia que intervienen en el control biológico por las especies de levadura.

Las levaduras pueden ejercer el control biológico de forma directa, como la competencia por nutrientes, producción de compuestos o enzimas que inhiben el desarrollo del patógeno, o de forma indirecta, como la estimulación de defensa en las plantas (33).

### **Competencia por nutrientes**

Con relación a los mecanismos de biocontrol por parte de las levaduras, uno de los métodos reportado fue la competencia por nutrientes, estos resultados fueron demostrados por los autores Raspor et al, dónde se compararon varias especies de levaduras presentes en la uva como antagonistas del hongo *Botrytis cinerea*. En este estudio, se confirmó que algunas cepas de levadura de *Aureobasidium pullulans*, *Metschnikowia pulcherrima* y *Pichia guilliermondii* tuvieron un comportamiento inhibitor potencial en cinco medios diferentes a comparación de *C. oleófila*, la cual es una levadura de biocontrol disponible comercialmente. También se confirmó que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* exhibió un comportamiento inhibitor excelente (superior al 80%) en un medio similar al jugo de uva, lo que confirma el objetivo específico de esta levadura contra *Botrytis cinerea* en este fruto (42). Adicional a esto, algunas cepas de levaduras tienen fijación por un nutriente en específico, como sucede con la levadura *Metschnikowia pulcherrima*, microorganismo que capta hierro en los medios, reduciendo la cantidad de este nutriente, y con esto, inhibiendo el crecimiento micelial del patógeno (43) (12) también lo demostró, ya que se hicieron ensayos *in vitro e in vitro* y cuando uno de los medios estaba suplementado con cloruro de hierro, la inhibición del crecimiento de cepas fúngicas fue inactivada por la presencia de este nutriente.

### **Producción de enzimas**

La producción de enzimas que degradan la pared celular de los hongos también es un mecanismo reportado por parte de las levaduras, tal es el caso de la levadura *Candida saitoana*, la cual es capaz de producir B-1,3-Glucanasa y quitinasa, al ser enfrentada

contra el hongo *Botrytis cinerea* (44), *L. thermotolerans* produce pectinasa y lipasa; y en el caso de *Metschnikowia pulcherrima* logra producir enzimas como  $\beta$ -1,3-glucanasa, pectinasa y proteasa, (Marsico *et al*). Aunque se ha verificado que cepas de levaduras podrían mostrar actividad enzimática, algunas de ellas podrían no crecer en medios con sustratos relacionados con la pared celular de los hongos como única fuente de carbono (quitina, glucano, quitosano, entre otros); es posible que algunas cepas de levadura no tengan esta característica, y más bien utilicen otro mecanismo para atacar al patógeno (45).

### **Producción de Compuestos Orgánicos Volátiles (COV)**

Los Compuestos Orgánicos Volátiles son compuestos de bajo peso molecular que algunos microorganismos exhiben en sus diferentes ciclos de vida. La acción de algunos compuestos orgánicos volátiles podría ejercer un control sobre el crecimiento del micelio y la germinación de los conidios de *B cinérea*. Un ejemplo de este comportamiento se evidenció en *Candida intermedia*, levadura que logró controlar el patógeno en más del 80% por parte de los compuestos orgánicos volátiles (46). Cepas de las levaduras *C. membranifaciens* y *M. guilliermondii* tuvieron capacidad de producir metabolitos volátiles y además inhibieron el crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* en un 75.4% (47); pese a lo anterior, se deberían seguir realizando más estudios sobre el comportamiento de los compuestos orgánicos ya que como menciona Choinska, al enfrentar los compuestos orgánicos de tres especies de levaduras diferentes (*Pichia occidentalis*, *Pichia kudriavzevii* y *Meyerozyma guilliermondii*), el porcentaje de inhibición fue aproximadamente el 11%, resultado que no tiene mayor relevancia (48).

A pesar de lo anterior, algunos autores resaltan que es importante continuar con la investigación profunda para catalogar a los Compuestos Orgánicos Volátiles como agentes de control biológico, ya que hay incoherencia en los resultados y no todos los compuestos emitidos por las levaduras ejercen un control biológico eficaz sobre *Botrytis cinerea*.

### **Producción de enzimas generadoras de defensa en plantas**

Se verificó que la expresión de enzimas que ayudan a la defensa de la planta ante agentes fitopatógenos sería un mecanismo de biocontrol, en el caso de *Cryptococcus albidus* y *Candida parapsilosis* son levaduras capaces de producir enzimas como la catalasa y la a fenilalanina amonialiasa (49); lo que quiere decir que el control con estas levaduras podría estimular la producción de enzimas que confieren defensa a las plantas, entendiéndose como un mecanismo de control biológico.

Se observa entonces que es probable que no todas las levaduras expresen mecanismos similares de acción contra patógenos, de hecho se ha determinado que algunas levaduras tienen potencial de producir compuestos volátiles y otras de producción de enzimas específicas que degradan la pared de los hongos; de hecho se verificó que *Saccharomyces cerevisiae* tiene un excelente comportamiento como antagonista, no demuestrala secreción de enzimas hidrolíticas, lo que quiere decir que esta levadura es capaz de inhibir *Botrytis cinerea* utilizando otro tipo de mecanismo (50) .

Se comprueba, entonces, que las levaduras pueden actuar de diferentes formas para lograr reducir o incluso eliminar el desarrollo de *Botrytis cinerea* en diferentes huéspedes. Estos resultados evidencian que es necesario analizar las diferentes especies de levaduras y su comportamiento como antagonista para aplicar en plantas de *Cannabis sativa* L. Adicionalmente, se encontró que otros aspectos influyen en la capacidad de biocontrol, los cuales se describen a continuación.

### **Concentración de levaduras**

Podría existir una relación directamente proporcional entre la concentración de levaduras y la capacidad de ejercer biocontrol en *Botrytis cinerea* (51) donde se demostró que al inocular la levadura *Issatchenkia terricola* a diferentes concentraciones, la de mayor concentración obtuvo un mejor desempeño como antagonista contra el hongo; el mismo comportamiento se precisó con *Rhodotorula glutinis* (52); no obstante, se logró identificar que no siempre este comportamiento es constante al inocular *Metschnikowia pulcherrima* y *Lachancea thermotolerans* a concentraciones menores a las reportadas ( $1 \times 10^4$  células/ml) y su antagonismo fue casi el 100% (53).

Lo anterior es bastante importante, porque no se puede generalizar el comportamiento de las levaduras con un solo experimento; se debe conocer el comportamiento de cada levadura a diferentes concentraciones porque podría influir en el nivel de biocontrol logrado por cada una. Además, porque se podrían optimizar los costos a la hora de generar un producto final de control biológico, si algunas cepas ejercen antagonismo a un alto nivel, a bajas concentraciones.

## **Genética de levaduras**

Un factor importante en el comportamiento antagonista de las levaduras es su genética, esto se confirmó cuando se realizó una mutación de la levadura *Rhodotorula glutinis* creando una cepa que no se adhiere al hongo *Botrytis cinerea*, la cepa mutante tuvo un antagonismo menor a la cepa de tipo salvaje, esto quiere decir que la característica de adherencia de esta levadura le confiere mejor comportamiento como controladora biológica (54).

De aquí se obtiene información relevante a tener en cuenta a la hora de seleccionar levaduras para el biocontrol de *Botrytis cinerea* en *Cannabis sativa* L, la genética de cada levadura puede influir en su efectividad en control biológico.

## **Temperatura**

El efecto inhibitorio de las levaduras dependería de la temperatura a la que se encuentren. Esto se comprobó con la levadura *Issatchenkia terricola*, cuando se inocularon dos cepas diferentes a temperaturas distintas; una de estas cepas obtuvo mejores resultados a una temperatura mayor, sin embargo, la otra obtuvo un mejor antagonismo a temperaturas menores (51).

Esto quiere decir que los requerimientos o factores ambientales de las levaduras son factores fundamentales para el incremento del antagonismo; es importante analizar cuál sería la temperatura adecuada de las levaduras para lograr obtener un resultado bastante satisfactorio con control biológico.

## **Levaduras epífitas**

Se logró comprobar que diferentes especies de levaduras aisladas de diferentes huéspedes, como frutos y plantas lograron actuar como agentes de control biológico contra *Botrytis cinerea*. Muchas fueron aisladas del fruto como fue el caso de la uva y la manzana. Por otra parte, algunas especies de levadura se hallaron en más de un fruto, tal es el caso de *Rhodotorula glutinis*, especie que logró controlar al patógeno en un 95% (54); en el caso del hongo similar a la levadura, *Aureobasidium pullulans*, quien tuvo un comportamiento inhibitorio en manzanas superior al 70% (55), *Pichia anomala*, se aisló tanto de uvas como de manzanas, donde mostró

una inhibición de casi el 100% en uvas (56), y en el caso de *Metschnikowia pulcherrima* presentó un control del 97% en tomates (57).

La información anterior, demuestra que levaduras epífitas tienen potencial como agentes de control biológico contra *Botrytis cinerea*; de hecho se demuestra que levaduras aisladas de frutos son capaces de ejercer antagonismo en los mismos frutos, esta información es relevante ya que un primer acercamiento sería lograr aislar las levaduras epífitas del filoplano de la planta de *Cannabis sativa* L, particularmente de los tallos, brotes y flores de plantas sanas para comprobar si podrían servir como potenciales biocontroladoras.

### **Diferentes cepas de levaduras**

Se determina entonces que cepas diferentes de una misma especie de levadura pueden desempeñarse de diferente manera como antagonistas. En el caso de *Issatchenkia terricola* al demostrarse que distintas cepas, a temperaturas distintas ejercen control biológico diferente (51). Esto se demuestra también con cepas de *Metschnikowia pulcherrima*, donde las diferentes cepas mostraron antagonismo diferente (53).

### **Tratamiento preventivo**

La aplicación de levaduras debe realizarse antes de que las plantas inicien su infección con *Botrytis cinerea*. En experimentos *in vitro* e *in vivo* controlados se pueden hacer aplicaciones al tiempo de antagonista y patógeno o primero el antagonista y luego el patógeno como se demostró con la levadura *Issatchenkia terricola*, en donde al inocular la levadura a nivel *in vivo* en uvas 24 horas antes del patógeno, la eficiencia fue de aproximadamente 90% a comparación de la inoculación una hora antes del patógeno, generando una eficiencia del 40% (51). Esto mismo se comprobó con manzanas y peras al inocular 24 horas antes la levadura *Pichia kluyveri*, se obtuvieron eficiencias superiores al 90% en comparación a la inoculación después de la infección, donde los porcentajes de antagonismo no superaron el 60% (58). Se comprobó también que el incremento de lapso de tiempo de 48 y 72 horas de inoculación antes del patógeno podría influir aún más en el porcentaje de inhibición del hongo (44).

Evidentemente, esto significa que como se afirma en la primera frase, la capacidad de las levaduras de ejercer un control biológico debe ser preventiva y no cuando ya aparezca el hongo patógeno. Según los datos analizados, en el caso de la planta *Cannabis sativa* L, la opción más

viable sería aplicar las levaduras en la etapa final de la etapa vegetativa, ya que en la floración es cuando la incidencia del hongo *Botrytis cinerea* es alta.

### **Combinación con fungicidas**

Si bien es cierto, lo ideal sería mitigar o incluso eliminar el uso de fungicidas; no obstante se ha identificado que al combinar fungicidas con especies de levaduras, se puede incrementar el control biológico. Se comprobó que especies como: *Candida saitoana*, *Curvibasidium pallidicorallinum*, *Metschnikowia chrysoperlae*, *M. pulcherrima*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Saccharomyces cerevisiae*, y *Wickerhamomyces anomalus* y un hongo que es similar a las levaduras: *A. pululanos*, lograron crecer en un fungicida específico, esto quiere decir que este tipo de levaduras tienen viabilidad de crecimiento en fungicidas sin causar alteraciones y se pueden usar para inhibir el hongo *Botrytis cinerea* (59). Se comprobó que la levadura *Rhodotorula glutinis*, al combinarse con fungicida mostró un control biológico superior al 85% a comparación de cuando se inoculó la levadura sola, mostrando un control del 50% aproximadamente (52). A pesar de estos resultados, la aplicación de fungicidas debe realizarse en diferentes momentos que las levaduras, para evitar que si es sensible al químico la levadura no se vea afectada y pueda ejercer su control biológico.

### **Ensayos en plantas**

Se identificó que dos especies de levaduras pertenecientes al género *Rhodotorula* (*Rhodotorula glutinis* y *Rhodotorula mucilaginosa*) se ensayaron en plantas de geranio y en rosas respectivamente. En el caso de *Rhodotorula glutinis* logró reducir la enfermedad por *Botrytis cinerea* en un 85% en hojas de geranio (60) y en el caso de *Rhodotorula mucilaginosa* cuando se aplicó como formulación en base sólida logró disminuir los síntomas de la enfermedad en un 39% (52).

Estos resultados son importantes ya que estos estudios fueron realizados en huéspedes en donde se presenta la enfermedad en las flores, como se ha visto en *Cannabis sativa* L. Teniendo en cuenta que no se ha publicado información sobre el uso de microorganismos levaduriformes para el control biológico de *Botrytis cinerea* en plantas de *Cannabis sativa*, estos ensayos abren una puerta para el posible tratamiento y

aplicación de levaduras para mitigar la enfermedad producida por *Botrytis cinerea*.

## **Formulación de levaduras**

Se ha reportado que existen diferentes opciones para fabricar productos a base de levaduras que se puedan utilizar en cosecha o postcosecha. Un método alternativo sería crear mezclas con diferentes microorganismos que ejerzan un control biológico frente a *Botrytis cinerea*. Así lo plantearon Navarta *et al*, con la obtención por liofilización de una formulación mixta seca que contiene dos agentes de control biológico, la bacteria *Kosakonia radicincitans* y la levadura *Cryptococcus*. Se pudo evidenciar que la mezcla liofilizada tuvo un mayor efecto que cuando se usaron los agentes de biocontrol por separado, no obstante, la mezcla que contenía más proporción de levadura fue más efectiva (61). El secado por aspersion para obtener un polvo de levadura sería otra metodología para poder aplicarlo en los cultivos con el fin de inhibir el crecimiento del fitopatógeno *Botrytis cinerea*; las condiciones para realizar el producto de levadura son importantes ya que de esto depende la tasa de supervivencia y el porcentaje de humedad. Los autores señalaron que en los ensayos *in vivo* el polvo de levadura inhibió la enfermedad del hongo *B. cinerea* en un 94% (62). Otra formulación de levadura podría ser en base sólida, el autor realizó un prototipo de formulación de levadura *Rhodotorula mucilaginosa* con una mezcla de polímeros y un azúcar como agente nucleador para evaluar la eficacia como agente controlador sobre *Botrytis cinerea* en rosas. Esta formulación logró disminuir los síntomas de la enfermedad en un 39% (63). Finalmente, otra formulación sería un polvo de levadura, donde la levadura que tuvo el mejor efecto fue *Candida pulcherrima*, donde la formulación logró reducir aproximadamente el 50% los conidios liberados por el hongo (64).

## **Comportamiento de las levaduras**

Anteriormente, se describen ciertos factores que afectan de cierta forma el comportamiento de las levaduras como antagonistas, no obstante hubo ciertas especies que tuvieron un excelente control biológico a nivel tanto *in vitro* como *in vivo*.

Tabla 11. Especies de levadura con mejor porcentaje de inhibición en diferentes hospederos

<i>In vitro</i>		<i>In vivo</i>	
Levadura	Porcentaje de inhibición (%)	Levadura	Porcentaje de inhibición (%)
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	80	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	97
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	95	<i>Rhodotorula glutinis</i>	95
<i>Pichia angusta</i>	95	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	97
<i>Issatchenkia terrícola</i>	90	<i>Pichia angusta</i>	98
<i>Pichia kudriavzevii</i>	83	<i>Cryptococcus flavescens</i>	82
<i>Pichia occidentalis</i>	82	<i>Aureobasidium pullulans</i>	93
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	95	<i>Pichia membranifaciens</i>	100
<i>Candida parapsilosis</i>	97	<i>Pichia anomala</i>	100
<i>Cryptococcus albidus</i>	97		

Figura 12. Especies de levadura con mejor porcentaje de inhibición a nivel *in vitro*

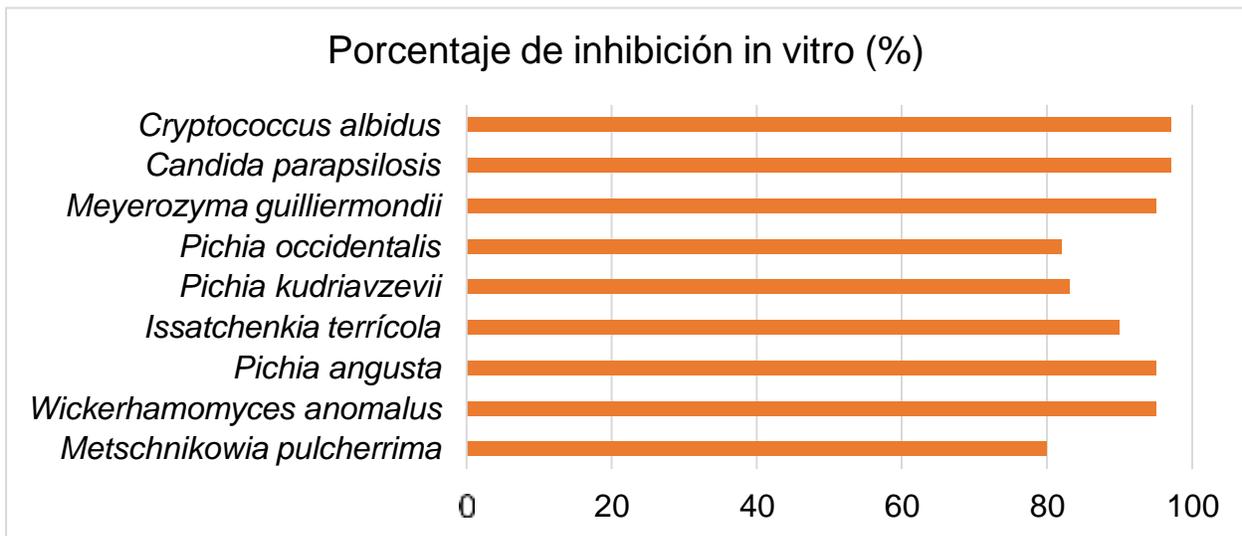
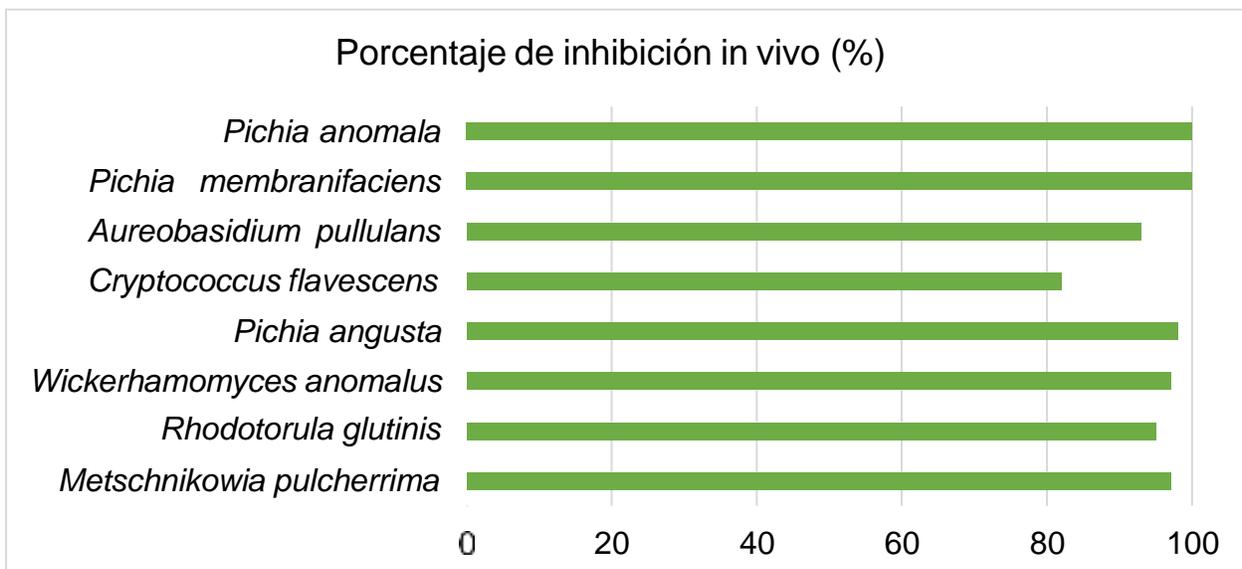


Figura 13. Especies de levadura con mejor porcentaje de inhibición a nivel *in vivo*



Como se observa en la Tabla 11, en la Figura 12 y en la Figura 13 diferentes especies de levaduras son potenciales antagonistas del hongo *Botrytis cinerea*, entre ellas *Metschnikowia pulcherrima* tuvo un excelente comportamiento tanto a nivel *in vitro* como *in vivo*; se reportó a nivel microscópico que al inocular esta levadura junto al patógeno generó inhibición de la esporulación, retracción del citoplasma y destrucción celular. Además, se comprobó a nivel *in vitro* que la capacidad de control biológico duró hasta 21 días después de la incubación ( 4 3 ). A nivel *in vivo* e *in vitro*, la levadura

*Wickerhamomyces anomalus* fue capaz de inhibir el hongo *Botrytis cinerea* en más del 95% y además en frutos fue capaz de comportarse como antagonista después de 14 días de inoculación (57). Lo anterior sugiere que esta levadura antagonista es estable y podría tener un efecto tipo fungicida.

Levaduras del género *Pichia*, específicamente *Pichia anómala* y *Pichia membranifaciens* mostraron un excelente antagonismo, llegando a evitar la enfermedad por *Botrytis cinerea* en un 100% cuando se comprobaron con frutos de uva, estas no desarrollaron ninguna enfermedad por *Botrytis cinerea* al inocular el hongo junto a estas especies de levadura (56) (65). En el caso de *Pichia angusta* logró reducir el hongo en un 98% en manzanas (66). Estos resultados son bastante prometedores con respecto al género de levaduras *Pichia* como posibles antagonistas del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* para la aplicación en plantas de *Cannabis sativa* L.

### **Incidencia de *Botrytis cinerea* en plantas de *Cannabis sativa* L y el uso de levaduras para su mitigación**

Para Colombia, es una gran oportunidad el cultivo de Cannabis Medicinal, ya que nuestro país cuenta con ventajas tanto competitivas como comparativas. En el primer aspecto, Colombia cuenta con infraestructura y la experiencia necesaria para el fortalecimiento de este tipo de cultivos, ya que es un país experto en cultivos agrícolas y hortícolas, el trámite de las licencias en nuestro país es mucho más económico a comparación de otros países como Estados Unidos y la inversión en investigación y desarrollo que permite generar interés y nuevas oportunidades para los más jóvenes. En el segundo aspecto, se puede señalar que Colombia tiene una excelente ubicación geográfica, lo que permite que los cultivos sean más prósperos y adicional el negocio sea más rentable, además, por estar ubicados en la línea ecuatorial, Colombia cuenta con estabilidad lumínica durante todo el año, esto reduce los gastos en energía eléctrica (67). El cultivo de esta planta ha generado gran interés por su versatilidad, ya que sus semillas se pueden utilizar para producir harina, pastelería, pasta y aceite; el tallo se utiliza en el sector de la construcción ecológica, la fibra es ampliamente usada en la industria textil y como se ha mencionado anteriormente, las inflorescencias tienen un alto potencial de uso en las industrias farmacéutica y medicinal (68). Además de su versatilidad como planta, las

inflorescencias o tricomas glandulares responsables de la síntesis de cannabinoides permiten tratar diferentes patologías dependiendo de la clase de cannabinoide (69).

El cultivo de *Cannabis sativa* L, al igual que cualquier cultivo frutal u hortícola es sensible a adquirir enfermedades provocadas por patógenos, se demostró que *Botrytis cinerea* es uno de ellos y puede afectar la calidad del cultivo en pocos días y de forma extrema en poco tiempo (23). Se verificó que en la etapa cercana a floración, en los brotes del cogollo, incidía el hongo *Botrytis cinerea*. Una vez inoculado se identificó deterioro y cambio de color en las hojas y en la flor de la planta (24). Adicional a esto, se identificó que gran variedad de plantas contienen microorganismos endófitos (bacterias, hongos, levaduras, entre otros) que sobreviven a los métodos de esterilización de la superficie de los tejidos utilizados para eliminar los contaminantes externos (70).

Se confirmó que el patógeno *Botrytis cinerea* es el que ataca a la planta de *Cannabis sativa* L en cultivos tanto interior como exterior (22) y que, además, la temperatura es un factor importante en el desarrollo del fitopatógeno en los cogollos de *Cannabis sativa* L. Se observó que las condiciones óptimas para el desarrollo de este patógeno fueron temperaturas frescas y humedades altas, de hecho a más de 30 °C (22)(71). Adicionalmente, se infirió que las colonias de hongos presentes en la flor del Cannabis pudieron haber aparecido durante el ciclo de vida del cultivo en distintas formas: esporas liberadas de materiales vegetales enfermos o en descomposición durante el crecimiento o la cosecha, sustratos de cultivo utilizados en la producción de *Cannabis sativa* L, como contaminantes transportados por el aire en las salas de secado y recorte postcosecha, y como endófitos transmitidos internamente que se liberan durante el proceso de poda que fractura los tejidos del tallo (71)m.

Para identificar la severidad de infección por *Botrytis cinerea* en plantas de *Cannabis sativa* L, en Israel se realizaron experimentos para comprobar el postulado de Koch tanto en tejidos desprendidos como en plantas intactas. Entre los hongos identificados se encontraron: *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Eusarium spp*, *Botrytis cinerea*, *Trichoderma spp*. Para los postulados de Koch se eligieron los patógenos que tuvieron más frecuencia de aparición en las plantas, entre ellos *Botrytis cinerea*, para los tejidos desprendidos, se cultivó el hongo en placas PDA y cuando hubo

gran cantidad de micelio se inoculó con el tejido de la planta, en el caso de la planta intacto se rociaron esporas del patógeno. En los tejidos desprendidos se observaron lesiones típicas de color marrón que se extendieron muy rápidamente sobre la superficie de las hojas y en la planta intacta produjo coloración marrón en las hojas y gran daño en las inflorescencias (72).

Por primera vez en el año 2012, se realizó un estudio donde se aislaron hongos endófitos de varias partes (hojas, ramas y yemas apicales y laterales) de la planta *Cannabis sativa* L; una vez identificadas las cepas de los hongos, se enfrentaron contra dos hongos que atacan a la planta: *Botrytis cinerea* y *Trichothecium roseum*. El ensayo se hizo con enfrentamiento dual *in vitro*, lo interesante del estudio fue que se describieron los comportamientos patógeno-antagonista en diferentes medios. Se observó que el hongo que inhibió por completo a *Botrytis cinerea* fue el hongo *Paecilomyces lilacinus* en los cinco medios diferentes. Se encontraron porcentajes de inhibición diferente para cada hongo y para cada medio, lo que podría señalar que uno de los mecanismos de acción es la competencia por nutrientes. Se destacó que hicieron un total de 30 aislamientos fúngicos endofíticos de diversos tejidos, siendo las yemas las que albergaron el mayor número de endófitos (16 aislamientos), seguidas de las hojas (8 aislamientos) y finalmente las ramitas (6 aislamientos) y que todos los aislamientos fúngicos endófitos pertenecían al filo *Ascomycota* y la mayoría de los aislamientos pertenecían a *Penicillium* (73) No obstante, el ensayo no se hizo a nivel *in vivo*, por lo cual no se podría concluir que estos hongos podrían servir como potenciales controladores biológicos de la planta *Cannabis sativa* L. Este estudio es bastante importante ya que abre las puertas a continuar con la investigación de microorganismos que reemplacen a los fungicidas y permitan mitigar la incidencia de patógenos en este tipo de planta.

Con la información anterior, se verifica que los trabajos realizados hasta el momento pretenden determinar la incidencia de patógenos en planta de Cannabis, sin embargo, no hay estudios experimentales para controlar el patógeno *Botrytis cinerea* mediante otros microorganismos a gran escala, de hecho, en el trabajo de Balthazar se evaluó el tratamiento con rizobacterias beneficiosas para comprobar que podrían inhibir la infección por el moho gris, no obstante, se comprobó que estas bacterias no controlaron

el hongo, y de hecho la enfermedad se vio reflejada en las hojas causando necrosis. Lo anterior hace pensar que las investigaciones de control biológico en este tipo de planta están limitadas y sería ideal la aplicación de microorganismos que posean características de inhibición de patógenos (74).

Se observa que los análisis científicos realizados a nivel mundial sobre el Cannabis medicinal son pocos; esto podría deberse a que el uso lícito del cannabis ha venido aumentando a partir del siglo XXI (75), y las publicaciones más recientes nacen a partir del año 2018 aproximadamente, sin embargo estas publicaciones apuntan hacia el interés de detectar enfermedades o patógenos, mas no a cómo combatirlos a nivel microbiológico. Es por esto, que avanzar en cuanto a los estudios de alternativas de control de enfermedades en *Cannabis sativa* L sería muy importante tanto a nivel internacional como a nivel nacional, teniendo en cuenta que el uso de plaguicidas y fertilizantes significan un impacto negativo tanto para la salud como para el medio ambiente (76) (77), y en el caso del Cannabis se ha reportado que los residuos de pesticidas generan grandes daños en el cuerpo humano; la alternativa de control biológico con microorganismos se hace cada vez más necesaria para aumentar la sostenibilidad.

Se identifica entonces que ciertos microorganismos levaduriformes tienen la capacidad de actuar como agentes de antagonismo del hongo *Botrytis cinerea* en diferentes frutos y plantas, pero hasta el día de hoy, solo se han desarrollado unos pocos productos antifúngicos comerciales a base de levaduras; esto puede deberse a las consideraciones que deben tenerse en cuenta para su desarrollo, como los altos costos, el mercado limitado y la poca aceptación de los cultivos, que prefieren utilizar productos estándares como funguicidas comunes; adicionalmente, a pesar de que varios estudios han reportado los mecanismos de acción de las levaduras antagonistas, los mecanismos específicos requieren una mayor aclaración (31). Sin embargo, la mejor opción sería continuar con la búsqueda y experimentación avanzada de diferentes levaduras para la aplicación en plantas de *Cannabis sativa* L. Para la aplicación del antagonista se podrían considerar diferentes métodos. La aplicación en el sitio de la infección comprende colocar directamente en el sitio de la infección (donde se encuentra el patógeno), la aplicación

en un solo lugar hace referencia a una aplicación específica en un momento determinado, por ejemplo cada año durante el cultivo y la aplicación ocasional o única cuando no habría necesidad de aumentar el número de veces que se aplica el control (78). Para el caso del cultivo de cannabis, sería fundamental conocer a nivel *in vivo* y en campo, cuáles son los resultados de la aplicación de levaduras antagonistas contra *Botrytis cinerea* y cuál sería el número de repeticiones adecuado para la aplicación del biocontrolador.

Uno de los grandes retos de la experimentación futura sería establecer si los componentes de la planta *Cannabis sativa* son compuestos que puedan ser antimicrobianos, en especial que inhiben la incidencia de las levaduras, puesto que este factor puede ser un obstáculo del control biológico por parte de estos microorganismos. Ya existen estudios sobre la capacidad antimicrobiana de los componentes de las distintas partes de esta planta, se ha logrado identificar que son excelentes compuestos antibacterianos, sin embargo, no inhiben el crecimiento de algunas levaduras, factor positivo si lo que se quiere lograr es una excelente eficiencia del biocontrol (80).

Se evidencia que no hay artículos ni estudios publicados hasta la fecha sobre el control biológico de *Botrytis cinerea* en *Cannabis sativa* mediante el uso de levaduras. La alternativa del uso de microorganismos levaduriformes como agentes para el control biológico en los cultivos de Cannabis Medicinal, impactaría positivamente a los mercados y además llamaría la atención de cultivadores que quisieran hacer una transformación del uso de químicos para controlar enfermedades en las plantas, especialmente porque el control biológico cuenta con ciertas ventajas, entre ellas, el control biológico es fácil de fabricar, es inofensivo para los seres humanos, se puede combinar con biofertilizantes, no es costoso, lo que significa que podría optimizar costos en los cultivos y hacer el negocio más rentable (79).

## 6. Conclusiones

La revisión permitió evidenciar que el hongo *Botrytis cinerea* es un patógeno que afecta diferentes cultivos, tanto frutales como hortícolas; en frutales el daño se evidencia cuando inicia la fructificación y en florales se manifiesta cuando inicia la floración. *Botrytis cinerea* se confirma como patógeno vegetal importante causante de grandes daños en diferentes cultivos incluyendo en *Cannabis sativa*. En el caso del cultivo de *Cannabis sativa* se comprueba que uno de los factores determinantes para el desarrollo de este microorganismo son temperaturas templadas

Se identificaron diferentes especies de levaduras que ejercen un control biológico frente a *Botrytis cinerea* y que logran inhibir o incluso prevenir su aparición. Los mecanismos de acción de las levaduras, que se reportaron fueron la competencia de nutrientes y la producción de enzimas o compuestos que degradan la pared celular de los hongos y permitiendo así inhibir su desarrollo y eliminar la incidencia de estos como patógenos. Se encontró también que levaduras endófitas de diferentes huéspedes tienen un comportamiento antagonista, al aislarlas y usarlas en ensayos como controladoras biológicas. Dentro de las levaduras que más efectividad mostraron tanto a nivel *in vivo* como a nivel *in vitro* se encuentran especies pertenecientes al género *Pichia* y *Rhodotorula*. A pesar de lo anterior, es importante realizar estudios mucho más profundos, ya que existen factores externos capaces de afectar la capacidad de biocontrol

Existe una limitación evidente para el estudio en plantas de *Cannabis sativa*, no solamente a nivel bibliográfico, se evidencia en la realidad al tratar de hacer acercamientos con diferentes empresas cultivadoras. Colombia cuenta con un gran potencial para el estudio microbiológico en estas plantas, hace falta más incentivos y más difusión del conocimiento.

Los ensayos obtenidos en las referencias revisadas evidencian que es posible utilizar levaduras para controlar *Botrytis cinerea* en *Cannabis sativa* L., pero que los estudios deben realizarse identificando posibles levaduras presentes en el filopiano de plantas sanas, para potencializarlas y realizar ensayos *in vitro* e *in vivo* controlados para poder llegar a una posible formulación que contribuya a la sanidad del cultivo de Cannabis y a

evitar pérdidas en su producción.

## 7. Recomendaciones

Se deberán hacer ensayos más profundos sobre el comportamiento de las levaduras como posibles agentes de biocontrol contra el fitopatógeno *Botrytis cinerea* en plantas de *Cannabis sativa* L, dichos ensayos deberán ser tanto *in vitro* como *in vivo*, ya que ambos tipos permitirán evidenciar si se lograra un control biológico por parte de las levaduras.

Realizar estudios que permitan el aislamiento de levaduras epífitas en el filoplano de la planta *Cannabis sativa* L y potenciar su comportamiento antagonista con el fin de mitigar o incluso eliminar el uso de pesticidas y plaguicidas en este tipo de cultivos.

Se deberán tener en cuenta los diferentes retos del control biológico tales como la formulación, eficacia del producto final, la permanencia de los microorganismos en el cultivo, la incidencia de las levaduras como controladoras biológicas y si no tienen algún efecto adverso, entre otros.

Se recomiendan realizar estudios comparativos entre diferentes microorganismos a la hora de hacer ensayos en plantas de *Cannabis sativa* y adicional a esto, realizar estudios de interacción de las levaduras con la planta de *Cannabis* para no generar un obstáculo en el proceso del biocontrol.

Con la información anterior, se recomienda el uso de microorganismos levaduriformes como agentes de control biológico para inhibir la incidencia del hongo *Botrytis cinerea* en la planta *Cannabis sativa* L.

## Referencias

1. Ledezma-Morales M, Cristina Rodríguez A, Amariles P. Mercado del Cannabis medicinal en Colombia: una oportunidad para el sector salud que requiere lineamientos estratégicos del gobierno nacional y la academia. *Rev Médicas UIS* [Internet]. 2020;33(1):53–8. Available from: <https://revistas.uis.edu.co/index.php/revistamedicasuis/article/view/10942/10709>
2. Bridgeman MB, Abazia DT. Medicinal cannabis: History, pharmacology, and implications for the acute care setting. *P T* [Internet]. 2017;42(3):180–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5312634/pdf/ptj4203180.pdf>
3. EFE. Cannabis medicinal en Colombia: dinero que entraría por exportaciones. *Portafolio* [Internet]. 2021;1. Available from: <https://www.portafolio.co/negocios/empresas/cannabis-medicinal-aporte-a-las-exportaciones-y-a-la-economia-colombiana-segun-procolombia-555455>
4. Cota I, Torrado S. Colombia saca músculo en el mercado del cannabis medicinal y pone en alerta a Canadá. *EL PAÍS* [Internet]. 2021;1. Available from: <https://elpais.com/economia/2021-09-02/colombia-saca-musculo-en-el-mercado-del-cannabis-medicinal-y-pone-en-alerta-a-canada.html#:~:text=Colombia%2C país cercano al ecuador,cuesta a los productores canadienses>.
5. Plesken C, Pattar P, Reiss B, Noor ZN, Zhang L, Klug K, et al. Genetic Diversity of *Botrytis cinerea* Revealed by Multilocus Sequencing, and Identification of *B. cinerea* Populations Showing Genetic Isolation and Distinct Host Adaptation. *Front Plant Sci* [Internet]. 2021;12(May):1–15. Available from: <file:///C:/Users/Maria Alejandra/Downloads/fpls-12-663027.pdf>
6. Llamozas EJS y, Parra HNR. Evaluación del efecto de bioestimulantes (Quitosano y Gluconato de Cu) en el control de *Botrytis cinerea* en una variedad de *Cannabis sativa* L [Internet]. Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas; 2021. Available from: [https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/4394/Evaluación del efecto de bioestimulantes %28Quitosano y Gluconato de Cu%29 en el control de Botrytis cinerea en una variedad de Cannabis sativa L.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/4394/Evaluación%20del%20efecto%20de%20bioestimulantes%20Quitosano%20y%20Gluconato%20de%20Cu%29%20en%20el%20control%20de%20Botrytis%20cinerea%20en%20una%20variedad%20de%20Cannabis%20sativa%20L.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
7. Jaramillo J, Rodríguez V, Guzmán M, Zapata M, Rengifo T. Manual técnico: Buenas

- prácticas agrícolas (BPA) en la producción de tomate bajo condiciones protegidas. 2007;314. Available from: <https://www.fao.org/3/a1374s/a1374s02.pdf>
8. De Simone N, Pace B, Grieco F, Chimienti M, Tyibilika V, Santoro V, et al. Botrytis cinerea and table grapes: A review of the main physical, chemical, and bio-based control treatments in post-harvest. *Foods* [Internet]. 2020;9(9). Available from: [file:///C:/Users/Maria Alejandra/Downloads/foods-09-01138 \(2\).pdf](file:///C:/Users/Maria%20Alejandra/Downloads/foods-09-01138%20(2).pdf)
  9. Williamson B, Tudzynski B, Tudzynski P, Van Kan JAL. Botrytis cinerea: The cause of grey mould disease. *Mol Plant Pathol* [Internet]. 2007;8(5):561–80. Available from: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x>
  10. García JE. Consecuencias indeseables del uso de los plaguicidas en el ambiente. *Agron Mesoam* [Internet]. 2016;8(1):119. Available from: [file:///C:/Users/Maria Alejandra/Downloads/CONSECUENCIAS\\_INDESEABLES\\_DE\\_LOS\\_PLAGUICIDAS\\_EN\\_EL \(2\).pdf](file:///C:/Users/Maria%20Alejandra/Downloads/CONSECUENCIAS_INDESEABLES_DE_LOS_PLAGUICIDAS_EN_EL%20(2).pdf)
  11. Mondino P, Vero S. Control biológico de patógenos de plantas. [Internet]. Universidad de La República; 2006. Available from: <http://hdl.handle.net/20.500.12324/1772>
  12. Vega Fernández S. Levaduras contra hongos patógenos de trigo [Internet]. Universidad de Salamanca; 2019. Available from: [https://gredos.usal.es/bitstream/handle/10366/141019/REDUCIDA\\_Levaduras contra hongos pat%F3genos de trigo.pdf?sequence=1](https://gredos.usal.es/bitstream/handle/10366/141019/REDUCIDA_Levaduras%20contra%20hongos%20patog%F3genos%20de%20trigo.pdf?sequence=1)
  13. López, Angeles; Guadalupe, Esther; Brindis, Fernando; Cristians Niizawa; Ventura Martínez R. Cannabis sativa L., a singular plant. *Rev Mex Ciencias Farm* [Internet]. 2014;45(4):1–7. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57940028004>
  14. Lazarjani MP, Young O, Kebede L, Seyfoddin A. Processing and extraction methods of medicinal cannabis: a narrative review. *J Cannabis Res* [Internet]. 2021;3(1). Available from: <https://doi.org/10.1186/s42238-021-00087-9>
  15. Rojas Erika, Gil G, Ramirez J. Productos Medicinales a Base De Cannabis [Internet]. Universidad Externado De Colombia Facultad. 2017. Available from: <https://bdigital.uexternado.edu.co/handle/001/295>
  16. Jin D, Jin S, Chen J. Cannabis Indoor Growing Conditions, Management Practices, and Post-Harvest Treatment: A Review. *Am J Plant Sci* [Internet]. 2019;10(06):925–46. Available from: <file:///C:/Users/Maria>

Alejandra/Downloads/Cannabis\_Indoor\_Growing\_Conditions\_Management\_Prac  
(1).pdf

17. Matute Calle PF. Control biológico del moho gris (*Botrytis cinerea*) en cultivos de fresa (*Fragaria vesca* L.) mediante hongos filamentosos antagonistas [Internet]. Universidad Politécnica Salesiana; 2019. Available from: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18147/1/UPS-CT008620.pdf>
18. Álvarez H. Efecto del manejo nutricional del calcio en la expresión de *Botrytis cinerea* en flores y tallos de *Rosa* sp [Internet]. Universidad Nacional de Colombia; 2012. Available from: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/20628>
19. Gago Mesejo D. Efecto de las heridas sobre la resistencia de frutos de pimiento a *Botrytis cinerea* [Internet]. Universidad de La Coruña; 2015. Available from: [http://ruc.udc.es/dspace/bitstream/2183/15276/2/GagoMesejo\\_Diego\\_TFG\\_2015.pdf](http://ruc.udc.es/dspace/bitstream/2183/15276/2/GagoMesejo_Diego_TFG_2015.pdf)
20. Benito EP, Arranz M, Eslava AP. Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. *Rev Iberoam Micol* [Internet]. 2000;17(1):43–6. Available from: <http://www.reviberoammicol.com/2000-17/S43S46.pdf>
21. Fassio A, Rodríguez MJ, Ceretta S. Cáñamo (*Cannabis sativa* L.). Uruguay INIA [Internet]. 2013; Available from: [http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/canamo\\_inia\\_uruguay.pdf](http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/canamo_inia_uruguay.pdf)
22. Punja ZK, Ni L. The bud rot pathogens infecting cannabis (*Cannabis sativa* L., marijuana) inflorescences: symptomology, species identification, pathogenicity and biological control. *Can J Plant Pathol* [Internet]. 2021;43(6). Available from: <file:///C:/Users/Maria>  
Alejandra/Downloads/The\_bud\_rot\_pathogens\_infecting\_cannabis\_Cannabis\_ (1).pdf
23. Punja ZK. Flower and foliage-infecting pathogens of marijuana (*Cannabis sativa* L.) plants. *Can J Plant Pathol* [Internet]. 2018;40(4):514–27. Available from: [file:///C:/Users/Maria/Alejandra/Downloads/Flower\\_and\\_foliage-infecting\\_pathogens\\_of\\_marijuan.pdf](file:///C:/Users/Maria/Alejandra/Downloads/Flower_and_foliage-infecting_pathogens_of_marijuan.pdf)
24. Punja ZK, Collyer D, Scott C, Lung S, Holmes J, Sutton D. Pathogens and Molds Affecting Production and Quality of *Cannabis sativa* L. *Front Plant Sci* [Internet]. 2019;10. Available from: <file:///C:/Users/Maria>  
Alejandra/Downloads/Pathogens\_and\_Molds\_Affecting\_Production\_and\_Quali.pdf
25. Millán YP, Carlos J, Osorio P. Control biológico [Internet]. 2019. 11 p. Available from:

- [https://www.researchgate.net/publication/336180263\\_Control\\_Biologico](https://www.researchgate.net/publication/336180263_Control_Biologico)
26. William Fernando V-A, Cristina Margarita T-T, Aníbal Arturo M-S, Daniel Fernando N-S, Lorena Anabel M-R, Alex Gabriel D-P, et al. Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador Biological Control: A tool for sustainable agriculture, a point of view of its benefits in Ecuador. 2020;128–49. Available from:  
[http://www.scielo.org.bo/pdf/jsab/v8n2/v8n2\\_a06.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/jsab/v8n2/v8n2_a06.pdf)
  27. Díaz MA, Pereyra MM, Picón-Montenegro E, Meinhardt F, Dib JR. Killer yeasts for the biological control of postharvest fungal crop diseases. *Microorganisms* [Internet]. 2020;8(11):1–14. Available from:  
[https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/126580/CONICET\\_Digital\\_Nro.42b707d9-9dff-4e04-895f-c2e2789b792f\\_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/126580/CONICET_Digital_Nro.42b707d9-9dff-4e04-895f-c2e2789b792f_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
  28. Sellitto VM, Zara S, Fracchetti F, Capozzi V, Nardi T. Microbial biocontrol as an alternative to synthetic fungicides: Boundaries between pre-and postharvest applications on vegetables and fruits. *Fermentation* [Internet]. 2021;7(2). Available from: <https://www.mdpi.com/2311-5637/7/2/60/htm>
  29. Punja ZK, Utkhede RS. Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. *Trends Biotechnol* [Internet]. 2003;21(9):400–7. Available from:  
<https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.318.8045&rep=rep1&type=pdf>
  30. Lahlali R, Ezrari S, Radouane N, Kenfaoui J, Esmaeel Q, El Hamss H, et al. Biological Control of Plant Pathogens: A Global Perspective. *Microorganisms* [Internet]. 2022;10(3). Available from:  
[https://www.researchgate.net/publication/359115402\\_Biological\\_Control\\_of\\_Plant\\_Pathogens\\_A\\_Global\\_Perspective/link/6228cb81a39db062db8d71e7/download](https://www.researchgate.net/publication/359115402_Biological_Control_of_Plant_Pathogens_A_Global_Perspective/link/6228cb81a39db062db8d71e7/download)
  31. Zhang X, Li B, Zhang Z, Chen Y, Tian S. Antagonistic yeasts: A promising alternative to chemical fungicides for controlling postharvest decay of fruit. *J Fungi* [Internet]. 2020;6(3):1–15. Available from:  
[https://www.researchgate.net/publication/344004922\\_Antagonistic\\_Yeasts\\_A\\_Promising\\_Alternative\\_to\\_Chemical\\_Fungicides\\_for\\_Controlling\\_Postharvest\\_Decay\\_of\\_Fruit](https://www.researchgate.net/publication/344004922_Antagonistic_Yeasts_A_Promising_Alternative_to_Chemical_Fungicides_for_Controlling_Postharvest_Decay_of_Fruit)
  32. Pretscher J, Fischkal T, Branscheidt S, Jäger L, Kahl S, Schländer M, et al. Yeasts

from different habitats and their potential as biocontrol agents. *Fermentation* [Internet]. 2018;4(2). Available from:

[https://www.researchgate.net/publication/324746542\\_Yeasts\\_from\\_Different\\_Habitats\\_and\\_Their\\_Potential\\_as\\_Biocontrol\\_Agents](https://www.researchgate.net/publication/324746542_Yeasts_from_Different_Habitats_and_Their_Potential_as_Biocontrol_Agents)

33. Freimoser FM, Rueda-Mejia MP, Tilocca B, Migheli Q. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. *World J Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2019;35(10):1–19. Available from: [https://www.mendeley.com/catalogue/d7a261e5-d2c4-3f81-935a-9ec07941394c/?utm\\_source=desktop&utm\\_medium=1.19.8&utm\\_campaign=open\\_catalog&userDocumentId=%7Be119768e-8096-4503-bad6-a6f21ccfd459%7D](https://www.mendeley.com/catalogue/d7a261e5-d2c4-3f81-935a-9ec07941394c/?utm_source=desktop&utm_medium=1.19.8&utm_campaign=open_catalog&userDocumentId=%7Be119768e-8096-4503-bad6-a6f21ccfd459%7D)
34. Alpha CJ, Campos M, Jacobs-Wagner C, Strobel SA. Mycofumigation by the volatile organic compound-producing fungus *Muscodor albus* induces bacterial cell death through DNA damage. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2015;81(3):1147–56. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/269178907\\_Mycofumigation\\_by\\_the\\_Volatile\\_Organic\\_Compound-Producing\\_Fungus\\_Muscodor\\_albus\\_Induces\\_Bacterial\\_Cell\\_Death\\_through\\_DNA\\_Damage](https://www.researchgate.net/publication/269178907_Mycofumigation_by_the_Volatile_Organic_Compound-Producing_Fungus_Muscodor_albus_Induces_Bacterial_Cell_Death_through_DNA_Damage)
35. Wang Y, Bao Y, Shen D, Feng W, Yu T, Zhang J, et al. Biocontrol of *Alternaria alternata* on cherry tomato fruit by use of marine yeast *Rhodospiridium paludigenum* Fell & Tallman. *Int J Food Microbiol* [Internet]. 2008;123(3):234–9. Available from: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300889830>
36. Jamal A, Farhat H, Urooj F, Rahman A, Irfan M, Ehteshamul-Haque S. Characterization of endophytic yeast and its suppressive effect on root rotting fungi of tomato under neem cake soil amendment. *Egypt J Biol Pest Control* [Internet]. 2021;31(1). Available from: <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00493-4>
37. Liu J, Sui Y, Wisniewski M, Droby S, Liu Y. Review: Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. *Int J Food Microbiol* [Internet]. 2013;167(2):153–60. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016816051300411X>
38. He DC, He MH, Amalin DM, Liu W, Alvindia DG, Zhan J. Biological control of plant diseases: An evolutionary and eco-economic consideration. *Pathogens* [Internet]. 2021;10(10). Available from: <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/10/1311>

39. Tsegaye Z, Genene T, Tenkegna TA, Gizaw B. Concept, Principle and Application of Biological Control and their Role in Sustainable Plant Diseases Management Strategies. *Int J Res Stud Biosci* [Internet]. 2018;6(4). Available from: [https://www.researchgate.net/publication/325847525\\_Concept\\_Principle\\_and\\_Application\\_of\\_Biological\\_Control\\_and\\_their\\_Role\\_in\\_Sustainable\\_Plant\\_Diseases\\_Management\\_Strategies](https://www.researchgate.net/publication/325847525_Concept_Principle_and_Application_of_Biological_Control_and_their_Role_in_Sustainable_Plant_Diseases_Management_Strategies)
40. Di Canito A, Mateo-vargas MA, Mazzieri M, Cantoral J, Foschino R, Cordero-Bueso G, et al. The role of yeasts as biocontrol agents for pathogenic fungi on postharvest grapes: A review. *Foods* [Internet]. 2021;10(7):1–15. Available from: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-Role-of-Yeasts-as-Biocontrol-Agents-for-Fungi-A-Canito-Mateo-Vargas/31877df12a46b3473f3c81c31de50b3783232d82>
41. Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Rev Esp Nutr Humana y Diet*. 2016;20(2):148–60.
42. Raspor P, Miklič-Milek D, Avbelj M, Čadež N. Biocontrol of grey mould disease on grape caused by *Botrytis cinerea* with autochthonous wine yeasts. *Food Technol Biotechnol* [Internet]. 2010;48(3):336–43. Available from: <https://hrcak.srce.hr/file/87220>
43. Csutak O, Vassu T, Sarbu I, Stoica I, Cornea P. Antagonistic activity of three newly isolated yeast strains from the surface of fruits. *Food Technol Biotechnol* [Internet]. 2013;51(1):70–7. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/239524317\\_Antagonistic\\_Activity\\_of\\_Three\\_Newly\\_Isolated\\_Yeast\\_Strains\\_from\\_the\\_Surface\\_of\\_Fruits](https://www.researchgate.net/publication/239524317_Antagonistic_Activity_of_Three_Newly_Isolated_Yeast_Strains_from_the_Surface_of_Fruits)
44. El Ghaouth A, Wilson CL, Wisniewski M. Control of postharvest decay of apple fruit with *Candida saitoana* and induction of defense responses. *Phytopathology* [Internet]. 2003;93(3):344–8. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/23408676\\_Control\\_of\\_Postharvest\\_Decay\\_of\\_Apple\\_Fruit\\_with\\_Candida\\_saitoana\\_and\\_Induction\\_of\\_Defense\\_Responses](https://www.researchgate.net/publication/23408676_Control_of_Postharvest_Decay_of_Apple_Fruit_with_Candida_saitoana_and_Induction_of_Defense_Responses)
45. Santos A, Sánchez A, Marquina D. Yeasts as biological agents to control *Botrytis cinerea*. *Microbiol Res* [Internet]. 2004;159(4):331–8. Available from: <http://higiene.unex.es/Bibliogr/Detoxlev/Santos04.pdf>
46. Huang R, Li GQ, Zhang J, Yang L, Che HJ, Jiang DH, et al. Control of postharvest

- Botrytis fruit rot of strawberry by volatile organic compounds of *Candida intermedia*. *Phytopathology* [Internet]. 2011;101(7):859–69. Available from: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHTO-09-10-0255>
47. Kasfi K, Taheri P, Jafarpour B, Tarighi S. Identification of epiphytic yeasts and bacteria with potential for biocontrol of grey mold disease on table grapes caused by botrytis cinerea. *Spanish J Agric Res* [Internet]. 2018;16(1). Available from: [https://www.researchgate.net/publication/323568968\\_Identification\\_of\\_epiphytic\\_yeasts\\_and\\_bacteria\\_with\\_potential\\_for\\_biocontrol\\_of\\_grey\\_mold\\_disease\\_on\\_table\\_grapes\\_caused\\_by\\_Botrytis\\_cinerea/link/5b16f01545851547bba31713/download](https://www.researchgate.net/publication/323568968_Identification_of_epiphytic_yeasts_and_bacteria_with_potential_for_biocontrol_of_grey_mold_disease_on_table_grapes_caused_by_Botrytis_cinerea/link/5b16f01545851547bba31713/download)
  48. Choińska R, Piasecka-Jóźwiak K, Chabłowska B, Dumka J, Łukaszewicz A. Biocontrol ability and volatile organic compounds production as a putative mode of action of yeast strains isolated from organic grapes and rye grains. *Antonie van Leeuwenhoek, Int J Gen Mol Microbiol* [Internet]. 2020;113(8):1135–46. Available from: <https://d-nb.info/1216874271/34>
  49. Feng M, Lv Y, Li T, Li X, Liu J, Chen X, et al. Postharvest treatments with three yeast strains and their combinations to control botrytis cinerea of snap beans. *Foods* [Internet]. 2021;10(11). Available from: [https://www.researchgate.net/publication/356078927\\_Postharvest\\_Treatments\\_with\\_Three\\_Yeast\\_Strains\\_and\\_Their\\_Combinations\\_to\\_Control\\_Botrytis\\_cinerea\\_of\\_Snap\\_Beans](https://www.researchgate.net/publication/356078927_Postharvest_Treatments_with_Three_Yeast_Strains_and_Their_Combinations_to_Control_Botrytis_cinerea_of_Snap_Beans)
  50. Chen PH, Chen RY, Chou JY. Screening and evaluation of yeast antagonists for biological control of *Botrytis cinerea* on strawberry fruits. *Mycobiology* [Internet]. 2018;46(1):33–46. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/12298093.2018.1454013>
  51. Vargas M, Garrido F, Zapata N, Tapia M. Isolation and Selection of Epiphytic Yeast for Biocontrol of *Botrytis cinerea* Pers. on Table Grapes. *Chil J Agric Res* [Internet]. 2012;72(3). Available from: [https://www.researchgate.net/publication/258227103\\_Isolation\\_and\\_Selection\\_of\\_Epiphytic\\_Yeast\\_for\\_Biocontrol\\_of\\_Botrytis\\_cinerea\\_Pers\\_on\\_Table\\_Grapes](https://www.researchgate.net/publication/258227103_Isolation_and_Selection_of_Epiphytic_Yeast_for_Biocontrol_of_Botrytis_cinerea_Pers_on_Table_Grapes)
  52. Buck JW. Combinations of fungicides with phylloplane yeasts for improved control of *Botrytis cinerea* on geranium seedlings. *Phytopathology* [Internet]. 2004;94(2). Available from:

- <https://apsjournals.apsnet.org/doi/epdf/10.1094/PHYTO.2004.94.2.196>
53. Marsico AD, Velenosi M, Perniola R, Bergamini C, Sinonin S, David-vaizant V, et al. Native vineyard non-saccharomyces yeasts used for biological control of botrytis cinerea in stored table grape. *Microorganisms* [Internet]. 2021;9(2):1–17. Available from: [file:///C:/Users/Maria Alejandra/Downloads/Marsico2021.pdf](file:///C:/Users/Maria%20Alejandra/Downloads/Marsico2021.pdf)
  54. Li B, Peng H, Tian S. Attachment capability of antagonistic yeast *Rhodotorula glutinis* to *Botrytis cinerea* contributes to biocontrol efficacy. *Front Microbiol* [Internet]. 2016;7(MAY). Available from: [https://www.researchgate.net/publication/301826014\\_Attachment\\_Capability\\_of\\_Antagonistic\\_Yeast\\_Rhodotorula\\_glutinis\\_to\\_Botrytis\\_cinerea\\_Contributes\\_to\\_Biocontrol\\_Efficacy](https://www.researchgate.net/publication/301826014_Attachment_Capability_of_Antagonistic_Yeast_Rhodotorula_glutinis_to_Botrytis_cinerea_Contributes_to_Biocontrol_Efficacy)
  55. Kheireddine A, Essghaier B, Hedi A, Dhieb C, Sadfi-Zouaoui N. New epiphytic yeasts able to reduce grey mold disease on apples. *Plant Prot Sci* [Internet]. 2018;54(4):248–57. Available from: [file:///C:/Users/Maria Alejandra/Downloads/New\\_epiphytic\\_yeasts\\_able\\_to\\_reduce\\_grey\\_mold\\_dise.pdf](file:///C:/Users/Maria%20Alejandra/Downloads/New_epiphytic_yeasts_able_to_reduce_grey_mold_dise.pdf)
  56. Masih EI, Alie I, Paul B. Can the grey mould disease of the grape-vine be controlled by yeast? *FEMS Microbiol Lett* [Internet]. 2000;189(2). Available from: [https://watermark.silverchair.com/189-2-233.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485ysgAAAtowggLWBgkqhkiG9w0BBwagggLHMIIcwwIBADCCArwGCSqGSIb3DQEHATAeBglgkkgBZQMEAS4wEQQMTuETq6w9LxzW12iZAgEQgIICjdZvWbfs2B4-Sw0nCe8nMZGvXXK\\_3HAhM9IG9vxM0wbDk](https://watermark.silverchair.com/189-2-233.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAtowggLWBgkqhkiG9w0BBwagggLHMIIcwwIBADCCArwGCSqGSIb3DQEHATAeBglgkkgBZQMEAS4wEQQMTuETq6w9LxzW12iZAgEQgIICjdZvWbfs2B4-Sw0nCe8nMZGvXXK_3HAhM9IG9vxM0wbDk)
  57. Fernandez-San Millan A, Larraya L, Farran I, Ancin M, Veramendi J. Successful biocontrol of major postharvest and soil-borne plant pathogenic fungi by antagonistic yeasts. *Biol Control* [Internet]. 2021;160:104683. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104683>
  58. Mewa-Ngongang M, Du Plessis HW, Chidi BS, Hutchinson UF, Ntwampe KSO, Okudoh VI, et al. Physiological and antagonistic properties of *pichia kluyveri* for curative and preventive treatments against post-harvest fruit fungi. *Polish J Food Nutr Sci* [Internet]. 2021;71(3):245–53. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/353046856\\_Physiological\\_and\\_Antagonistic\\_Properties\\_of\\_Pichia\\_kluyveri\\_for\\_Curative\\_and\\_Preventive\\_Treatments\\_Against\\_P](https://www.researchgate.net/publication/353046856_Physiological_and_Antagonistic_Properties_of_Pichia_kluyveri_for_Curative_and_Preventive_Treatments_Against_P)

ost-Harvest\_Fruit\_Fungi

59. Wang X, Glawe DA, Kramer E, Weller D, Okubara PA. Biological control of botrytis cinerea: interactions with native vineyard yeasts from Washington State. *Phytopathology* [Internet]. 2018;108(6):691–701. Available from: file:///C:/Users/Maria Alejandra/Downloads/2018.pdf
60. Buck JW. In vitro antagonism of *Botrytis cinerea* by phylloplane yeasts. *Can J Bot* [Internet]. 2002;80(8):885–91. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/237154776\\_In\\_vitro\\_antagonism\\_of\\_Botrytis\\_cinerea\\_by\\_phylloplane\\_yeasts](https://www.researchgate.net/publication/237154776_In_vitro_antagonism_of_Botrytis_cinerea_by_phylloplane_yeasts)
61. Navarta LG, Calvo J, Posetto P, Benuzzi D, Sanz MI. Freeze-drying of a mixture of bacterium and yeast for application in postharvest control of pathogenic fungi. *SN Appl Sci* [Internet]. 2020;2(7). Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42452-020-3049-9>
62. González-Esparza A, Gentina JC, Ah-Hen KS, Alvarado R, Stevenson J, Briceño E, et al. Survival of Spray-Dried *Rhodotorula mucilaginosa* Isolated from Natural Microbiota of Murta berries and Antagonistic Effect on *Botrytis cinerea*. *Food Technol Biotechnol* [Internet]. 2019;57(2). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6718967/>
63. Bautista Silva JP, Barbosa Barbosa H de J, Uribe Vélez D. Prototipo de formulación a base de *Rhodotorula mucilaginosa* para el control de *Botrytis cinerea* en Rosas. *Rev Colomb Biotechnol* [Internet]. 2016;18(2). Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-34752016000200003](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752016000200003)
64. Cook DWM. Effect of formulated yeast in suppressing the liberation of *Botrytis cinerea* conidia. *Plant Dis* [Internet]. 2002;86(11):1265–70. Available from: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS.2002.86.11.1265>
65. Masih EI, Slezack-Deschaumes S, Marmaras I, Barka EA, Vernet G, Charpentier C, et al. Characterisation of the yeast *Pichia membranifaciens* and its possible use in the biological control of *Botrytis cinerea*, causing the grey mould disease of grapevine. *FEMS Microbiol Lett*. 2001;202(2).
66. Fiori S, Fadda A, Giobbe S, Berardi E, Migheli Q. *Pichia angusta* is an effective biocontrol yeast against postharvest decay of apple fruit caused by *Botrytis cinerea*

- and *Monilia fructicola*. FEMS Yeast Res [Internet]. 2008;8(6):961–3. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/23132939\\_Pichia\\_angusta\\_is\\_an\\_effective\\_biocontrol\\_yeast\\_against\\_postharvest\\_decay\\_of\\_apple\\_fruit\\_caused\\_by\\_Botrytis\\_cinerea\\_and\\_Monilia\\_fructicola](https://www.researchgate.net/publication/23132939_Pichia_angusta_is_an_effective_biocontrol_yeast_against_postharvest_decay_of_apple_fruit_caused_by_Botrytis_cinerea_and_Monilia_fructicola)
67. Andrade Navia JM, Ramírez Plazas E, Velasco Corredor A. El futuro del cannabis medicinal en Colombia [Internet]. Editorial UC. Universidad de Cundinamarca; 2021. Available from: [https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/bitstream/handle/20.500.12558/3525/Futuro de Cananabis mayo 11.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/bitstream/handle/20.500.12558/3525/Futuro_de_Cananabis_mayo_11.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
  68. Sorrentino G. Introduction to emerging industrial applications of cannabis (*Cannabis sativa* L.). Rend Lincei Sci Fis e Nat [Internet]. 2021 Jun 19;32(2):233–43. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s12210-021-00979-1>
  69. Mnekin L, Ripoll L. Topical use of cannabis sativa I. Biochemicals. Cosmetics [Internet]. 2021;8(3). Available from: [file:///C:/Users/Maria Alejandra/Downloads/cosmetics-08-00085 \(1\).pdf](file:///C:/Users/Maria_Alejandra/Downloads/cosmetics-08-00085%20(1).pdf)
  70. Punja ZK. Emerging diseases of *Cannabis sativa* and sustainable management. Pest Manag Sci [Internet]. 2021;77(9):3857–70. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/349005186\\_Emerging\\_Diseases\\_of\\_Cannabis\\_sativa\\_and\\_Sustainable\\_Management](https://www.researchgate.net/publication/349005186_Emerging_Diseases_of_Cannabis_sativa_and_Sustainable_Management)
  71. Punja ZK. The diverse mycoflora present on dried cannabis (*Cannabis sativa* L., marijuana) inflorescences in commercial production. Can J Plant Pathol [Internet]. 2021;43(1):88–100. Available from: <https://doi.org/10.1080/07060661.2020.1758959>
  72. Jerushalmi S, Maymon M, Dombrovsky A, Freeman S. Fungal pathogens affecting the production and quality of medical cannabis in israel. Plants [Internet]. 2020;9(7):1–13. Available from: <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/7/882>
  73. Kusari P, Kusari S, Spitteller M, Kayser O. Endophytic fungi harbored in *Cannabis sativa* L.: Diversity and potential as biocontrol agents against host plant-specific phytopathogens. Fungal Divers [Internet]. 2013;60(1):137–51. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/257800081\\_Endophytic\\_fungi\\_harbored\\_in\\_Cannabis\\_sativa\\_L\\_Diversity\\_and\\_potential\\_as\\_biocontrol\\_agents\\_against\\_host\\_plant-specific\\_phytopathogens](https://www.researchgate.net/publication/257800081_Endophytic_fungi_harbored_in_Cannabis_sativa_L_Diversity_and_potential_as_biocontrol_agents_against_host_plant-specific_phytopathogens)
  74. Balthazar C, Cantin G, Novinscak A, Joly DL, Filion M. Expression of Putative

- Defense Responses in Cannabis Primed by Pseudomonas and/or Bacillus Strains and Infected by Botrytis cinerea. *Front Plant Sci* [Internet]. 2020;11. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.572112/full>
75. Orjuela-Rojas JM, García Orjuela X, Ocampo Serna S. Medicinal cannabis: knowledge, beliefs, and attitudes of Colombian psychiatrists. *J Cannabis Res* [Internet]. 2021;3(1). Available from: <https://doi.org/10.1186/s42238-021-00083-z>
76. Jiménez Quintero CA, Pantoja Estrada AH, Leonel HF. Riesgos en la salud de agricultores por uso y manejo de plaguicidas, microcuenca “La Pila.” *Univ y Salud* [Internet]. 2016;18(3):417. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v18n3/v18n3a03.pdf>
77. Feldman J. Pesticide use in marijuana production: Safety issues and sustainable options. *Pestic You* [Internet]. 2014;34(4):14–23. Available from: <https://www.beyondpesticides.org/assets/media/documents/watchdog/documents/PesticideUseCannabisProduction.pdf>
78. Nega A. Review on Concepts in Biological Control of Plant Pathogens. 2014;4(27):33–55. Available from: <https://core.ac.uk/download/pdf/234660456.pdf>
79. Sharma A, Diwevidi VD, Singh S, Pawar KK, Jerman M, Singh LB, et al. Biological Control and its Important in Agriculture. *Int J Biotechnol Bioeng Res* [Internet]. 2013;4(3):175–80. Available from: <http://www.ripublication.com/>
80. Ali EMM, Almagboul AZI, Khogali SME, Gergeir UMA. Antimicrobial Activity of <i>Cannabis sativa</i> L. *Chin Med*. 2012;03(01):61–4.