

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA



**REVISIÓN SISTEMÁTICA Y METAANÁLISIS DE MICROORGANISMOS
UTILIZADOS COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO FRENTE A *Botrytis*
*cinerea***

**PLAN DE TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERA
EN INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

AUTOR/A:

INDYRA NATHALIA LARCO MONTENEGRO

DIRECTOR:

Blgo. PEDRO MIGUEL BARBA ESTRELLA MSc.

Ibarra – Ecuador

2023

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN

CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

ESCUELA DE INGENIERIA EN

BIOTECNOLOGÍA

**“REVISIÓN SISTEMÁTICA Y METAANÁLISIS DE MICROORGANISMOS
UTILIZADOS COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO FRENTE A *Botrytis
cinerea*”**

Trabajo de grado revisado por el Comité Asesor, por lo cual se autoriza su presentación como
requisito parcial para obtener Título de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

APROBADO:

Blgo. Pedro Barba MSc

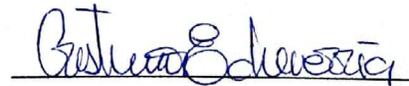
DIRECTOR



FIRMA

Ing. María Cristina Echeverría PhD.

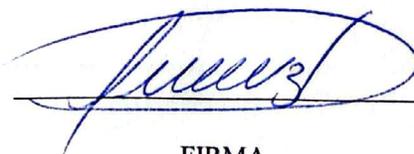
MIEMBRO TRIBUNAL



FIRMA

Ing. Santiago Zarate, MSc.

MIEMBRO TRIBUNAL



FIRMA



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	2350710964		
APellidos y Nombres:	Larco Montenegro Indyra Nathalia		
DIRECCIÓN:	Vía la campiña y Jaime Hurtado		
EMAIL:	indylm14@hotmail.com		
TELÉFONO FIJO:		TELÉFONO MÓVIL:	0994729226

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	Revisión sistemática y metaanálisis de microorganismos utilizados como agentes de control biológico frente a <i>Botrytis cinerea</i>
AUTOR (ES):	Larco Montenegro Indyra Nathalia
FECHA: DD/MM/AAAA	24/07/2023
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera en biotecnología
ASESOR /DIRECTOR:	MSc. Pedro Barba

2. CONSTANCIAS

La autora manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y que es la titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 24 días del mes de julio de 2023.

EL AUTOR:

Nombre: Indyra Larco

AGRADECIMIENTO

A mis seres queridos, quienes han sido mi apoyo incondicional a lo largo de este arduo y apasionante camino de aprendizaje. Sus palabras de aliento, paciencia y amor inquebrantable han sido la fuerza motriz que me impulsó a superar cada obstáculo.

A mi mejor amiga Kiara B., que gracias a tus palabras de aliento y tus gestos de apoyo me recordaste que los desafíos son oportunidades para crecer y que mis metas y sueños valen la pena, incluso cuando la adversidad se presenta.

A Andy R., por su amistad que ha sido un rayito de sol en mi camino, iluminando incluso los momentos más oscuros. Tener a alguien como tú a mi lado me hizo darme cuenta de que no estaba sola en esta batalla.

A mi amiga Tatty A. y todos mis amigos, quienes han compartido risas, lágrimas y largas noches de estudio. Gracias por ser mi red de apoyo, por las conversaciones estimulantes y por recordarme que siempre hay luz al final del túnel.

DEDICATORIA

A mis padres, por su incansable dedicación y sacrificio, por creer en mí incluso cuando yo dudaba de mis propias capacidades. Gracias por su inmenso amor y por inculcarme la importancia del conocimiento y la perseverancia para no rendirme, incluso cuando el camino se torne difícil.

A mi hermano, por su comprensión y respaldo constante, por brindarme ánimo y alegría en los momentos más estresantes.

A mi fiel compañera de cuatro patas, mi Mavis que durante los momentos en los que me sentía abrumada y desanimada, tú estabas ahí a mi lado. Sin importar cuán tarde fuera, tú te quedabas despierta conmigo, brindándome tu lealtad y tu amor.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	4
DEDICATORIA	5
CAPÍTULO I	16
INTRODUCCIÓN	16
1.1 Antecedentes	16
1.2 Planteamiento del problema	18
1.3 Justificación.....	21
1.4 Pregunta directriz	22
1.5 Objetivos	23
1.5.1 Objetivo general.....	23
1.5.2 Objetivos específicos	23
CAPÍTULO II	24
2. MARCO TEÓRICO	24
2.1 Hongos fitopatógenos.....	24
2.1.1 Aspectos generales.....	24
2.1.2 Especies que atacan a cultivos de importancia económica.....	24
2.2 Hongo fitopatógeno <i>Botrytis cinerea</i>	25
2.3 Enfermedad del moho gris	26
2.3.1 Sintomatología.....	28
2.3.2 Pérdidas económicas en cultivos agrícolas	28

2.3.3	Tratamientos para controlar la enfermedad de moho gris	29
2.4	Agentes microbianos de control biológico (ACB).....	29
2.4.1	Bacterias como ACB.....	30
2.4.2	Levaduras como ACB.....	30
2.4.3	Hongos filamentosos como ACB.....	31
2.5	Revisión sistemática.....	31
2.5.1	Protocolo PRISMA	32
2.5.2	Resultados de revisión sistemática mediante grafos.....	32
2.6	Metaanálisis.....	33
2.6.1	Fases de un metaanálisis	33
2.6.2	Forest plot o diagrama de bosque	34
CAPÍTULO III.....		36
3.	METODOLOGÍA.....	36
3.1	Descripción de la revisión sistemática	36
3.1.1	Identificación de las publicaciones científicas relacionadas con <i>Botrytis cinerea</i>	37
3.1.2	Cribado de las publicaciones científicas relevantes.....	37
3.1.3	Criterios de elegibilidad de las publicaciones científicas relevantes	38
3.1.4	Elección e Inclusión de las publicaciones científicas relevantes	39
3.1.5	Obtención de datos de las publicaciones científicas relevantes.....	39
3.1.6	Resultados de la revisión sistemática mediante análisis de redes con grafos en Gephi	39

3.2	Descripción del Metaanálisis de datos continuos.....	40
3.2.1	Base de datos generada a partir de microorganismos con actividad antagónica frente a <i>Botrytis cinerea</i>	40
3.2.2	Codificación de estudios experimentales.....	40
3.2.3	Variables dependientes de evaluación	41
3.2.4	Variables independientes de evaluación	41
3.2.5	Cálculo de tamaño del efecto mediante OpenMEE (2016)	42
3.2.6	Análisis de heterogeneidad entre estudios	43
3.2.6.1	Cálculo de varianza mediante OpenMEE (2016).....	43
3.2.6.2	Análisis de la heterogeneidad residual de los tamaños del efecto.....	43
3.2.7	Selección del método estadístico	44
3.2.7.1	Modelos de efectos aleatorios	44
3.2.8	Metaanálisis por subgrupos.....	44
3.2.9	Representación gráfica mediante OpenMEE (2016)	44
3.3	Descripción de la guía de cultivo agrícola	45
3.3.1	Fase I: Esquema de elaboración del manual	45
3.3.2	Fase II: Recopilación de la información	46
3.3.3	Fase III: Análisis y depuración de la información.....	46
3.3.4	Fase IV: Redacción y revisión final del documento	47
CAPÍTULO IV.....		48
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48

4.1	Revisión sistemática de microorganismos para el control biológico de <i>Botrytis cinerea</i>	48
4.2	Países con estudios experimentales publicados	49
4.3	Microorganismos más utilizados como agentes de control biológico frente a <i>Botrytis cinerea</i> durante el tiempo	51
4.4	Vínculo entre países con grupos microbianos y cultivos agrícolas encontrado en los artículos de la revisión sistemática.....	52
4.4.1	Especies microbianas más utilizadas en los artículos de la revisión sistemática	56
4.4.2	Especies microbianas más utilizadas de acuerdo con los países encontrados en los artículos de la revisión sistemática	61
4.4.3	Especies microbianas más utilizadas de acuerdo con los cultivos agrícolas encontrados	66
4.5	Metaanálisis de efectos aleatorios con datos continuos	72
4.5.1	Base de datos de estudios experimentales codificados	72
4.5.2	Número de observaciones experimentales encontrados	72
4.5.3	Forest Plot fase <i>in vitro</i> de grupos microbianos.....	72
4.5.4	Forest Plot fase <i>in vivo</i> de grupos microbianos	78
4.5.5	Forest Plot fase <i>in situ</i> de grupos microbianos	85
4.5.6	Especies microbianas con mejor potencial antagónico en las 3 fases experimentales	88
4.6	Guía de cultivo agrícola sobre el uso de microorganismos como agentes de control biológico frente a <i>Botrytis cinerea</i>	89

4.6.1	Introducción sobre el fitopatógeno <i>Botrytis cinerea</i>	89
4.6.2	Definición de Agentes de Control Biológico.....	89
4.6.3	Ventajas del uso de Agentes de Control Biológico	89
4.6.4	Beneficiarios de la guía.....	90
4.6.5	Normas de bioseguridad para fumigar.....	90
4.6.6	Métodos de aplicación en cultivo	90
4.6.7	Fungicidas biológicos de venta pública	91
4.6.8	Microorganismos utilizados como ACB.....	91
4.6.9	Estructura final para la guía	93
CAPÍTULO V.....		95
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		95
5.1	Conclusiones	95
5.2	Recomendaciones.....	96
REFERENCIAS.....		98
ANEXOS		121

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Presencia de <i>Botrytis cinerea</i> causante de la enfermedad del moho gris en distintos cultivos.....	26
Figura 2 Ciclo de vida de <i>Botrytis cinerea</i> causante de la enfermedad del moho gris	27
Figura 3 Estructura de grafos.....	33
Figura 4 Elementos gráficos de un Forest plot	35
Figura 5 Diagrama de flujo que sintetiza el Protocolo PRISMA	36
Figura 6 Forest Plot de un metaanálisis de subgrupos utilizando el software OpenMEE (2016).....	45
Figura 7 Diagrama de flujo de la selección de artículos en la revisión sistemática	48
Figura 8 Número de artículos identificados por países incluidos en esta investigación.....	50
Figura 9 Comparación de artículos científicos publicados por años y clasificados en los grupos microbianos encontrados ($x^2 = 22.47$, $gl = 36$, $p = 0.96$).....	51
Figura 10 Relaciones existentes entre los países con los microorganismos y los cultivos agrícolas identificados en la revisión sistemática, incluyendo todas las fases experimentales analizadas ($x^2 = 389.72$, $gl = 340$, $p = 0.0324$).....	53
Figura 11 Especies microbianas identificados en la revisión sistemática pertenecientes a las 3 fases experimentales ($x^2 = 258$, $gl = 158$, $p < 0.0001$).....	56
Figura 12 Especies microbianas utilizadas en las 3 fases experimentales de acuerdo con los países encontrados ($x^2 = 1767.70$, $gl = 1343$, $p < 0.0001$).....	61
Figura 13 Especies microbianas utilizadas en las investigaciones experimentales en las 3 fases experimentales de acuerdo con los cultivos vegetales encontrados ($x^2 = 1577.48$, $gl = 790$, $p < 0.0001$).....	67
Figura 14 Especies microbianas utilizadas en las investigaciones experimentales en fase <i>in vitro</i>	73

Figura 15 Especies microbianas utilizadas en las investigaciones experimentales en fase <i>in vivo</i>	79
Figura 16 Especies microbianas utilizadas en las investigaciones experimentales en fase <i>in situ</i>	85
Figura 17 Páginas ejemplares de la guía.....	93

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Especies de hongos fitopatógenos más estudiados	25
Tabla 2 Etapas de una revisión sistemática y metaanálisis	34
Tabla 3 Variables de evaluación para cada fase de experimentación (<i>in vitro, in vivo, in situ</i>)	41
Tabla 4 Variables independientes de evaluación para cada fase de experimentación (<i>in vitro, in vivo, in situ</i>).....	42
Tabla 5 Especies microbianas utilizadas como ACB en las fases experimentales <i>in vitro, in vivo, in situ</i>	88
Tabla 6 Ejemplo de los microorganismos utilizados como agentes de control biológico en el cultivo de uva.....	92

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Artículos científicos finales seleccionados mediante una revisión sistemática, utilizados para el metaanálisis	121
Anexo 2 Clasificación de los grupos microbianos encontrados en las observaciones experimentales en fase <i>in vitro</i> , <i>in vivo</i> e <i>in situ</i> de acuerdo con los artículos científicos encontrados.	127
Anexo 3 Enlace a la base de datos.....	129
Anexo 4 Enlace a la base de datos para el software Gephi	129
Anexo 5 Géneros microbianos con mayor porcentaje de inhibición <i>in vitro</i>	130
Anexo 6 Géneros microbianos con mayor porcentaje de inhibición fase <i>in vivo</i>	133
Anexo 7 Especies microbianas con mayor porcentaje de inhibición fase <i>in situ</i>	135

RESUMEN

La enfermedad del moho gris causado por *Botrytis cinerea* ocasiona descomposición postcosecha de frutas y hortalizas frescas en una amplia gama de huéspedes. A pesar de que los fungicidas químicos son el tratamiento primario para el manejo de esta plaga, se han identificado algunas estrategias alternativas más consistentes y prometedoras, entre las cuales se encuentra el uso de agentes de control biológico ACB (BCA, por sus siglas en inglés). El presente trabajo expone los resultados de un metaanálisis realizado con estudios publicados entre 2011 y 2021 sobre los microorganismos utilizados como agentes de control biológico contra *Botrytis cinerea* a nivel mundial. Se realizó una revisión sistemática de 50 artículos científicos que incluían un total de 246 ensayos experimentales, analizados en función de las fases de experimentación *in vitro*, *in vivo* e *in situ* o campo. Las bacterias fueron los microorganismos más utilizados como agentes de control biológico en la mayoría de los países analizados, representando el 58% de la investigación. Entre los países con mayor número de investigaciones se encontró China, con un total de 15 artículos científicos. En cuanto a los cultivos agrícolas más relevantes en la experimentación, se destacaron *Solanum lycopersicum* y *Vitis vinifera*. Finalmente, los mejores microorganismos como agente de control biológico para la fase *in vitro* fueron: *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cowanii*, *Candida pyralidae*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia kluyveri*, *Lachancea thermotolerans*, *Streptomyces philanthi*, *Streptomyces mycarofaciens* y *Albifimbria verrucaria*. Para la fase *in vivo* fueron: *Bacillus amyloliquefaciens*, *Enterobacter cowanii*, *Aureobasidium pullulans*, *Lachancea thermotolerans*, *Pichia kluyveri*, *Beauveria bassiana* y para la fase *in situ* fueron: *Bacillus pseudomycooides*, *Bacillus methylotrophicus*, *Planomicrobium glaciei* y *Candida sake*.

Palabras clave: agentes de control biológico, *Botrytis cinerea*, bacterias, levaduras, hongos filamentosos, *in vitro*, *in vivo*, *in situ*

ABSTRACT

Gray mold disease caused by *Botrytis cinerea* causes postharvest decay of fresh fruits and vegetables in a wide range of hosts. Although chemical fungicides are the primary treatment for managing this pest, some more consistent and promising alternative strategies have been identified, including the use of biological control agents (BCAs). This study presents the results of a meta-analysis conducted with studies published between 2011 and 2021 on microorganisms used as biological control agents against *Botrytis cinerea* worldwide. A systematic review of 50 scientific articles was conducted, including a total of 246 experimental trials, analyzed according to the phases of *in vitro*, *in vivo*, and *in situ* or field experimentation. Bacteria were the most commonly used microorganisms as biological control agents in most of the analyzed countries, representing 58% of the research. Among the countries with the highest number of investigations, China was found to have a total of 15 scientific articles. Regarding the most relevant agricultural crops in the experimentation, *Solanum lycopersicum* and *Vitis vinifera* stood out. Finally, the best microorganisms as biological control agents for the *in vitro* phase were: *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cowanii*, *Candida pyralidae*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia kluyveri*, *Lachancea thermotolerans*, *Streptomyces philanthi*, *Streptomyces mycarofaciens*, and *Albifimbria verrucaria*. For the *in vivo* phase, they were: *Bacillus amyloliquefaciens*, *Enterobacter cowanii*, *Aureobasidium pullulans*, *Lachancea thermotolerans*, *Pichia kluyveri*, *Beauveria bassiana*, and for the *in situ* phase, they were: *Bacillus pseudomycooides*, *Bacillus methylotrophicus*, *Planomicrobium glaciei*, and *Candida sake*.

Keywords: biological control agents, *Botrytis cinerea*, bacteria, yeasts, filamentous fungi, *in vitro*, *in vivo*, *in situ*

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Desde varios siglos atrás, han existido una serie de enfermedades causada por hongos fitopatógenos que han afectado severamente la economía mundial en el curso de la civilización, debido a que producen pérdidas en los cultivos de diversas maneras (Castaño Zapata, 2015). Una de ella es la reducción del rendimiento y calidad de la planta, induciendo disminución en los atributos de los frutos cosechados, por lo que se incrementa el costo de producción (Castaño Zapata, 2015).

El hongo necrotrófico filamentoso llamado *Botrytis cinerea* pertenece a la familia Sclerotiniaceae. Es el agente causal de la enfermedad del moho gris, con una fase biotrófica corta, infecta a más de 1400 especies de plantas diferentes en todo el mundo (K. Wang et al., 2020). La enfermedad ocasionada por este hongo infecta los frutos durante la maduración, causando manchas marrón claro o amarillentas hacia el final del cáliz, y con el paso de los días toda la superficie de la fruta se cubre de un micelio gris de apariencia polvosa, aunque también se puede encontrar como chancros o pudriciones en el tallo (Amselem et al., 2011; Beever & Weeds, 2007; Chaves & Wang, 2004; Williamson, Tudzynski, Tudzynski, & Kan, 2007).

Los fungicidas químicos, como la procimidona, la iprodiona y el pirimetanil, siguen siendo los principales componentes para la prevención y el control del moho gris poscosecha (González-Domínguez et al., 2019). El tratamiento químico se ve obstaculizado por el desarrollo de resistencia a muchos botriticidas y la percepción pública negativa sobre la seguridad de los plaguicidas (Moyano et al., 2004).

Para mantener los niveles de producción y evitar la posible toxicidad por el uso de fungicidas químicos, la tendencia en investigación se está moviendo hacia la prospección de métodos ecológicos para controlar este patógeno, incluido el uso de agentes de control biológico ACB y sus compuestos activos (Kasfi et al., 2018).

El control biológico se define como el uso de agentes vivos para controlar plagas o patógenos vegetales. En los últimos 15 años, este enfoque está siendo considerado cada vez más en la investigación científica como una alternativa segura a la utilización de fungicidas químicos en el campo y poscosecha (Chaouachi et al., 2021). Para este propósito, se han aislado varios microorganismos como bacterias, hongos filamentosos y levaduras, demostrando que protegen los frutos contra patógenos poscosecha (Berrada et al., 2012).

Las empresas biotecnológicas innovadoras que buscan y desarrollan biocontroladores para combatir enfermedades y plagas en la agricultura, hacen uso de investigaciones en ciencia básica para identificar los microorganismos más eficaces (Vinchira-Villarraga et al., 2019). A menudo, estas empresas se asocian con instituciones educativas para evaluar un gran número de microorganismos con potencial botricida. Una vez seleccionados los microorganismos más prometedores en escalas de laboratorio e invernadero, son formulados, probados en campo, registrados y finalmente comercializados (Fravel, 2005).

Para identificar y evaluar estos estudios originales, las revisiones sistemáticas son un enfoque clave. Estas revisiones involucran un plan detallado con una estrategia de búsqueda específica para reducir el sesgo en la información disponible al limitar el número de estudios (Uman, 2011). Los estudios originales pueden ser cualitativos o cuantitativos y pueden ser estudios observacionales o ensayos aleatorizados. Al sintetizar todos los estudios relevantes sobre un tema

en particular, las revisiones sistemáticas permiten a las empresas biotecnológicas tomar decisiones informadas sobre los mejores biocontroladores disponibles (Crowther & Cook, 2007).

Se han desarrollado varios enfoques para realizar revisiones sistemáticas sobre una gama más amplia de preguntas relevantes para cualquier revisión sistemática, no solo aquellos que resumen los beneficios y los daños de una intervención en atención médica (Moher et al., 2009). La metodología propuesta por el protocolo Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Metanalysis (PRISMA) garantiza que la información presentada en una revisión sistemática o metaanálisis sea completa, transparente y reproducible (Yepes-Nuñez et al., 2021).

Se utiliza la revisión sistemática como una metodología para sintetizar y resumir la información relevante incluyendo una serie de directrices, destinadas a reducir el impacto del sesgo de estudios y examinar la heterogeneidad de los resultados de los artículos científicos individuales sobre un tema específico (Crowther & Cook, 2007). Si se agrega un componente estadístico a esta metodología, se le denomina "metaanálisis". Básicamente, el metaanálisis utiliza técnicas estadísticas para combinar los resultados de varios estudios y generar una estimación cuantitativa resumida del tamaño del efecto (Petticrew & Roberts, 2006).

En la actualidad, los metaanálisis representan una herramienta valiosa para la síntesis de la información en la investigación, al permitir una evaluación más rigurosa y precisa de la evidencia disponible (Bolaños Díaz & Calderón Cahua, 2014).

1.2 Planteamiento del problema

Para combatir *Botrytis cinerea* se usa grandes cantidades de pesticidas químicos ocasionando riesgos toxicológicos para los agricultores además de producir daños en el medio ambiente (J. Calvo et al., 2007). La naturaleza policíclica del hongo contribuye a su capacidad para

evolucionar y desarrollar resistencia a los fungicidas sintéticos en un tiempo lo suficientemente corto (Abbey et al., 2018b). Hace más de una década, se estimó que hasta 25 millones de trabajadores agrícolas en todo el mundo experimentaron intoxicación no intencional con pesticidas cada año (Jeyaratnam, 2008).

Las personas pueden estar expuestas a plaguicidas a través de rutas tanto directas como indirectas. La exposición directa ocurre cuando las personas aplican personalmente plaguicidas en entornos agrícolas, ocupacionales o residenciales (Damalas & Eleftherohorinos, 2011). Las exposiciones indirectas ocurren a través del agua potable, el aire, el polvo y los alimentos, convirtiéndose en rutas de largo plazo (Damalas & Koutroubas, 2016). Aunque, a pesar de las pruebas de toxicidad previas a la comercialización, las exposiciones actuales están asociadas con riesgos para la salud humana (Alavanja et al., 2004).

En este contexto, la agricultura contemporánea se enfrenta al reto de intensificar la producción agrícola, asegurando simultáneamente la protección del medio ambiente y salud humana, con soluciones sustentables, en las que el uso seguro y racional de plaguicidas sintéticos pueda ser un factor clave, contra la escasez de alimentos en el futuro (Aguirre et al., 2021; Zambrano et al., 2019).

A nivel nacional 81248,36 hectáreas usaron plaguicidas orgánicos, las cuales corresponden al 1.05 % de la superficie de cultivos permanentes, y al 0.04 % del total de la superficie de cultivos transitorios, mientras que, para los plaguicidas químicos la superficie de uso fue 1764426.44, lo que corresponde al 43.27% en cultivos permanentes y 55.64% en cultivos transitorios. (INEC, 2014). Adicionalmente, el uso prolongado de estos pesticidas ha generado resistencia en el hongo, haciendo que algunos de los componentes químicos ya no tengan efecto en su eliminación (Janisiewicz & Korsten, 2003).

Por esta razón, la necesidad de investigar sobre nuevos agentes de control biológico que optimicen la producción de frutas y hortalizas, para lograr el reemplazo de los fungicidas químicos sintéticos por los de origen natural, asegurando la calidad de los alimentos, es mandatorio (Shi & Sun, 2017a).

En Ecuador, el hongo *Botrytis cinerea* consta como una plaga cuarentenaria según la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (AGROCALIDAD) (AGROCALIDAD, 2020). Sin embargo, no existe una recopilación de información sobre los microorganismos que se podrían utilizar como biocontroladores, lo que crea un problema al momento de elegir un microorganismo adecuado para combatir la plaga, según las necesidades del agricultor.

Numerosos estudios alrededor del mundo han descrito el aislamiento de microorganismos antagonistas con el fin de aprovechar su potencial para la supresión biológica de enfermedades fitopatógenas (Elmer & Reglinski, 2006). Sin embargo, al existir gran cantidad de información dispersa es difícil implementarla como método de control biológico para cada tipo de cultivo específico infectado por este hongo necrotrófico.

Esto se traduce en un problema a nivel social por la falta de conocimiento sobre los grupos microbianos antagonistas y los múltiples beneficios que promueven estas nuevas metodologías de tratamiento con biofungicidas. dando como resultado La aplicación excesiva de fungicidas sintéticos que solo incrementan la resistencia de la enfermedad del moho gris en los cultivos, puede ser resultado de esta desinformación.

1.3 Justificación

La aparición de resistencia a los fungicidas químicos, junto con el aumento de la demanda de la exportación internacional de frutos libres de residuos de pesticidas, ha creado la necesidad de opciones de gestión adicionales (Rosslenbroich & Stuebler, 2000). Por lo que el control biológico de las enfermedades ha surgido como una alternativa eficaz, gracias a su vulnerabilidad frente a microorganismos antagonistas (Elad & Stewart, 2007a).

Algunos microorganismos antagonistas usados como control pueden reducir significativamente la descomposición de la fruta, cuando se aplican directamente en el área objetivo, como las heridas de la fruta, mediante diferentes sistemas de administración existentes como: empapados, rociadores en línea, baños en línea, entre otros (South et al., 2020).

Múltiples estudios han encontrado resultados satisfactorios en microorganismos antagonistas, eliminando entre el 30 y 95 % la formación de conidios de *Botrytis cinerea*, logrando cosechas con menor cantidad de pesticidas y alargando el tiempo de vida de los frutos (South et al., 2020). El presente trabajo de investigación podrá contribuir al conocimiento público, ofreciendo un sustento para futuras aplicaciones industriales en la preservación efectiva de frutas y vegetales.

El conocimiento en el uso adecuado de biopesticidas reducirá las pérdidas económicas causados por cultivos infectados, donde las enfermedades pueden aparecer inclusive en el almacenamiento y transporte, representando una pérdida de hasta el 25% de la producción total en países industrializados. En países en desarrollo el daño es mayor, excediendo el 50% en pérdidas de producción, debido a la falta de instalaciones de almacenamiento adecuadas (Spadaro & Gullino, 2004b).

De esta manera, los resultados de esta investigación se convertirán en un precursor para futuros estudios donde destaquen diversas especies microbianas, muchas de ellas nativas, creando una posibilidad de generar incentivos económicos para fomentar nuevas áreas científicas en nuestro país. Esto promoverá el interés de la industria por la creación de nuevos productos ecológicos.

Se podrá acelerar el reemplazo de los tratamientos químicos sintéticos por los de origen natural, generando así frutos con menos residuos tóxicos para la salud. Estos podrán ser certificados con la aplicación de buenas prácticas agropecuarias fundamentado en los 3 pilares principales: inocuidad de los alimentos, cuidado del medio ambiente y salud de los agricultores (AGROCALIDAD, 2009).

En un futuro, se creará un efecto multiplicador a nivel social difundiendo el conocimiento adquirido en este estudio a todas las personas en general. Los agricultores podrán analizar nuevas estrategias de cultivo para mejorar su producción sin perjudicar los recursos naturales, convirtiendo una agricultura tradicional en una agricultura sustentable y sostenible, para futuras generaciones.

1.4 Pregunta directriz

¿Cuáles son los grupos microbianos con potencial antagónico utilizados como control biológico frente a *Botrytis cinerea* en estudios experimentales *in situ*, *in vivo* e *in vitro* publicados en literatura científica?

1.5 Objetivos

1.5.1 *Objetivo general*

Realizar una revisión sistemática y metaanálisis de microorganismos como agentes de control biológico frente a *Botrytis cinerea*

1.5.2 *Objetivos específicos*

- Elaborar una revisión sistemática de microorganismos para el control biológico de *Botrytis cinerea*.
- Comparar mediante metaanálisis el efecto antagónico de diferentes grupos microbianos frente a *Botrytis cinerea*.
- Generar una guía de cultivo agrícola sobre el uso de microorganismos como agentes de control biológico frente a *Botrytis cinerea*.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Hongos fitopatógenos

2.1.1 Aspectos generales

Los hongos son organismos eucariotes que tienen importantes roles en el desarrollo de la vida, participando activamente en procesos de desintegración de materia orgánica, producción agrícola y procesamiento de alimentos (Castaño Zapata, 2015). (Hasang-Moran et al., 2021), Este grupo de microorganismo causan hasta el 70% de las enfermedades en plantas. Son organismos microscópicos que presentan un cuerpo vegetativo denominado micelio, compuesto por ramas o filamentos llamados hifas (Pawlowski et al., 2016).

Se reproducen por esporas y cumplen su ciclo de vida sobre la planta hospedera, y algunos tipos de hongos culminan el ciclo de vida sobre materia orgánica muerta (Granados-Montero, 2018). Su dispersión se realiza mediante el agua, el viento, los insectos, los animales y los humanos, los cuales transportan esporas, fragmentos de hifas o masas de micelio hasta la nueva planta para ser infectada (Viera-Arroyo et al., 2020a).

2.1.2 Especies que atacan a cultivos de importancia económica

Las especies patógenas de plantas pertenecen principalmente a los filos Ascomycota y Basidiomycota. Entre los ascomicetos, los patógenos de las plantas se encuentran en varias clases, como Dothideomycete, Sordariomycete o Leotiomycete. Los patógenos relacionados con el grupo de los basidiomicetos están incluidos principalmente en las clases Pucciniomycete y Ustilaginomycetes (Doehlemann et al., 2017).

La mayoría de los hongos fitopatógenos más estudiados usualmente afectan a las gramíneas. En la Tabla 1, se enlistan los 5 hongos más relevantes en fitopatología.

Tabla 1

Especies de hongos fitopatógenos más estudiados

Nº	Hongos fitopatógenos	Clase	Particularidad
1	<i>Magnaporthe oryzae.</i>	Sordariomycetes	La enfermedad produce grandes pérdidas en la producción anual de arroz, del cual depende cerca del 50% de la población mundial.
2	<i>Botrytis cinerea.</i>	Leotiomycetes	Afecta más de 586 géneros de plantas y el costo de su manejo representa el 10% de la venta mundial de fungicidas.
3	<i>Puccinia spp.</i>	Pucciniomycetes	Posee una capacidad de diseminación exitosa y amplia variabilidad genética, afectando 90% del trigo cultivado.
4	<i>Fusarium graminearum</i>	Sordariomycetes	El grano infectado produce micotoxinas que son peligrosas para el consumo humano y animal.
5	<i>Fusarium oxysporum</i>	Sordariomycetes	Son especies micóticas comunes presentes en el suelo que causan marchitez vascular en un amplio rango de hospederos.

Nota. Adaptado de Castaño Zapata (2015), Dean et al. (2012), Elad Pertot et al. (2015), Granados-Montero (2018)

2.2 Hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*

Este hongo filamentoso pertenece a la familia Sclerotiniaceae, se transporta por el aire afectando a más de 1400 especies de plantas en todo el mundo en regiones templadas y subtropicales (Chaouachi et al., 2021). Genera abundante micelio por la gran cantidad de conidios

que produce al extremo de los conidióforos ramificados, los cuales pueden persistir como inóculo latente en residuos florales, como estambres y caliptros (Cruz-Triana et al., 2018).

Su estrategia de invasión es típica de un necrótrofo, mata las células que rodean el área de infección y luego obtiene nutrientes del tejido muerto (Castaño-Zapata, 2015). Debido a la importancia mundial de la enfermedad del moho gris causada por *Botrytis cinerea*, y la disponibilidad de herramientas genéticas moleculares para estudiar el organismo, se ha convertido en el hongo patógeno necrotrófico más estudiado (Williamson et al., 2007). En la Figura 1 se muestra la presencia de hongo del moho gris en distintos cultivos.

Figura 1

Presencia de Botrytis cinerea causante de la enfermedad del moho gris en distintos cultivos



(A)



(B)



(C)



(D)



(E)



(F)

Nota. A) Fresa, B) Mora, C) Tomate, D) Uva, E) Pimiento, F) Kiwi

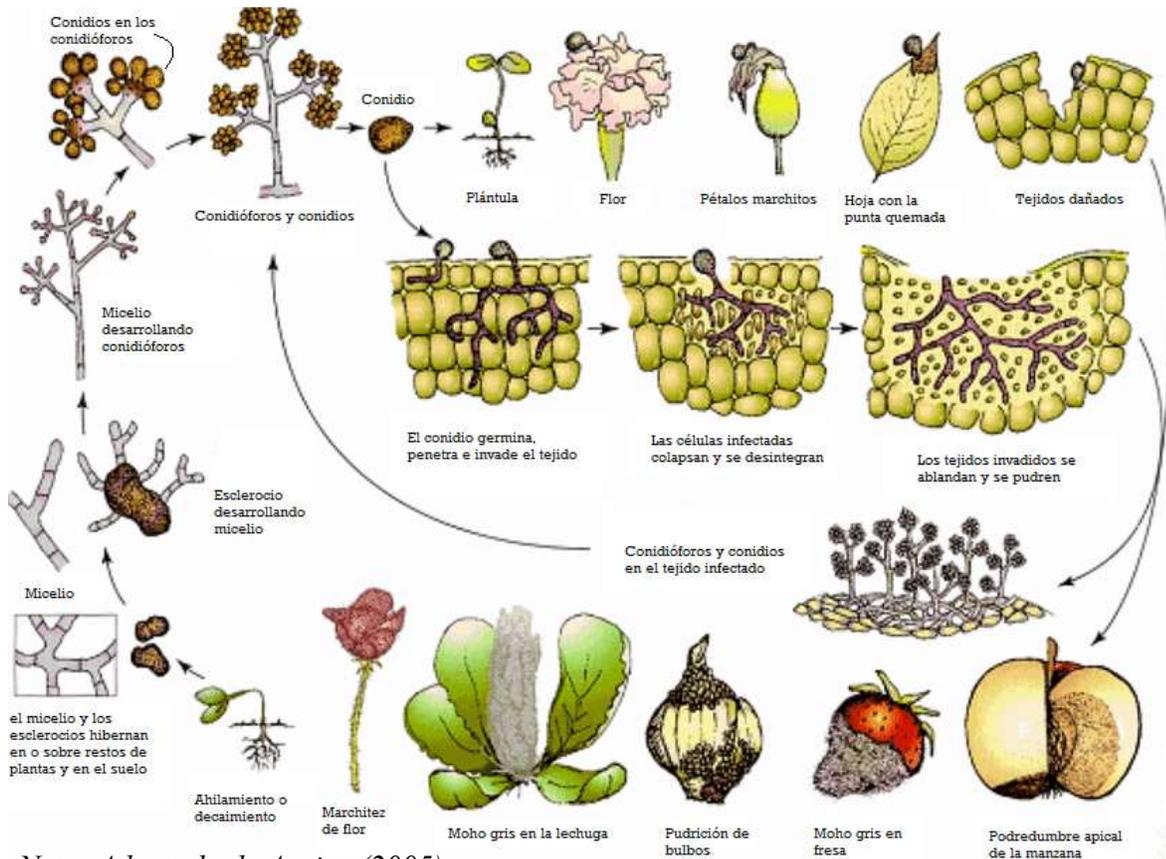
2.3 Enfermedad del moho gris

La enfermedad de la podredumbre gris, causada por el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*, también conocido como moho gris, es considerada como una de las más dañinas debido a que ataca

directamente el producto comercial (Romanazzi & Feliziani, 2014), tanto en campo como durante la cosecha y almacenaje, ocasionando pérdidas enormes en muchas hortalizas y frutas carnosas (Viera-Arroyo et al., 2020). La enfermedad se propaga de planta en planta a través de la liberación de esporas en el aire, por la propagación mecánica con herramientas o animales, o por el contacto directo entre plantas (Williamson et. al., 2007). Cuando las condiciones ambientales no son adecuadas, el hongo puede morir y liberar esclerocios para sobrevivir y reiniciar el ciclo de vida como se muestra en la Figura 3 (Fillinger & Elad, 2015). En cambio, si son favorables, los esclerocios producen esporas que se propagan por el aire y se adhieren a las plantas, colonizando nuevos tejidos hasta producir su muerte (Elad, Vivier, et al., 2015).

Figura 2

Ciclo de vida de Botrytis cinerea causante de la enfermedad del moho gris



Nota. Adaptado de Agrios (2005)

2.3.1 Sintomatología

Las pudriciones blandas, acompañadas por el colapso y la absorción de agua de los tejidos del parénquima, seguidas de una rápida aparición de masas grises de conidios, son los síntomas más típicos en hojas y frutos blandos. En los pétalos de las flores, los síntomas varían desde diminutas marcas de 'viruelas' hasta podredumbre blanda a gran escala dependiendo de las condiciones ambientales (Elad, Vivier, et al., 2015; Williamson et al., 2007).

Uno de los frutos más afectados por esta enfermedad son las uvas. Los síntomas se pueden observar en hojas, brotes, yemas y tallos, de los cuales, las bayas son el órgano de la planta de uva más afectado. Estas sintomatologías a menudo aparecen antes de la cosecha o durante el almacenamiento en frío, el tránsito o la comercialización, y se muestran con una decoloración de color marrón rojizo que comienza en el extremo del pedicelo y progresa hacia el extremo estilar (Latorre et al., 2015).

2.3.2 Pérdidas económicas en cultivos agrícolas

Los costos del daño causado por *Botrytis* sp. son muy difíciles de estimar debido a la amplia gama de huéspedes. Los costos son difusos, ya que el daño ocurre en diferentes etapas de la cadena de producción y venta al por menor (Dean et al., 2012). Sin embargo, aproximadamente existe una pérdida entre \$10 mil millones y \$100 mil millones en todo el mundo, tanto en condiciones previas como posteriores a la cosecha (Vasquez-Montaña et al., 2020). Alrededor del 20% de la cosecha mundial es afectada por *B. cinerea* ocasionando una inversión de billones de euros anuales para su control (Plascencia-Tenorio et al., 2012).

2.3.3 Tratamientos para controlar la enfermedad de moho gris

Para controlar el problema fitosanitario que produce esta enfermedad, se pueden combinar diferentes tratamientos post cosecha, pero los fungicidas sintéticos son el principal medio de protección para muchos cultivos en la actualidad. (Fillinger & Elad, 2015).

El uso excesivo de dicarboximida y otros componentes activos en los botricidas puede provocar resistencia en varias cepas del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*, lo que ha llevado al Comité de Acción de Resistencia a los Fungicidas (FRAC) a recomendar que el número de tratamientos con estos químicos se limite a dos o tres por cultivo y por temporada (Plascencia-Tenorio et al., 2012). Para aumentar los rendimientos de producción se pueden usar alternativas biológicas a los fungicidas convencionales. Las tendencias de investigación se están moviendo hacia la prospección de métodos ecológicos para controlar este patógeno, incluido el uso de agentes de control biológico (ACB) y sus compuestos activos (Kasfi et al., 2018).

2.4 Agentes microbianos de control biológico (ACB)

Se definen como microorganismos que atacan a las especies patógenas mediante mecanismos de acción. Dentro de los posibles mecanismos de acción botricida se encuentran: secreción de enzimas para la degradación de pared celular, competencia por nutrientes, depredación, producción de siringotoxinas, siringomicinas y toxinas asesinas (Elad & Stewart, 2007; Romanazzi & Feliziani, 2014).

Una opción para mejorar la capacidad antagonica es considerar la combinación entre microorganismos potenciales como control biológico, puesto que en conjunto son más eficientes que en forma individual (Brewer & Larkin, 2005). Por otra parte, como alternativa al tratamiento

excesivo con fungicidas químicos, se ha sugerido aprovechar el potencial de acción de los ACB y combinarlos con productos químicos, métodos físicos o prácticas agronómicas (Larkin, 2003).

2.4.1 Bacterias como ACB

Son los microorganismos más utilizados y dominan cerca del 74% del mercado de bioplaguicidas (Arora, 2015). La eficacia de un agente de biocontrol bacteriano contra las enfermedades de las plantas depende de la especie bacteriana y de algunas características como: mecanismo de acción, acondicionamiento, dosis, métodos de aplicación, la sensibilidad de los fitopatógenos, el tipo de cultivo, las propiedades físicas de la planta y las condiciones ambientales, junto con los factores abióticos (Vasquez-Montaña et al., 2020).

Las cepas bacterianas del género *Bacillus* han demostrado ser prometedoras como ACB en la protección poscosecha de frutas y verduras contra patógenos fúngicos. Además de su alta abundancia y diversidad en los agro-sistemas, estas bacterias presentan la ventaja de no ser patógenas para las plantas y para los seres humanos, lo que les permite ser utilizadas de manera segura (Plascencia-Tenorio et al., 2012).

2.4.2 Levaduras como ACB

El control de patógenos por levaduras, en enfermedades previas o posteriores a la cosecha, ha sido ampliamente demostrado (Irtwange, 2006; Paulitz & Bélanger, 2003; Punja & Utkhede, 2003). En general, la mayoría de las levaduras antagónicas se obtienen de la microbiota epífita asociada con flores y frutos, y muestran variedad de actividades como competencia por nutrientes y espacio (Pimenta et al., 2009).

Se ha reportado que algunas especies pueden ser eficaces para el control de la podredumbre causada por *B. cinerea* durante el almacenamiento de la uva, manzanas y fresas (Calvo-Garrido

et al., 2013; Zheng et al., 2021). Especies de levaduras como: *Candida oleophila*, *Kloeckera apiculata*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Sporothrix flocculosa*, *Pichia membranifaciens* y *Pichia anomala*, entre otras, han sido reportadas como potenciales biocontroladoras de *B. cinerea* (Kalogiannis et al., 2006; Long et al., 2005; Williamson et al., 2007).

2.4.3 Hongos filamentosos como ACB

Representan aproximadamente el 10% del mercado de bioplaguicidas (Arora, 2015). Se pueden utilizar para controlar insectos y enfermedades de las plantas, incluidos otros hongos, bacterias, nemátodos y mala hierba. Por su capacidad metabólica y mecánica, diferentes especies de mohos se utilizan para el desarrollo de biofertilizantes, biopesticidas y acondicionadores biológicos (Suárez-Contreras & Peñaranda-Figueroa, 2022). Sin embargo, son organismos vivos que a menudo requieren una gama limitada de condiciones que incluyen suelo húmedo y temperaturas frescas para proliferar.

El hongo *Trichoderma* sp. es uno de los ACB más utilizados a nivel comercial debido a su capacidad para colonizar las raíces de las plantas sin causar daño, lo que lo convierte en un excelente competidor con los patógenos (Arora, 2015).

2.5 Revisión sistemática

Las revisiones sistemáticas son una herramienta clave en la investigación, ya que permiten recopilar y sintetizar de manera rigurosa la información disponible sobre un tema específico, con el objetivo de responder una pregunta de investigación (Moreno et al., 2018). Existen dos tipos de revisiones sistemáticas: cualitativas y cuantitativas. Las revisiones cualitativas presentan la evidencia de forma descriptiva, mientras que las revisiones cuantitativas utilizan metodologías estadísticas para combinar numéricamente los resultados y realizar un metaanálisis (Wiederer & Straube, 2019).

2.5.1 Protocolo PRISMA

La declaración PRISMA 2020 está destinada a ser utilizada en revisiones sistemáticas que incluyen o no incluyen síntesis estadística. Los ítems de clasificación de la información mencionados en el protocolo son relevantes para las revisiones sistemáticas de métodos mixtos (que incluyen estudios cuantitativos y cualitativos) (Yepes-Núñez et al., 2021)

Para limitar el sesgo y el error aleatorio se debe realizar una búsqueda sistemática y exhaustiva de todos los artículos relevantes, luego seleccionar, mediante criterios explícitos y reproducibles, los artículos que serán incluidos en la revisión. Adicionalmente, la síntesis de los datos obtenidos y la interpretación de los resultados debe ser adecuada a la pregunta de investigación (Manterola et al., 2013).

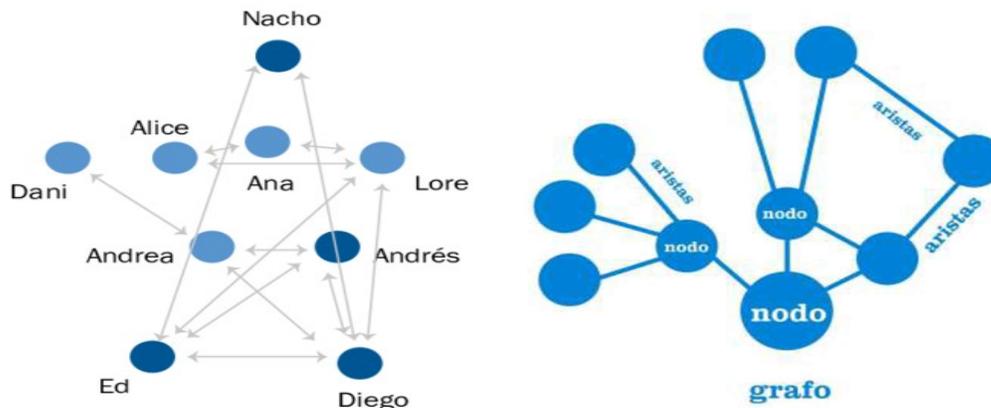
2.5.2 Resultados de revisión sistemática mediante grafos

La revisión sistemática mediante grafos es una técnica de análisis que permite visualizar y analizar las relaciones entre diferentes estudios y los resultados de cada uno, para una mejor comprensión de los patrones y tendencias en los datos (Fleming et al., 2014). Actualmente, tiene una importancia creciente en diversos campos, incluida la ecología y la biología evolutiva (Blonder et al., 2012).

El grafo se construye mediante nodos y aristas (Figura 3). Los nodos representan los objetos, mientras que las aristas representan las relaciones entre ellos (Scott, 2017). La información se presenta de manera visual y se puede utilizar para identificar comunidades y nodos clave, realizando diferentes análisis y modelos (Newman, 2010). (Borgatti, Everett, & Johnson, 2013).

Figura 3

Estructura de grafos



Nota. Los círculos representan los nodos, las líneas son las aristas y la unión entre ambos son vínculos.

2.6 Metaanálisis

El metaanálisis es una técnica estadística que se utiliza para combinar y resumir los resultados de varios estudios individuales. Se pueden utilizar dos tipos principales de metaanálisis: el metaanálisis de datos agregados y el metaanálisis de datos individuales (Escrig Sos et al., 2021).

Es importante realizar una revisión sistemática antes de efectuar un metaanálisis, ya que la calidad del metaanálisis dependerá de la calidad de la revisión sistemática que lo precede. La calidad de los estudios seleccionados para una revisión sistemática se puede evaluar mediante el protocolo PRISMA como se mencionó anteriormente (Bolaños Díaz & Calderón Cahua, 2014).

2.6.1 Fases de un metaanálisis

La realización de un metaanálisis requiere seguir las mismas fases que las de un estudio empírico, por lo tanto, es necesario clarificar las fases de un metaanálisis. La realización de un metaanálisis se puede plantear en seis etapas, que se muestran en la Tabla 2 (Sánchez-Meca, 2010).

Tabla 2*Etapas de una revisión sistemática y metaanálisis*

FASES DE REVISIÓN SISTEMÁTICA		
Nº	Etapas	Particularidad
1	Formulación del problema	Consiste en plantear el problema que se pretende investigar. Se determina la enfermedad, población, intervención, efectos, medias.
2	Búsqueda de los estudios	Localización de estudios empíricos que hayan abordado la pregunta objeto de investigación.
3	Selección de estudios	Elección de los estudios que cumplen con los criterios de inclusión y exclusión
4	Recogida de datos	Se debe generar una tabla de estudios obtenidos junto con las variables para los cálculos posteriores
FASES DE METAANÁLISIS		
5	Codificación de los estudios	Se codifican los estudios de acuerdo con las características requeridas en el metaanálisis
6	Cálculo del tamaño del efecto	Calcular un índice estadístico que sea capaz de reflejar la magnitud del efecto obtenido en cada estudio.
7	Análisis estadístico e interpretación	Aplicación de pruebas estadísticas de efectos fijos o aleatorios con cálculo de heterogeneidad, análisis de sensibilidad, entre otros.
8	Publicación del metaanálisis	Se presenta un informe escrito del metaanálisis: introducción, método, resultados y discusión y conclusiones.

*Nota. Adaptado de Sánchez-Meca (2010)***2.6.2 Forest plot o diagrama de bosque**

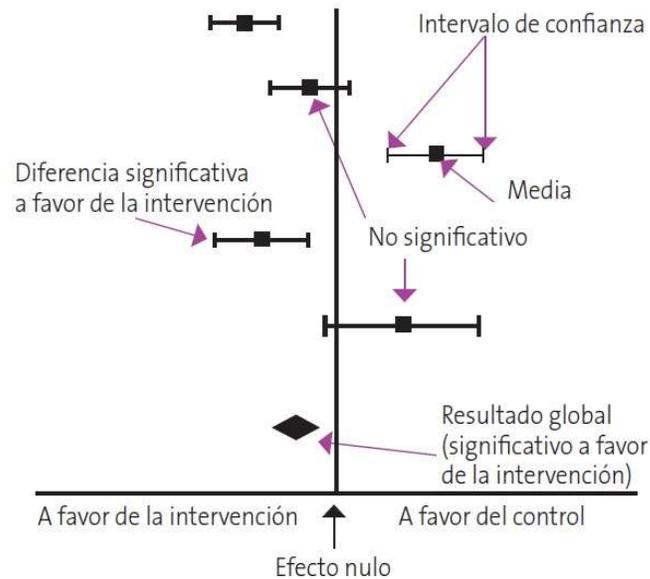
El forest plot o diagrama de bosque, es una herramienta gráfica que se utiliza comúnmente en los metaanálisis para visualizar los resultados de múltiples estudios en un solo diagrama. El

nombre se refiere al bosque de líneas que se produce cuando los resultados de múltiples estudios individuales se trazan contra el mismo eje (Verhagen & Ferreira, 2014). Este diagrama proporciona una representación visual rápida de las estimaciones generales del efecto y la heterogeneidad del estudio, por lo que se considera una herramienta muy poderosa en el metaanálisis (Israel & Richter, 2011).

En un forest plot, como se observa en la Figura 4, cada estudio individual se representa por un rectángulo en el eje horizontal, cuyo tamaño indica la precisión de la estimación del efecto (por ejemplo, el tamaño de la muestra), y una línea vertical que atraviesa el rectángulo indica el intervalo de confianza del estudio para el efecto. La línea de media se encuentra en el centro del rectángulo y su posición en relación con la línea de referencia (que suele ser el valor nulo) indica la dirección y magnitud del efecto en ese estudio.

Figura 4

Elementos gráficos de un Forest plot



Nota. Tomado de (Molina A., 2018)

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA

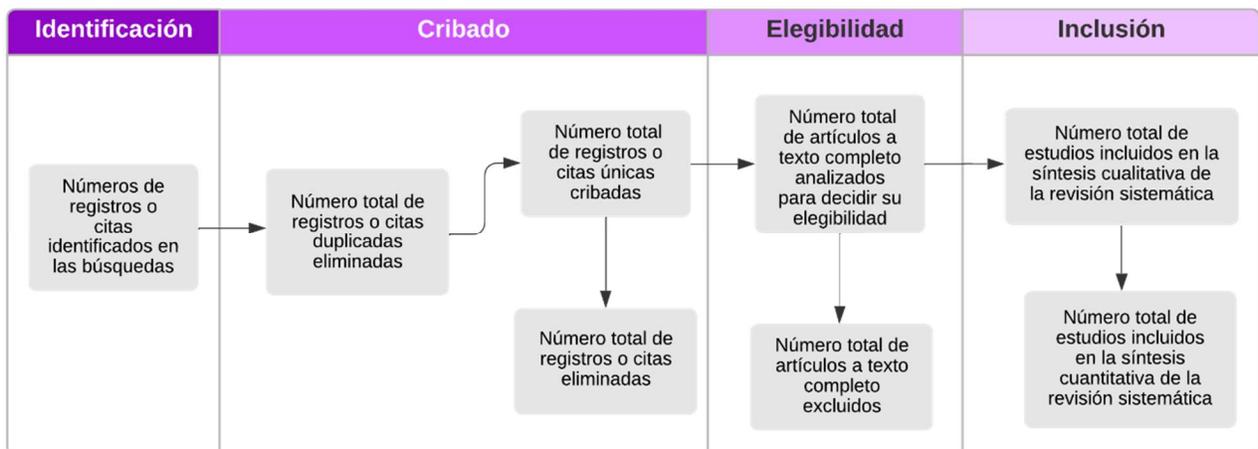
3.1 Descripción de la revisión sistemática

El presente trabajo se realizó mediante una revisión bibliográfica sistemática, que consistió en la búsqueda de información de artículos científicos que contengan resultados de estudios de investigación con fases *in vivo*, *in situ* e *in vitro*, para comparar los efectos inhibitorios de los diferentes grupos microbianos que se utilizaron como ACB frente a *Botrytis cinerea* (González-Domínguez et al., 2019).

Se utilizó la declaración Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Metanalysis PRISMA (Figura 5) (Moher et al., 2015). Esta metodología conlleva a una revisión, expansión y mejora de la investigación mediante la estructura de 4 fases: identificación, cribado, elección e inclusión (Moher et al., 2009).

Figura 5

Diagrama de flujo que sintetiza el Protocolo PRISMA



Nota. Adaptado de Urrútia & Bonfill (2010)

3.1.1 Identificación de las publicaciones científicas relacionadas con *Botrytis cinerea*

La revisión de información científica se basó en la recopilación de artículos experimentales de revistas indexadas, provenientes de las siguientes bases de datos bibliográficos: Proquest, Pubmed, Springerlink, ScienceDirect, Scopus, JSTOR, Web of Science, Dialnet y SciELO.

Para agilizar la recolección de datos, se empleó rutas de búsqueda (frases) que se formaron mediante el uso de palabras clave referidas al tema de estudio, en inglés y en español: bacteria antagónica, levadura antagónica, hongo antagónico, antagonic bacteria, antagonic *fungi*, antagonic yeast, *Botrytis cinerea*, against, biocontrol bacteriano, control microbiológico, microbial control, agents of biological, control bacterial, biological control, microbial control, *in situ*, *in vitro*, *in vivo*. Estas palabras se combinaron con operadores booleanos (and, or, not, and not) y operadores cercanos (near, next y adj) (Centro Cochrane Iberoamericano, 2012).

La búsqueda se enfocó tanto en idioma español como inglés para localizar toda la información vigente disponible dentro del rango de tiempo de publicación desde el año 2011 hasta el mes de agosto del año 2021, con esto se busca examinar los últimos avances investigativos en los que los estudios más antiguos pueden haber sido superados por nuevos conocimientos y técnicas (Haidich, 2010).

3.1.2 Cribado de las publicaciones científicas relevantes

Primero se realizó una ronda preliminar de las publicaciones, donde se analizó: título y resumen, incluyendo un análisis del contexto de cada estudio, para determinar la relevancia del artículo de acuerdo con el tema de esta investigación. Posteriormente, se revisó los nombres de los autores y la similitud en los resultados presentados con el fin de identificar reportes duplicados. Si los artículos científicos eran adecuados y cumplían con estos criterios, fueron catalogados como artículos de relevancia (McGowan & Sampson, 2005).

3.1.3 *Criterios de elegibilidad de las publicaciones científicas relevantes*

Se utilizaron criterios de elegibilidad definidos para determinar los artículos que usaron en el metaanálisis de acuerdo con el tema de investigación.

Criterios de inclusión

Población: Se incluyó todos los microorganismos antagonistas, para abarcar el mayor número de reportes que los hayan utilizado como control biológico contra *B.cinerea*.

Intervenciones: Los artículos seleccionados para el metaanálisis incluyeron fases experimentales *in situ* o *in vivo* en plantas, con un diseño experimental definido y análisis estadísticos significativos ($p \leq 0.05$).

Desenlace: Los datos deben ser cuantitativos sobre los efectos de inhibición en cantidad de micelio del patógeno *B.cinerea*. También se debe especificar el uso de los tratamientos control o blancos.

Estudio: Los artículos científicos deben detallar la metodología de las investigaciones experimentales realizadas con los microorganismos antagónicos mencionados.

Criterios de exclusión

Población: Se excluyeron los ACB que no son microorganismos antagonistas de *B. cinerea*, con el fin de evitar cualquier interferencia en los resultados con otros fitopatógenos.

Intervenciones: Los artículos científicos que no tengan especificado el tipo experimentación *in vivo* o *in situ* en plantas, fueron excluidos por falta de datos que validen la aplicación de microorganismos como ACB en el cultivo agrícola.

Desenlace: Se excluyeron los artículos que no mencionen datos o resultados referente a la metodología usada durante la experimentación con los ACB.

Estudio: No se consideraron como un estudio de relevancia para esta investigación las revisiones bibliográficas, sistemáticas, estado del arte, porque no tienen fase experimental

3.1.4 Elección e Inclusión de las publicaciones científicas relevantes

Se examinó el texto completo de cada artículo científico, haciendo énfasis en la metodología, análisis estadístico y resultados, para verificar el cumplimiento los criterios definidos inicialmente. Posteriormente, se clasificó los artículos elegidos de acuerdo con los grupos microbianos encontrados.

3.1.5 Obtención de datos de las publicaciones científicas relevantes

Se realizó una matriz de categorización en hojas de cálculo utilizando el programa informático Excel. Las variables de análisis que se consideraron para la categorización fueron: año de publicación, país, microorganismo, fase de experimentación, especie microbiana, cultivo agrícola, metodología utilizada para evaluar la inhibición, parámetros de inoculación, medios de cultivo utilizados, porcentaje de inhibición, prevalencia de la enfermedad de moho gris y duración de tratamiento (Spadaro & Gullino, 2004).

3.1.6 Resultados de la revisión sistemática mediante análisis de redes con grafos en Gephi

Se aplicó una metodología de enfoque de redes que se basó en datos cuantitativos obtenidos de información cualitativa almacenada en una hoja de Excel durante la revisión sistemática. El software libre está disponible para su descarga en la página web <https://gephi.org/>. En el análisis de redes sociales, se llevó a cabo la identificación de las conexiones entre países, especies microbianas, cultivos agrícolas y fases experimentales presentes en los diferentes artículos

científicos. El primer paso consistió en clasificar y mapear los nodos correspondientes (países, especies microbianas, cultivos agrícolas, fases experimentales) y calcular la frecuencia de cada nodo. A continuación, se establecieron los vínculos entre los nodos mediante el uso de tablas de contingencia, y se asignó un peso a cada conexión. Esta información se introdujo en el software Gephi (0.10.1).

3.2 Descripción del Metaanálisis de datos continuos

3.2.1 Base de datos generada a partir de microorganismos con actividad antagónica frente a *Botrytis cinerea*

En la hoja de cálculo construida con los resultados de la revisión sistemática, se consideraron como observaciones independientes los ensayos que investigaban diferentes especies microbianas extraídas de la misma publicación. Para cada observación experimental, se registraron las medias de los porcentajes de inhibición tanto para el tratamiento Xt como para el control Xc, junto con sus desviaciones estándar y el número de repeticiones. Los datos se obtuvieron directamente de tablas o del texto de cada artículo. En caso de que los datos estuvieran presentados en gráficos, se extrajeron utilizando el software WebPlotDigitizer (v 4.6), disponible en <https://automeris.io/WebPlotDigitizer/>. En los casos en los que el control mostraba un 0% de inhibición, se sustituyó por 0.001% para evitar errores en el cálculo del tamaño de efecto utilizando el software OpenMee (2016).

3.2.2 Codificación de estudios experimentales

A cada género microbiano encontrado en los estudios se le asignó un número por ejemplo *Bacillus* (1), y a cada grupo microbiano una letra: bacteria (B), levadura (L) y Hongo Filamentoso (H), dependiendo de su fase experimental se le asignó una letra diferente: *in vitro* (V) *in vivo* (VV) *in situ* (S).

3.2.3 Variables dependientes de evaluación

Las variables dependientes de evaluación se dividen de acuerdo con las 3 fases de experimentación, fase *in vitro*, *in vivo* e *in situ* (Tabla 3). Las variables se basaron en los porcentajes de inhibición en todos los estudios elegidos. Esto se implementó para evidenciar cual es el mejor microorganismo como ACB.

Tabla 3

Variables de evaluación para cada fase de experimentación (in vitro, in vivo, in situ)

Variables de evaluación <i>in vitro</i>	Descripción
Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial	Los datos se obtuvieron de los resultados de los métodos de susceptibilidad antifúngica en discos o cultivos duales (Espinoza-Ahumada et al., 2019).
Variables de evaluación <i>in vivo</i>	Descripción
Porcentaje de incidencia de moho gris (índice de infección)	Se consideraron los porcentajes de aparición de moho gris en las áreas inoculadas con el hongo (C. Chen et al., 2020)
Variables de evaluación <i>in situ</i> o en campo	Descripción
Índice de infección (eficacia de control biológico)	Se consideraron los porcentajes de frutos que no presentaron germinación del hongo o presencia de moho gris (Köhl et al., 2007)

Nota. Todas las variables miden el porcentaje de inhibición de Botrytis cinerea

3.2.4 Variables independientes de evaluación

Se consideraron 3 tipos de variables independientes para todas las fases experimentales que no influyen en el efecto inhibitorio contra *B. cinerea*, como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4

Variables independientes de evaluación para cada fase de experimentación (in vitro, in vivo, in situ)

Variables independientes de evaluación	Descripción
Dosis de tratamiento	Fueron el número de repeticiones del agente de control biológico que se aplicaron al tejido vegetal durante el tratamiento (Ippolito & Nigro, 2000)
Concentración de inóculo	El número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) o el número de esporas/ ml del microorganismo que se inocularon en el tejido para el tratamiento (Kulakiotu et al., 2007)
Tiempo de tratamiento	La duración en días de la aplicación del tratamiento con agentes de control biológico en el tejido vegetal (Boukaew et al., 2017)

Nota. Las variables de evaluación independientes son las mismas para las 3 fases experimentales

3.2.5 Cálculo de tamaño del efecto mediante OpenMEE (2016)

Los datos mencionados en la sección 3.2.1 fueron ingresados en el software OpenMEE (2016), para realizar el respectivo cálculo de la Tasa de Respuesta (Response Ratio (RR) (Fórmula 1), el cual es una métrica de tamaño del efecto común para el metaanálisis en la investigación ecológica y sirve para cuantificar diseños experimentales simples de dos grupos (Lajeunesse, 2011; Risoli et al., 2022).

Fórmula 1

$$RR = \ln \left(\frac{\bar{X}_T}{\bar{X}_C} \right)$$

Donde: RR, es el cambio proporcional logarítmico natural en las medias (\bar{X}) de un tratamiento (T) y un grupo de control (C).

3.2.6 Análisis de heterogeneidad entre estudios

3.2.6.1 Cálculo de varianza mediante OpenMEE (2016)

Cuando se agrupa los RR de múltiples estudios también se asigna un peso a cada RR que es inversamente proporcional a su varianza de muestreo:

Fórmula 2

$$\sigma^2(RR) = \frac{(SD_C)^2}{N_C \bar{X}_C^2} + \frac{(SD_T)^2}{N_T \bar{X}_T^2}$$

Donde: SD y N, son la desviación estándar y el tamaño de la muestra de cada tratamiento y control respectivamente. \bar{X}_T y \bar{X}_C , son las medias de los porcentajes de inhibición del tratamiento y del control, respectivamente (Lajeunesse, 2011; Risoli et al., 2022).

3.2.6.2 Análisis de la heterogeneidad residual de los tamaños del efecto

La heterogeneidad estadística (I^2), evalúa si la variabilidad en el efecto observado, que no se tiene en cuenta por la estrategia de tratamiento con microorganismos, es mayor de lo que se podría esperar, si se basa únicamente en la variabilidad del muestreo. Se calculó I^2 para cada tratamiento que indica la proporción de la variación total en las estimaciones del efecto del tratamiento que se debe a la heterogeneidad entre los estudios (González-Domínguez et al., 2019).

3.2.7 Selección del método estadístico

3.2.7.1 Modelos de efectos aleatorios

El metaanálisis de efectos aleatorios permite que los efectos de los estudios incluidos en el metaanálisis varíen entre sí, incluso después de haber tenido en cuenta las características de los estudios. Toma en cuenta esta diversidad y proporciona estimaciones más conservadoras y generalizables (Higgins & Thompson, 2002). Se aplicó este tipo de metaanálisis debido a la variabilidad de géneros microbianos y diseños experimentales de los estudios.

3.2.8 Metaanálisis por subgrupos

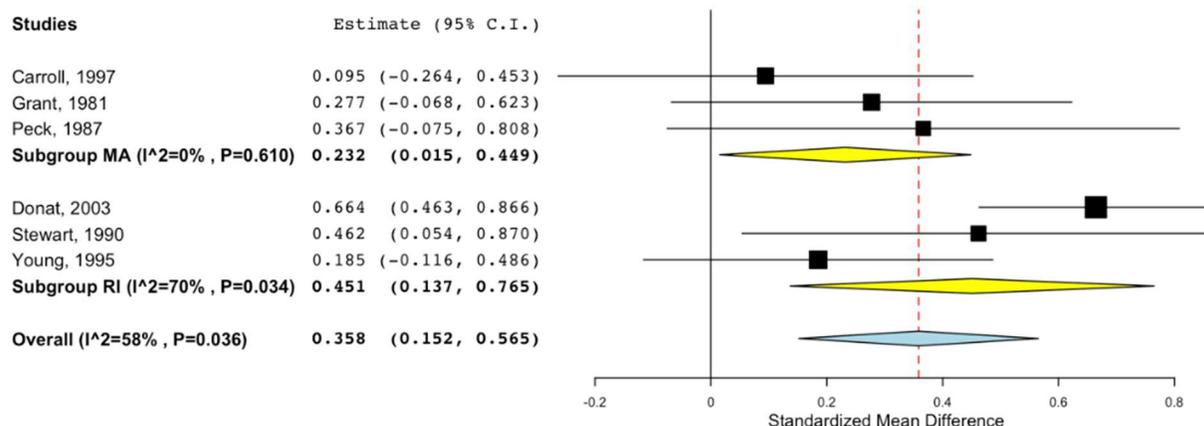
Se llevó a cabo un metaanálisis dividiendo los subgrupos microbianos en bacterias, levaduras y hongos filamentosos. En caso de que se haya observado una heterogeneidad significativa en los estudios ($I^2 > 50\%$), se decidió realizar una subdivisión del metaanálisis de acuerdo con los géneros microbianos encontrados, según los códigos obtenidos en la sección 3.2.2. (Verhagen & Ferreira, 2014).

3.2.9 Representación gráfica mediante OpenMEE (2016)

Se utilizó un forest plot (Figura 6) para representar los resultados del metaanálisis. Esta representación muestra las estimaciones precisas y el intervalo de confianza de cada estudio, clasificados por variables y tratamientos analizados (Botella & Zamora, 2017). La primera columna representa la identificación de cada estudio, utilizando las especies microbianas y los números de artículo correspondientes. La siguiente columna representa el tamaño del efecto. La línea horizontal de la base muestra la escala de medición del efecto del tratamiento, mientras que la línea roja punteada representa la media estimada del efecto de los estudios. En el lado derecho de esta línea se encuentran los estudios que demuestran un efecto favorable del tratamiento (Ojeda & Wurth, 2014).

Figura 6

Forest Plot de un metaanálisis de subgrupos utilizando el software OpenMEE (2016)



Nota. Adaptado de Wallace et al. (2017).

3.3 Descripción de la guía de cultivo agrícola

La metodología que se utilizó para el establecimiento del manual fue descrita en cuatro etapas (Duhalt Krauss, 2002). La primera etapa es el esquema para la elaboración del manual, la segunda etapa es la recopilación de la información, la tercera etapa es el análisis y depuración de la información, por último, la cuarta etapa es la redacción y revisión final del documento.

3.3.1 Fase I: Esquema de elaboración del manual

El manual se desarrolló con un orden adecuado y secuencial basado en el manual de “Buenas prácticas agrícolas para el productor hortofrutícola”(FAO, 2012), del cual se obtuvo la estructura general:

- Introducción sobre el fitopatógeno *Botrytis cinerea*
- Definición de Agentes de Control Biológico
- Ventajas del uso de Agentes de Control Biológico

- Métodos de aplicación en cultivo
- Fungicidas biológicos de venta pública en el Ecuador
- Normas de bioseguridad para fumigar
- Microorganismos utilizados como Agentes de Control Biológico
- Conclusiones y Recomendaciones

3.3.2 Fase II: Recopilación de la información

Durante esta investigación, se recopiló información a través de la revisión sistemática y el metaanálisis para obtener datos específicos. Además, se utilizaron diferentes fuentes de literatura, como tesis de pregrado y posgrado, informes técnicos, manuales, artículos científicos, libros, entre otros, que fueron verificados científicamente:

- Capítulo 4 – *Botrytis cinerea* (Moho gris) (Romanazzi & Feliziani, 2014).
- Moho gris de la fresa, una enfermedad devastadora causada por el hongo patógeno necrotrófico ubicuo *Botrytis cinerea* (Petrasch et al., 2019).
- Alternativas ecológicas para el control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en mora de castilla (*Rubus Glaucus Benth*) (Alencastro Campaña, 2011)
- Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de Nayarit, México (Gutiérrez-Ramírez et al., 2013)
- Comercialización de agentes de control biológico (Gómez et al., 2018)
- El concepto de control biológico y sus premisas fundamentales (Cotes, 2018)
- Control biológico de patógenos en poscosecha (Zapata et al., 2018)

3.3.3 Fase III: Análisis y depuración de la información

Se integraron los resultados de la revisión sistemática y el metaanálisis para proporcionar información específica, clasificada por cultivo agrícola. Se incluyeron características principales

como la concentración de inóculo, el porcentaje de inhibición y la referencia del artículo científico correspondiente. Esto permite al lector seleccionar fácilmente el microorganismo adecuado para su producción agrícola.

3.3.4 Fase IV: Redacción y revisión final del documento

Toda la información técnica se resumió con fines informativos y de divulgación para futuras aplicaciones industriales como la creación de biofungicidas y esquemas de manejo de plagas en cultivos agrícolas.

CAPÍTULO IV

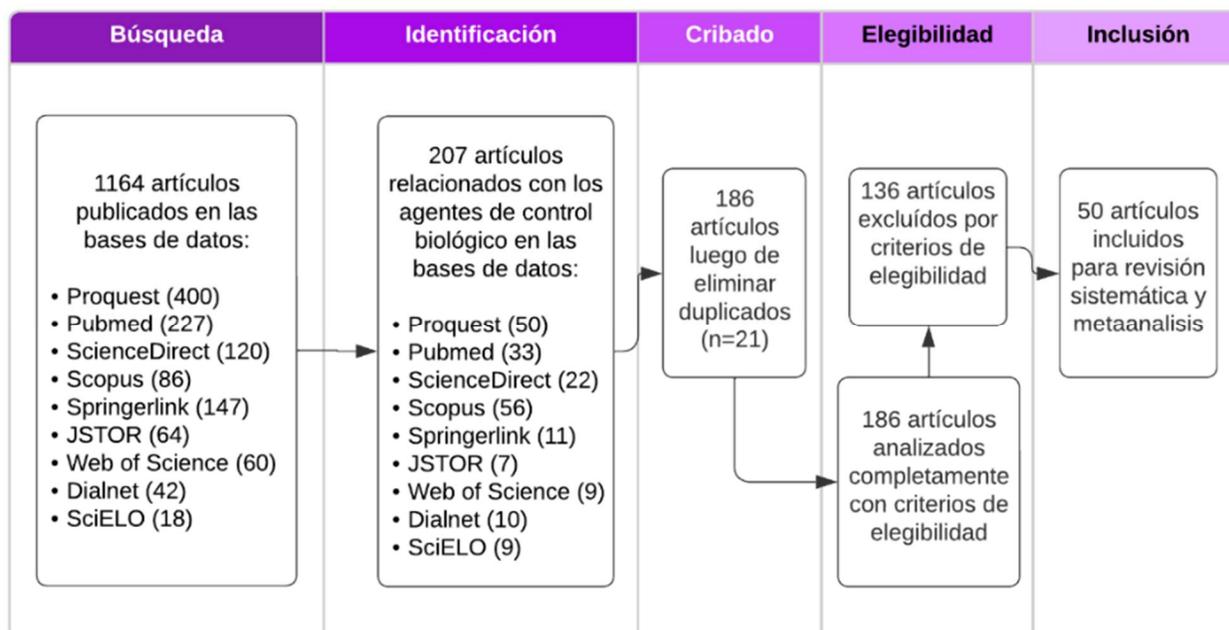
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Revisión sistemática de microorganismos para el control biológico de *Botrytis cinerea*.

En los motores de búsqueda analizados en este estudio, se lograron identificar varios artículos científicos experimentales: Proquest (400 artículos), Pubmed (227 artículos), Springerlink (147 artículos), ScienceDirect (120 artículos), Scopus (86 artículos), JSTOR (64 artículos), Web of Science (60 artículos), Dialnet (42 artículos) y SciELO (18 artículos). Se ejecutó una evaluación preliminar de títulos, resúmenes y palabras clave, seleccionando 207 artículos en español e inglés, en base al contexto de esta investigación. Luego, se eliminaron 21 duplicados y 136 artículos por no cumplir con los criterios de inclusión determinados. Se seleccionaron finalmente 50 artículos científicos, todos publicados en inglés (Figura 7).

Figura 7

Diagrama de flujo de la selección de artículos en la revisión sistemática



La investigación incluyó artículos publicados desde enero de 2011 hasta agosto de 2021, que demostraron experimentalmente las características antagónicas de diferentes microorganismos frente a *Botrytis cinerea*. Cada uno de los artículos analizados presentó al menos una etapa de experimentación *in vivo* o *in situ* con el objetivo de proporcionar una perspectiva futura sobre la efectividad de la creación de biofungicidas mediante el uso de microorganismos antagónicos en condiciones similares a los cultivos de campo. En la fase *in vivo*, se llevaron a cabo experimentos directamente en la planta o en el fruto, bajo condiciones controladas en laboratorio. Por otro lado, en la fase *in situ*, se aplicaron los tratamientos con ACB directamente en los cultivos de campo o en invernaderos.

Durante el proceso de selección, se descartó la mayoría de los artículos debido a que se limitaban únicamente a metodologías con fase *in vitro*, carecían de un diseño experimental específico y/o no proporcionaban información sobre la obtención de las cepas utilizadas en los experimentos. Con esto se busca garantizar la selección de estudios que brinden resultados más confiables, relevantes y aplicables a la realidad de los cultivos de campo. La tabla de clasificación de los 50 artículos seleccionados se encuentra en el Anexo 1, y la extracción de datos se realizó en una tabla de síntesis en una hoja de cálculo con el programa informático Microsoft Excel (Anexo 2).

4.2 Países con estudios experimentales publicados

Se encontraron estudios publicados en 18 países de todo el mundo, China e Italia destacaron por el número de artículos publicados, con 15 y 10, respectivamente. Estos países utilizaron diferentes tipos de microorganismos antagónicos. La Figura 8 muestra la distribución de los países que publicaron ensayos experimentales en este tema.

Figura 8

Número de artículos identificados por países incluidos en esta investigación.



En China, diversas frutas como nectarinas, melocotones, kiwis, uvas, fresas, peras, tomates y cítricos son frecuentemente afectadas por *Botrytis cinerea*, lo que ocasiona considerables pérdidas tanto antes como después de la cosecha. Específicamente, en la provincia de Shanxi, el moho gris se posiciona como la segunda enfermedad más importante en nectarinas, lo que ha llevado a que el manejo de este patógeno se base principalmente en la aplicación de fungicidas químicos (Yin et al., 2018).

Debido a esta problemática, en China se han implementado estrategias de manejo integrado que incluyen la mezcla y rotación de diferentes fungicidas, así como la utilización de agentes de biocontrol (Fernández-Ortuño et al., 2015; Hahn, 2014; Leroux et al., 2002).

Por otro lado, en Italia, el cultivo de uvas es el más extendido, con una producción de 1,5 millones de toneladas de uva de mesa (Gabriolotto et al., 2009). Las variedades de uva para vino

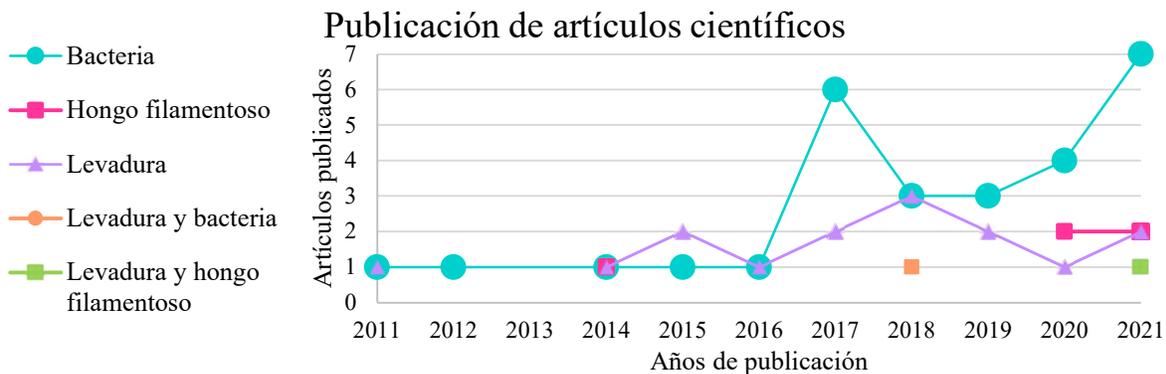
más susceptibles al patógeno, como el "Moscato", "Chardonnay", "Riesling itálico" y "Barbera", suelen ser tratadas dos veces por temporada con botriticidas para controlar la enfermedad (Bertetti et al., 2019), enfrentando un problema importante de resistencia a los fungicidas, por lo que se han llevado a cabo numerosos estudios experimentales con el objetivo de seleccionar ACB que sean útiles en el manejo de la pudrición gris en los viñedos (Azzolini et al., 2013).

4.3 Microorganismos más utilizados como agentes de control biológico frente a *Botrytis cinerea* durante el tiempo

A lo largo del tiempo, se observó una variación en los microorganismos utilizados durante las investigaciones experimentales, como se muestra en la Figura 9.

Figura 9

Comparación de artículos científicos publicados por años y clasificados en los grupos microbianos encontrados ($\chi^2 = 22.47$, $gl = 36$, $p = 0.96$)



Nota: Se clasificaron los artículos de acuerdo con los microorganismos utilizados en la experimentación de cada estudio.

El mayor número de investigaciones sobre los ACB fueron en el año 2021 para la mayoría de los grupos microbianos, exceptuando las levaduras. Esto puede deberse a la necesidad de encontrar alternativas seguras y efectivas a los plaguicidas químicos, puesto que en los últimos

años se han planteado diversos argumentos en contra de su uso (Shi & Sun, 2017). Al promover un mayor número de investigaciones sobre el control biológico, puede conducir a la identificación de nuevas cepas microbianas más efectivas, así como una mejor comprensión de los mecanismos biológicos antagónicos.

Actualmente, las bacterias son las más empleadas como ACB, debido a sus diversos mecanismos de acción como: producción de compuestos antimicrobianos, enzimas que degradan las estructuras celulares del patógeno y la competencia por recursos o espacio. Además, su adaptabilidad y su seguridad ambiental representa una alternativa eficaz y sostenible para el control de esta enfermedad (Ilhan & Karabulut, 2013). Otro de los microorganismos más investigados fueron las levaduras debido a la producción de péptidos antimicrobianos y metabolitos secundarios, la estimulación que genera en el sistema de defensa de las plantas mediante fitoalexinas y enzimas antioxidantes, y su gran tolerancia a condiciones ambientales adversas (Freimoser et al., 2019).

4.4 Vínculo entre países con grupos microbianos y cultivos agrícolas encontrado en los artículos de la revisión sistemática

Se elaboró un documento en Microsoft Excel con las especificaciones de la sección 3.1.7 (Anexo 3). Para la visualización de los vínculos encontrados, el programa informático Gephi (0.10.1) generó 32 nodos y 58 aristas en un grafo no dirigido. En esta red se pudo apreciar los diferentes clústers o grupos (países, grupos microbianos, y cultivos vegetales) con el número de artículos encontrados por cada vínculo (peso de arista), como se muestra en la Figura 10.

centralidad son China con 11 conexiones, seguido de Italia y España con 6 conexiones cada uno. Aunque Italia y España tienen el mismo número de conexiones, en la sección 4.2 se menciona que Italia tiene más publicaciones que España. Esto se debe a que las conexiones de Italia con los grupos microbianos y los cultivos agrícolas son diferentes a las de España.

China es uno de los principales productores de tomate y fresa a nivel mundial, se encuentra una diversidad de climas y regiones agroecológicas, lo que ofrece diferentes condiciones para estos cultivos. Estas variaciones climáticas y ecológicas pueden influir en la incidencia y gravedad de *B.cinerea*, lo que genera la necesidad de investigar y comprender cómo este patógeno afecta específicamente a los cultivos en diferentes áreas del país (Shao et al., 2015).

Por otro lado, Italia se enfocó en el uso de bacterias y levaduras en sus investigaciones, con 5 artículos sobre bacterias y 7 sobre levaduras. Los cultivos agrícolas estudiados incluyeron uva, tomate, manzana y kiwi, siendo la uva el cultivo más investigado con 7 artículos. La industria vitivinícola italiana es de gran importancia económica y cultural, lo que ha impulsado la investigación en el manejo de enfermedades de la vid, incluyendo *B. cinerea* (OIV, 2021). Además, las condiciones climáticas y ambientales en diferentes regiones de Italia son propicias para el desarrollo de este hongo, por lo que la investigación agrícola se basa en buscar soluciones sostenibles y eficientes para reducir el impacto de este hongo en los viñedos italianos (Azzolini et al., 2013). Las levaduras son los microorganismos principales debido a la gran diversidad autóctona presente en sus viñedos que pueden desempeñar un papel importante en la protección de los racimos de uva contra patógenos (Abbey et al., 2018).

El grupo bacterias destacó en el grafo debido a su mayor conexión con los países, a excepción de México, Sudáfrica, Argentina y Taiwán. En cambio, China (9), España (4) e Italia (3) fueron los países que más utilizaron bacterias como ACB en sus experimentaciones. Las

bacterias son ampliamente utilizadas debido a su abundancia en la naturaleza y su diversidad de especies y cepas con diferentes mecanismos de acción contra los patógenos (Villarreal-Delgado et al., 2018). Además, tienen la capacidad de establecer interacciones beneficiosas con las plantas, promoviendo su crecimiento y desarrollo. Estas bacterias pueden colonizar los tejidos vegetales y estimular respuestas de defensa sistémica, fortaleciendo la resistencia de las plantas frente a *B. cinerea* y otras enfermedades (Pal & Gardener, 2006).

El grupo de levaduras se conectó con 8 países, siendo Italia el más relevante con 7 artículos publicados. En cuanto al grupo de hongos filamentosos, se vinculó con 4 países, destacando China que utilizó tanto levaduras como hongos filamentosos en un mismo artículo. Las investigaciones con levaduras como ACB se deben a su actividad antagónica directa, estimulación de las respuestas de defensa en las plantas hospedantes, facilidad de manipulación y capacidad de producción a gran escala en condiciones controladas (Freimoser et al., 2019). Además, existen formulaciones comerciales de levaduras disponibles en el mercado para su aplicación en cultivos agrícolas (Villarreal-Delgado et al., 2018). En cambio, los hongos filamentosos tienen capacidad para adaptarse a diferentes condiciones adversas, como temperaturas extremas y cambios de humedad, lo que les permite sobrevivir y mantener su actividad antagónica en el campo. Su aplicación ofrece una estrategia efectiva y sostenible para el manejo de *B. cinerea* en cultivos agrícolas (Elad & Pertot, 2014).

En cuanto a los cultivos agrícolas, China lidera en investigaciones experimentales relacionadas con el cultivo de tomate, con 5 artículos, seguido por Chile con 3 artículos y Argelia con 2 artículos. En cuanto al cultivo de uva, se observa la participación de 7 países, siendo Italia el más destacado con 7 artículos. En el caso de la manzana, se encontraron investigaciones en 5 países, y solo Sudáfrica realizó ensayos combinados con uva en un mismo artículo científico. La

fresa fue mencionada en 3 países: China, Turquía y Taiwán, siendo China el país con mayor número de artículos, con 5 publicaciones. Aunque la manzana tuvo un menor número de artículos en comparación con la fresa, la manzana fue utilizada en 6 países diferentes.

La preferencia de investigación de la manzana a nivel mundial puede ser debido a que es un cultivo de larga duración, con un ciclo de producción que puede extenderse durante varios meses o incluso todo el año en algunas regiones. Esto proporciona un período prolongado de exposición al patógeno, a diferencia de la fresa que tiene una duración de cosecha más corta y una vida útil limitada después de la cosecha, por lo que es prioridad la investigación y el desarrollo de estrategias de control para proteger los cultivos de manzana de los efectos negativos de *B. cinerea* (Blacharski et al., 2007).

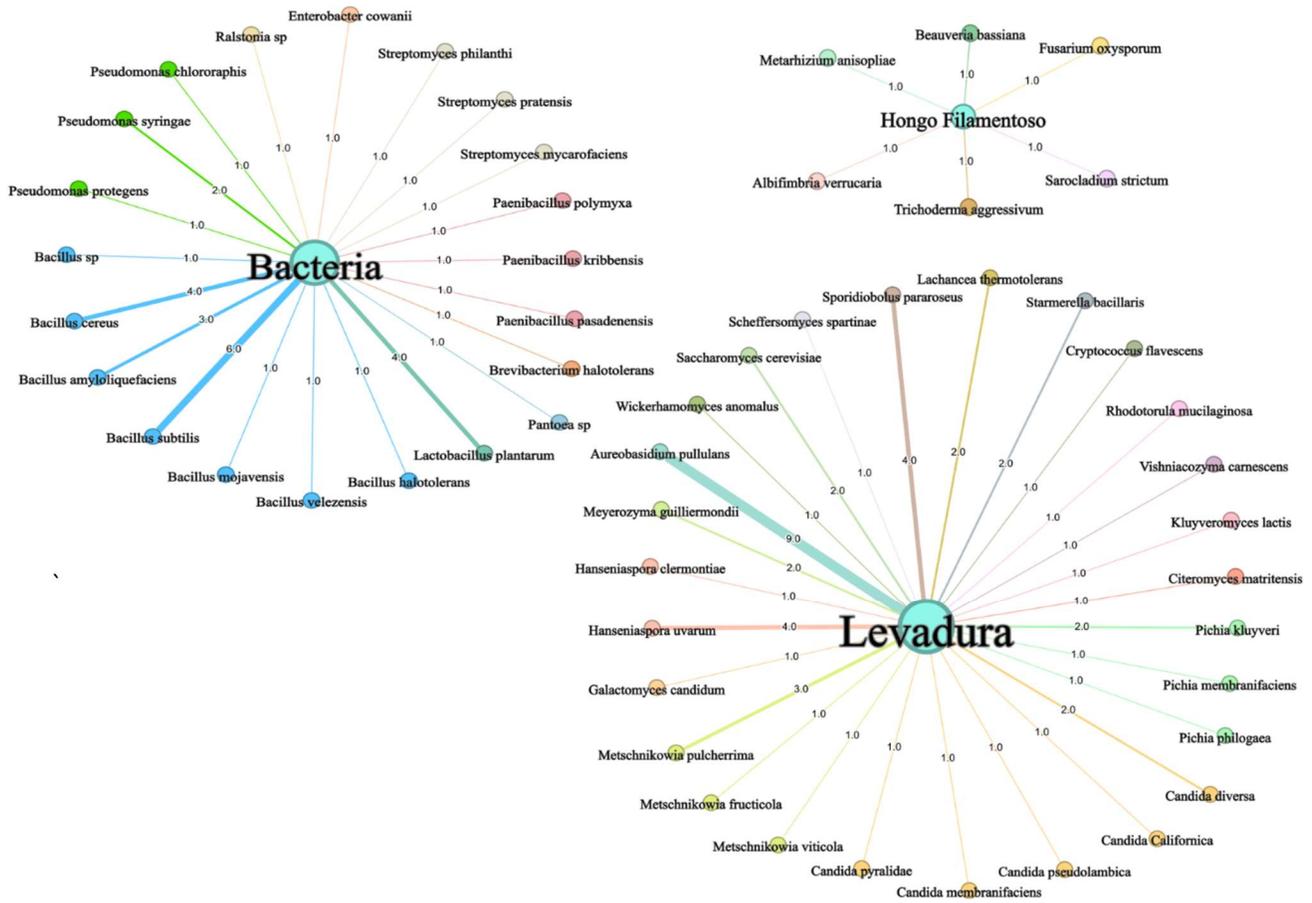
4.4.1 Especies microbianas más utilizadas en los artículos de la revisión sistemática

Se recopilaron 80 especies que fueron utilizadas en la experimentación de los artículos científicos divididos en 3 grupos microbianos: bacterias con 46 especies, levaduras con 28 especies y hongos filamentosos con 6 especies. Se clasificó estos grupos microbianos de acuerdo con cada fase experimental (*in vitro*, *in vivo*, *in situ*), como se presenta en la Figura 11.

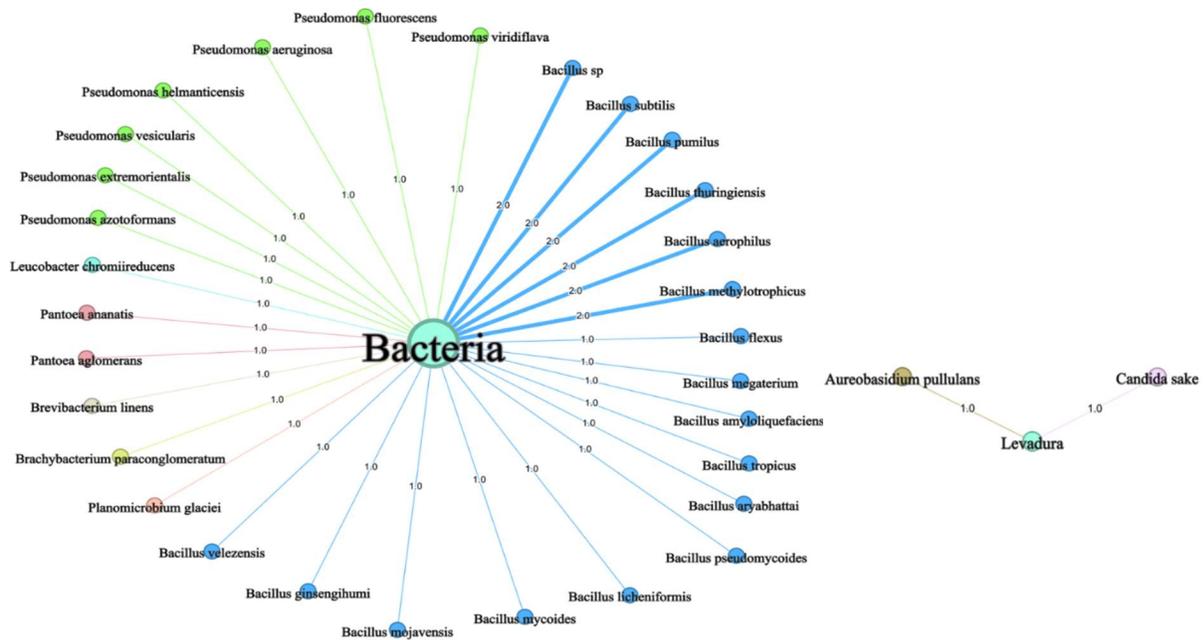
Figura 11

Especies microbianas identificados en la revisión sistemática pertenecientes a las 3 fases experimentales ($\chi^2 = 258$, $gl=158$, $p < 0,0001$).

(B) Grupos microbianos encontrados en fase experimental *in vivo*



(C) Grupos microbianos encontrados en fase experimental *in situ*



Nota. (A) Fase in vitro, (B) Fase in vivo, (C) Fase in situ. Los nodos turquesa representan los 3 grupos microbianos, mientras que los nodos de diferentes colores representan las especies microbianas. Las aristas muestran las conexiones entre los grupos microbianos y las especies, y los números en las aristas representan la cantidad de cepas de cada especie utilizadas en las diferentes fases experimentales, según los artículos publicados.

Fase *in vitro*

En la visualización de la red en la fase *in vitro* (Figura 13 A), se obtuvieron 76 nodos y 73 aristas en un grafo no dirigido, el cual incluye los tres grupos microbianos.

El grado de centralidad varía entre los grupos microbianos. Las bacterias son el grupo más representativo con 44 especies, seguido de las levaduras con 23 especies y los hongos filamentosos con 6 especies. En el caso de las bacterias, la especie *Bacillus subtilis* destaca con 8 cepas, representando el 12% del total de bacterias utilizadas. Entre las levaduras, *Aureobasidium pullulans* es la especie más representativa con 9 cepas, lo que equivale al 20% del grupo. Por otro lado, todas las especies de hongos filamentosos tienen la misma cantidad de cepas utilizadas en los artículos analizados.

Fase *in vivo*

En la fase *in vivo* (Figura 13 B), 57 nodos y 54 aristas fueron representados en el grafo. En esta fase experimental, se puede notar menor cantidad de especies en los grupos microbianos que en la fase *in vitro*. El grupo bacteria utilizado en la fase *in vivo* tuvo 21 especies, mientras que el grupo de hongos filamentosos fue de 6 especies. Sin embargo, el grupo levadura fue el nodo más representativo con 27 especies, a diferencia del grupo bacteria que se destacó en la fase *in vitro* con 44 especies. La levadura más utilizada fue *Aureobasidium pullulans* con 9 cepas, lo que representa el 18% del total de levaduras utilizadas. En el grupo de bacterias, *Bacillus subtilis* fue la especie más utilizada con 6 cepas, lo que representa el 18% del total de bacterias utilizadas. En

cuanto a los hongos filamentosos, todas las especies tuvieron la misma cantidad de cepas en los artículos encontrados.

Fase *in situ*

Por último, en la fase *in situ* (Figura 13 C), se visualizaron 34 nodos y 32 aristas. Se pudo visualizar un grafo de tamaño reducido en comparación con las otras fases experimentales. No se encontró el grupo microbiano de hongo filamentosos y al igual que en la fase *in vitro*, el grupo bacteria fue el nodo principal con 30 especies.

Se observó una menor diversidad de cepas en el grupo bacteria, con un rango de 1 a 2 cepas por especie. En contraste, con las otras fases experimentales que se encontraron rangos de 1 a 6 cepas por especie. Las especies más representativas en esta fase son las 6 especies de *Bacillus*, con 2 cepas por especie, representando cada una el 6% del total. En el grupo levadura, se encontraron 2 especies: *Aureobasidium pullulans* y *Candida sake*, cada una con 1 cepa, representando el 50% respectivamente. Es importante destacar que no se encontraron estudios con hongos filamentosos en esta fase.

El uso frecuente de la bacteria *Bacillus* en diferentes estudios puede atribuirse a sus características antagónicas, como la formación de endosporas y la producción de diversos metabolitos beneficiosos para las plantas, como antibióticos, enzimas, vitaminas y metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas (K. Chen et al., 2020). En cuanto a levaduras, *Aureobasidium pullulans* puede producir una amplia gama de metabolitos antifúngicos y enzimas que pueden degradar la pared celular del patógeno o inducir respuestas de defensa en la planta hospedera, fortaleciendo así su resistencia frente a la infección (Di Francesco et al., 2017). Posee una gran plasticidad fenotípica y, dependiendo del entorno, puede cambiar su crecimiento de forma

de levadura a micelial, así como el color y la morfología de la colonia, lo que lo convierte en un candidato para diferentes especies herbáceas (Zajc et al., 2020). Además, produce una sustancia pegajosa llamada "pululano" que recubre la superficie de las plantas, dificultando la adhesión y penetración del hongo en los tejidos. Esto reduce la colonización del patógeno y limita su capacidad de causar daños (Wei et al., 2021).

Por otro lado, los hongos filamentosos que se encontraron en esta revisión fueron limitados, sin embargo, uno de los microorganismos más estudiado a lo largo de la historia es *Trichoderma* sp., esto puede deberse a que posee características antagonicas como producir metabolitos secundarios peptaibols y peptaibióticos (Risoli et al., 2022). Además tiene la capacidad de colonizar rápidamente el suelo y los tejidos vegetales, suprimiendo el crecimiento y desarrollo de *B.cinerea* a través de la competencia por nutrientes y la producción de metabolitos. Estos metabolitos son polipéptidos anfipáticos lineales que tienen una fuerte actividad antimicrobiana contra bacterias grampositivas y hongos (Savita & Sharma, 2019).

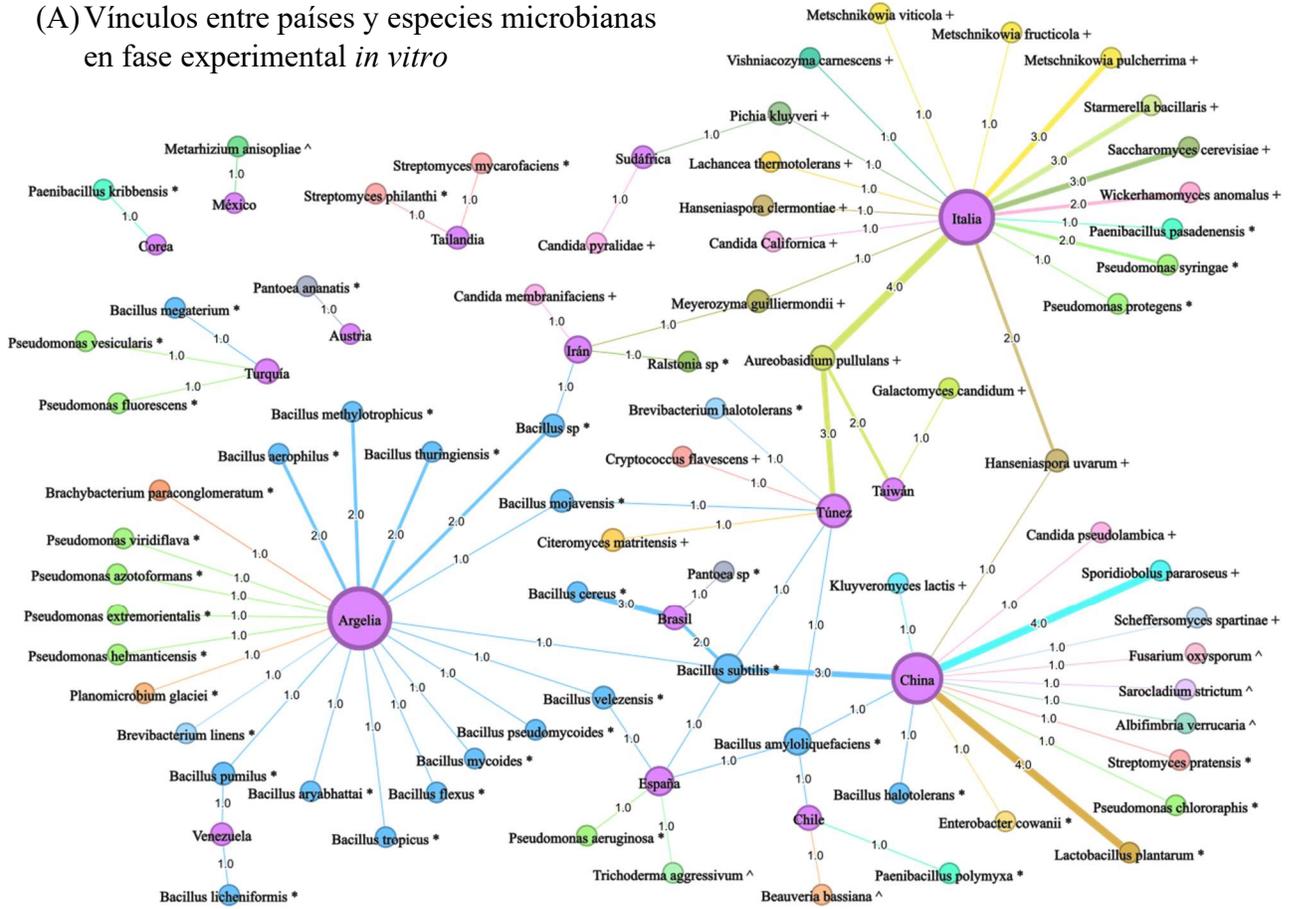
4.4.2 Especies microbianas más utilizadas de acuerdo con los países encontrados en los artículos de la revisión sistemática

Los países mencionados anteriormente en la sección 4.2 experimentaron con las 80 especies microbianas encontradas durante la revisión sistemática. Los vínculos fueron divididos en las 3 fases experimentales como podemos ver en la Figura 12.

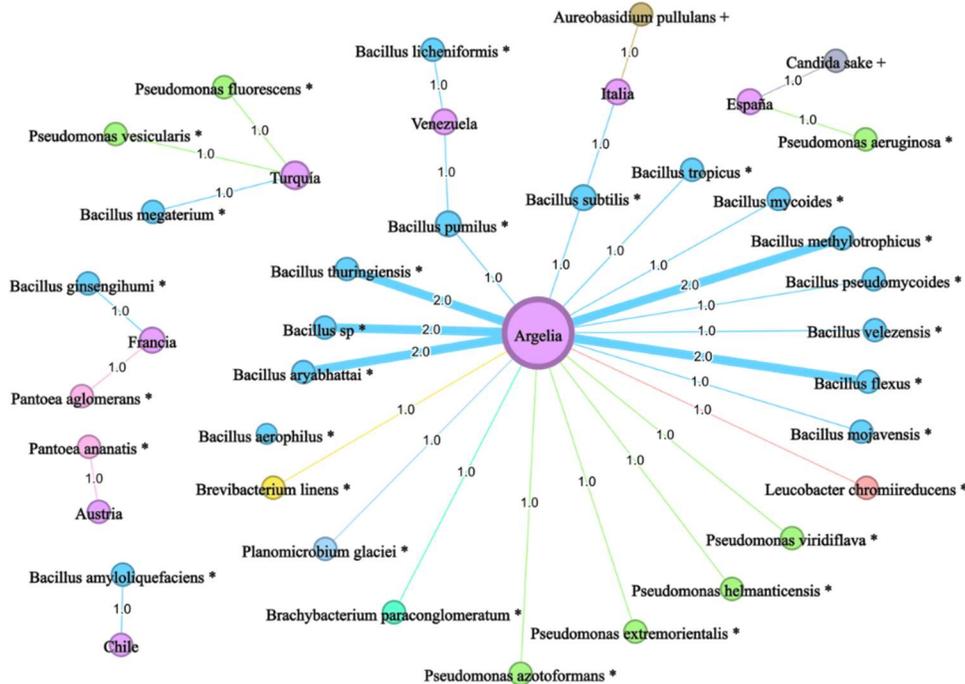
Figura 12

Especies microbianas utilizadas en las 3 fases experimentales de acuerdo con los países encontrados ($\chi^2 = 1767.70$, $gl=1343$, $p < 0,0001$).

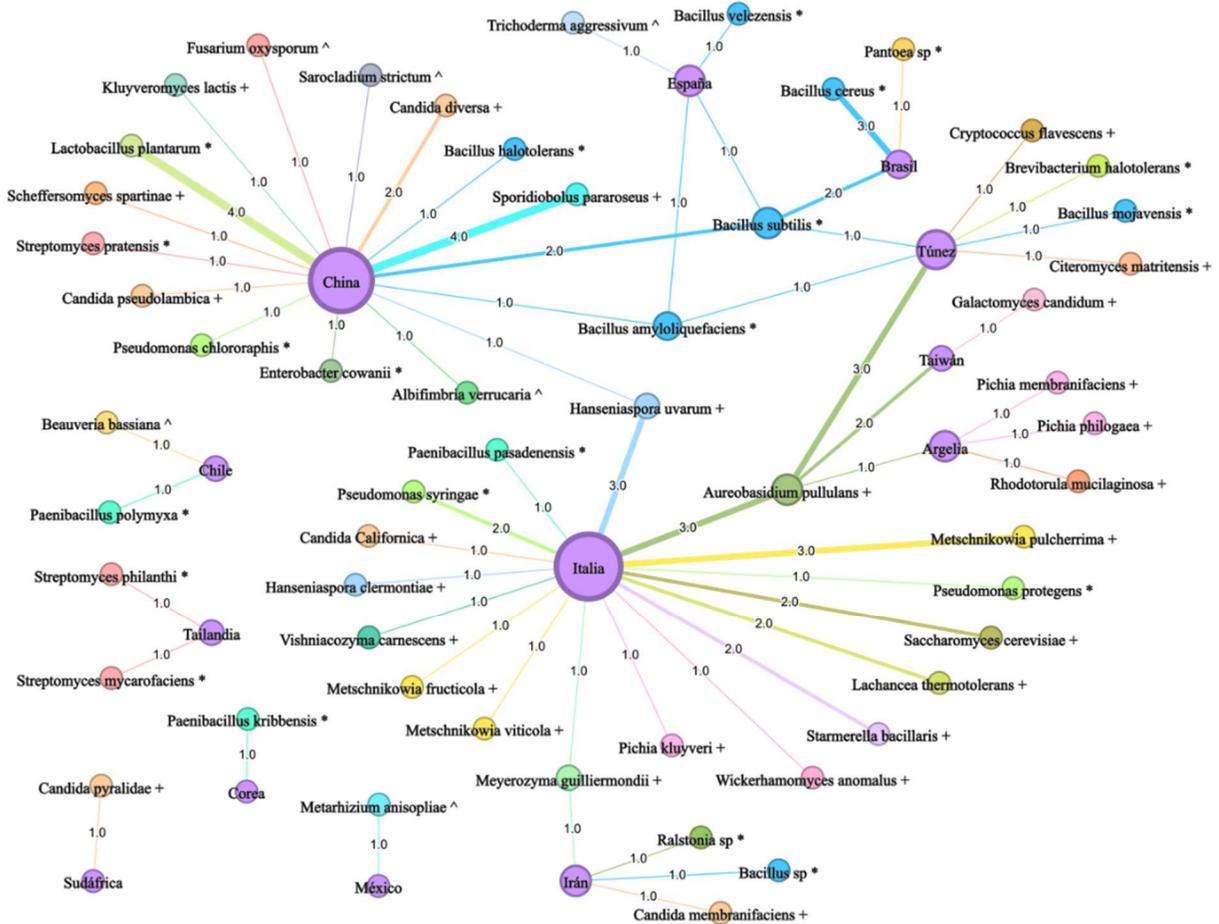
(A) Vínculos entre países y especies microbianas en fase experimental *in vitro*



(B) Vínculos entre países y especies microbianas en fase experimental *in situ*



(C) Vínculos entre países y especies microbianas en fase experimental *in vivo*



Nota. (A) Fase *in vitro*, (B) Fase *in situ* y (C) Fase *in vivo*. Grupos microbianos: bacterias (*), levaduras (+) y hongos filamentosos (^). Los nodos lila representan 18 países, los nodos de diferentes colores representan las especies microbianas. Los números (pesos) de las aristas representan las cepas que fueron utilizadas en cada fase experimental de acuerdo con los artículos publicados por cada país.

Fase *in vitro*

En la visualización de la red en la fase *in vitro* (Figura 14 A), se observaron 88 nodos y 88 aristas en un grafo no dirigido que representa la interacción entre países y las cepas utilizadas. Todos los países, excepto Francia, realizaron experimentaciones utilizando bacterias y levaduras, y se identificaron especies que fueron empleadas en más de dos países.

En el caso de las bacterias, se hallaron cinco especies con diferentes vínculos. *Bacillus* sp. fue empleada por Argelia e Irán, *Bacillus pumilus* por Argelia y Venezuela, *Bacillus velezensis* por Argelia y España, *Bacillus subtilis* por Argelia, China, España, Brasil y Túnez, y *Bacillus amyloliquefaciens* por China, España, Chile y Túnez. Por otro lado, se localizaron cuatro especies de levaduras que establecieron vínculos entre países. *Aureobasidium pullulans* fue empleada por Italia, Taiwán y Túnez, *Hanseniaspora uvarum* por China e Italia, *Pichia kluyveri* por Italia y Sudáfrica, y *Meyerozyma guilliermondii* por Italia e Irán.

Además, se encontraron países que emplearon únicamente una especie microbiana. Como en el caso de México, Corea y Austria. México empleó exclusivamente *Metarhizium anisopliae*, una especie de hongo filamentoso, mientras que los otros países utilizaron las bacterias *Paenibacillus kribbensis* y *Pantoea ananatis*, respectivamente.

Fase *in situ*

En la fase *in situ* (Figura 14 B), se representaron 40 nodos y 33 aristas. Se identificaron 8 países que realizaron experimentaciones en esta fase: Argelia, Turquía, España, Francia, Italia, Venezuela, Austria y Chile.

Solo se identificaron dos especies bacterianas que fueron empleadas en más de dos países, siendo la primera *Bacillus pumilus*, la cual se encontró presente tanto en Argelia como en Venezuela. La segunda especie fue *Bacillus subtilis*, la cual se utilizó en experimentos llevados a cabo en Argelia e Italia. Además, durante el proceso experimental, solo dos países utilizaron levaduras en sus investigaciones, siendo estos Italia y España, empleando *Aureobasidium pullulans* y *Candida sake*, respectivamente. De manera similar a las fases anteriores, se observó

que dos países emplearon únicamente una especie bacteriana durante sus experimentos: Austria, utilizando *Pantoea ananatis*, y Chile, utilizando *Bacillus amyloliquefaciens*.

Fase *in vivo*

Finalmente, en la fase *in vivo* (Figura 14 C), se observaron 67 nodos y 64 aristas en el grafo, lo que indica una menor cantidad de especies en comparación con la fase *in vitro*. Cabe destacar que Argentina, Austria y Francia no llevaron a cabo este tipo de experimentación en sus investigaciones. Se pudo identificar especies bacterianas y levaduriformes, que fueron empleadas en más de dos países.

En el caso de las bacterias se identificaron 2 especies. *Bacillus subtilis*, que ha sido utilizado en China, España, Brasil y Túnez, exceptuando Argelia como en la fase anterior, y *Bacillus amyloliquefaciens* que ha sido utilizado en China, España y Túnez, pero no en Chile como en la fase anterior. En cuanto a las levaduras, se encontraron 3 especies que generan vínculos entre países. El uso de *Meyerozyma guilliermondii* en Italia e Irán se repite como en la fase anterior, al igual que *Hanseniaspora uvarum* en Italia y China. *Aureobasidium pullulans* se utilizó en Italia, Taiwán, Túnez y adicionalmente Argelia diferenciándose de la fase *in vitro*.

Los países que emplearon únicamente una especie microbiana fueron México, Corea y Sudáfrica. México empleó exclusivamente *Metarhizium anisopliae*, una especie de hongo filamentoso, Corea utilizó la especie bacteriana *Paenibacillus kribbensis* y Sudáfrica utilizó la especie levaduriforme *Candida pyralide*.

Es interesante observar que, a pesar de tener un bajo número de publicaciones científicas, Argelia en esta revisión sistemática se destaca por la amplia variedad de especies microbianas utilizadas en sus experimentos. Empleó un total de 23 especies diferentes en las tres fases

experimentales, de las cuales 20 fueron utilizadas en las fases *in vitro* e *in situ*, y los 3 restantes en la fase *in vivo*. Esto demuestra que la investigación microbiana en Argelia se enfoca en la diversidad de especies, a pesar de tener una menor cantidad de publicaciones en comparación con otros países.

China utilizó un total de 16 especies en las fases *in vitro* e *in vivo*, mientras que Italia empleó 15 especies en todas las fases experimentales. Es interesante notar que Italia fue el único país que utilizó exclusivamente bacterias y levaduras, sin incluir hongos filamentosos en sus experimentos. Por otro lado, China utilizó diferentes especies de los tres grupos microbianos en sus investigaciones, y una especie en común con Italia fue *Hanseniaspora uvarum*, que puede estar relacionada con la presencia abundante de esta levadura en los viñedos y la fermentación de mostos de uva (Badura et al., 2021). Además, son buenos ACB debido a sus mecanismos de acción antagónicos como: producción de enzimas quitinasas y glucanasas, que facilitan la lisis y la ruptura de las paredes celulares del patógeno, debilitándolo y limitando su propagación (Qin et al., 2017).

Las investigaciones en los artículos científicos se presentaron mayormente en fase *in vivo* como método experimental, esto puede deberse a que la sintomatología del moho gris es más notable post cosecha con lo que se puede evidenciar fácilmente los resultados de los tratamientos aplicados (Schalchli et al., 2014).

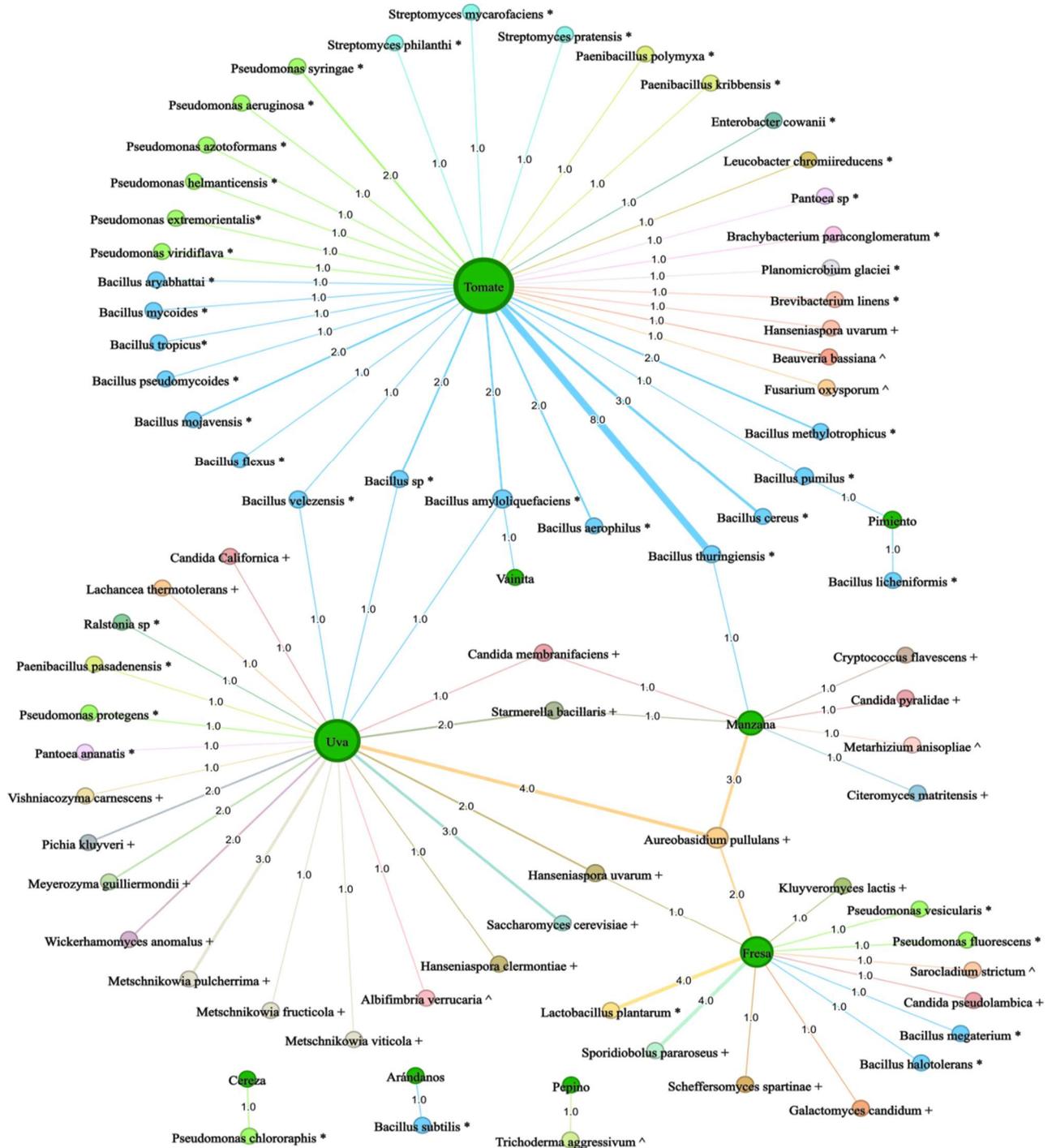
4.4.3 Especies microbianas más utilizadas de acuerdo con los cultivos agrícolas encontrados

Las 80 especies microbianas encontradas durante la revisión sistemática fueron aplicadas a los 11 cultivos agrícolas mencionados anteriormente en la sección 4.2. Los vínculos fueron divididos en las 3 fases experimentales como podemos ver en la Figura 13.

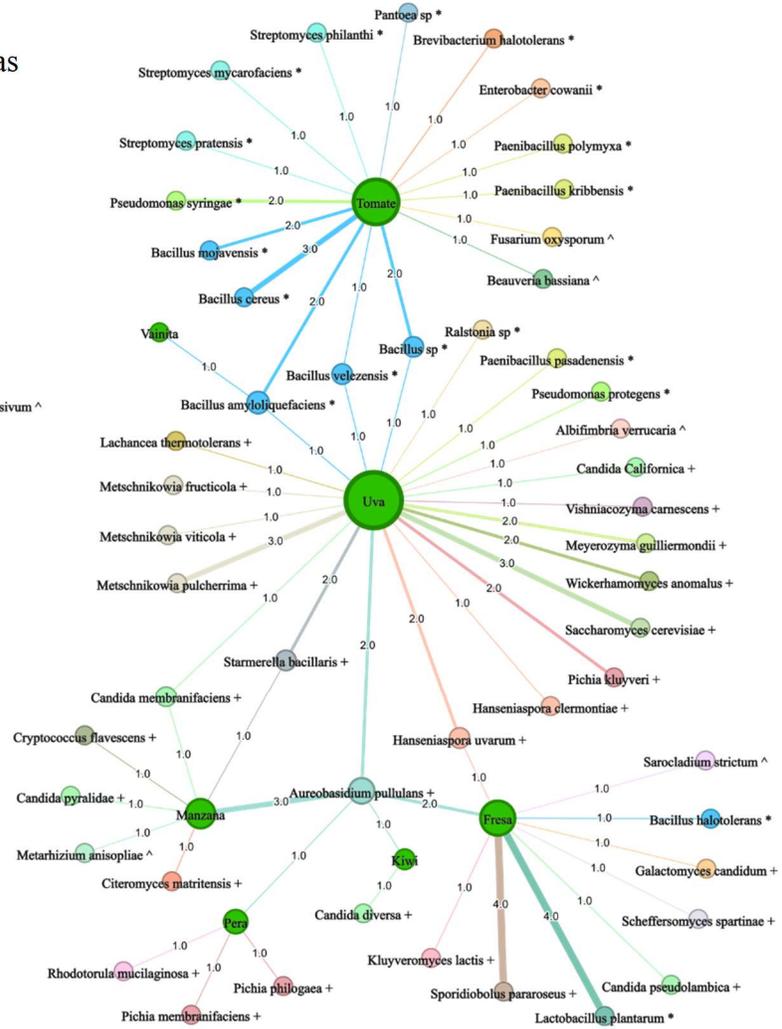
Figura 13

Especies microbianas utilizadas en las investigaciones experimentales en las 3 fases experimentales de acuerdo con los cultivos vegetales encontrados ($\chi^2 = 1577.48$, $gl=790$, $p<0,0001$).

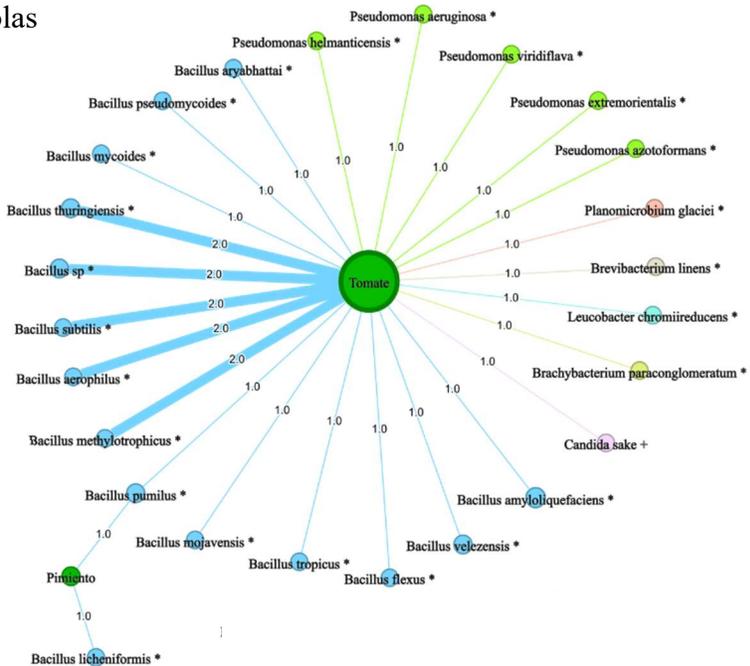
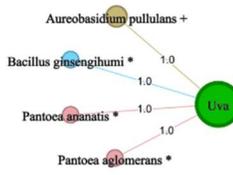
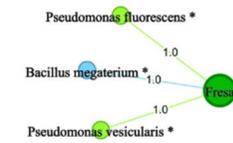
(A) Vínculos entre cultivos agrícolas y especies microbianas en fase *in vitro*



B) Vínculos entre cultivos agrícolas y especies microbianas en fase experimental *in vivo*



C) Vínculos entre cultivos agrícolas y especies microbianas en fase experimental *in situ*



Nota. (A) Fase in vitro, (B) Fase in vivo y (C) Fase in situ. Grupos microbianos: bacterias (), levaduras (+) y hongos filamentosos (^). Los nodos centrales verde oscuro representan los 11 cultivos agrícolas, los nodos de diferente color representan las especies microbianas. Los números (pesos) de las aristas representan las cepas que fueron utilizadas en cada fase experimental de acuerdo con los artículos publicados por cada cultivo agrícola*

Fase *in vitro*

En la fase *in vitro* (Figura 13 A) se pudo visualizar la red con 82 nodos y 84 aristas en un grafo no dirigido. En esta red se pueden apreciar el número de cepas (peso de arista) utilizadas en cada cultivo agrícola. Todos los cultivos agrícolas se emplearon en este tipo de experimentación exceptuando kiwi y pera, según los estudios encontrados.

En particular, se identificaron dos especies bacterianas relacionadas con el cultivo del tomate: *Bacillus pumilus*, que también ha sido utilizada en el tratamiento de pimiento, y *Bacillus amyloliquefaciens*, que ha sido empleada en el tratamiento de vainitas. Además, se encontró que la levadura *Aureobasidium pullulans* es una especie relevante que se vincula con los tres cultivos principales: uva, manzana y fresa.

Adicionalmente, se encontraron cultivos que emplearon únicamente una especie durante su tratamiento. Como en el cultivo de cereza se utilizó la bacteria *Pseudomonas chlororaphis*, mientras que en el caso de los arándanos se empleó la bacteria *Bacillus subtilis*. Asimismo, en el cultivo de pepino se encontró una relación con el hongo filamentoso *Trichoderma aggressivum*.

Fase *in vivo*

En la fase *in vivo* (Figura 13 B) se observó la red con 64 nodos y 65 aristas en un grafo no dirigido. Todos los cultivos agrícolas se emplearon en este tipo de experimentación exceptuando el pimiento.

Se identificaron 3 especies bacterianas que fueron utilizadas en más de 2 cultivos agrícolas. Estas fueron: *Bacillus* sp., *Bacillus velezensis* aplicadas en tomate y uva, y *Bacillus amyloliquefaciens* aplicada en tomate, uva y vainita. Se encontraron cuatro especies de levaduras que se aplicaron en distintos cultivos agrícolas de forma conjunta, entre ellas se incluyeron *Candida membranifaciens* y *Starmerella bacillaris* en uva y manzana, *Hanseniaspora uvarum* en uva y fresa. Sin embargo, la especie de levadura que se destacó por su presencia en múltiples cultivos agrícolas fue *Aureobasidium pullulans*, ya que se relaciona con cinco cultivos, incluyendo uva, fresa, manzana, kiwi y pera. Además, se encontró 3 cultivos agrícolas que aplicaron una sola especie microbiana como se menciona en la fase *in vitro*.

Fase *in situ*

En la fase *in situ* (Figura 13 C) se observó la red con 36 nodos y 33 aristas en un grafo no dirigido. Se nota una reducción del tamaño del grafo en comparación con las otras fases, debido a que solo se emplearon 4 cultivos agrícolas en este tipo de experimentación: tomate, uva, fresa y pimiento. Además, se identificó únicamente una especie bacteriana *Bacillus pumilus* aplicada en 2 cultivos agrícolas tomate y pimiento, con una cepa en cada cultivo.

En términos generales, el tomate es uno de los cultivos agrícolas más estudiados en la literatura científica, siendo el más utilizado en fase *in vitro* e *in situ*. Por otro lado, la fresa presenta una gran diversidad en cuanto a su uso en los ensayos de ACB, siendo la fase *in vitro* la que emplea una mayor cantidad de cepas. Además, en la sección 4.4 se destaca la importancia de la manzana con 6 artículos científicos, sin embargo, no se registró experimentaciones en la fase *in situ*.

Como se mencionó anteriormente el cultivo agrícola que más se destaca es el tomate, seguido de la uva y la fresa. El tomate debido a su naturaleza carnosa y alta humedad interna,

proporciona un ambiente propicio para el desarrollo y la propagación del patógeno, el cual ataca en diversas etapas de desarrollo, incluyendo la planta en crecimiento, las flores y los frutos maduros (Salvatierra-Martinez et al., 2018). Por lo que la seguridad alimentaria es muy importante en el manejo de la producción agrícola de un cultivo de mayor importancia económica en el mundo, incluyendo Ecuador.

En Ecuador los cultivos más importantes que coinciden con esta investigación son los tomates y las fresas, siendo productos de la canasta básica familiar y de gran valor para la agricultura del país. A pesar de que son cultivos diferentes, comparten algunas condiciones climáticas similares como es el caso de las temperaturas cálidas entre 20 °C y 30°C, además del riego continuo para mantener un clima húmedo, lo que crea un ambiente propicio para el crecimiento de *B. cinerea* (Vinchira-Villarraga et al., 2019). La aplicación de ACB en estos cultivos sería una gran alternativa para la reducción del patógeno y mejorar el rendimiento de la producción agrícola.

En cuanto a los microorganismos identificados, la especie *Aureobasidium pullulans* fue la que mayor cantidad de vínculos tuvo con diferentes cultivos agrícolas en todas las fases experimentales. Esto puede ser por la capacidad de tolerar condiciones ambientales desfavorables, como altas temperaturas, bajas humedades y diferentes niveles de pH, así mismo puede inducir resistencia sistemática en las plantas, manteniendo su actividad biocontroladora durante períodos prolongados (Wei et al., 2021).

Adicionalmente otro microorganismo que tiene protagonismo es el género bacteriano *Bacillus*, que generalmente son usados como ACB por varias razones como: producción de varios tipos de péptidos antimicrobianos y bacteriocinas, también su capacidad para formar endosporas

resistentes que pueden sobrevivir en condiciones ambientales desfavorables, y por último se considera un microorganismo seguro para el uso en el medio ambiente (Khan et al., 2021).

4.5 Metaanálisis de efectos aleatorios con datos continuos

4.5.1 Base de datos de estudios experimentales codificados

Se utilizó la misma base de datos de la sección 4.1 donde se codificaron todos los estudios experimentales encontrados con cada especie como se muestra en la sección 3.2.2. En esta base de datos (Anexo 2) se encuentran los porcentajes de inhibición, las desviaciones estándar y las muestras de cada especie microbiana junto con su control.

4.5.2 Número de observaciones experimentales encontrados

Según el método de recopilación de datos explicada en la sección 3.2.1 produjo 246 observaciones experimentales (cepas microbianas) de 50 artículos. Estas observaciones fueron clasificadas en las fases de experimentación *in vitro* (119), *in vivo* (89) e *in situ* (38). Dentro de cada fase, se realizaron subgrupos según el género microbiano, siempre y cuando hubiera al menos dos cepas microbianas por grupo (Anexo 2). En los casos en los que solo había una cepa por género antagonico, se agregó un grupo adicional llamado "otro" para su análisis conjunto, correspondiendo al grupo microbiano: bacteria, levadura u hongo filamentoso.

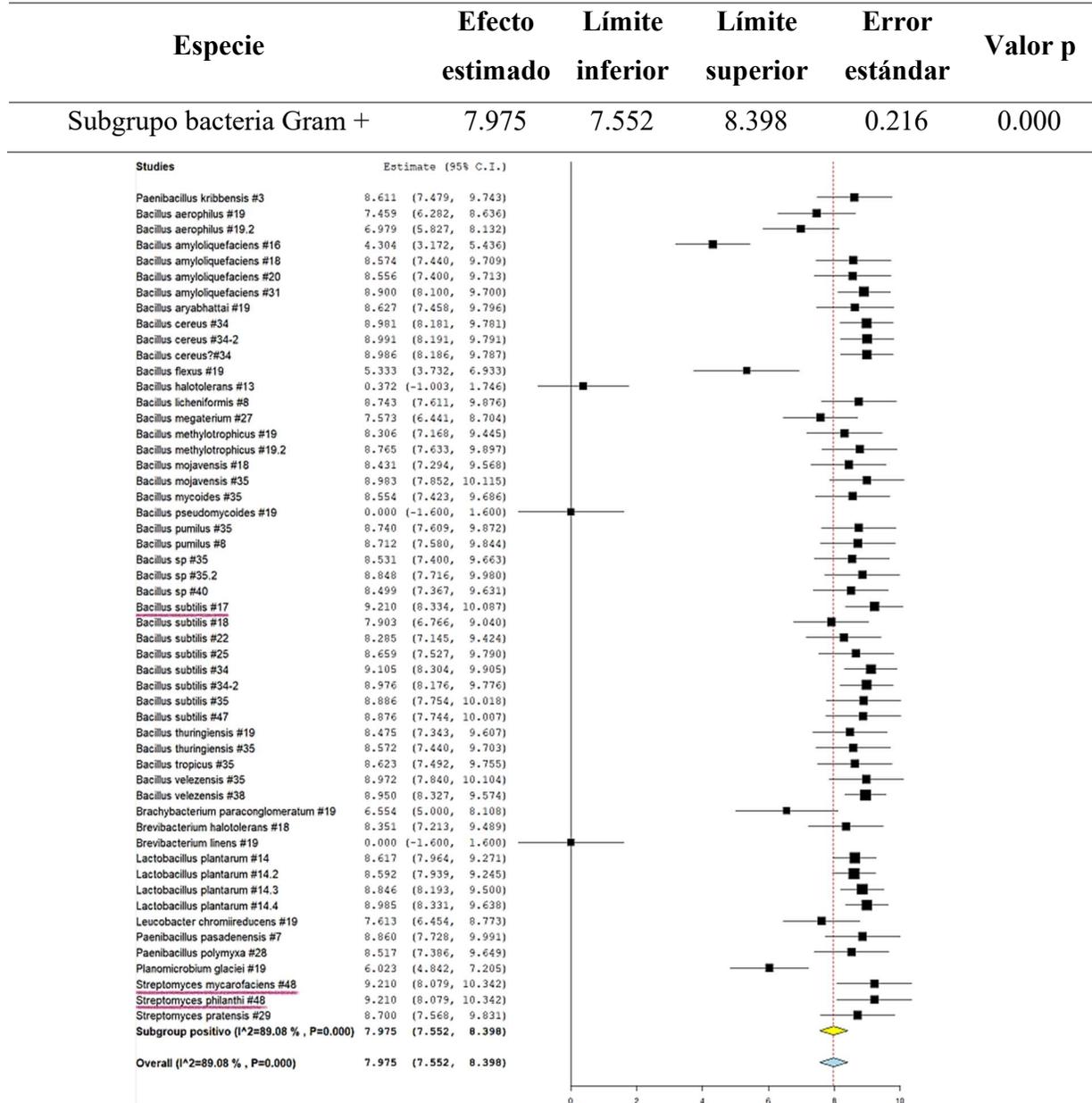
4.5.3 Forest Plot fase *in vitro* de grupos microbianos

Primero se realizó un forest plot por cada grupo microbiano (bacterias, hongos filamentosos y levaduras) como se observa en la Figura 14.

Figura 14

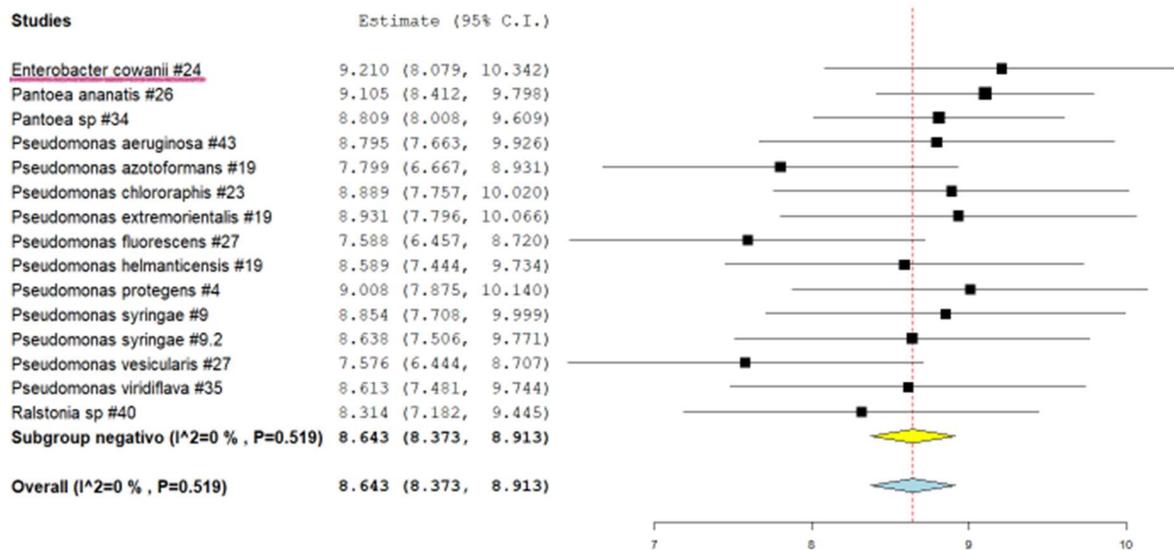
Especies microbianas utilizadas en las investigaciones experimentales en fase in vitro.

(A.1)



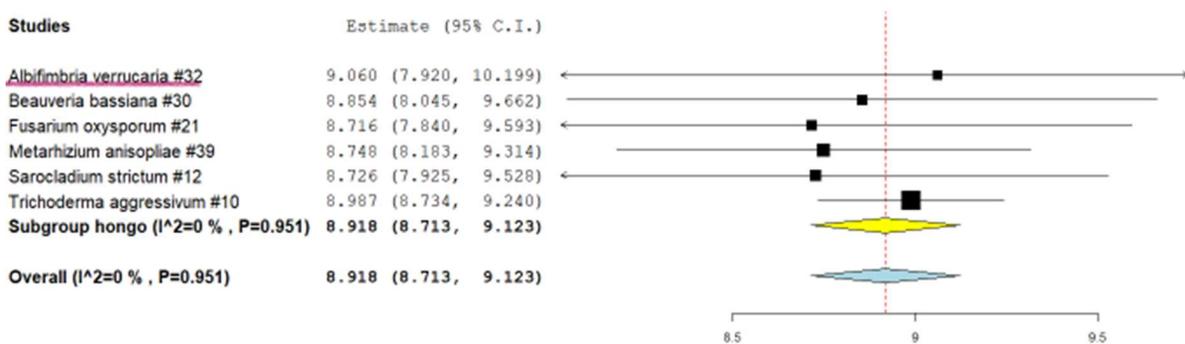
(A.2)

Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
Subgrupo bacteria Gram negativo	8.643	8.373	8.913	0.138	0.519



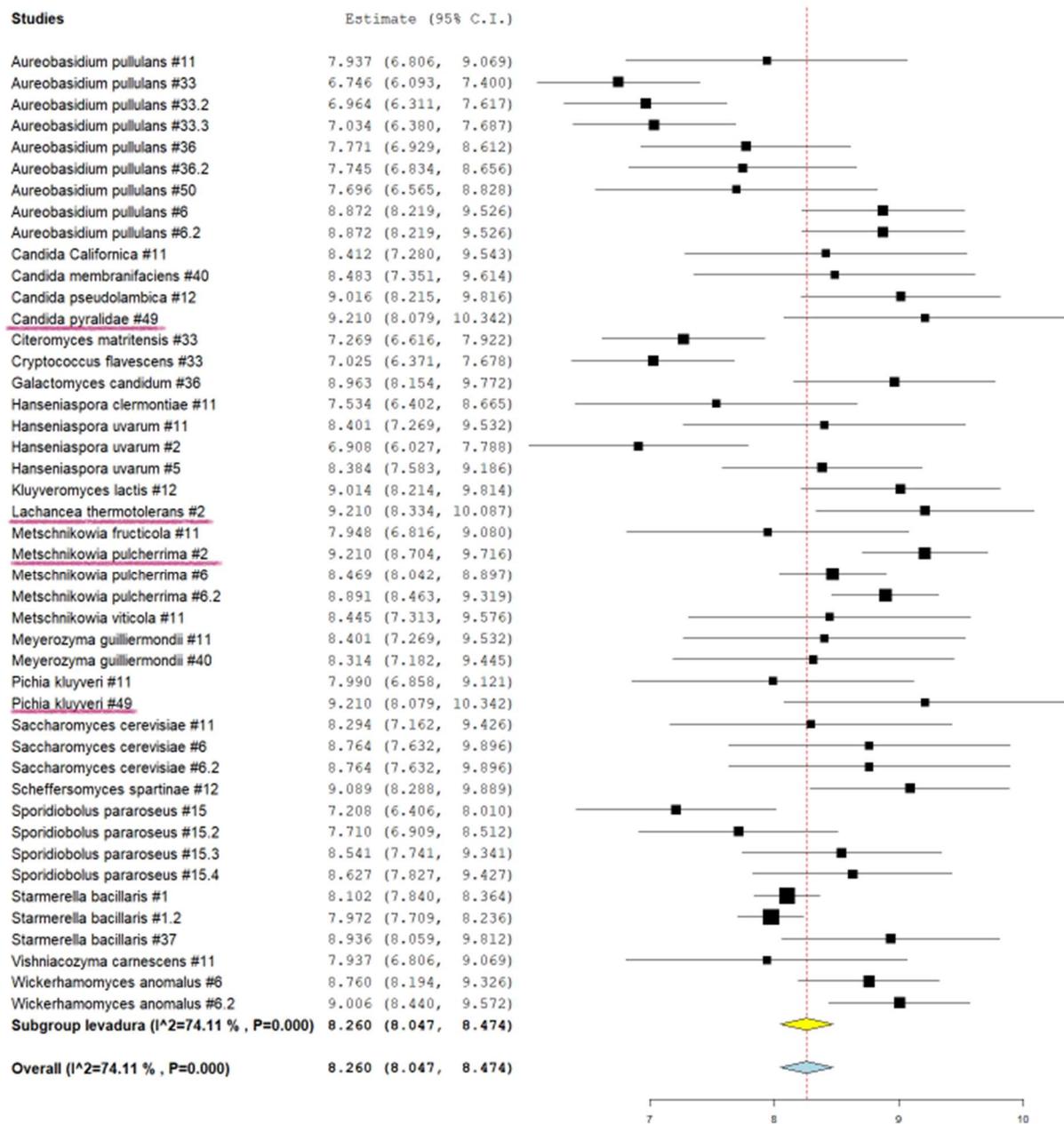
(B)

Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
Subgrupo hongo filamentosos	8.918	8.713	9.123	0.104	0.951



(C)

Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
Subgrupo levadura	8.260	8.047	8.474	0.109	0.000



Nota. (A) Especies de bacterias, (B) Especies de levaduras, (C) Especies de hongos filamentosos. Las especies resaltadas son las que tienen el mayor tamaño del efecto equivalente al mayor

porcentaje de inhibición. El #pertenece al número del artículo en el cual fue encontrada la especie mencionada

Se utilizaron un total de 119 especies en los ensayos experimentales, incluyendo 68 cepas bacterianas, 6 cepas de hongos filamentosos y 45 cepas de levaduras, como se muestra en la Figura 16. Los resultados obtenidos mostraron una mayor variabilidad en los porcentajes de inhibición para las bacterias, seguido de las levaduras y los hongos filamentosos. La heterogeneidad de los datos fue similar para los tres grupos microbianos, con valores de estadístico I^2 del 94.26% para bacterias, 95.21% para hongos filamentosos y 74.11% para levaduras. Los rombos en la parte inferior de los grupos microbianos indican que los resultados son estadísticamente significativos entre los estudios y se mantienen dentro del promedio del tamaño del efecto para cada grupo microbiano: bacterias Gram positivas (7.975), bacterias Gram negativas (8.26), hongos filamentosos (8.918) y levaduras (8.26).

Los resultados obtenidos en la representación gráfica concuerdan con los porcentajes de inhibición de los ensayos experimentales. Dentro del grupo bacteriano, las especies *Bacillus subtilis*, *Streptomyces mycarofaciens* y *Streptomyces philanthi* presentaron un 100% de inhibición contra *B. cinerea* en la fase in vitro, con un efecto estimado de 9.21 cada una, lo que indica una diferencia significativa con respecto al promedio del porcentaje de inhibición. Sin embargo, la especie *Bacillus halotolerans* no mostró una inhibición significativa.

Dentro de las bacterias Gram negativas se destacó *Enterobacter cowanii* con el 100% de inhibición y con un intervalo de confianza de 9.21. Sin embargo, no se observó una diferencia significativa con respecto al porcentaje de inhibición promedio de 8.64, ya que los límites inferior y superior del intervalo de confianza (8.079 y 10.342, respectivamente) se encuentran dentro de ese rango como se muestra en la Figura 14 (A.2). Las únicas especies bacterianas que no tiene

efecto inhibitorio contra *Botrytis cinerea* fueron *Bacillus pseudomycooides* y *Brevibacterium linens*.

La especie *Bacillus subtilis* ha demostrado ser capaz de inhibir por completo la germinación de *B. cinerea*. Este efecto se debe a su capacidad para producir una amplia gama de metabolitos secundarios, como péptidos antimicrobianos, lipopéptidos y enzimas, los cuales poseen propiedades antifúngicas. Estas sustancias dificultan el crecimiento y la propagación del patógeno (P. Yu et al., 2019) Además, puede activar respuestas de defensa en las plantas, mejorando su resistencia al desencadenar la síntesis de compuestos antimicrobianos y reforzar la pared celular (Chowdhury et al., 2015). En cuanto a las bacterias *Streptomyces mycarofaciens* y *Streptomyces philanthi*, tienen características similares a *Bacillus subtilis*, por lo que se le puede atribuir el alto porcentaje de inhibición a sus mecanismos de defensa.

En hongos filamentosos, *Albifimbria verrucaria* mostró la mayor inhibición (86%), seguida de *Trichoderma aggressivum* (80%). Aunque los tamaños del efecto para *A. verrucaria* (9.06) y *T. aggressivum* (8.987) no difirieron significativamente del promedio (8.918), debido a los límites de cada especie. *Fusarium oxysporum* tuvo el menor porcentaje de inhibición (61%) sin diferencias significativas con las especies mencionadas anteriormente. Las plantas colonizadas por hongos endófitos como *Albifimbria verrucaria*, *Trichoderma aggressivum* y *Fusarium oxysporum* activan respuestas de defensa más rápidas ante patógenos virulentos. Estos hongos inducen resistencia contra factores estresantes bióticos a través de moléculas de señalización y hormonas vegetales como el ácido salicílico, el ácido jasmónico y la giberelina (Harman et al., 2004).

Las especies levaduriformes destacadas en el gráfico son: *Candida pyralidae*, *Lachancea thermotolerans*, *Metschnikowia pulcherrima* y *Pichia kluyveri*. Estas especies muestran una inhibición del patógeno del 100% y un efecto estimado de 9.21 cada una. *Lachancea*

thermotolerans y *Metschnikowia pulcherrima* presentan una diferencia significativa con el promedio de inhibición (tamaño del efecto promedio) de 8.26. Sin embargo, *Candida pyralidae* y *Pichia kluyveri* no muestran una diferencia significativa debido a los límites de 8.079 y 10.34 respectivamente. Estas levaduras pueden tener el mejor efecto inhibitorio debido a su presencia común en las primeras etapas de la fermentación del vino. Al ocupar el mismo nicho ecológico que el patógeno, limitan su establecimiento y crecimiento al competir por los recursos disponibles (Mills et al., 2002).

Los resultados mostraron que las bacterias presentaron el mayor porcentaje de inhibición, seguidas de las levaduras y finalmente de los hongos filamentosos. Hay algunas explicaciones posibles para estos resultados. La primera es que las bacterias producen una amplia gama de compuestos antimicrobianos, incluidos los antibióticos, que pueden inhibir el crecimiento de otros microorganismos (H. Yu et al., 2010). Las levaduras y los hongos filamentosos también producen compuestos antimicrobianos, pero no son tan diversos como los que producen las bacterias (Dang & Wang, 2020).

La segunda razón, puede ser más probable que se encuentren bacterias en el medio ambiente que levaduras y hongos filamentosos. Esto significa que hay mayor posibilidad de interacción con *Botrytis cinerea* y desarrollen mecanismos para inhibir su crecimiento (X. Wang et al., 2018). Por último, las bacterias se manipulan más fácilmente que las levaduras y los hongos filamentosos (H. Yu et al., 2010). Esto significa que es más probable que se utilicen como agentes de control biológico, por lo que se genera la mayor cantidad de ensayos experimentales con estos microorganismos.

4.5.4 Forest Plot fase in vivo de grupos microbianos

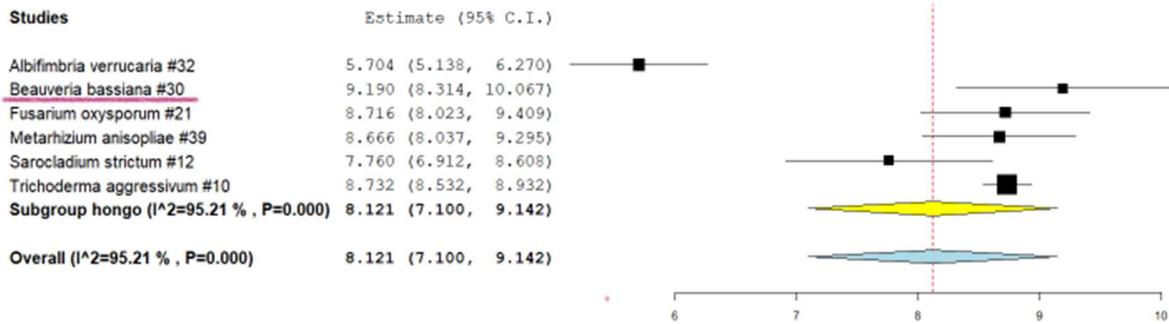
Se utilizó 89 cepas de ensayos experimentales, divididas en 6 cepas de hongos filamentosos, 34 cepas bacterianas y 49 cepas de levaduras. Primero se realizó un forest plot por cada grupo microbiano (hongos filamentosos, bacterias y levaduras) como se observa en la Figura 15.

Figura 15

Especies microbianas utilizadas en las investigaciones experimentales en fase in vivo.

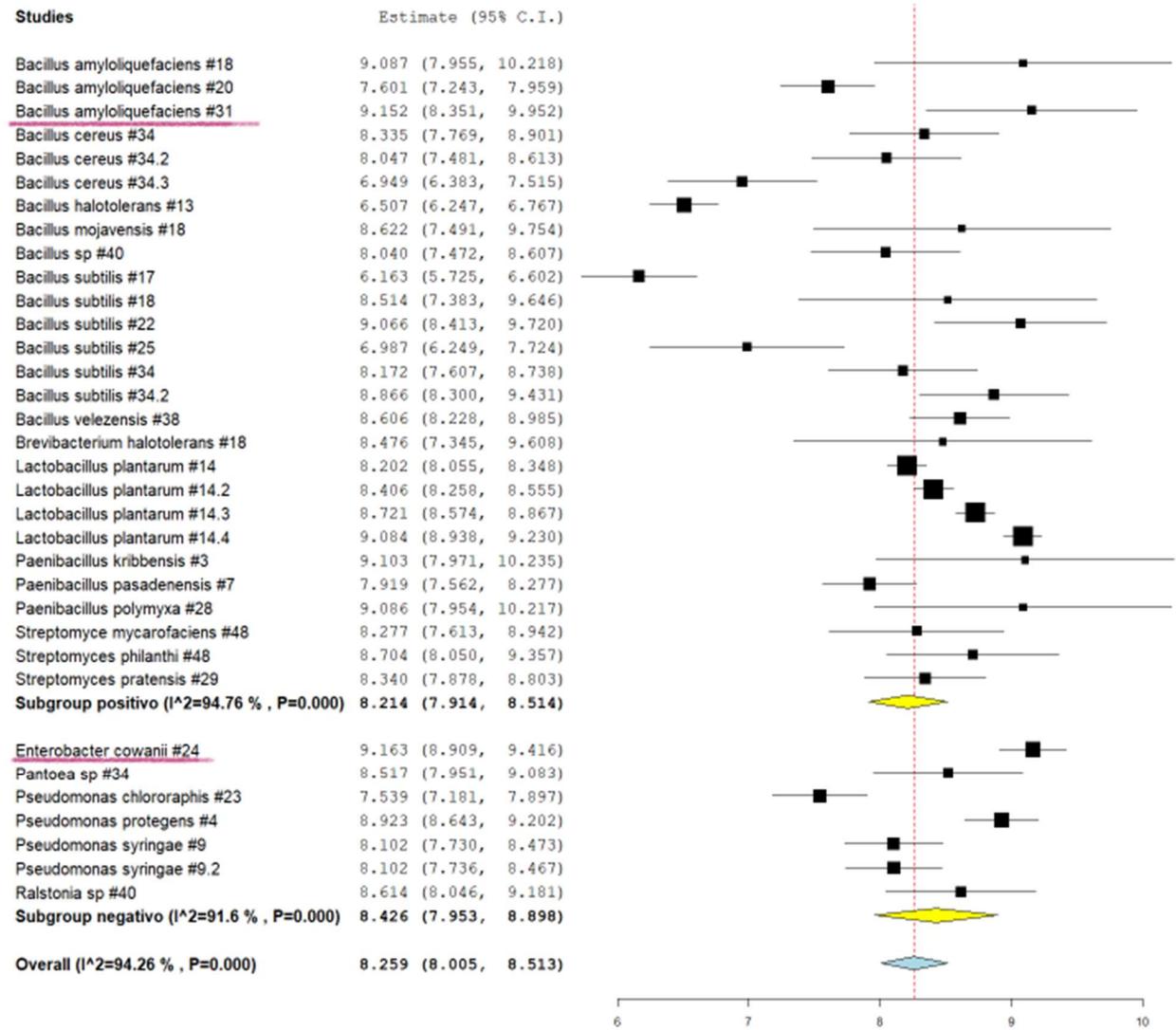
(A)

Estudios	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
Subgrupo hongo filamentosos	8.121	7.100	9.142	0.521	0.000



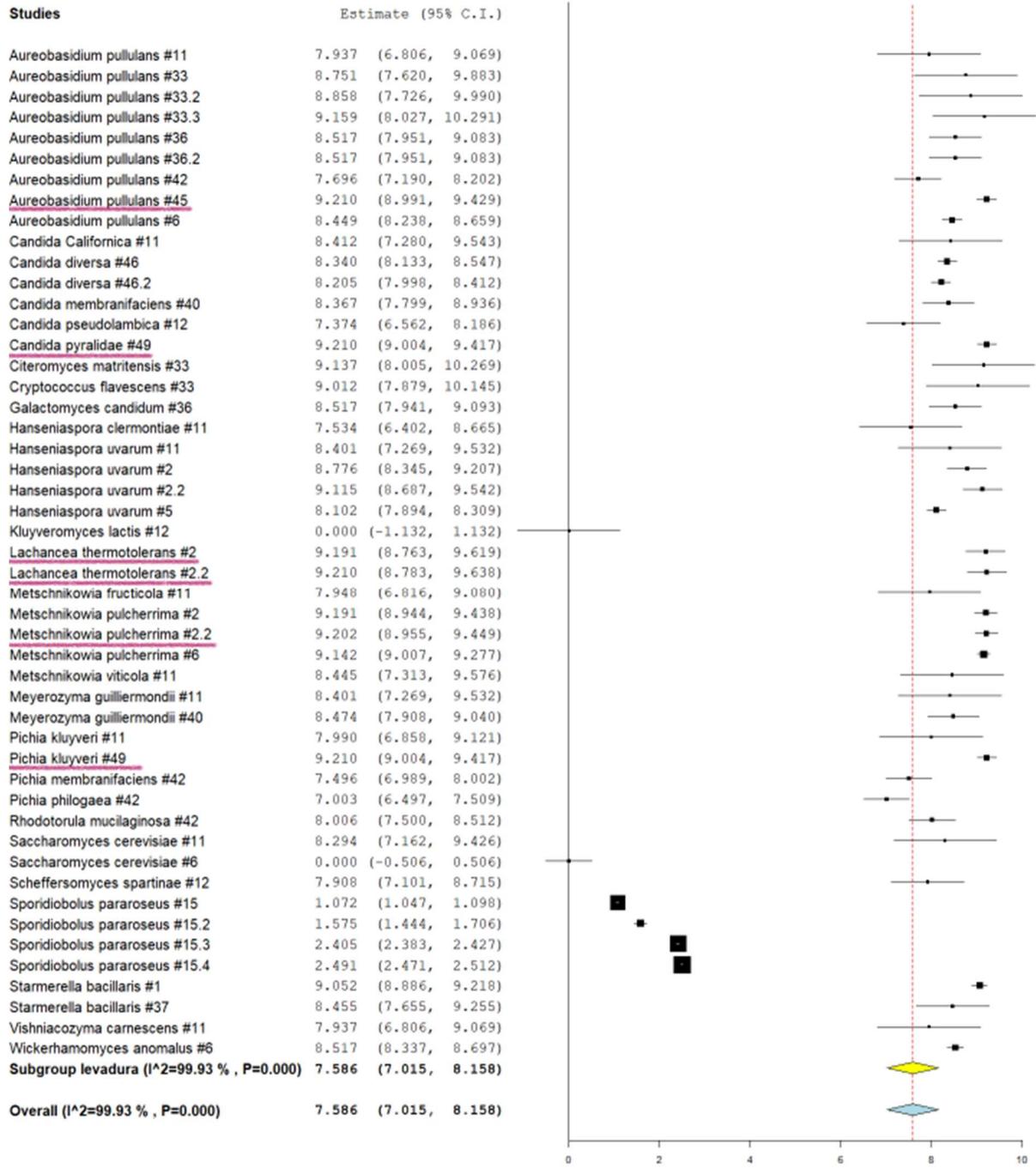
(B)

Estudios	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
Subgrupo bacteria Gram +	8.214	7.914	8.514	0.153	0.000
Subgrupo bacteria Gram -	8.426	7.953	8.898	0.241	0.000



(C)

Estudios	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
Subgrupo levadura	7.586	7.015	8.158	0.292	0.000



Nota. (A) Especies de bacterias, (B) Especies de levaduras, (C) Especies de hongos filamentosos. Las especies resaltadas son las que tienen el mayor tamaño del efecto equivalente al mayor porcentaje de inhibición. El # pertenece al número del artículo en el cual fue encontrada la especie mencionada.

Como se puede observar en los forest plots de los porcentajes de inhibición, las bacterias presentan mayor variabilidad en los resultados, seguido de los hongos filamentosos y por último las levaduras. Se presenta heterogeneidad de datos en bacterias ($I^2 = 94.26 \%$), levaduras ($I^2 = 99.93\%$) y hongos filamentosos ($I^2 = 95.21\%$). Todos los ensayos cumplen con el intervalo de confianza CI del 95%.

Los resultados mostrados en los gráficos de forest plot indican que los estudios presentan resultados estadísticamente significativos entre sí, pero no difieren estadísticamente del promedio del tamaño de efecto para cada grupo microbiano. Los tamaños de efecto fueron similares en todos los grupos: hongos filamentosos (8.918), bacterias Gram positivas (8.214), bacterias Gram negativas (8.426) y levaduras (8.26) y el grupo de hongos filamentosos obtuvo la puntuación más alta, al igual que en la fase *in vitro*. Esto podría deberse a la menor cantidad de especies encontradas en los estudios seleccionados en comparación con las bacterias o las levaduras.

En los hongos filamentosos, *Beauveria bassiana* mostró el mayor porcentaje de inhibición con un 98%. *Trichoderma aggressivum* obtuvo el segundo porcentaje más alto de inhibición con un 62%, seguido de *Fusarium oxysporum* con un 61%. Estas especies presentaron diferencias significativas con respecto al promedio del tamaño del efecto del grupo de hongos filamentosos. Por otro lado, *Albifimbria verrucaria* fue la especie que mostró el menor porcentaje de inhibición con un 3% y difirió significativamente del promedio del tamaño del efecto del grupo.

En la fase experimental *in vitro*, *Albifimbria verrucaria* logró el mayor porcentaje de inhibición con un 86%. Sin embargo, en la fase *in vivo*, esta misma especie redujo su porcentaje

de inhibición al 3%. Además, el porcentaje más alto de inhibición en la fase *in vivo* fue del 98%, mientras que en la fase *in vitro* fue del 86%.

En cambio, algunas especies bacterianas Gram positivas que obtuvieron un alto porcentaje de inhibición fueron: *Bacillus amyloliquefaciens* con 94.33%, *Bacillus subtilis* con 86.57%, *Paenibacillus kribbensis* con 89.80%, *Lactobacillus plantarum* con 88.15%, y *Paenibacillus polymyxa* con 88.3%. Sin embargo, las dos últimas especies no tuvieron diferencias significativas con el tamaño del efecto promedio de 8.214. Dentro de las bacterias Gram negativas se destacó *Enterobacter cowanii* con el 95.33% de inhibición y con un tamaño de efecto de 9.163, sin embargo, si existe una diferencia significativa con el tamaño de efecto promedio de 8.426, ya que el límite inferior es de 8.909 y el límite superior de 9.416 como se observa en la Figura 15 (B).

Comparando las especies bacterianas de la fase *in vitro* con la fase *in vivo*, solo las especies *Bacillu subtilis* y *Enterobacter cowanii* tuvieron en común, aunque el porcentaje de inhibición en la fase *in vitro* fue mayor (100%) en ambas especies. En cambio, en la fase *in vivo*, dentro de las bacterias Gram positiva el mayor porcentaje de inhibición es de 94.33% para *Bacillus amyloliquefaciens* y en las Gram negativas es 95.33% para *Enterobacter cowanii*. Cabe resaltar, que en la fase *in vitro* se encontró 2 especies que no tuvieron efecto inhibitorio que al contrario de la fase *in vivo*, todas las especies tuvieron un porcentaje mínimo de inhibición.

Por otro lado, las especies levaduriformes que más destacaron en el gráfico con el 100% de inhibición del patógeno fueron: *Aureobasidium pullulans*, *Candida pyralidae*, *Lachancea thermotolerans*, *Metschnikowia pulcherrima* y *Pichia kluyveri*. Al igual que las bacterias, se las puede considerar las mejores especies levaduriformes en esta fase experimental. El efecto estimado de estas levaduras fue de 9.21 para cada una. Todas las especies mencionadas tuvieron una diferencia significativa con la media del tamaño del efecto de 7.586. Otras 13 especies no tuvieron

diferencia significativa como se puede visualizar en la Figura 15 (C). También se registraron 2 especies *Kluyveromyces lactis* y *Saccharomyces cerevisiae*, que tuvieron efecto nulo, es decir no tuvieron efecto antagónico contra *Botrytis cinerea*.

Existió similitud entre las cepas destacadas en fase *in vitro* con la fase *in vivo*. En las dos fases experimentales se encontraron *Candida pyralidae*, *Lachancea thermotolerans*, *Metschnikowia pulcherrima* y *Pichia kluyveri* con el 100% de inhibición. Adicionalmente en esta fase se encontró *Aureobasidium pullulans* con el mismo porcentaje de inhibición. Es importante mencionar que en esta fase *in vivo*, 2 especies tuvieron efecto nulo, en cambio en la fase *in vitro* todas las especies levaduriformes tuvieron un porcentaje mínimo de inhibición.

Estas diferencias en los porcentajes de inhibición entre cepas pueden ser debido a que la experimentación *in vivo* se lleva a cabo en un entorno más natural, donde hay muchos otros factores que pueden afectar el resultado del experimento, como la presencia de otros microorganismos, la disponibilidad de nutrientes y la presencia de toxinas (Gabal et al., 2019). Además, la planta hospedante puede proporcionar al patógeno nutrientes y protección contra el agente de control biológico. Esto puede dificultar que el agente de control biológico elimine al patógeno (Dame et al., 2021).

También cabe recalcar que el ciclo de vida de *B.cinerea* es altamente dependiente de las condiciones ambientales y puede completarse en un corto período de tiempo bajo condiciones favorables, por lo que al tener menor control de factores ambientales y sustrato, este patógeno puede aumentar su producción de esporas, limitando la función antagónica de los ACB (Williamson, Tudzynski, Tudzynski, & Kan, 2007).

4.5.5 Forest Plot fase in situ de grupos microbianos

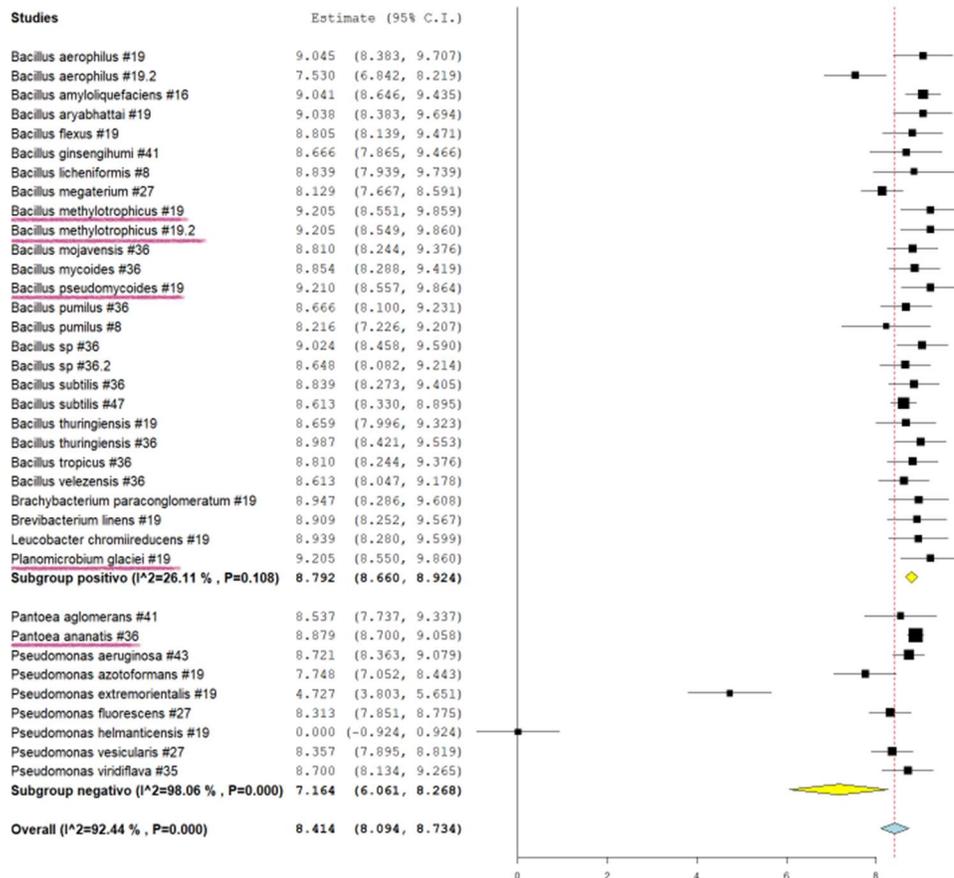
Se utilizó 38 ensayos experimentales, con 36 cepas bacterianas y 2 cepas de levaduras. Se realizó un forest plot por cada grupo microbiano (bacterias y levaduras) como se observa en la Figura 16.

Figura 16

Especies microbianas utilizadas en las investigaciones experimentales en fase in situ.

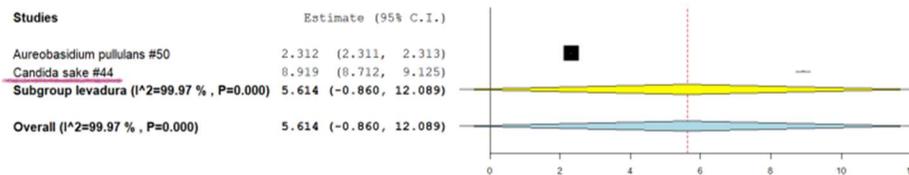
(A)

Estudios	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
Subgrupo bacteria Gram +	8.792	8.660	8.924	0.067	0.108
Subgrupo bacteria Gram -	7.164	6.061	8.734	0.163	0.000



(B)

Estudios	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
Especies levaduriformes	5.461	-0.860	12.089	3.303	0.000



Nota: A) Especies bacterianas, B) Especies de levaduras. Las especies resaltadas son las que tienen el mayor tamaño del efecto equivalente al porcentaje de inhibición. El # pertenece al número del artículo en el cual fue encontrada la especie mencionada.

Como se puede observar en los forest plots de los porcentajes de inhibición, se analizaron solo 2 tipos de microorganismos: bacterias y levaduras. Las bacterias contienen mayor cantidad de cepas por lo que consecuentemente genera mayor variabilidad en los resultados. La heterogeneidad de datos es alta para los 2 microorganismos, en bacterias representó $I^2 = 92.44 \%$ y en levaduras $I^2 = 99,97\%$.

Existieron diferencias estadísticas entre las especies microbianas, exceptuando las bacterias Gram positivas, donde la variabilidad de los tamaños de efecto fue similar. Los rombos en la parte inferior de los gráficos de forest plot en las levaduras atraviesan los valores nulos, por lo que se considera que los resultados no fueron estadísticamente significativos entre estudios, pero si tuvieron diferencias estadísticas con el promedio del tamaño de efecto para cada especie. Los tamaños de efecto fueron diferentes entre los microorganismos: bacterias Gram positivas (8.792), bacterias Gram negativas (8.414) y levaduras (5.614). El último grupo mencionado es el grupo que menor puntuación obtuvo, esto puede ser debido a la poca cantidad de especies encontradas en los

estudios seleccionados a diferencia de las bacterias. Estos resultados preliminares sugieren que las levaduras no son tan eficaces como las bacterias siendo ACB en la fase *in situ*.

Comparando los resultados de los gráficos con los porcentajes de inhibición hallados en los artículos científicos, se puede resaltar que algunas especies bacterianas Gram positivas obtuvieron un alto porcentaje de inhibición como fue: *Bacillus pseudomycooides* con 100%, *Bacillus methylotrophicus* con 99.44%, *Planomicrobium glaciei* con 99.44%, *Bacillus amyloliquefaciens* con 84.40%, y *Bacillus aryabhatai* con 84.18%. Todas las bacterias tuvieron diferencias significativas con el tamaño del efecto promedio de 8.792. Dentro de las bacterias Gram negativas se destacó *Pantoea ananatis* con el 71.8% de inhibición, seguido de *Pseudomonas aeruginosa* con 61.3%. Estas especies tuvieron diferencias significativas con el tamaño de efecto promedio de 8.414. La especie *Pseudomonas helmanticensis* tuvo un tamaño de efecto nulo, es decir no presentó ningún porcentaje de inhibición contra *B. cinerea* como se observa en la Figura 16 (A).

Comparando las especies bacterianas de todas las fases, en la fase *in vitro* se encontró 2 especies que no tuvieron efecto inhibitorio que al contrario de la fase *in vivo*, todas las especies tuvieron un porcentaje mínimo de inhibición y en la fase *in situ* solo se encontró 1 especie sin inhibición

En el grupo de levaduras, *Candida sake* destacó con un 74.7% de inhibición y *Aureobasidium pullulans* con un 70.66% de inhibición. Sin embargo, estas especies tuvieron diferencias significativas en comparación con la media del tamaño del efecto de 5.461. Es importante mencionar que *Candida sake* solo se encontró en la fase *in situ*, lo que limita la comparación con otras fases experimentales.

Los bajos porcentajes de inhibición en levaduras pueden atribuirse a su susceptibilidad a factores ambientales y su menor capacidad de colonizar la planta huésped. Por otro lado, los altos porcentajes de inhibición en bacterias Gram positivas podrían atribuirse a su mayor resistencia debido a una pared celular más gruesa en comparación con las bacterias Gram negativas (Feichtmayer et al., 2017).

También puede depender del momento en los que fueron aplicaron los tratamientos en el cultivo agrícola, debido a la capacidad del patógeno de propagarse rápidamente, para tener mejores resultados se debe utilizar los ACB en el inicio de la temporada de crecimiento de los vegetales, incluyendo varias aplicaciones continuas hasta el desarrollo del fruto, metodología que fue variable entre los artículos estudiados (X. Wang et al., 2018).

4.5.6 *Especies microbianas con mejor potencial antagónico en las 3 fases experimentales*

En la Tabla 5 se presenta la recopilación de todos los microorganismos que pueden ser utilizados como ACB de acuerdo con las condiciones de cultivo requeridas, basados en los resultados de los forest plots de los géneros microbianos con mayor porcentaje de inhibición (Anexo 5,6,7).

Tabla 5

Especies microbianas utilizadas como ACB en las fases experimentales in vitro, in vivo, in situ

Condición de cultivo	Microorganismo	Especie	% de inhibición
<i>In vitro</i>	Bacteria	<i>Bacillus subtilis</i>	100
<i>In vitro/ in vivo</i>	Bacteria	<i>Enterobacter cowanii</i>	100/ 95.3
<i>In vitro</i>	Bacteria	<i>Streptomyces philanthi</i>	100
<i>In vitro</i>	Bacteria	<i>Streptomyces.mycarofaciens</i>	100
<i>In vitro</i>	Levadura	<i>Candida pyralidae</i>	100
<i>In vitro</i>	Levadura	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	100

<i>In vitro/ in vivo</i>	Levadura	<i>Pichia kluyveri</i>	100/100
<i>In vitro/ in vivo</i>	Levadura	<i>Lachancea thermotolerans</i>	100 /99
<i>In vitro</i>	Hongo filamentoso	<i>Albifimbria verrucaria</i>	86
<i>In vivo</i>	Bacteria	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	94.33
<i>In vivo</i>	Levadura	<i>Aureobasidium pullulans</i>	100
<i>In vivo</i>	Hongo filamentoso	<i>Beauveria bassiana</i>	98
<i>In situ</i>	Bacteria	<i>Bacillus pseudomycooides</i>	100
<i>In situ</i>	Bacteria	<i>Bacillus methylotrophicus</i>	99.4
<i>In situ</i>	Levadura	<i>Candida sake</i>	74.7

4.6 Guía de cultivo agrícola sobre el uso de microorganismos como agentes de control biológico frente a *Botrytis cinerea*.

4.6.1 Introducción sobre el fitopatógeno *Botrytis cinerea*

Se describió brevemente las características principales que tiene este hongo, además se especificó cuáles son los primeros síntomas en las plantas para que el agricultor pueda detectar el patógeno a tiempo e implementar adecuadamente un tratamiento.

4.6.2 Definición de Agentes de Control Biológico

Se explicaron las definiciones básicas de los agentes de control biológico de una manera sencilla al igual que se nombraron los diferentes microorganismos utilizados: bacterias, levaduras y hongos filamentosos

4.6.3 Ventajas del uso de Agentes de Control Biológico

La falta de conocimiento generalizado en la sociedad acerca de la utilización de agentes de control biológico impide la implementación de biofungicidas en el tratamiento de los cultivos. Sin embargo, al proporcionar una explicación concisa de los beneficios primordiales tanto a corto como a largo plazo, será posible informar al público en general acerca de las nuevas metodologías

para el manejo de plagas de manera más ecológica, lo que a su vez generará a una agricultura sostenible.

4.6.4 Beneficiarios de la guía

El enfoque central de esta guía se dirige a la población en general, incluyendo a los agricultores y sus familias, quienes se beneficiarán al obtener alimentos de alta calidad, libres de residuos químicos. Esto, a su vez, garantiza la nutrición y alimentación saludable de los consumidores. Además, la implementación de estas prácticas puede generar un valor añadido a los productos agrícolas, lo que permite a los agricultores acceder a las grandes cadenas de supermercados que constantemente imponen nuevas normas de consumo.

4.6.5 Normas de bioseguridad para fumigar

Antes de abordar las distintas formas de aplicación, es fundamental presentar de manera visual los equipos de bioseguridad indispensables para el agricultor durante el proceso de fumigación. Estos elementos de protección incluyen, pero no se limitan a, un overol de fumigación, botas de caucho, gafas de protección y guantes. El propósito de esta exposición gráfica es proporcionar al agricultor una guía clara sobre las medidas de seguridad necesarias durante el tratamiento de sus cultivos.

4.6.6 Métodos de aplicación en cultivo

Se propuso 3 métodos más comunes de aplicación de fungicidas comerciales:

Riego por aspersión: El fungicida biológico o microorganismo debe ser disuelto previamente en agua en la proporción adecuada antes de rociarlo sobre el cultivo durante el riego por aspersión.

Aplicación foliar: En este método, el fungicida biológico, previamente disuelto en agua, se aplica sobre las hojas de la planta utilizando un aspersor.

Aplicación radicular: En este enfoque, el fungicida biológico se aplica directamente en la base de la planta o diluido en agua y se vierte en el suelo alrededor de las raíces. 18.5

4.6.7 Fungicidas biológicos de venta pública

Existen varias alternativas comerciales de fungicidas que contienen concentraciones de microorganismos benéficos, diseñadas para facilitar su uso por parte de los agricultores. Algunas de las casas comerciales que ofrecen estos productos son Agripac, Organik Crops y Fenec S.A.

Estas casas comerciales se dedican a ofrecer productos de calidad y confiables que contienen concentraciones adecuadas de microorganismos benéficos para el control de enfermedades fúngicas en los cultivos. Los agricultores pueden confiar en estas alternativas comerciales para proteger sus cultivos de manera efectiva, al tiempo que promueven prácticas agrícolas más sostenibles y respetuosas con el entorno.

4.6.8 Microorganismos utilizados como ACB

Una vez realizado la revisión sistemática y el metaanálisis de las especies microbianas que se pueden usar como agentes de control biológico, en la Tabla 6, se detallan los microorganismos específicos que se han identificado como más eficaces para el tratamiento de cada uno de los cultivos mencionados como: tomate, uva, fresa, manzana, pepino, pimiento, kiwi y vainita. Cada fila de la tabla corresponde a un microorganismo en particular, y los datos proporcionados resaltan su concentración de inóculo y la efectividad en el control de *Botrytis cinerea*.

Tabla 6

Ejemplo de los microorganismos utilizados como agentes de control biológico en el cultivo de uva

Agente de control biológico	Especie	Inóculo UFC/ml	Control biológico > 50%	Artículo científico
Bacterias	<i>Bacillus ginsengihumi</i>	10 ⁷	58%	(Calvo-Garrido et al., 2019)
	<i>Bacillus velezensis</i>	10 ⁷	54.66%	(H. Calvo et al., 2020)
	<i>Pantoea ananatis</i>	10 ⁸	71.8%	(Gasser et al., 2012)
	<i>Pseudomonas protegens</i>	10 ⁸	75%	(Andreolli et al., 2019)
	<i>Ralstonia sp</i>	10 ⁸	55.06%	(Kasfi et al., 2018b)
Levaduras	<i>Aureobasidium pullulans</i>	10 ⁷	70.66%	(Galli et al., 2021a)
	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	10 ⁸	64.78%	(Marsico et al., 2021)
	<i>Lachancea thermotolerans</i>	10 ⁸	99.99%	(Marsico et al., 2021)
	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	10 ⁸	99.21%	(Marsico et al., 2021)
	<i>Pichia kluyveri</i>	10 ⁸	100%	(Mewa-Ngongang et al., 2019)

Nota. Dentro de la tabla se especifica el microorganismo, la especie, la concentración de inóculo utilizada durante la experimentación, el porcentaje de inhibición que sea mayor de 50% y la cita referencial del artículo científico en el que fueron hallado los datos

En la Tabla 6, se puede apreciar una clasificación resumida de los microorganismos utilizados para el cultivo agrícola, se tomó como referencia los microorganismos que presentaron un porcentaje de inhibición mayor al 50% en fase experimental *in vivo* y/o *in situ*, debido a que la evaluación en condiciones naturales proporciona una perspectiva más realista y precisa de cómo las cepas responderán y se comportarán en situaciones reales (Backer et al., 2018).

4.6.9 Estructura final para la guía

La guía de cultivo agrícola está estructurada de manera completa y organizada, constando de varios elementos que facilitan su uso y comprensión por parte de los lectores como: la portada, presentación, índice, desarrollo del contenido y recomendaciones (Figura 17). Se puede acceder a la guía digital, en el siguiente enlace:

<https://utneduec->

my.sharepoint.com/:b/g/personal/inlarcom_utn_edu_ec/EbVGtBIWwqlHnNVFRElp0GsBhmeX4asyzzUvC-7bQzeczEw?e=CBCzI0

Figura 17

Páginas ejemplares de la guía



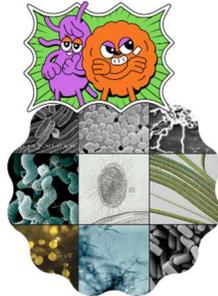
¿QUÉ SON LOS AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO (BCA)?



Los Agentes de Control Biológico (**ACB** o **BCA**) son microorganismos buenos que atacan la plaga para controlarla. Se usan concentraciones de microbios para aplicarlos sobre los cultivos agrícolas directamente mediante diversos tratamientos, evitando que las plagas como el moho gris acabe con la cosecha del agricultor.

VENTAJAS

- ✓ No son nocivos para plantas, humanos o animales.
- ✓ Son eficientes en el control de la plaga
- ✓ Sobreviven en diferentes condiciones y en ausencia del hongo
- ✓ Son económicamente viables para producir a gran escala
- ✓ Tienen una larga vida útil y son infecciosos después de ser almacenados
- ✓ Son compatibles con diferentes activos agrícolas (pesticidas, fertilizantes, etc.)



¿DÓNDE PUEDO COMPRAR LOS FUNGICIDAS BIOLÓGICOS?

SONATA®

Crea una zona de inhibición en la superficie de la planta, previniendo el establecimiento de los hongos.



INGREDIENTE ACTIVO:

Bacillus pumilus cepa OST 2808 1.38%

CULTIVOS: Rosas y Banano

SERENADE®

Forma una barrera física sobre el área cubierta por el caldo de aplicación.



INGREDIENTE ACTIVO:

Bacillus subtilis, cepa (GST 713) 1 x 10⁹ UFC/g 1.34%

CULTIVOS: Rosas, Banano, Arroz, Uva, Cacao, Pitahaya, Fresa, Mango, Pimiento, Cebolla

RHAPSODY®

Forma una barrera física sobre el área cubierta por el caldo de aplicación.



INGREDIENTE ACTIVO:

Bacillus subtilis cepa GST 713 1.34%

CULTIVOS: Rosas, Banano, Arroz, Uva

PÁGINA WEB: <https://agripac.com.ec/>

11

MICROORGANISMOS PARA CULTIVO DE TOMATE



Agente de control biológico	Especie	Inóculo UFC/ml	Eficacia de control biológico > 50%	Autores
Bacterias	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	10 ⁷	88.36%	(Kefi et al., 2015)
	<i>Bacillus mojavensis</i>	10 ⁷	55.53%	(Kefi et al., 2015)
	<i>Bacillus subtilis</i>	10 ⁷	86.57%	(Bu et al., 2021)
	<i>Bacillus subtilis</i>	10 ⁷	70.84%	(De Moura et al., 2021)
	<i>Enterobacter cowanii</i>	10 ⁶	95.33%	(Shi & Sun, 2017)
	<i>Paenibacillus kribbensis</i>	10 ⁷	89.8%	(Xu et al., 2014)
	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	10 ⁷	88.3%	(Santiago et al., 2016)
Levaduras	<i>Streptomyces philanthi</i>	10 ⁶	60.25%	(Boukaew et al., 2017)
	<i>Candida sake</i>	10 ⁶	90%	(Rodríguez et al., 2014)
Hongos filamentosos	<i>Fusarium oxysporum</i>	10 ⁶	61%	(Zhang et al., 2014)
	<i>Beauveria bassiana</i>	10 ⁵	98%	(Barra-Bucarei et al., 2020)



17

El control biológico se define como el uso de agentes vivos para controlar plagas o patógenos vegetales. Se han utilizado con el objetivo de beneficiar cultivos de interés agrícola, diversos grupos microbianos actúan como agentes de control biológico, entre ellos: bacterias (por ejemplo, *Bacillus* y *Pseudomonas*), levaduras (por ejemplo, *Aureobasidium*, *Candida*) y hongos (por ejemplo, *Trichoderma*, *Glilotium*, *Chionostachys*, *Ulocladium*) (Abbey et al., 2018; Hernández-Rodríguez et al., 2006).

Por lo que se ha desarrollado esta guía como un documento de consulta para que agricultores y asistentes técnicos o público en general puedan conocer las diferentes metodologías de aplicación de microorganismos (bacterias, levaduras y hongos filamentosos) como fungicidas biológicos, evitando la resistencia de *Botrytis cinerea* en sus cultivos agrícolas.

Ingeniería en
BIOTECNOLOGÍA

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
UN
IBARRA - ECUADOR

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- En esta revisión sistemática y metaanálisis, se identificaron varios géneros bacterianos, incluyendo *Bacillus*, *Streptomyces* y *Enterobacter*, al igual que géneros levaduriformes como *Candida*, *Lachancea* y *Pichia*, finalmente géneros de hongos filamentosos como *Albifimbria* y *Beauveria*, que pueden ser alternativas viables para el control de *Botrytis cinerea* en cultivos agrícolas en todo el mundo, especialmente en viñedos y tomates.
- Los resultados del análisis revelaron ensayos experimentales en un total de 18 países, destacando China e Italia como los países con el mayor número de investigaciones sobre agentes de control biológico. Asimismo, se encontró que Argelia fue el país que utilizó la mayor cantidad de especies microbianas en sus investigaciones. La fase *in vitro* fue la más utilizada en estos estudios
- En los estudios analizados, se observó que el género *Bacillus* destacó como el más utilizado en el control biológico. En el caso de las levaduras, el género más representativo fue *Aureobasidium*, mientras que en los hongos filamentosos no se identificó un género predeterminado
- Las levaduras mostraron una mayor efectividad en la fase *in vivo*, las bacterias y las levaduras fueron igualmente efectivas en la fase *in situ*, por lo que estos microorganismos podrían ser utilizadas como ACB en campo.

- Las especies microbianas que pueden ser utilizadas como ACB en campo son: *Bacillus pseudomycooides* (100%), *Bacillus methylotrophicus* (99.4%), *Planomicrobium glaciei* (99.4 %) y *Candida sake* (74.7%).
- Los rangos de eficacia del control biológico en los microorganismos varían según el grupo microbiano, pero la mayoría de las especies microbianas logran superar el 50% de inhibición, llegando incluso al 100%. Como en el caso de las bacterias.

5.2 Recomendaciones

- Utilizar softwares informáticos como Gephi para la valorización de datos cualitativos, desde análisis de redes sociales hasta estudios biológicos, empresariales y culturales. Es una opción valiosa para cualquier situación en la que se requiera explorar relaciones interconectadas.
- Para la realización de metaanálisis cuantitativo, usar el software OpenMEE (Open Meta-Analysis and Meta-Regression), que permite sintetizar y analizar de manera más precisa y completa la evidencia científica proveniente de diferentes estudios, identificar patrones y relaciones, y obtener conclusiones más confiables sobre una determinada pregunta de investigación.
- Realizar nuevas investigaciones sobre otros fitopatógenos como *Fusarium oxysporum* o *Phytophthora infestans* que afecten a los cultivos agrícolas importantes de nuestro país como papa, tomate, fresas, entre otros. Para identificar nuevos agentes de control biológico que se adapten a las diferentes condiciones climáticas.

- Ampliar el tema de investigación sobre artículos científicos que comparen los efectos inhibitorios de los tratamientos químicos frente a de los agentes de control biológico para determinar diferencias estadísticas entre ambos tratamientos
- Proporcionar metodologías de fácil aplicación de los agentes de control biológico en los fungicidas biológicos comerciales, para que el lector en general pueda utilizar como reemplazo de los fungicidas sintéticos tradicionales

REFERENCIAS

- Abbey, J. A., Percival, D., Abbey, Lord, Asiedu, S. K., Prithiviraj, B., & Schilder, A. (2018). Biofungicides as alternative to synthetic fungicide control of grey mould (*Botrytis cinerea*) – prospects and challenges. <https://doi.org/10.1080/09583157.2018.1548574>, 29(3), 241–262. <https://doi.org/10.1080/09583157.2018.1548574>
- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology 5th Edition*. San Diego: Academic Press, 922. https://books.google.com/books/about/Plant_Pathology.html?hl=es&id=CnzbgZgby60C
- AGROCALIDAD. (2009). *Certificación de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA)*.
- AGROCALIDAD. (2020). *MANUAL GENERAL DE CUARENTENA VEGETAL*.
- Aguirre, M. C. P. A., Córdova, L. J. D., & Piqué, H. R. (2021). Agriculturización: la alquimia de un paisajeprecolombino Kañari en la cuenca alta del río Chanchán, Andes del Ecuador. *estudios atacameños. Arqueología y Antropología Surandinas*, 67(1), e4206.
- Alavanja, M. C. R., Hoppin, J. A., & Kamel, F. (2004). Health Effects of Chronic Pesticide Exposure: Cancer and Neurotoxicity*3. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.publhealth.25.101802.123020>, 25, 155–197. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PUBLHEALTH.25.101802.123020>
- Alencastro Campaña, L. M. (2011). *Alternativas ecológicas para el control del moho gris (botrytis cinerea) en mora de castilla (rubus glaucus Benth)*. <http://repositorio.espe.edu.ec/jspui/handle/21000/4593>
- Andreolli, M., Zapparoli, G., Angelini, E., Lucchetta, G., Lampis, S., & Vallini, G. (2019). *Pseudomonas protegens* MP12: A plant growth-promoting endophytic bacterium with broad-spectrum antifungal activity against grapevine phytopathogens. *Microbiological Research*, 219, 123–131. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2018.11.003>
- Arora, N. K. (2015). Plant microbes symbiosis: Applied facets. *Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets*, 1–381. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2068-8/COVER>
- Azzolini, M., Tosi, E., Faccio, S., Lorenzini, M., Torriani, S., & Zapparoli, G. (2013). Selection of *Botrytis cinerea* and *Saccharomyces cerevisiae* strains for the improvement and

- valorization of Italian passito style wines. *FEMS Yeast Research*, 13(6), 540–552. <https://doi.org/10.1111/1567-1364.12054>
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S., & Smith, D. L. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria: Context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 871, 1473. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2018.01473/BIBTEX>
- Badura, J., van Wyk, N., Brezina, S., Pretorius, I. S., Rauhut, D., Wendland, J., & von Wallbrunn, C. (2021). Development of Genetic Modification Tools for *Hanseniaspora* spp. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 1943, 22(4), 1943. <https://doi.org/10.3390/IJMS22041943>
- Barra-Bucarei, L., Iglesias, A. F., González, M. G., Aguayo, G. S., Carrasco-Fernández, J., Castro, J. F., & Campos, J. O. (2020). Antifungal Activity of *Beauveria bassiana* Endophyte against *Botrytis cinerea* in Two Solanaceae Crops. *Microorganisms*, 8(1). <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS8010065>
- Berrada, I., Benkhemmar, O., Swings, J., Bendaou, N., & Amar, M. (2012). Selection of halophilic bacteria for biological control of tomato gray mould caused by *Botrytis cinerea* on JSTOR. *Phytopathologia Mediterranea*, 3(51), 625–630.
- Bertetti, D., Monchiero, M., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2019). Monitoring activities on fungicide resistance in *Botrytis cinerea* carried out in vineyards in North-West Italy in 2018. *Journal of Plant Diseases and Protection* 2019 127:1, 127(1), 123–127. <https://doi.org/10.1007/S41348-019-00263-3>
- Blacharski, R. W., Bartz, J. A., Xiao, C. L., & Legard, D. E. (2007). Control of Postharvest *Botrytis* Fruit Rot with Preharvest Fungicide Applications in Annual Strawberry. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.6.597>, 85(6), 597–602. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.6.597>
- Blonder, B., Wey, T. W., Dornhaus, A., James, R., & Sih, A. (2012). Temporal dynamics and network analysis. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(6), 958–972. <https://doi.org/10.1111/J.2041-210X.2012.00236.X>

- Bolaños Díaz, R., & Calderón Cahua, M. (2014). Introducción al meta-análisis tradicional. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 34(1), 45–51. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292014000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Botella, J., & Zamora, Á. (2017). EL META-ANÁLISIS: UNA METODOLOGÍA PARA LA INVESTIGACIÓN EN EDUCACIÓN. *Educación XXI*, 20(2), 17–38. <https://doi.org/10.5944/educXXI.18241>
- Bouaoud, Y., Troulet, C., Foughalia, A., Berge, O., Aissat, K., & Bardin, M. (2018). A multi-criteria approach for the selection of efficient biocontrol agents against *Botrytis cinerea* on tomato in Algeria. *BioControl*, 63(2), 299–311. <https://doi.org/10.1007/S10526-017-9851-7/METRICS>
- Boukaew, S., Prasertsan, P., Troulet, C., & Bardin, M. (2017). Biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea* by using *Streptomyces* spp. *BioControl*, 62(6), 793–803. <https://doi.org/10.1007/S10526-017-9825-9/METRICS>
- Brewer, M. T., & Larkin, R. P. (2005). Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. *Crop Protection*, 24(11), 939–950. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2005.01.012>
- Bu, S., Munir, S., He, P., Li, Y., Wu, Y., Li, X., Kong, B., He, P., & He, Y. (2021). *Bacillus subtilis* L1-21 as a biocontrol agent for postharvest gray mold of tomato caused by *Botrytis cinerea*. *Biological Control*, 157, 104568. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2021.104568>
- Calvo, H., Marco, P., Blanco, D., Oria, R., & Venturini, M. E. (2017). Potential of a new strain of *Bacillus amyloliquefaciens* BUZ-14 as a biocontrol agent of postharvest fruit diseases. *Food microbiology*, 63, 101–110. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2016.11.004>
- Calvo, H., Mendiara, I., Arias, E., Gracia, A. P., Blanco, D., & Venturini, M. E. (2020). Antifungal activity of the volatile organic compounds produced by *Bacillus velezensis* strains against postharvest fungal pathogens. *Postharvest Biology and Technology*, 166, 111208. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2020.111208>

- Calvo, J., Calvente, V., de Orellano, M., Benuzzi, D., & Sanz de Tosetti, M. (2007). Biological control of postharvest spoilage caused by *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* in apple by using the bacterium *Rahnella aquatilis*. *International journal of food microbiology*, *113*(3), 251–257. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2006.07.003>
- Calvo-Garrido, C., Elmer, P. A. G., Viñas, I., Usall, J., Bartra, E., & Teixidó, N. (2013). Biological control of botrytis bunch rot in organic wine grapes with the yeast antagonist *Candida sake* CPA-1. *Plant Pathology*, *62*(3), 510–519. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3059.2012.02684.X>
- Calvo-Garrido, C., Roudet, J., Aveline, N., Davidou, L., Dupin, S., & Fermaud, M. (2019). Microbial antagonism toward botrytis bunch rot of grapes in multiple field tests using one *Bacillus ginsengihumi* strain and formulated biological control products. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 105. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.00105/BIBTEX>
- Castaño Zapata, J. (2015). *Principios básicos de hongos fitopatógenos - Castaño Zapata, Jairo - Google Libros* (2a ed., Vol. 1). Universidad de Caldas. <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=bRQoEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA33&dq=hongos+fitopatogenos&ots=XLVouOuWdZ&sig=QS9sSO3g3v5qEOuG708OGHpcGow#v=onepage&q&f=false>
- Castaño-Zapata, J. (2015). *Principios básicos de hongos fitopatógenos - Castaño Zapata, Jairo - Google Libros* (2a ed., Vol. 1). Universidad de Caldas.
- Centro Cochrane Iberoamericano. (2012). *Versión 5.1.0*.
- Chaouachi, M., Marzouk, T., Jallouli, S., Elkahoui, S., Gentzbittel, L., Ben, C., & Djébali, N. (2021). Activity assessment of tomato endophytic bacteria bioactive compounds for the postharvest biocontrol of *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology*, *172*, 111389. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2020.111389>
- Chen, C., Cao, Z., Li, J., Tao, C., Feng, Y., & Han, Y. (2020). A novel endophytic strain of *Lactobacillus plantarum* CM-3 with antagonistic activity against *Botrytis cinerea* on strawberry fruit. *Biological Control*, *148*, 104306. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2020.104306>

- Chen, K., Tian, Z., He, H., Long, C. an, & Jiang, F. (2020). Bacillus species as potential biocontrol agents against citrus diseases. *Biological Control*, 151, 104419. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2020.104419>
- Chen, P. H., Chen, R. Y., & Chou, J. Y. (2018). Screening and Evaluation of Yeast Antagonists for Biological Control of Botrytis cinerea on Strawberry Fruits. <https://doi.org/10.1080/12298093.2018.1454013>, 46(1), 33–46. <https://doi.org/10.1080/12298093.2018.1454013>
- Chowdhury, S. P., Hartmann, A., Gao, X. W., & Borriss, R. (2015). Biocontrol mechanism by root-associated Bacillus amyloliquefaciens FZB42 - A review. *Frontiers in Microbiology*, 6(JUL), 780. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2015.00780/BIBTEX>
- Cordero-Bueso, G., Mangieri, N., Maghradze, D., Foschino, R., Valdetara, F., Cantoral, J. M., & Vigentini, I. (2017). Wild grape-associated yeasts as promising biocontrol agents against Vitis vinifera fungal pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 8(NOV), 2025. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.02025/BIBTEX>
- Cotes, A. M. (2018). El concepto de control biológico y sus premisas fundamentales. *Corporación colombiana de investigación agropecuaria- AGROSAVIA*. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/34057>
- Crowther, M. A., & Cook, D. J. (2007). Trials and Tribulations of Systematic Reviews and Meta-Analyses. *Hematology*, 2007(1), 493–497. <https://doi.org/10.1182/ASHEDUCATION-2007.1.493>
- Cruz-Triana, A., Rivero-González, D., Infante-Martínez, D., Echevarría-Hernández, A., & Martínez-Coca, B. (2018). Manejo de hongos fitopatógenos en Phaseolus vulgaris L. con la aplicación de Trichoderma asperellum Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg. *Revista de Protección Vegetal*, 33(3), 1–7.
- Damalas, C. A., & Eleftherohorinos, I. G. (2011). Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2011, Vol. 8, Pages 1402-1419, 8(5), 1402–1419. <https://doi.org/10.3390/IJERPH8051402>

- Damalas, C. A., & Koutroubas, S. D. (2016). Farmers' Exposure to Pesticides: Toxicity Types and Ways of Prevention. *Toxics* 2016, Vol. 4, Page 1, 4(1), 1. <https://doi.org/10.3390/TOXICS4010001>
- Dame, Z. T., Rahman, M., & Islam, T. (2021). Bacilli as sources of agrobiotechnology: recent advances and future directions. <http://mc.manuscriptcentral.com/tgcl>, 14(2), 245–270. <https://doi.org/10.1080/17518253.2021.1905080>
- Dang, X., & Wang, G. (2020). Spotlight on Select New Antimicrobial Innate Immune Peptides Discovered during 2015–2019. *Current topics in medicinal chemistry*, 20(32), 2984. <https://doi.org/10.2174/1568026620666201022143625>
- De Moura, G. G. D., De Barros, A. V., Machado, F., Martins, A. D., Silva, C. M. da, Durango, L. G. C., Forim, M., Alves, E., Pasqual, M., & Doria, J. (2021). Endophytic bacteria from strawberry plants control gray mold in fruits via production of antifungal compounds against *Botrytis cinerea* L. *Microbiological Research*, 251, 126793. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2021.126793>
- Dean, R., van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414–430. <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2011.00783.X>
- Di Francesco, A., Mari, M., Ugolini, L., & Baraldi, E. (2018). Effect of *Aureobasidium pullulans* strains against *Botrytis cinerea* on kiwifruit during storage and on fruit nutritional composition. *Food Microbiology*, 72, 67–72. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2017.11.010>
- Di Francesco, A., Milella, F., Mari, M., & Roberti, R. (2017). A preliminary investigation into *Aureobasidium pullulans* as a potential biocontrol agent against *Phytophthora infestans* of tomato. *Biological Control*, 114, 144–149. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2017.08.010>
- Duhalt Krauss, M. (2002). *Los manuales de procedimientos en las oficinas públicas*. Programa Editorial de la Coordinación de Humanidades.

- Elad, Y., & Pertot, I. (2014). Climate Change Impacts on Plant Pathogens and Plant Diseases. *https://doi.org/10.1080/15427528.2014.865412*, 28(1), 99–139. <https://doi.org/10.1080/15427528.2014.865412>
- Elad, Y., Pertot, I., Cotes Prado, A. M., & Stewart, A. (2015). Plant hosts of Botrytis spp. *Botrytis - The Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*, 413–486. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0_20/COVER
- Elad, Y., & Stewart, A. (2007a). Microbial Control of Botrytis spp. *Botrytis: Biology, Pathology and Control*, 223–241. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2626-3_13
- Elad, Y., & Stewart, A. (2007b). Microbial Control of Botrytis spp. *Botrytis: Biology, Pathology and Control*, 223–241. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2626-3_13
- Elad, Y., Vivier, M., & Fillinger, S. (2015). Botrytis, the good, the bad and the ugly. *Botrytis - The Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*, 1–15. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0_1/COVER
- Elmer, P. A. G., & Reglinski, T. (2006). Biosuppression of Botrytis cinerea in grapes. *Plant Pathology*, 55(2), 155–177. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3059.2006.01348.X>
- Escrig Sos, V. J., Lluca Abella, J. A., Granel Villach, L., & Bellver Oliver, M. (2021). Meta-Analysis: A Basic Way To Understand And Interpret Your Evidence. *Revista de Senologia y Patologia Mamaria*, 34(1), 44–51. <https://doi.org/10.1016/J.SENOL.2020.05.007>
- Espinoza-Ahumada, C. A., Gallegos-Morales, G., Hernández-Castillo, F. D., Ochoa-Fuentes, Y. M., Cepeda-Siller, M., Castillo-Reyes, F., Espinoza-Ahumada, C. A., Gallegos-Morales, G., Hernández-Castillo, F. D., Ochoa-Fuentes, Y. M., Cepeda-Siller, M., & Castillo-Reyes, F. (2019). Antagonistas microbianos a Fusarium spp., como agente causal de pudrición de raíces y tallo en melón. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 6(16), 45–55. <https://doi.org/10.19136/ERA.A6N16.1843>
- FAO. (2012). *Manual de Buenas Prácticas Agrícolas para el Productor Hortofrutícola* .
- Feichtmayer, J., Deng, L., & Griebler, C. (2017). Antagonistic Microbial Interactions: Contributions and Potential Applications for Controlling Pathogens in the Aquatic Systems. *Frontiers in Microbiology*, 8(NOV). <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.02192>

- Fernández-Ortuño, D., Grabke, A., Li, X., & Schnabel, G. (2015). Independent emergence of resistance to seven chemical classes of fungicides in *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, *105*(4), 424–432. https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-14-0161-R/ASSET/IMAGES/LARGE/PHYTO-06-14-0161-R_T5.JPEG
- Fillinger, S., & Elad, Y. (2015a). Botrytis - The fungus, the pathogen and its management in agricultural systems. *Botrytis - The Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*, 1–486. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0/COVER>
- Fillinger, S., & Elad, Y. (2015b). Botrytis - The fungus, the pathogen and its management in agricultural systems. *Botrytis - The Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*, 1–486. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0>
- Fleming, P. S., Koletsi, D., & Pandis, N. (2014). Blinded by PRISMA: Are Systematic Reviewers Focusing on PRISMA and Ignoring Other Guidelines? *PLOS ONE*, *9*(5), e96407. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0096407>
- Fravel, D. R. (2005). Commercialization and Implementation of Biocontrol 1. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.032904.092924>, *43*, 337–359. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.43.032904.092924>
- Freimoser, F. M., Rueda-Mejia, M. P., Tilocca, B., & Migheli, Q. (2019). Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, *35*(10), 154. <https://doi.org/10.1007/S11274-019-2728-4>
- Gabal, E., Amal-Asran, Mohamed, M. A., & Abd-Elsalam, K. A. (2019). Botrytis Gray Mold Nano- or Biocontrol: Present Status and Future Prospects. *Nanotechnology in the Life Sciences*, 85–118. https://doi.org/10.1007/978-3-030-13296-5_5/COVER
- Gabriolotto, C., Monchiero, M., Nègre, M., Spadaro, D., & Gullino, M. L. (2009). Effectiveness of control strategies against *Botrytis cinerea* in vineyard and evaluation of the residual fungicide concentrations. <http://dx.doi.org/10.1080/03601230902801117>, *44*(4), 389–396. <https://doi.org/10.1080/03601230902801117>
- Galli, V., Romboli, Y., Barbato, D., Mari, E., Venturi, M., Guerrini, S., & Granchi, L. (2021a). Indigenous *Aureobasidium pullulans* Strains as Biocontrol Agents of *Botrytis cinerea* on

- Grape Berries. *Sustainability* 2021, Vol. 13, Page 9389, 13(16), 9389. <https://doi.org/10.3390/SU13169389>
- Galli, V., Romboli, Y., Barbato, D., Mari, E., Venturi, M., Guerrini, S., & Granchi, L. (2021b). Indigenous *Aureobasidium pullulans* Strains as Biocontrol Agents of *Botrytis cinerea* on Grape Berries. *Sustainability* 2021, Vol. 13, Page 9389, 13(16), 9389. <https://doi.org/10.3390/SU13169389>
- Gasser, F., Cardinale, M., Schildberger, B., & Berg, G. (2012). Biocontrol of *Botrytis cinerea* by successful introduction of *Pantoea ananatis* in the grapevine phyllosphere. *International Journal of Wine Research*, 4(1), 53–63. <https://doi.org/10.2147/IJWR.S31339>
- Gómez, M. I., Alarcón, A., León, M., Oehlschlager, C., & Solórzano, L. (2018). Comercialización de agentes de control biológico. *Corporación colombiana de investigación agropecuaria - AGROSAVIA*. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/34081>
- González-Domínguez, E., Fedele, G., Caffi, T., Delière, L., Sauris, P., Gramaje, D., Ramos-Saez de Ojer, J. L., Díaz-Losada, E., Díez-Navajas, A. M., Bengoa, P., & Rossi, V. (2019). A network meta-analysis provides new insight into fungicide scheduling for the control of *Botrytis cinerea* in vineyards. *Pest Management Science*, 75(2), 324–332. <https://doi.org/10.1002/ps.5116>
- Granados-Montero, M. (2018). Principales grupos de organismos considerados como “hongos” fitopatógenos y principales estructuras útiles en su identificación. *Taller Básico de Identificación Morfológica de “Hongos” Fitopatógenos*, 1(1), 1–42.
- Guigón-López, C., Holguín-Ibarra, P. D., Torres-Zapien, J. H., García-Cruz, I., Villapando, I., & Salas-Salazar, N. A. (2021). *Metarhizium anisopliae* reduces conidial germination and mycelium growth of the apple gray mold *Botrytis cinerea*. *Biological Control*, 160, 104660. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2021.104660>
- Gutiérrez-Ramírez, A., Robles-Bermúdez, A., Santillán-Ortega, C., Ortiz-Catón, M., & Cambero-Campos, O. (2013). Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de Nayarit, México | Revista Bio Ciencias. *Bio Ciencias*, 2(3). <https://revistabiociencias.uan.edu.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/view/40/132>

- Hahn, M. (2014). The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: Botrytis as a case study. *Journal of Chemical Biology* 2014 7:4, 7(4), 133–141. <https://doi.org/10.1007/S12154-014-0113-1>
- Haidich, A. B. (2010). Meta-analysis in medical research. *Hippokratia*, 14(Suppl 1), 29. [/pmc/articles/PMC3049418/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19418418/)
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). Trichoderma species — opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2004 2:1, 2(1), 43–56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>
- Hasang-Moran, E., García-Bendezú, S., Carrillo-Zenteno, M., Durango-Cabanilla, W., & Cobos-Mora, F. (2021). Sustainability of the corn production system, in the province of Los Ríos (Ecuador), under the multi-criteria methodology of Sarandón. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 9(1), 26–40. <https://doi.org/10.1017/JSAB/2021>
- Higgins, J., & Thompson, S. (2002). Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stats Med*, 21, 1539–1558.
- Ilhan, K., & Karabulut, O. A. (2013). Efficacy and population monitoring of bacterial antagonists for gray mold (*Botrytis cinerea* Pers. ex. Fr.) infecting strawberries. *BioControl*, 58(4), 457–470. <https://doi.org/10.1007/S10526-012-9503-X/METRICS>
- INEC. (2014). *Uso y Manejo de Agroquímicos en la Agricultura 2014*.
- Irtwange, S. V. (2006). Application of Biological Control Agents in Pre- and Postharvest Operations. *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal. Invited Overview*, 3. <https://ecommons.cornell.edu/handle/1813/10564>
- Israel, H., & Richter, R. R. (2011). A guide to understanding meta-analysis. *Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy*, 41(7), 496–504. <https://doi.org/10.2519/JOSPT.2011.3333/ASSET/IMAGES/LARGE/JOSPT-496-FIG002.JPEG>
- Janisiewicz, W. J., & Korsten, L. (2003). BIOLOGICAL CONTROL OF POSTHARVEST DISEASES OF FRUITS. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.120401.130158>, 40, 411–441. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.40.120401.130158>

- Jeyaratnam, J. (2008). Acute pesticide poisoning among agricultural workers in the United States, 1998-2005. *American Journal of Industrial Medicine*, 51(12), 883–898. <https://doi.org/10.1002/AJIM.20623>
- Kalogiannis, S., Tjamos, S. E., Stergiou, A., Antoniou, P. P., Ziogas, B. N., & Tjamos, E. C. (2006). Selection and evaluation of phyllosphere yeasts as biocontrol agents against grey mould of tomato. *European Journal of Plant Pathology*, 116(1), 69–76. <https://doi.org/10.1007/S10658-006-9040-5/METRICS>
- Kasfi, K., Taheri, P., Jafarpour, B., & Tarighi, S. (2018a). Identification of epiphytic yeasts and bacteria with potential for biocontrol of grey mold disease on table grapes caused by botrytis cinerea. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 16(1). <https://doi.org/10.5424/SJAR/2018161-11378>
- Kasfi, K., Taheri, P., Jafarpour, B., & Tarighi, S. (2018b). Identification of epiphytic yeasts and bacteria with potential for biocontrol of grey mold disease on table grapes caused by Botrytis cinerea. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 16(1), e1002–e1002. <https://doi.org/10.5424/SJAR/2018161-11378>
- Kefi, A., Slimene, I. Ben, Karkouch, I., Rihouey, C., Azaeiz, S., Bejaoui, M., Belaid, R., Cosette, P., Jouenne, T., & Limam, F. (2015). Characterization of endophytic Bacillus strains from tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) displaying antifungal activity against Botrytis cinerea Pers. *World journal of microbiology & biotechnology*, 31(12), 1967–1976. <https://doi.org/10.1007/S11274-015-1943-X>
- Khan, M., Salman, M., Jan, S. A., & Shinwari, Z. K. (2021). Biological control of fungal phytopathogens: A comprehensive review based on Bacillus species. *MOJ Biology and Medicine*, 6(2), 90–92. <https://doi.org/10.15406/MOJBM.2021.06.00137>
- Kheireddine, A., Essghaier, B., Hedi, A., Dhieb, C., & Sadfi-Zouaoui, N. (2018). New epiphytic yeasts able to reduce grey mold disease on apples. *Plant Protection Science*, 54(4), 248–257. <https://doi.org/10.17221/103/2017-PPS>

- Köhl, J., Gerlagh, M., & Grit, G. (2007). Biocontrol of *Botrytis cinerea* by *Ulocladium atrum* in Different Production Systems of Cyclamen. *https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.5.569*, *84*(5), 569–573. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.5.569>
- Lajeunesse, M. J. (2011). On the meta-analysis of response ratios for studies with correlated and multi-group designs. *Ecology*, *92*(11), 2049–2055. <https://doi.org/10.1890/11-0423.1>
- Larkin, R. P. (2003). Characterization of soil microbial communities under different potato cropping systems by microbial population dynamics, substrate utilization, and fatty acid profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, *35*(11), 1451–1466. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00240-2](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00240-2)
- Latorre, B. A., Elfar, K., & Ferrada, E. E. (2015). Gray mold caused by *Botrytis cinerea* limits grape production in Chile. *Ciencia e investigación agraria*, *42*(3), 305–330. <https://doi.org/10.4067/S0718-16202015000300001>
- Lemos Junior, W. J. F., Binati, R. L., Felis, G. E., Slaghenaufi, D., Ugliano, M., & Torriani, S. (2020). Volatile organic compounds from *Starmerella bacillaris* to control gray mold on apples and modulate cider aroma profile. *Food Microbiology*, *89*, 103446. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2020.103446>
- Lemos, W. J., Bovo, B., Nadai, C., Crosato, G., Carlot, M., Favaron, F., Giacomini, A., & Corich, V. (2016). Biocontrol ability and action mechanism of *Starmerella bacillaris* (synonym *Candida zemplinina*) isolated from wine musts against gray mold disease agent *Botrytis cinerea* on grape and their effects on alcoholic fermentation. *Frontiers in Microbiology*, *7*(AUG), 1249. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.01249/BIBTEX>
- Leroux, P., Fritz, R., Debieu, D., Albertini, C., Lanen, C., Bach, J., Gredt, M., & Chapeland, F. (2002). Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Management Science*, *58*(9), 876–888. <https://doi.org/10.1002/PS.566>
- Li, G., Chi, M., Chen, H., Sui, Y., Li, Y., Liu, Y., Zhang, X., Sun, Z., Liu, G., Wang, Q., & Liu, J. (2016). Stress tolerance and biocontrol performance of the yeast antagonist, *Candida diversa*, change with morphology transition. *Environmental science and pollution research international*, *23*(3), 2962–2967. <https://doi.org/10.1007/S11356-015-5769-8>

- Li, Y., Cai, Y., Liang, Y., Ji, P., & Xu, L. (2020). Assessment of antifungal activities of a biocontrol bacterium BA17 for managing postharvest gray mold of green bean caused by *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology*, *161*, 111086. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2019.111086>
- Li, Z., Chang, P., Gao, L., & Wang, X. (2020). The endophytic fungus *Albifimbria verrucaria* from wild grape as an antagonist of *Botrytis cinerea* and other grape pathogens. *Phytopathology*, *110*(4), 843–850. https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-19-0347-R/ASSET/IMAGES/LARGE/PHYTO-09-19-0347-R_F7.JPEG
- Lian, Q., Zhang, J., Gan, L., Ma, Q., Zong, Z., & Wang, Y. (2017). The biocontrol efficacy of *Streptomyces pratensis* LMM15 on *Botrytis cinerea* in Tomato. *BioMed Research International*, *2017*. <https://doi.org/10.1155/2017/9486794>
- Long, C. A., Wu, Z., & Deng, B. X. (2005). Biological control of *Penicillium italicum* of Citrus and *Botrytis cinerea* of Grape by Strain 34-9 of *Kloeckera apiculata*. *European Food Research and Technology*, *221*(1–2), 197–201. <https://doi.org/10.1007/S00217-005-1199-Z/METRICS>
- Lu, Y., Ma, D., He, X., Wang, F., Wu, J., Liu, Y., Jiao, J., & Deng, J. (2021). *Bacillus subtilis* KLBC BS6 induces resistance and defence-related response against *Botrytis cinerea* in blueberry fruit. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, *114*, 101599. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2020.101599>
- Manterola, C., Astudillo, P., Arias, E., & Claros, N. (2013). Revisiones sistemáticas de la literatura. Qué se debe saber acerca de ellas. *Cirugía Española*, *91*(3), 149–155. <https://doi.org/10.1016/J.CIRESP.2011.07.009>
- Márquez, R., Blanco, E. L., & Aranguren, Y. (2020). *Bacillus* strain selection with plant growth-promoting mechanisms as potential elicitors of systemic resistance to gray mold in pepper plants. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *27*(8), 1913–1922. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2020.06.015>
- Marsico, A. D., Velenosi, M., Perniola, R., Bergamini, C., Sinonin, S., David-vaizant, V., Maggolini, F. A. M., Hervè, A., Cardone, M. F., & Ventura, M. (2021). Native Vineyard

Non-Saccharomyces Yeasts Used for Biological Control of Botrytis cinerea in Stored Table Grape. *Microorganisms* 2021, Vol. 9, Page 457, 9(2), 457. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9020457>

McGowan, J., & Sampson, M. (2005). Systematic reviews need systematic searchers. *Journal of the Medical Library Association*, 93(1), 74.

Mewa-Ngongang, M., Du Plessis, H. W., Ntwampe, S. K. O., Chidi, B. S., Hutchinson, U. F., Mekuto, L., & Jolly, N. P. (2019a). The Use of Candida pyralidae and Pichia kluyveri to Control Spoilage Microorganisms of Raw Fruits Used for Beverage Production. *Foods (Basel, Switzerland)*, 8(10). <https://doi.org/10.3390/FOODS8100454>

Mewa-Ngongang, M., Du Plessis, H. W., Ntwampe, S. K. O., Chidi, B. S., Hutchinson, U. F., Mekuto, L., & Jolly, N. P. (2019b). The Use of Candida pyralidae and Pichia kluyveri to Control Spoilage Microorganisms of Raw Fruits Used for Beverage Production. *Foods (Basel, Switzerland)*, 8(10). <https://doi.org/10.3390/FOODS8100454>

Mills, D. A., Johannsen, E. A., & Cocolin, L. (2002). Yeast diversity and persistence in botrytis-affected wine fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(10), 4884–4893. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.10.4884-4893.2002/ASSET/6E9B0156-7C44-4DF7-BB5E-332B1BD69115/ASSETS/GRAPHIC/AM1020240007.JPEG>

Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., & Altman, D. G. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. En *BMJ (Online)* (Vol. 339, Número 7716, pp. 332–336). British Medical Journal Publishing Group. <https://doi.org/10.1136/bmj.b2535>

Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., Petticrew, M., Shekelle, P., Stewart, L. A., Estarli, M., Barrera, E. S. A., Martínez-Rodríguez, R., Baladia, E., Agüero, S. D., Camacho, S., Buhning, K., Herrero-López, A., Gil-González, D. M., Altman, D. G., Booth, A., ... Whitlock, E. (2015). Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Revista Espanola de Nutricion Humana y Dietetica*, 20(2), 148–160. <https://doi.org/10.1186/2046-4053-4-1>

- Moreno, B., Muñoz, M., Cuellar, J., Domancic, S., Villanueva, J., Moreno, B., Muñoz, M., Cuellar, J., Domancic, S., & Villanueva, J. (2018). Revisión Sistemática: definición y nociones básicas. *Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral*, 11(3), 184–186. <https://doi.org/10.4067/S0719-01072018000300184>
- Moyano, C., Gómez, V., & Melgarejo, P. (2004). Resistance to Pyrimethanil and other Fungicides in *Botrytis cinerea* Populations Collected on Vegetable Crops in Spain. *Journal of Phytopathology*, 152(8–9), 484–490. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0434.2004.00880.X>
- OIV, O. I. de la V. y el V. (2021). *Estadísticas de los países*. <https://www.oiv.int/es/what-we-do/country-report?oiv>
- Ojeda, D., & Wurth, J. (2014). ¿Qué es un metaanálisis? *Rev Chil Anest*, 43, 343–350.
- Oukala, N., Pastor-Fernández, J., Sanmartín, N., Aissat, K., & Pastor, V. (2021). Endophytic Bacteria from the Sahara Desert Protect Tomato Plants Against *Botrytis cinerea* Under Different Experimental Conditions. *Current microbiology*, 78(6), 2367–2379. <https://doi.org/10.1007/S00284-021-02483-Z>
- Pal, K. K., & Gardener, B. M. (2006). Biological Control of Plant Pathogens. The Plant Health Instructor. *Biological Control*. <https://doi.org/10.1094/PHI-A-2006-1117-02>
- Parafati, L., Vitale, A., Restuccia, C., & Cirvilleri, G. (2015). Biocontrol ability and action mechanism of food-isolated yeast strains against *Botrytis cinerea* causing post-harvest bunch rot of table grape. *Food microbiology*, 47, 85–92. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2014.11.013>
- Passera, A., Compant, S., Casati, P., Maturo, M. G., Battelli, G., Quaglino, F., Antonielli, L., Salerno, D., Brasca, M., Toffolatti, S. L., Mantegazza, F., Delledonne, M., & Mitter, B. (2019). Not just a pathogen? Description of a plant-beneficial *Pseudomonas syringae* strain. *Frontiers in Microbiology*, 10(JUN), 1409. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.01409/BIBTEX>
- Passera, A., Venturini, G., Battelli, G., Casati, P., Penaca, F., Quaglino, F., & Bianco, P. A. (2017). Competition assays revealed *Paenibacillus pasadenensis* strain R16 as a novel antifungal agent. *Microbiological research*, 198, 16–26. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2017.02.001>

- Paulitz, T. C., & Bélanger, R. R. (2003). BIOLOGICAL CONTROL IN GREENHOUSE SYSTEMS. *https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.39.1.103*, 39, 103–133. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYTO.39.1.103>
- Pawlowski, M. L., Hartman, G. L., Pawlowski, M. L., & Hartman, G. L. (2016). Infection Mechanisms and Colonization Patterns of Fungi Associated with Soybean. *Fungal Pathogenicity*. <https://doi.org/10.5772/62305>
- Petrasch, S., Knapp, S. J., van Kan, J. A. L., & Blanco-Ulate, B. (2019). Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *Botrytis cinerea*. *Molecular Plant Pathology*, 20(6), 877–892. <https://doi.org/10.1111/MPP.12794>
- Petticrew, Mark., & Roberts, H. (2006). *Systematic reviews in the social sciences : a practical guide*. 336.
- Pimenta, R. S., Morais, P. B., Rosa, C. A., & Corrêa, A. (2009). Utilization of yeasts in biological control programs. *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*, 199–214. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8292-4_10/COVER
- Plascencia-Tenorio, R. I., Olalde-Portugal, V., Mena-Violante, H. G., Ceja-Torres, L. F., González, J. V.-, Salcedo, G. O.-, & Pérez, M. V. A.-. (2012). ANTAGONISMO IN VITRO DE AISLADOS BACTERIANOS DE FRESA COMERCIAL Y SILVESTRE VS. *Botrytis cinerea* Y *Rhizopus stolonifer*. *Ra Ximhai*, 8(3), 103–110. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46125176009>
- Punja, Z. K., & Utkhede, R. S. (2003). Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. *Trends in biotechnology*, 21(9), 400–407. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(03\)00193-8](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(03)00193-8)
- Qin, X., Xiao, H., Cheng, X., Zhou, H., & Si, L. (2017). *Hanseniaspora uvarum* prolongs shelf life of strawberry via volatile production. *Food Microbiology*, 63, 205–212. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2016.11.005>
- Risoli, S., Cotrozzi, L., Sarrocco, S., Nuzzaci, M., Pellegrini, E., & Vitti, A. (2022). Trichoderma-Induced Resistance to *Botrytis cinerea* in *Solanum* Species: A Meta-Analysis. *Plants*, 11(2), 180. <https://doi.org/10.3390/PLANTS11020180/S1>

- Robiglio, A., Sosa, M. C., Lutz, M. C., Lopes, C. A., & Sangorrín, M. P. (2011). Yeast biocontrol of fungal spoilage of pears stored at low temperature. *International journal of food microbiology*, *147*(3), 211–216. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2011.04.007>
- Rodríguez, A., Acosta, A., & Rodríguez, C. (2014). Fungicide resistance of *Botrytis cinerea* in tomato greenhouses in the Canary Islands and effectiveness of non-chemical treatments against gray mold. *World journal of microbiology & biotechnology*, *30*(9), 2397–2406. <https://doi.org/10.1007/S11274-014-1665-5>
- Romanazzi, G., & Feliziani, E. (2014a). *Botrytis cinerea* (Gray Mold). *Postharvest Decay: Control Strategies*, 131–146. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00004-1>
- Romanazzi, G., & Feliziani, E. (2014b). *Botrytis cinerea* (Gray Mold). *Postharvest Decay: Control Strategies*, 131–146. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00004-1>
- Rosslenbroich, H. J., & Stuebler, D. (2000). *Botrytis cinerea* — history of chemical control and novel fungicides for its management. *Crop Protection*, *19*(8–10), 557–561. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00072-7](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00072-7)
- Salvatierra-Martinez, R., Arancibia, W., Araya, M., Aguilera, S., Olalde, V., Bravo, J., & Stoll, A. (2018). Colonization ability as an indicator of enhanced biocontrol capacity—An example using two *Bacillus amyloliquefaciens* strains and *Botrytis cinerea* infection of tomatoes. *Journal of Phytopathology*, *166*(9), 601–612. <https://doi.org/10.1111/JPH.12718>
- Sánchez-Meca, J. (2010). Cómo realizar una revisión sistemática y un meta-análisis *. *Aula Abierta*, *38*(2), 53–63.
- Sánchez-Montesinos, B., Santos, M., Moreno-Gavira, A., Marín-Rodulfo, T., Gea, F. J., & Diánez, F. (2021). Biological Control of Fungal Diseases by *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* and Its Compatibility with Fungicides. *Journal of Fungi 2021*, *Vol. 7*, Page 598, *7*(8), 598. <https://doi.org/10.3390/JOF7080598>
- Santiago, R., Huiliñir, C., Cottet, L., & Castillo, A. (2016). Microbiological characterization for a new wild strain of *Paenibacillus polymyxa* with antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Biological Control*, *103*, 251–260. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2016.10.002>

- Savita, & Sharma, A. (2019). *Fungi as Biological Control Agents*. 395–411. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18933-4_18
- Schalchli, H., Tortella, G. R., Rubilar, O., Parra, L., Hormazabal, E., & Quiroz, A. (2014). Fungal volatiles: an environmentally friendly tool to control pathogenic microorganisms in plants. *https://doi.org/10.3109/07388551.2014.946466*, 36(1), 144–152. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.946466>
- Shao, X., Cao, B., Xu, F., Xie, S., Yu, D., & Wang, H. (2015). Effect of postharvest application of chitosan combined with clove oil against citrus green mold. *Postharvest Biology and Technology*, 99, 37–43. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2014.07.014>
- Shen, H., Wei, Y., Wang, X., Xu, C., & Shao, X. (2019). The marine yeast *Sporidiobolus pararoseus* ZMY-1 has antagonistic properties against *Botrytis cinerea* in vitro and in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 150, 1–8. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2018.12.009>
- Shi, J. F., & Sun, C. Q. (2017a). Isolation, identification, and biocontrol of antagonistic bacterium against *Botrytis cinerea* after tomato harvest. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(4), 706–714. <https://doi.org/10.1016/J.BJM.2017.03.002>
- Shi, J. F., & Sun, C. Q. (2017b). Isolation, identification, and biocontrol of antagonistic bacterium against *Botrytis cinerea* after tomato harvest. *Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 48(4), 706–714. <https://doi.org/10.1016/J.BJM.2017.03.002>
- Shi, J. F., & Sun, C. Q. (2017c). Isolation, identification, and biocontrol of antagonistic bacterium against *Botrytis cinerea* after tomato harvest. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(4), 706–714. <https://doi.org/10.1016/J.BJM.2017.03.002>
- South, K. A., Hand, F. P., & Jones, M. L. (2020). Beneficial Bacteria Identified for the Control of *Botrytis cinerea* in Petunia Greenhouse Production. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-19-2276-RE>, 104(6), 1801–1810. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-19-2276-RE>

- Spadaro, D., & Gullino, M. L. (2004). State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology*, *91*(2), 185–194. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00380-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00380-5)
- Suárez-Contreras, L.-Y., & Peñaranda-Figueroa, F.-A. (2022). Identificación molecular de hongos filamentosos y su potencial biotecnológico. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *20*(1), 194–206. <https://doi.org/10.18684/BSAA.V20.N1.2022.1914>
- Uman, L. S. (2011). Systematic Reviews and Meta-Analyses. *Journal of the Canadian Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, *20*(1), 57.
- Urrútia, G., & Bonfill, X. (2010). Declaración PRISMA: una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y metaanálisis. *Medicina Clínica*, *135*(11), 507–511. <https://medes.com/publication/61343>
- Vasquez-Montaño, E., Hoppe, G., Vega, A., Olivares-Yañez, C., & Canessa, P. (2020). Defects in the ferroxidase that participates in the reductive iron assimilation system results in hypervirulence in botrytis cinerea. *mBio*, *11*(4), 1–20. <https://doi.org/10.1128/MBIO.01379-20/ASSET/17C72AC7-23B1-4F36-AC65-2CB6032A13E0/ASSETS/GRAPHIC/MBIO.01379-20-F0008.JPEG>
- Verhagen, A. P., & Ferreira, M. L. (2014). Forest plots. *Journal of Physiotherapy*, *60*(3), 170–173. <https://doi.org/10.1016/J.JPHYS.2014.06.021>
- Viera-Arroyo, W. F., Tello-Torres, C. M., Martínez-Salinas, A. A., Navia-Santillán, D. F., Medina-Rivera, L. A., Delgado-Párraga, A. G., Perdomo-Quispe, C. E., Pincay-Verdezoto, A. K., Báez-Cevallos, F. J., Vásquez-Castillo, W. A., & Jackson, T. (2020a). Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, *8*(2), 128–149. <https://doi.org/10.36610/J.JSAB.2020.080200128>
- Viera-Arroyo, W. F., Tello-Torres, C. M., Martínez-Salinas, A. A., Navia-Santillán, D. F., Medina-Rivera, L. A., Delgado-Párraga, A. G., Perdomo-Quispe, C. E., Pincay-Verdezoto, A. K., Báez-Cevallos, F. J., Vásquez-Castillo, W. A., & Jackson, T. (2020b). Control

- Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador Biological. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 128–149.
- Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & Santos-Villalobos, S. de los. (2018). The genus *Bacillus* as a biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity. *Mexican Journal of Phytopathology*, 36(1). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1706-5>
- Vinchira-Villarraga, D. M., Moreno-Sarmiento, N., Vinchira-Villarraga, D. M., & Moreno-Sarmiento, N. (2019). Control biológico: Camino a la agricultura moderna. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(1), 2–5. <https://doi.org/10.15446/REV.COLOMB.BIOTE.V21N1.80860>
- Wallace, B. C., Lajeunesse, M. J., Dietz, G., Dahabreh, I. J., Trikalinos, T. A., Schmid, C. H., & Gurevitch, J. (2017). OpenMEE: Intuitive, open-source software for meta-analysis in ecology and evolutionary biology. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(8), 941–947. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12708>
- Wang, C., Wang, Y., Wang, L., Fan, W., Zhang, X., Chen, X., Wang, M., & Wang, J. (2021). Biocontrol potential of volatile organic compounds from *Pseudomonas chlororaphis* ZL3 against postharvest gray mold caused by *Botrytis cinerea* on Chinese cherry. *Biological Control*, 159, 104613. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2021.104613>
- Wang, F., Xiao, J., Zhang, Y., Li, R., Liu, L., & Deng, J. (2021). Biocontrol ability and action mechanism of *Bacillus halotolerans* against *Botrytis cinerea* causing grey mould in postharvest strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 174, 111456. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2020.111456>
- Wang, H., Shi, Y., Wang, D., Yao, Z., Wang, Y., Liu, J., Zhang, S., & Wang, A. (2018). A Biocontrol Strain of *Bacillus subtilis* WXCDD105 Used to Control Tomato *Botrytis cinerea* and *Cladosporium fulvum* Cooke and Promote the Growth of Seedlings. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5). <https://doi.org/10.3390/IJMS19051371>
- Wang, K., Li, C., Lei, C., Jiang, Y., Qiu, L., Zou, X., & Zheng, Y. (2020). β -aminobutyric acid induces priming defence against *Botrytis cinerea* in grapefruit by reducing intercellular redox

- status that modifies posttranslation of VvNPR1 and its interaction with VvTGA1. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 552–565. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2020.09.026>
- Wang, X., Glawe, D. A., Kramer, E., Weller, D., & Okubara, P. A. (2018). Biological control of botrytis cinerea: interactions with native vineyard yeasts from Washington State. *Phytopathology*, 108(6), 691–701. https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-17-0306-R/ASSET/IMAGES/LARGE/PHYTO-09-17-0306-R_T8.JPEG
- Wang, X., Zhou, X., Cai, Z., Guo, L., Chen, X., Chen, X., Liu, J., Feng, M., Qiu, Y., Zhang, Y., & Wang, A. (2020). A Biocontrol Strain of *Pseudomonas aeruginosa* CQ-40 Promote Growth and Control Botrytis cinerea in Tomato. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10010022>
- Wei, X., Liu, G. L., Jia, S. L., Chi, Z., Hu, Z., & Chi, Z. M. (2021). Pullulan biosynthesis and its regulation in *Aureobasidium* spp. *Carbohydrate Polymers*, 251, 117076. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2020.117076>
- Wiederer, C., & Straube, F. (2019). A decision tool for policymakers to foster higher-value perishable agricultural exports. *Transportation Research Interdisciplinary Perspectives*, 2. <https://doi.org/10.1016/j.trip.2019.100035>
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., & Kan, J. A. L. Van. (2007). Botrytis cinerea: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 561–580. <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2007.00417.X>
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., & van Kan, J. A. L. (2007). Botrytis cinerea: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 561–580. <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2007.00417.X>
- Xu, S. J., Hong, S. J., Choi, W., & Kim, B. S. (2014). Antifungal Activity of *Paenibacillus kribbensis* Strain T-9 Isolated from Soils against Several Plant Pathogenic Fungi. *The Plant Pathology Journal*, 30(1), 102. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.05.2013.0052>
- Yáñez-Mendizábal, V., Usall, J., Viñas, I., Casals, C., Marín, S., Solsona, C., & Teixidó, N. (2011). Potential of a new strain of *Bacillus subtilis* CPA-8 to control the major postharvest diseases

of fruit. <https://doi.org/10.1080/09583157.2010.541554>, 21(4), 409–426.
<https://doi.org/10.1080/09583157.2010.541554>

- Yepes-Nuñez, J. J., Urrútia, G., Romero-García, M., & Alonso-Fernández, S. (2021). Declaración PRISMA 2020: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas. *Revista Española de Cardiología*, 74(9), 790–799. <https://doi.org/10.1016/J.RECESP.2021.06.016>
- Yin, W. X., Adnan, M., Shang, Y., Lin, Y., & Luo, C. X. (2018). Sensitivity of *Botrytis cinerea* from nectarine/cherry in China to six fungicides and characterization of resistant isolates. *Plant Disease*, 102(12), 2578–2585. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-18-0244-RE/ASSET/IMAGES/LARGE/PDIS-02-18-0244-RE_T6.JPEG
- Yu, H., Zhang, L., Li, L., Zheng, C., Guo, L., Li, W., Sun, P., & Qin, L. (2010). Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiological Research*, 165(6), 437–449. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2009.11.009>
- Yu, P., Yu, S., Wang, J., Guo, H., Zhang, Y., Liao, X., Zhang, J., Wu, S., Gu, Q., Xue, L., Zeng, H., Pang, R., Lei, T., Zhang, J., Wu, Q., & Ding, Y. (2019). *Bacillus cereus* Isolated from vegetables in China: Incidence, genetic diversity, virulence genes, and antimicrobial resistance. *Frontiers in Microbiology*, 10(MAY), 948. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.00948/BIBTEX>
- Zajc, J., Černoša, A., Francesco, A. Di, Castoria, R., De Curtis, F., Lima, G., Badri, H., Jijakli, H., Ippolito, A., Gostinčar, C., Zalar, P., Gunde-Cimerman, N., & Janisiewicz, W. J. (2020). Fungal Genomics & Biology Characterization of *Aureobasidium pullulans* Isolates Selected as Biocontrol Agents Against Fruit Decay Pathogens. *Fungal Genom Biol*, 10(1), 163. <https://doi.org/10.35248/2165-8056.20.10.163>
- Zambrano, M. J. L., Yanez, C., Sangoquiza, C. C. A., Limongi, Andrade, R., Alarcon, Cobeña, F., Zambrano, E., Caicedo, V. M. B., Villavicencio, L. J. P., Cartagena, A. Y. E., Parra, R., Azaquibay, I. C. R., Quimbiamba, V., Nieto, B. M. R., Lopez, G. V. A., Tapia, C., Tacan, M., Villacres, P. C. E., Garces, S., Cañarte, Bermudez, E., ... Pinargote, G. L. F. (2019). Situación del cultivo de maíz en Ecuador: investigación y desarrollo de tecnologías en el Iniap. En *XXIII Reunión Latinoamericana del Maíz y IV Congreso de Semillas* (IV Congreso, pp. 1–3).

- Zapata, Y., Cotes, A. M., Jijakli, H., & Wisniewski, M. (2018). Control biológico de patógenos en poscosecha. *Corporación colombiana de investigación agropecuaria*. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/34060>
- Zhang, Q., Zhang, J., Yang, L., Zhang, L., Jiang, D., Chen, W., & Li, G. (2014). Diversity and biocontrol potential of endophytic fungi in *Brassica napus*. *Biological Control*, 72, 98–108. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2014.02.018>
- Zheng, L., Zhang, J., Wu, X., Gu, X., Wang, S., & Zhang, H. (2021). A novel biocontrol strain *Pantoea jilinensis* D25 for effective biocontrol of tomato gray mold (causative agent *Botrytis cinerea*). *Biological Control*, 164(November 2020), 104766. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104766>
- Zou, X., Wei, Y., Dai, K., Xu, F., Wang, H., & Shao, X. (2021). Yeasts from intertidal zone marine sediment demonstrate antagonistic activities against *Botrytis cinerea* in vitro and in strawberry fruit. *Biological Control*, 158, 104612. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2021.104612>

ANEXOS

Anexo 1

Artículos científicos finales seleccionados mediante una revisión sistemática, utilizados para el metaanálisis

N	PAÍS	ARTÍCULO	AUTORES	ACB	FASE EXP.
1	Italia	Biocontrol ability and action mechanism of <i>Starmerella bacillaris</i> (synonym <i>Candida zemplinina</i>) isolated from wine musts against gray mold disease agent <i>Botrytis cinerea</i> on grape and their effects on alcoholic fermentation	(Lemos et al., 2016)	Levadura	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
2	Italia	Native vineyard non-saccharomyces yeasts used for biological control of <i>Botrytis cinerea</i> in stored table grape	(Marsico et al., 2021)	Levadura	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
3	Corea	Antifungal activity of <i>Paenibacillus kribbensis</i> strain t-9 isolated from soils against several plant pathogenic fungi	(Xu et al., 2014)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
4	Italia	<i>Pseudomonas protegens</i> MP12: a plant growth-promoting endophytic bacterium with broad-spectrum antifungal activity against grapevine phytopathogens	(Andreolli et al., 2019)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
5	China	<i>Hanseniaspora uvarum</i> prolongs shelf life of strawberry via volatile production	(Qin et al., 2017)	Levadura	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
6	Italia	Biocontrol ability and action mechanism of food-isolated yeast strains against <i>Botrytis cinerea</i> causing post-harvest bunch rot of table grape	(Parafati et al., 2015)	Levadura	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>

7	Italia	Competition assays revealed <i>Paenibacillus pasadenensis</i> strain R16 as a novel antifungal agent	(Passera et al., 2017)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
8	Venezuela	<i>Bacillus</i> strain selection with plant growth-promoting mechanisms as potential elicitors of systemic resistance to gray mold in pepper plants	(Márquez et al., 2020)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In situ</i>
9	Italia	Not just a pathogen? description of a plant-beneficial <i>Pseudomonas syringae</i> strain	(Passera et al., 2019)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
10	España	Biological control of fungal diseases by <i>Trichoderma aggressivum</i> f. <i>europaeum</i> and its compatibility with fungicides	(Sánchez-Montesinos et al., 2021)	Hongo filamentoso	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
11	Italia	Wild grape-associated yeasts as promising biocontrol agents against <i>vitis vinifera</i> fungal pathogens	(Cordero-Bueso et al., 2017)	Levadura	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
12	China	Yeasts from intertidal zone marine sediment demonstrate antagonistic activities against <i>Botrytis cinerea</i> <i>in vitro</i> and in strawberry fruit	(Zou et al., 2021)	Levadura	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
13	China	Biocontrol ability and action mechanism of <i>Bacillus halotolerans</i> against <i>Botrytis cinerea</i> causing grey mould in postharvest strawberry fruit	(F. Wang et al., 2021)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
14	China	A novel endophytic strain of <i>Lactobacillus plantarum</i> CM-3 with antagonistic activity against <i>Botrytis cinerea</i> on strawberry fruit	(C. Chen et al., 2020)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
15	China	The marine yeast <i>Sporidiobolus pararoseus</i> ZMY-1 has antagonistic properties against <i>Botrytis cinerea</i> <i>in vitro</i> and in strawberry fruit	(Shen et al., 2019)	Levadura	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>

16	Chile	Colonization ability as an indicator of enhanced biocontrol capacity— An example using two <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strains and <i>Botrytis cinerea</i> infection of tomatoes	(Salvatierra-Martinez et al., 2018)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In situ</i>
17	España	Potential of a new strain of <i>Bacillus subtilis</i> CPA-8 to control the major postharvest diseases of fruit	(Yáñez-Mendizábal et al., 2011)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
18	Túnez	Characterization of endophytic <i>Bacillus</i> strains from tomato plants (<i>Lycopersicon esculentum</i>) displaying antifungal activity against <i>Botrytis cinerea</i> Pers.	(Kefi et al., 2015)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
19	Argelia	A multi-criteria approach for the selection of efficient biocontrol agents against <i>Botrytis cinerea</i> on tomato in Algeria	(Bouaoud et al., 2018)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In situ</i>
20	España	Potential of a new strain of <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> BUZ-14 as a biocontrol agent of postharvest fruit diseases	(H. Calvo et al., 2017)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
21	China	Diversity and biocontrol potential of endophytic Fungi in <i>Brassica napus</i>	(Zhang et al., 2014)	Hongo filamentoso	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
22	China	<i>Bacillus subtilis</i> L1-21 as a biocontrol agent for postharvest gray mold of tomato caused by <i>Botrytis cinerea</i>	(Bu et al., 2021)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
23	China	Biocontrol potential of volatile organic compounds from <i>Pseudomonas chlororaphis</i> ZL3 against postharvest gray mold caused by <i>Botrytis cinerea</i> on Chinese cherry	(C. Wang et al., 2021)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
24	China	Isolation, identification, and biocontrol of antagonistic bacterium against <i>Botrytis cinerea</i> after tomato harvest	(Shi & Sun, 2017)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>

25	China	<i>Bacillus subtilis</i> KLBC BS6 induces resistance and defence-related response against <i>Botrytis cinerea</i> in blueberry fruit	(Lu et al., 2021)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
26	Austria	Biocontrol of <i>Botrytis cinerea</i> by successful introduction of <i>Pantoea ananatis</i> in the grapevine phyllosphere	(Gasser et al., 2012)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In situ</i>
27	Turquía	Efficacy and population monitoring of bacterial antagonists for gray mold (<i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex. Fr.) infecting strawberries	(Ilhan & Karabulut, 2013)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In situ</i>
28	Chile	Microbiological characterization for a new wild strain of <i>Paenibacillus polymyxa</i> with antifungal activity against <i>Botrytis cinerea</i>	(Santiago et al., 2016)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
29	China	The biocontrol efficacy of <i>Streptomyces pratensis</i> LMM15 on <i>Botrytis cinerea</i> in tomato	(Lian et al., 2017)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
30	Chile	Antifungal activity of <i>Beauveria bassiana</i> endophyte against <i>Botrytis cinerea</i> in two Solanaceae crops	(Barra-Bucarei et al., 2020)	Hongo filamentoso	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
31	China	Assessment of antifungal activities of a biocontrol bacterium BA17 for managing postharvest gray mold of green bean caused by <i>Botrytis cinerea</i>	(Y. Li et al., 2020)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
32	China	The endophytic fungus <i>Albifimbria verrucaria</i> from wild grape as an antagonist of <i>Botrytis cinerea</i> and other grape pathogens	(Z. Li et al., 2020)	Hongo	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
33	Túnez	New epiphytic yeasts able to reduce grey mold disease on apples	(Kheireddine et al., 2018)	Levadura	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
34	Brasil	Endophytic bacteria from strawberry plants control gray mold in fruits via production of antifungal compounds against <i>Botrytis cinerea</i> L.	(De Moura et al., 2021)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>

35	Argelia	Endophytic bacteria from the Sahara desert protect tomato plants against <i>Botrytis cinerea</i> under different experimental conditions	(Oukala et al., 2021)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In situ</i>
36	Taiwan	Screening and evaluation of yeast antagonists for biological control of <i>Botrytis cinerea</i> on strawberry fruits	(P. H. Chen et al., 2018)	Levadura	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
37	Italia	Volatile organic compounds from <i>Starmerella bacillaris</i> to control gray mold on apples and modulate cider aroma profile	(Lemos Junior et al., 2020)	Levadura	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
38	España	Antifungal activity of the volatile organic compounds produced by <i>Bacillus velezensis</i> strains against postharvest fungal pathogens	(H. Calvo et al., 2020)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
39	México	<i>Metarhizium anisopliae</i> reduces conidial germination and mycelium growth of the apple gray mold <i>Botrytis cinerea</i>	(Guigón-López et al., 2021)	Hongo filamentoso	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
40	Irán	Identification of epiphytic yeasts and bacteria with potential for biocontrol of grey mold disease on table grapes caused by <i>Botrytis cinerea</i>	(Kasfi et al., 2018)	Bacteria y levadura	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
41	Francia	Microbial antagonism toward botrytis bunch rot of grapes in multiple field tests using one <i>Bacillus ginsengihumi</i> strain and formulated biological control products	(Calvo-Garrido et al., 2019)	Bacteria	<i>In situ</i>
42	Argentina	Yeast biocontrol of fungal spoilage of pears stored at low temperature	(Robiglio et al., 2011)	Levadura	<i>In vivo</i>
43	España	A biocontrol strain of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CQ-40 promote growth and control <i>Botrytis cinerea</i> in tomato	(X. Wang et al., 2020)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In situ</i>

44	España	Fungicide resistance of <i>Botrytis cinerea</i> in tomato greenhouses in the Canary Islands and effectiveness of non-chemical treatments against gray mold	(Rodríguez et al., 2014)	Levadura	<i>In situ</i>
45	Italia	Effect of <i>Aureobasidium pullulans</i> strains against <i>Botrytis cinerea</i> on kiwifruit during storage and on fruit nutritional composition	(Di Francesco et al., 2018)	Levadura	<i>In vivo</i>
46	China	Stress tolerance and biocontrol performance of the yeast antagonist, <i>Candida diversa</i> , change with morphology transition	(G. Li et al., 2016)	Levadura	<i>In vivo</i>
47	China	A biocontrol strain of <i>Bacillus subtilis</i> WXCDD105 used to control tomato <i>Botrytis cinerea</i> and <i>Cladosporium fulvum</i> cooke and promote the growth of seedlings	(H. Wang et al., 2018)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In situ</i>
48	Tailandia	Biological control of tomato gray mold caused by <i>Botrytis cinerea</i> by using <i>Streptomyces</i> spp.	(Boukaew et al., 2017)	Bacteria	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
49	Sudáfrica	The use of <i>Candida pyralidae</i> and <i>Pichia kluyveri</i> to control spoilage microorganisms of raw fruits used for beverage production	(Mewa-Ngongang et al., 2019)	Levadura	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>
50	Italia	Indigenous <i>Aureobasidium pullulans</i> strains as biocontrol agents of <i>Botrytis cinerea</i> on grape berries	(Galli et al., 2021)	Levadura	<i>In vitro</i> <i>In situ</i>

Anexo 2

Clasificación de los grupos microbianos encontrados en las observaciones experimentales en fase *in vitro*, *in vivo* e *in situ* de acuerdo con los artículos científicos encontrados.

Fase experimental <i>in vitro</i>	
Grupo microbiano	Género o especie microbiana
Bacteria gram positiva	<i>Bacillus</i> sp., <i>Brevibacterium</i> sp., <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Paenobacillus</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp.
Bacteria gram negativa	<i>Pantoea</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp.
Bacteria gram positiva	Otros: <i>Brachybacterium paraconglomeratum</i> , <i>Leucobacter chromiireducens</i> , <i>Planomicrobium glaciei</i>
Bacteria gram negativa	Otros: <i>Enterobacter cowanii</i> , <i>Ralstonia</i> sp.
Levadura	<i>Aerobasidium</i> sp., <i>Candida</i> sp., <i>Hanseniaspora uvarum</i> , <i>Lachancea thermotolerans</i> , <i>Metschnikowia</i> sp., <i>Meyerozyma guilliermondii</i> , <i>Pichia kluyveri</i> , <i>Starmerella bacillaris</i> , <i>Sacharomyces cerevisiae</i> , <i>Sporidiobolus pararoseus</i> , <i>Wickerhamomyces anomalus</i> .
Levadura	Otros: <i>Citeromyces matritensis</i> , <i>Cryptococcus flavescens</i> , <i>Galactomyces candidum</i> , <i>Kluyveromyces lactis</i> , <i>Scheffersomyces spartinae</i> , <i>Vishniacozyma carnescens</i> .
Hongo filamentoso	<i>Albifimbria verrucaria</i> , <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Sarocladium strictum</i> , <i>Trichoderma aggressivum</i>
Fase experimental <i>in vivo</i>	
Grupo microbiano	Género o especie microbiana
Bacteria gram positiva	<i>Bacillus</i> sp., <i>Lactobacillus plantarum</i> ., <i>Paenobacillus</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp.
Bacteria gram negativa	<i>Pseudomonas</i> sp.

Bacteria gram positiva	Otros: <i>Brachybacterium paraconglomeratum</i> , <i>Brevibacterium halotolerans</i> , <i>Leucobacter chromiireducens</i> , <i>Planomicrobium glaciei</i>
Bacteria gram negativa	Otros: <i>Enterobacter cowanii</i> , <i>Pantoea</i> sp., <i>Ralstonia</i> sp.
Levadura	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Candida</i> sp., <i>Hanseniaspora</i> sp., <i>Lachancea thermotolerans</i> , <i>Metschnikowia</i> sp., <i>Meyerozyma guilliermondii</i> , <i>Pichia</i> sp, <i>Starmerella bacillaris</i> , <i>Sacharomyces cerevisiae</i> , <i>Sporidiobolus</i> <i>pararoseus</i> .
Levadura	Otros: <i>Citeromyces matritensis</i> , <i>Cryptococcus flavescens</i> , <i>Galactomyces candidum</i> , <i>Kluyveromyces lactis</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> , <i>Scheffersomyces spartinae</i> , <i>Vishniacozyma carnescens</i> , <i>Wickerhamomyces</i> <i>anomalus</i> .
Hongo filamentoso	<i>Albifimbria verrucaria</i> , <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Sarocladium</i> <i>strictum</i> , <i>Trichoderma aggressivum</i>

Fase experimental *in situ*

Grupo microbiano	Género o especie microbiana
Bacteria gram positiva	<i>Bacillus</i> sp., <i>Lactobacillus plantarum</i> ., <i>Paenobacillus</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp.
Bacteria gram negativa	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pantoea</i> sp
Bacteria gram positiva	Otros: <i>Brachybacterium paraconglomeratum</i> , <i>Brevibacterium halotolerans</i> , <i>Leucobacter chromiireducens</i> , <i>Planomicrobium glaciei</i>
Levadura	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Candida sake</i>

Nota. Las especies microbianas que pertenecían al mismo género se las agrupo como sp. Los grupos microbianos agrupados como "Otros" solo tienen una cepa por especie microbiana mencionada, por lo que se agrupo para realizar el análisis como grupo microbiano (bacteria, levadura, hongo filamentoso).

Anexo 3

Enlace a la base de datos

https://utneduec-my.sharepoint.com/:x:/g/personal/inlarcom_utn_edu_ec/ER1XZUewWoVMkys1IaVASYwBNZ351xfmceSvbsK4YT-S4A?e=pSMZT3

Nota: El enlace corresponde a un documento Excel donde se encuentran 3 hojas, cada una representa los datos clasificados de acuerdo con cada fase experimental (in vitro, in vivo, in situ), con sus respectivas variables.

Anexo 4

Enlace a la base de datos para el software Gephi

https://utneduec-my.sharepoint.com/:x:/g/personal/inlarcom_utn_edu_ec/ERNIUzMKeLdJvQ_lZabXJWMBQVp9svJo0485Gq6N_inwUA?e=Yw0WUF

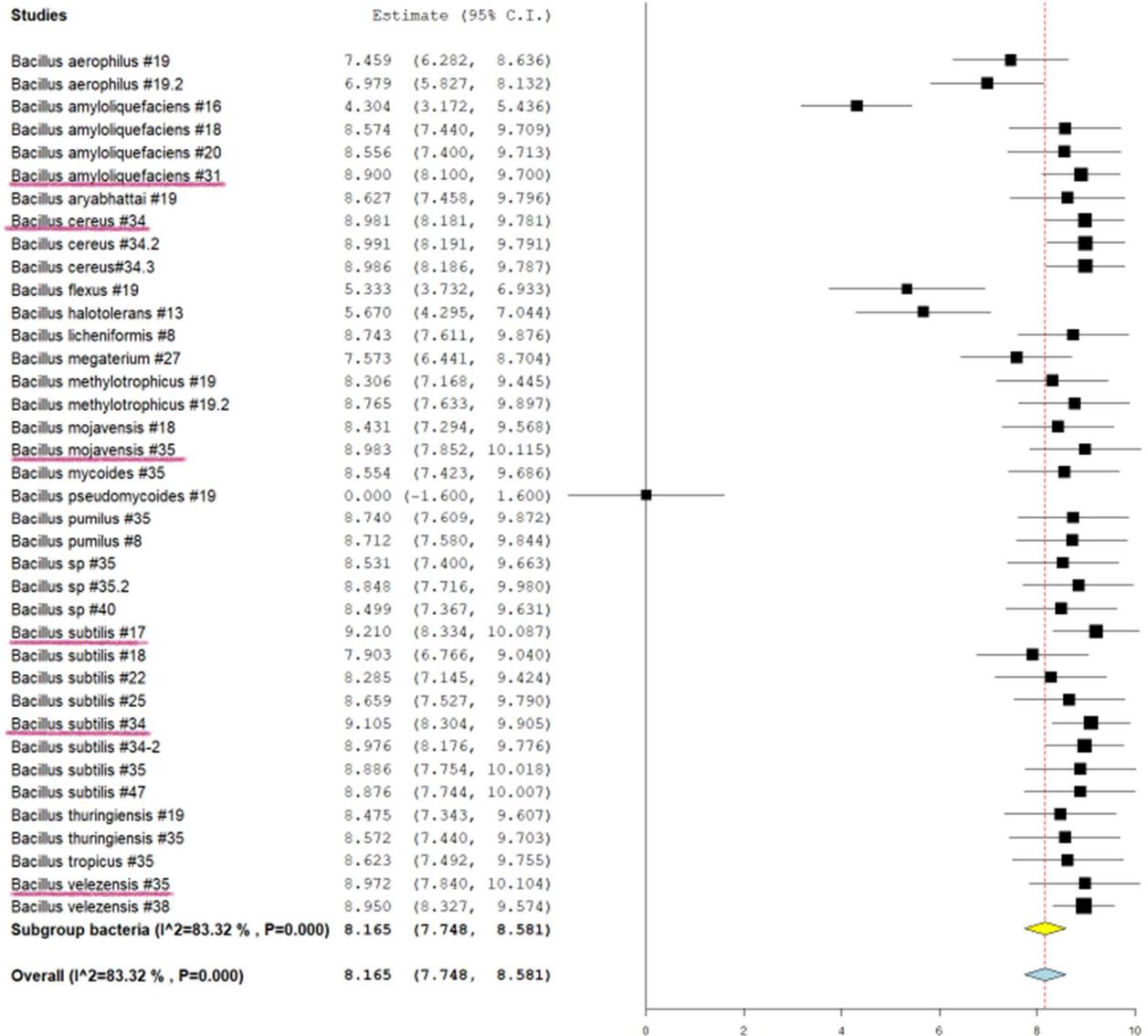
Figura	Nombre de hoja de Excel	Contenido
Figura 7	Microorganismo, vegetal, país	Nodos
	Aristas mvp	Vínculos
Figura 8	Especies, microorganismo	Nodos
	Aristas em	Vínculos
Figura 9	Países, especies	Nodos
	Aristas pe	Vínculos
Figura 10	Especies, vegetales	Nodos
	Aristas ev	Vínculos

Nota. El enlace corresponde a un documento Excel donde se encuentran 8 hojas, se dividieron de acuerdo con los nodos y aristas de los diferentes vínculos hallados durante la revisión sistemática.

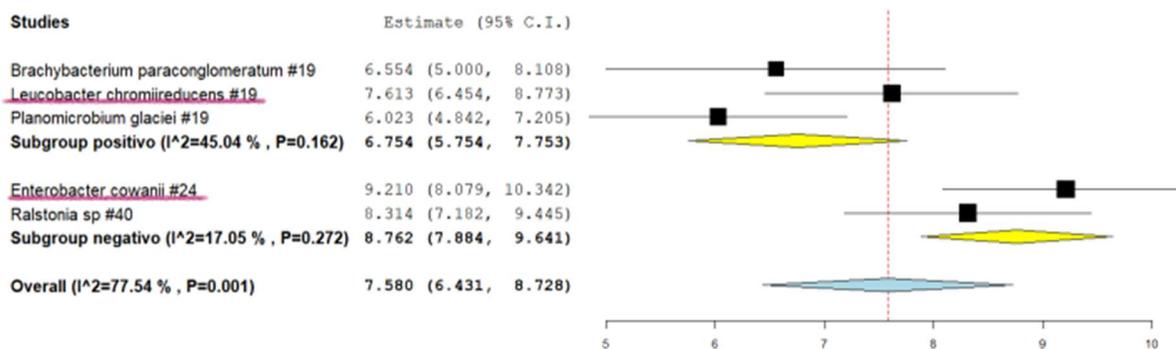
Anexo 5

Géneros microbianos con mayor porcentaje de inhibición in vitro

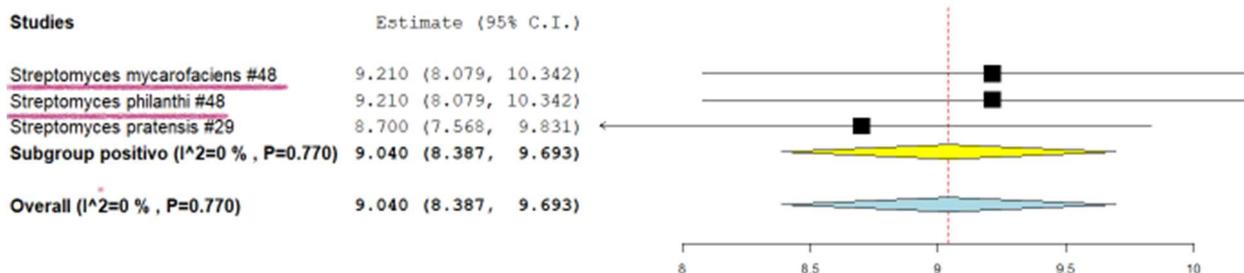
Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
<i>Bacillus</i> sp.	8.012	7.500	8.524	0.261	0.000



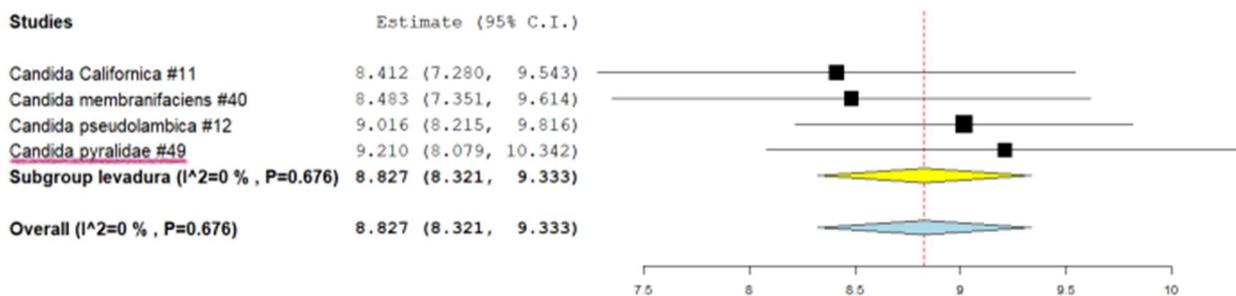
Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
Bacterias Gram +	6.754	5.754	7.753	0.510	0.162
Bacterias Gram -	8.762	7.884	9.641	0.448	0.272



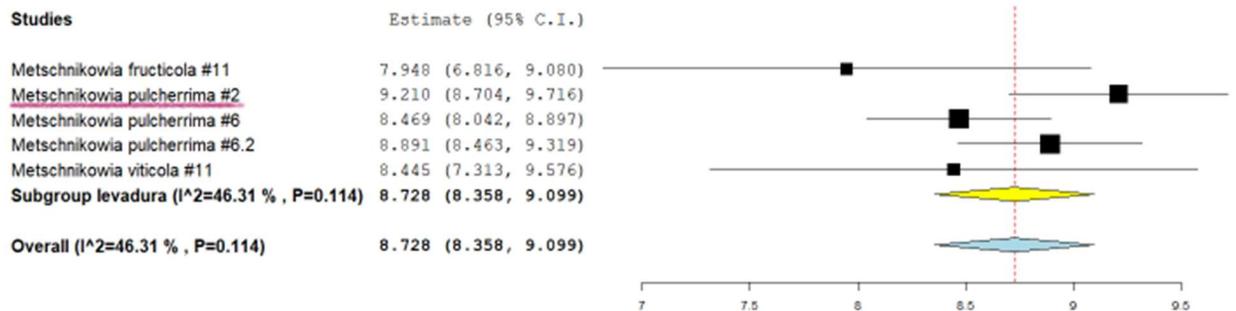
Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
<i>Streptomyces</i> sp.	9.040	8.387	9.693	0.510	0.770



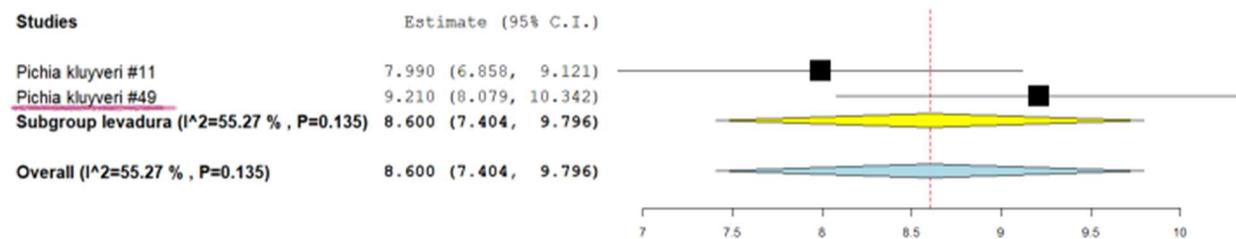
Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
<i>Candida</i> sp.	8.827	8.321	9.333	0.258	0.676



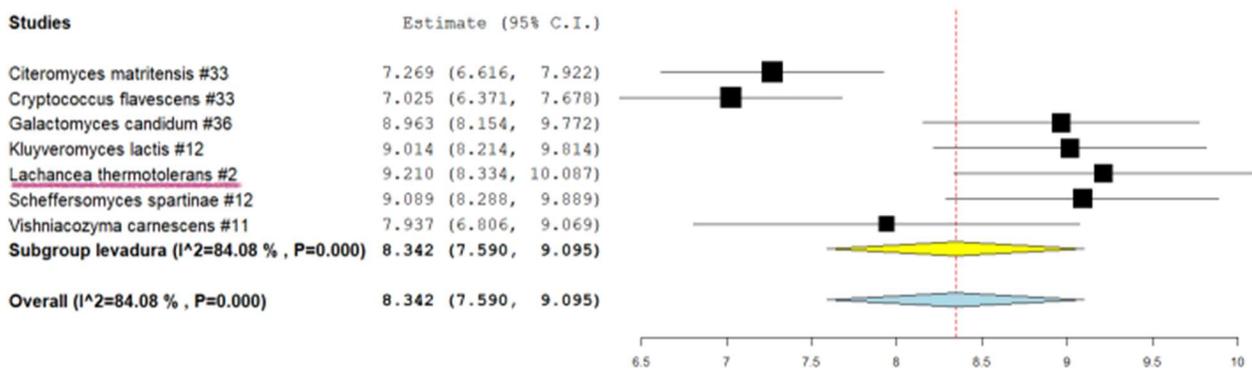
Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
<i>Metschnikowia</i> sp.	8.728	8.358	9.099	0.189	0.114



Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
<i>Pichia kluveri</i>	8.600	7.404	9.796	0.601	0.139



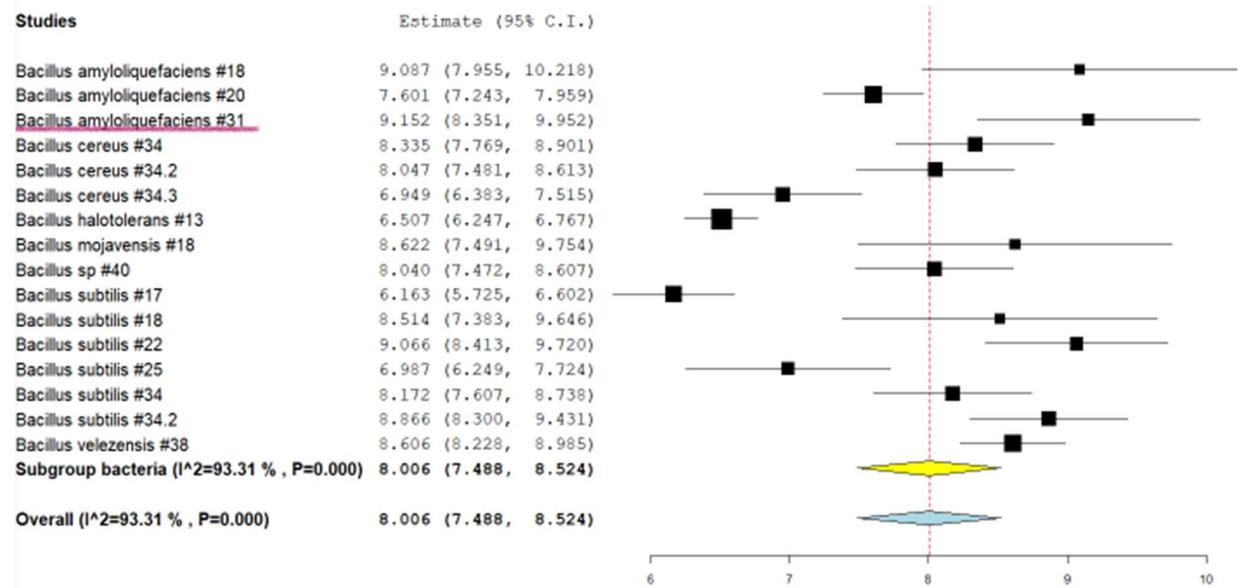
Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
Levaduras	8.342	5.933	9.395	0.883	0.000



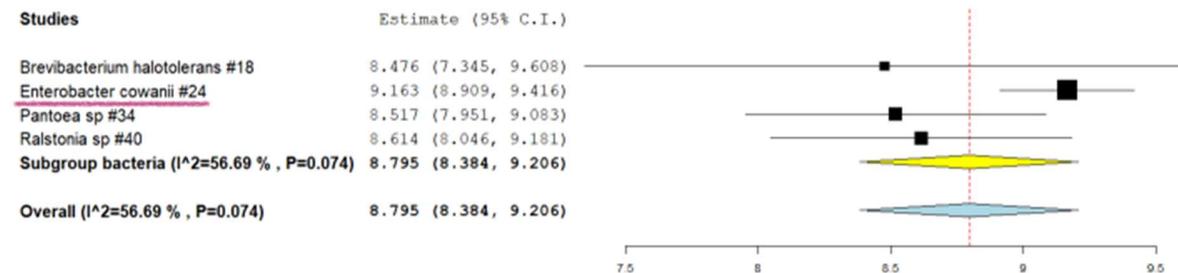
Anexo 6

Géneros microbianos con mayor porcentaje de inhibición fase in vivo

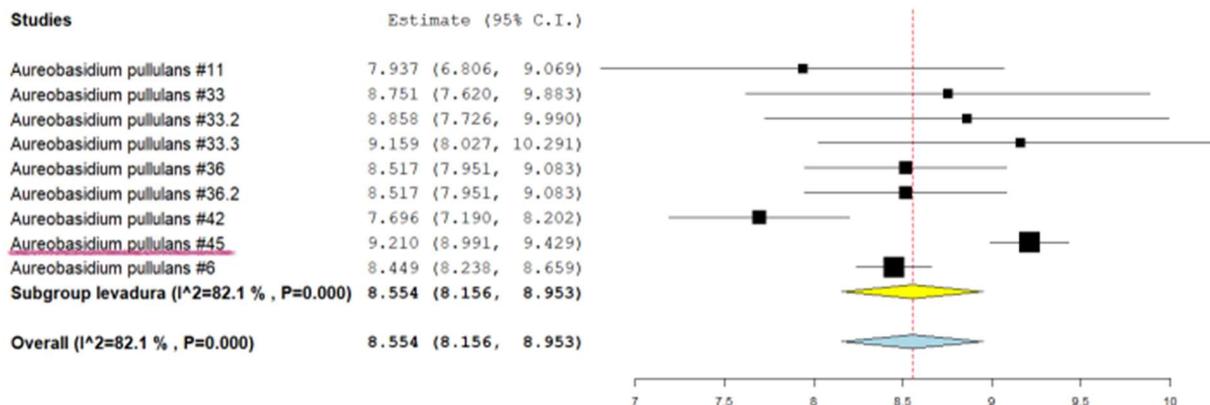
Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
<i>Bacillus</i> sp.	8.006	7.488	8.524	0.264	0.000



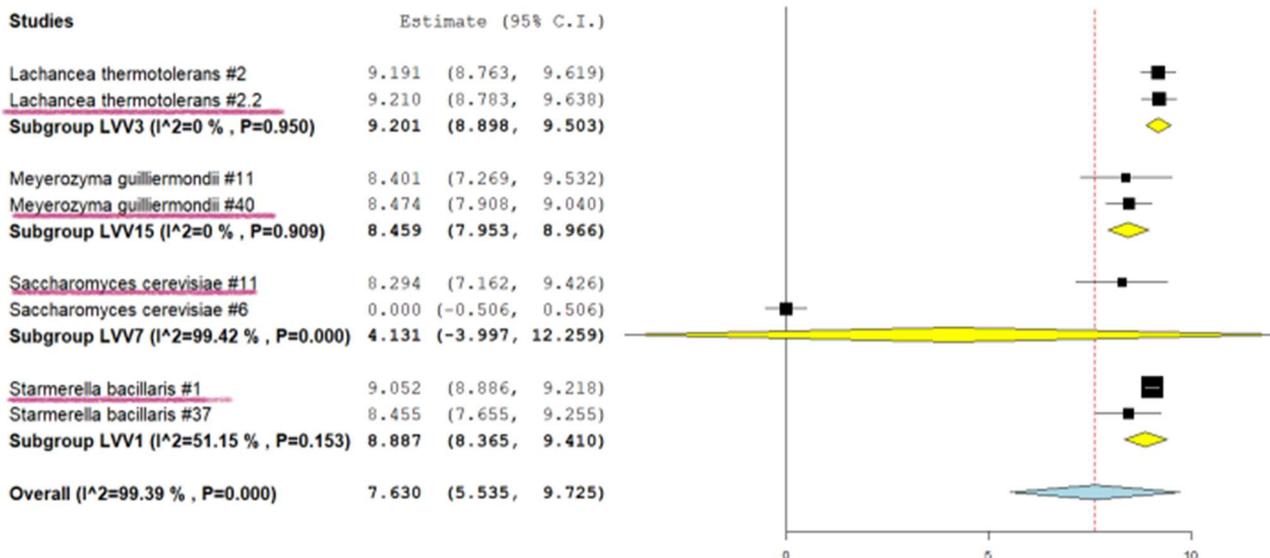
Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
Bacterias Gram -	8.795	8.384	9.206	0.210	0.074



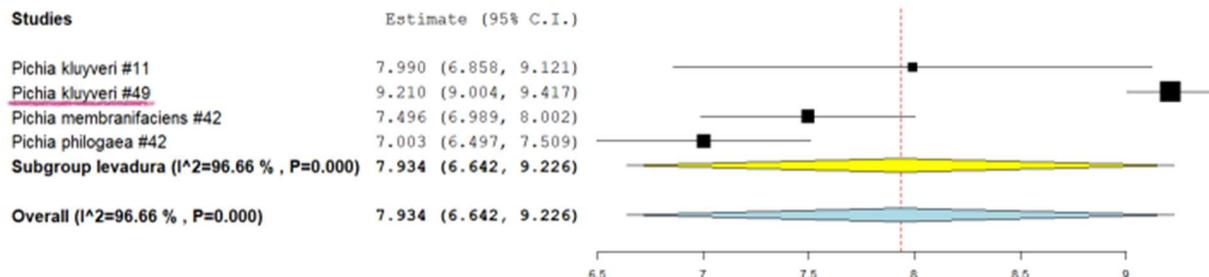
Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
<i>Aureobasidium pullulans</i>	8.554	8.156	8.953	0.203	0.000



Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
<i>Lachancea thermotolerans</i>	9.201	8.898	9.503	0.154	0.950
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	8.459	7.953	8.966	0.258	0.909
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4.131	-3.997	12.259	4.147	0.000
<i>Starmerella bacillaris</i>	8.887	8.365	9.410	0.267	0.000



Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
<i>Pichia sp.</i>	7.934	6.642	9.226	0.659	0.000



Anexo 7

Especies microbianas con mayor porcentaje de inhibición fase in situ

Especie	Efecto estimado	Límite inferior	Límite superior	Error estándar	Valor p
<i>Bacillus sp.</i>	8.763	8.615	8.910	0.075	0.066

