

Ra Ximhai

Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo
Sustentable

Ra Ximhai
Universidad Autónoma Indígena de México
ISSN: 1665-0441
México

2012

ANTAGONISMO IN VITRO DE AISLADOS BACTERIANOS DE FRESA COMERCIAL Y SILVESTRE VS. *Botrytis cinerea* Y *Rhizopus stolonifer*

Rosa I. Plascencia-Tenorio; Víctor Olalde-Portugal; Hortencia G. Mena-Violante; Luis
F. Ceja-Torres; José Venegas- González; Guadalupe Oyoque- Salcedo y
M. Valentina Angoa- Pérez

Ra Ximhai, septiembre - diciembre, año/Vol. 8, Número 3
Universidad Autónoma Indígena de México
Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa. pp. 103-110.



e-revist@s

ANTAGONISMO IN VITRO DE AISLADOS BACTERIANOS DE FRESA COMERCIAL Y SILVESTRE VS. *Botrytis cinerea* Y *Rhizopus stolonifer*

ANTAGONISM IN VITRO OF BACTERIAL ISOLATES FROM COMERCIAL AND WILD STRAWBERRY VS. *Botrytis cinerea* AND *Rhizopus stolonifer*

Rosa I. Plascencia-Tenorio¹; Víctor Olalde-Portugal²; Hortencia G. Mena-Violante¹; Luis F. Ceja-Torres¹; José Venegas-González¹; Guadalupe Oyoque-Salcedo¹; M. Valentina Angoa-Pérez¹.

¹CIIDIR IPN Michoacán. Justo Sierra No. 28, col centro, CP 59510, Jiquilpan, Michoacán, México. ²Investigador titular, CINVESTAV IPN Irapuato. Carretera Irapuato-León, Km 9.6. Libramiento norte, CP 36000, Irapuato, Guanajuato, México.

RESUMEN

La fresa es una fruta no climatérica, con una vida postcosecha muy corta. La pérdida de calidad del fruto puede deberse, entre otros factores a daños ocasionados por fitopatógenos. Entre los más comunes se encuentran los hongos causantes del moho gris (*Botrytis cinerea*), y podredumbre blanca (*Rhizopus stolonifer*) dos fitopatógenos de gran impacto por su velocidad de crecimiento la cual les permite colonizar la superficie de los mismos ocasionado importantes pérdidas económicas. Una alternativa para el control de los daños por patógenos en frutos postcosecha es el uso de antagonistas microbianos que pueden estar presentes en la planta o el fruto pero en densidades bajas. En este estudio se aislaron bacterias de tejido foliar y frutos de fresa silvestre (*Duchesnea indica* Andr. Fock) y comercial. Se seleccionaron aquellos aislados que presentaron los mayores porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de ambos fitopatógenos *in vitro*. Se aislaron un total de 32 cepas de las cuales 15 provinieron de fresa silvestre y 24 de fresa comercial. Se obtuvieron solo nueve cepas con potencial biocontrolador para uno o ambos patógenos. Los mayores porcentajes de inhibición del crecimiento micelial oscilaron entre 67.1% y 81.7% para *Botrytis cinerea* y 45.5% a 73.2% para *Rhizopus stolonifer*. Estos fueron obtenidos por cuatro aislados dos obtenidos de fresa silvestre y dos de comercial, todos ellos con capacidad para controlar a ambos fitopatógenos.

Palabras clave: Biocontrol Postcosecha, *moho gris*, podredumbre blanca, frutillas

SUMMARY

Strawberry is a non-climacteric fruit, with a short postharvest life. The loss of fruit quality may be due, among other factors to damage caused by pathogens. Among the most common fungi are causing gray mold (*Botrytis cinerea*) and white rot (*Rhizopus stolonifer*) two phytopathogenic impact on their growth rate which allows you to colonize the surface of these caused major economic losses. An alternative to control damage in fruit postharvest pathogens using microbial antagonists may be present in the plant or fruit, but at low densities. In this study bacteria were isolated from leaf tissue and wild strawberry fruit (*Duchesnea indica* Andr. Fock) and comercial strawberry. Those isolates that were selected had the highest percentages of inhibition of mycelial growth of both pathogens *in vitro*. We isolated a total of 32 strains of which 15 came from wild strawberry and 24 comercial strawberry. Only nine strains were obtained with biocontrol potential for one or both pathogens. The highest percentages of mycelial growth inhibition ranged from 67.1% and 81.7% for *Botrytis cinerea* and 45.5% to 73.2% for *Rhizopus stolonifer*. These were obtained from four isolates two of them from wild strawberry and the others from comercial strawberry, all with ability to control both pathogens.

Key words: Biocontrol postharvest, gray mold, white rot, berries

INTRODUCTION

La fresa (*Fragaria x ananassa*), es quizás uno los frutos más apetecibles por su exquisito sabor (Howard *et al.*, 1992) y al igual que otras frutillas, posee alto valor nutricional. Es fuente importante de fibra dietética, vitaminas y minerales además de compuestos fitoquímicos esenciales para mantener la salud humana (Cai *et al.*, 2006; Cheel *et al.*, 2007; García *et al.*, 2004; Yildiz y Eyduran, 2009). Como resultado de estas propiedades nutraceuticas, en años recientes su demanda ha incrementado. México es uno de los países productores de fresa, colocando más del 90 % de sus exportaciones de fruta fresca en Estados Unidos (SAGARPA, 2010). En México, la producción de esta frutilla tiene un lugar relevante en la agroindustria, ya que genera empleos y divisas.

Debido a que se trata de un fruto no climatérico, y altamente sensible al daño mecánico, lo cual la hace muy susceptible a la invasión de algunos organismos patógenos posee una vida postcosecha muy corta. Entre las causas de pérdida de calidad de los frutos de fresa se encuentra su sensibilidad al deterioro por ataque de hongos fitopatógenos, entre los que se encuentran

Botrytis cinerea y *Rhizopus stolonifer*, los cuales ocasionan importantes pérdidas post-cosecha (SAGARPA 2008).

B. cinerea es también conocido como podredumbre gris, debido a que produce una gran cantidad de micelio gris de apariencia polvosa; el hongo produce esclerocios que son estructuras de resistencia planas duras y de color negro, que permiten que el organismo se mantenga latente en el suelo, desarrollándose sobre restos de plantas en proceso de descomposición. Puede propagarse en las semillas infectadas con esclerocios y germina en climas húmedos a temperaturas entre los 18°C y 23°C, produciendo la infección (INFOAGRO, 2002), aunque puede crecer a bajas temperaturas de almacenamiento (Espinosa, 2006). Este patógeno afecta a más de 235 especies de plantas como ornamentales, frutales, hortalizas, por mencionar algunas y puede atacar desde la semilla, bulbos, tallos, hojas, flores, raíces y frutos postcosecha. Se estima que alrededor del 20% de la cosecha mundial, es afectada por *B. cinerea* ocasionando una inversión de billones de euros anuales para su control (Genoscope, 2005).

Rhizopus stolonifer por su parte, es agente causal de la enfermedad conocida como pudrición blanda, la cual ocasiona grandes pérdidas económicas; puede crecer y desarrollarse a temperaturas que van desde los 10 hasta los 33°C y humedades relativas variables, se ve seriamente afectado por temperaturas menores a los 5°C (Pontón, 2002). Es un hongo que se encuentra como saprófito sobre pedazos de fruta o cualquier material orgánico, su micelio es aéreo, se puede reproducir sexual y asexualmente por medio de dos estructuras morfológicamente similares, el resultado de esta fusión es la formación de una zigospora, la cual tiene paredes gruesas que le dan resistencia para poder mantenerse latentes en el suelo por varios meses, soportando condiciones de escases de agua y altas temperaturas, hasta que encuentra las condiciones necesarias para desarrollarse (Adaskaveg *et al.*, 2002; Rivera, 1999). Durante muchos años, estos patógenos han sido controlados por aplicación de fungicidas sintéticos (Zhao *et al.*, 2010). Sin embargo, existen reportes de que dada su alta eficacia y facilidad de uso (Jaramillo *et al.*, 2007) han provocado el uso inmoderado de tales agroquímicos, lo cual ha traído como consecuencia un riesgo potencial para la salud humana y de manera adicional el desarrollo de resistencia de los patógenos a dichos productos (Dufour *et al.*, 2011; Bardas *et al.*, 2010). En México, se han aplicado plaguicidas desde fines del siglo XIX (Sertox, 2004). Por otro lado, sus efectos dañinos se han extendido a diversos ecosistemas (Jaramillo *et al.*, 2007).

Por lo anterior, es necesario buscar alternativas naturales que permitan el control de los patógenos postcosecha permitiendo al mismo tiempo reducir el uso de agroquímicos. En este sentido el control biológico se perfila como una opción (Sharma *et al.*, 2009). Uno de los grupos de microorganismo evaluados como controladores de patógenos en postcosecha de frutas y vegetales, han sido las bacterias antagonistas (Abraham *et al.*, 2010; Arrebola *et al.*, 2010). Destacan las pertenecientes al género *Pseudomonas*, debido a su capacidad para producir una gran variedad de metabolitos secundarios tóxicos a hongos y bacterias fitopatógenos, como los antibióticos (Hernández *et al.*, 1999). En este sentido existen reportes del uso de microorganismos como biocontroladores de *Botrytis cinerea* como: *Actinobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* y *Pseudomonas ssp.* en uva, además de *Gliocladium roseum* para combatir *Botrytis* en fresa (Chaves y Wang, 2004); en lo que respecta a *Rhizopus stolonifer*, microorganismos como *Trichoderma harzianum*, *Trichosporon pullulans*, *C. laurentii* entre otros demostraron ser excelentes biocontroladores de este patógeno (Guédez *et al.*, 2009; Qin *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2007). Debido a los efectos positivos antes mencionados, la necesidad de buscar alternativas amigables con el medio ambiente, que no afecten la salud del consumidor, así como por la importancia de este fruto a nivel nacional y mundial, el uso de bacterias antagónicas aisladas de frutos de fresa silvestres y de fresa comercial pudiera ser una opción a considerar para el control de dos de las enfermedades de mayor importancia a nivel postcosecha. Por lo antes mencionado, el objetivo de este trabajo fue aislar y seleccionar bacterias de tejidos de fresa tanto silvestre como comercial con potencial biocontrolador hacia *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* en ensayos in vitro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó en el laboratorio de fitopatología del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Michoacán y en el Laboratorio de Bioquímica Ecológica del CINVESTAV Irapuato.

Aislamiento y purificación de *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*

De frutos infectados con *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*, se tomó 1cm³ de tejido enfermo con micelio, el cual se colocó en placas Petri con agar papa dextrosa (PDA), las cuales se incubaron a 18 °C, para el caso de *B. cinerea* y 26 °C para *R. stolonifer* durante 48 h. Una vez desarrollado el micelio, se tomaron muestras de ambos organismos realizando improntas con cinta adhesiva en un portaobjetos, y sobre estas se colocó una gota de azul de tripano. Las preparaciones fueron observadas al microscopio con la finalidad confirmar la presencia de *Botrytis cinerea*, usando las claves reportadas por Barnett y Hunter, (1988) y para *Rhizopus stolonifer* las claves reportadas por Mass, (1988) y Schipper, (1984). Una vez confirmada la identidad de ambos patógenos, se tomó 1 cm³ de micelio de cada uno, se colocó en placas con PDA y se incubó a 18 °C y 26 °C por 48 h. La purificación de ambos fitopatógenos se realizó por corte de punta de hifas, las cuales se colocaron en medio PDA, incubándose a 18 °C y 26 °C durante 48 h respectivamente.

Prueba de patogenicidad

Para confirmar la virulencia de las cepas *B. cinerea* y *R. stolonifer* se utilizaron frutos de fresa comercial previamente lavados con agua destilada y desinfectados con hipoclorito de sodio al 6 %; los frutos se enjuagaron nuevamente con agua destilada y se secaron con toallas de papel estériles. Los frutos fueron colocados en recipientes desechables estériles a los cuales se aplicó por aspersión 1 ml de una suspensión 7x10⁵ esporas ml⁻¹, y 4.7 x 10⁵ esporangios ml⁻¹ del hongo correspondiente (*Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*) y se incubaron a 18 °C y 26 °C respectivamente por 5 días, con observaciones diarias para verificar la virulencia del patógeno. Cada charola con 10 frutos fue considerada una unidad experimental y se hicieron 3 réplicas por patógeno. La severidad de la infección se determinó utilizando una escala de severidad con 4 grados de daño con base en las siguientes categorías: 1=0-24%, 2=25-49%, 3=50-74%, 4=75-100%, de daño visual por fruto. El índice de severidad de la infección se determinó con la ecuación descrita por Pérez *et al.* (1995):

Donde:

Xi=Número de frutos enfermos por cada grado de daño

1, 2, 3, 4: grado de daño en la escala manejada

N= Número total de frutos por unidad experimental

Aislamiento de bacterias antagónicas

El aislamiento se realizó tanto de plantas de fresa comercial, colectadas en un campo de cultivo de Zamora, Michoacán como de una especie silvestre (*Duchesnea indica* Andr. Fock) colectada en la localidad de Cherán, Michoacán.

El material vegetal se enjuagó con agua corriente, se desinfectó por inmersión en hipoclorito de sodio al 3% por 1 min, se enjuagó con agua destilada estéril y se secó con toallas estériles. Una parte del tejido foliar fue cortado en trozos de 1 cm² aproximadamente, los cuales se colocaron en cajas petri con PDA e incubaron a 26°C, hasta el desarrollo de las colonias; otra parte del tejido se colocó en un homogenizador estéril y se molió con 9 ml de agua peptonada al 2%; del extracto se tomaron 0.5 mL, los cuales fueron colocados en cajas petri con PDA. Posteriormente se tomaron muestras de igual volumen para realizar diluciones 10¹, 10², 10³, 10⁴, las cuales también fueron sembradas en placas con PDA y se incubaron a 26 °C por 72 h. En el caso del fruto se hicieron improntas del mismo en placas petri e incubaron a 26 °C por 72 h. Una vez

obtenido el desarrollo bacteriano, las colonias se picaron con palillos estériles y se pasaron a cajas con PDA las cuales se incubaron a 26°C por 48 h.

Evaluación de la Actividad antagónica in vitro

La evaluación de la actividad antagónica de los aislados bacterianos obtenidos de fresa comercial y silvestre hacia los dos patógenos estudiados se realizó mediante una prueba de confrontación dual en PDA. Cubos de 1 cm³ de micelio de *B. cinerea* y *R. stolonifer* fueron colocados en el centro de placas Petri, alrededor de las cuales se inocularon los distintos aislados bacterianos obtenidos usando un palillo estéril. Se hicieron tres repeticiones por placa. Las placas se incubaron a 18 °C por cuatro días. La zona de inhibición del crecimiento micelial (cm) fue medida con ayuda de un vernier cada 24 h tomando la distancia del diámetro del halo entre la bacteria y el hongo. Placas con PDA inoculadas solo con el patógeno correspondiente fueron utilizadas como controles. El crecimiento micelial fue expresado como diámetro promedio (cm). La actividad antagónica fue calculada como porcentaje de inhibición usando la fórmula reportada por Singh (2003):

Donde:

R1= Crecimiento radial del patógeno en la placa control

R2= Crecimiento radial del patógeno con la bacteria

El experimento se realizó dos veces.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tanto *Botrytis cinerea* como *Rhizopus stolonifer* son causantes de enfermedades postcosecha en muchos frutos y vegetales. Los resultados obtenidos de la identificación de los aislados coinciden con los reportados en otros trabajos para estos patógenos (Mass, 1998; Barnett y Hunter, 1998).

Características de *Botrytis cinerea*

El hongo presentó un micelio de color gris característico, el micelio creció al ras del medio de cultivo, también presentó esclerocios de forma irregular y de color negro en cultivos con un tiempo de dos semanas de desarrollo. La velocidad de crecimiento fue de 96 h de incubación para cubrir toda la placa petri. El micelio presentó conidióforos altos, septados, hialinos y ramificados, sobre los cuales se desarrollaron los conidios con forma ovoide generalmente y agrupados con aspecto de racimo de uvas. Estas características morfológicas coinciden con las reportadas por Barnett y Hunter (1998).

Características de *Rhizopus stolonifer*

Este hongo desarrolló un micelio de color blanco muy ramificado y aéreo, que posteriormente se tornó de color gris; también se pudieron observar a simple vista los esporangios de color negro. Su crecimiento fue más rápido que el de *Botrytis cinerea*, pues cubrió la placa petri en 48 h. El micelio produjo hifas cenocíticas, rizoides agrupados de 3 a 5 esporangióforos originados a partir de estolones, sobre los cuales se desarrollaron los esporangios que presentaron forma esférica a partir de los cuales se encontraron las esporangiosporas de color oscuro que al liberarse permitieron la observación de la columela. Estas características concuerdan con las reportadas por Maas, (1998).

Aislamiento de cepas bacterianas

Se aislaron un total de 39 cepas bacterianas de distintas áreas de la planta tanto silvestre como comercial, de las cuales 15 provinieron de tejido de fresa silvestre y 24 de tejido de fresa comercial, cuadro 1.

Cuadro 1. Aislados bacterianos procedentes de distintas áreas de plantas de fresa silvestre y comercial

Planta	Área de la cual se obtuvo el aislado	No. Total de aislados
Silvestre	Hoja	7
	Raíz	4
	Fruto	4
Comercial	Hoja	15
	Raíz	5
	Fruto	4

Evaluación de la Actividad antagónica in vitro

Es importante usar diferentes alternativas para controlar el proceso de infección en frutos de fresa. En este sentido, en este trabajo pudo observarse el efecto antagónico presentado por distintos aislados bacterianos contra uno o ambos patógenos in vitro.

De los 39 aislados bacterianos probados contra *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* en placa, nueve de ellos presentaron potencial biocontrolador para uno o ambos patógenos (Figura 1). De los nueve aislados cuatro mostraron una significativamente mayor actividad antagónica contra alguno de los patógenos evaluados ($p \leq 0.05$); dos procedentes de de tejido foliar de fresa comercial (FC4 y FC5) y una de tejido de fresa silvestre (FS3) mostraron un poder inhibitorio sobre *B. cinerea* en tanto que los aislados FC4 (de fresa comercial) y FS2 (obtenido de tejido de fresa silvestre) mostraron mayor biocontrol sobre *R. stolonifer*.

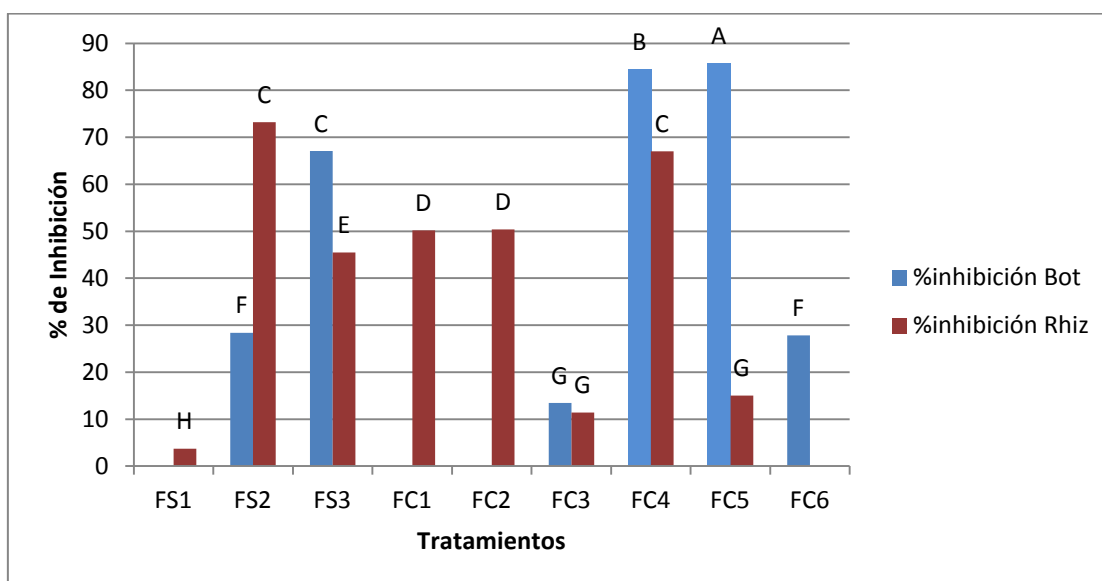


Figura 1. Cepas bacterianas con poder antagónico vs *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*. Se excluyó la cepa FC3 debido a que el diámetro presentado fue el menor en los dos patógenos mientras que en los demás el diámetro es mayor.

En general existen reportes que de que los mecanismos empleados por distintos microorganismos controladores de patógenos es a través de la producción de diversos metabolitos antifúngicos que contribuyen a la inhibición del crecimiento (Leelasuphakul et al., 2008; Abraham et al., 2010). Entre otros, la producción de sideróforos (Shanmugam et al., 2011), la liberación de antibióticos, la producción de enzimas líticas, el parasitismo, competencia por nutrientes y espacio, y la inducción de resistencia (Janisiewicz y Korsten, 2002). Señalando que no siempre es un solo mecanismo el que utilizan, sino que en algunos casos pueden presentarse varios mecanismos.

Los mayores porcentajes de inhibición del crecimiento micelial oscilaron entre 67.1% a 81.7% para *Botrytis cinerea* y 45.5% a 73.2% para *Rhizopus stolonifer*. Estos resultados coinciden e incluso superan a los reportados por Toledo *et al.*, (2002), quienes reportaron el potencial biocontrolador de una cepa de *Burkholderia cepacia* contra dos razas de *Fusarium sp*, encontrando que la cepa bacteriana produjo un 50.07% de inhibición de crecimiento de la raza 1 de *Fusarium sp*, mientras que para la raza 2, produjo un 48% de inhibición. Los autores atribuyeron el potencial biocontrolador a la producción de sustancias antifúngicas y sideróforos. Como puede verse los porcentajes de inhibición del 67.1% a 81.7% para *Botrytis cinerea* superaron con creces los reportados y del caso de *Rhizopus stolonifer* (45.5% a 73.2%) los igualaron y superaron para *Rhizopus stolonifer*, mostrando con ello el potencial de las cepas bacterianas obtenidas.

Por otro lado Mateluna (2006), en un estudio realizado con 42 cepas potencialmente biocontroladoras versus 5 cepas *Acetobacter aceti*, encontró que 14 de ellas permitieron porcentajes de 20,40 y 60% de inhibición al crecimiento y solo 2 manifestaron un control total del desarrollo de las cepas confrontadas. Los autores atribuyeron dicho potencial biocontrolador a la liberación de compuestos antibióticos. Estos porcentajes de inhibición fueron menores a los obtenidos en este trabajo. De igual manera, superan los porcentajes de inhibición reportados por Arrebola *et al.* (2010), usando aislados del género *Bacillus* para controlar a *Penicillium crustosum*, con un 33% de inhibición *in vitro* del patógeno a las 72 h de haber realizado el bioensayo. Finalmente, los resultados obtenidos son semejantes a los reportados por Leelasuphakul *et al.* (2008), quienes reportaron porcentajes de inhibición del micelio de *Penicillium digitatum* que fueron de 42% hasta 76% por producción de volátiles, y desde 84% hasta 99% al usar los extractos crudos de metabolitos de *B. subtilis* después de 72 h de incubación, esto de manera *in vitro*. Se propone que el uso de los extractos permitió el control gracias a la producción de antibióticos.

Por otro lado, no se descarta la posibilidad de que las cepas con mayor potencial biocontrolador obtenidas en este trabajo pudieran deber tal efecto al establecimiento de competencia por nutrientes, ya que *B. cinerea* es dependiente de los nutrientes, sus esporas requieren de ciertos nutrimentos para germinar y comenzar el crecimiento de las hifas (Fernández-Larrea, 2001).

CONCLUSIÓN

Los nueve diferentes aislados bacterianos obtenidos tanto de tejidos de fresa comercial como silvestre exhibieron un alto porcentaje de actividad antagonica contra *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* o ambos en los ensayos in vitro, lo cual indica su potencial para ser usadas como biocontroladoras de dichos patógenos, no obstante hace falta realizar pruebas in vivo para confirmar dicha hipótesis.

LITERATURA CITADA

- Abraham, A., Laing, M.D., Bower, J.P., 2010. **Isolation and in vivo screening of yeast and *Bacillus* antagonists for the control of *Penicillium digitatum* of citrus fruit.** Biol Control. 53, 32-38.
- Adaskaveg, J.E., Förster, H., y Sommer, N.F. 2002. **Principles of postharvest pathology and management of decays of edible horticultural crops.** In: A. Kader (ed) Postharvest Technology of horticultural Crops. University of California. Oakland, California, USA. Pp 163-195.
- Arrebola, E., Sivakumar, D., Korsten, L., 2010. **Effect of volatile compounds produced by *Bacillus* strains on postharvest decay in citrus.** Biol Control. 53, 122-128.
- Bardas, G.A., Veloukas, T., Koutita, O., Karaoglanidis, G.S. 2010. **Multiple resistance of *Botrytis cinerea* from kiwifruit to SDHIs, QoIs and fungicides of other chemical groups.** Pest Manag Sci. 66, 967-973.
- Barnett, H.L y Hunter, B.B. 1998. **Illustrated genera of imperfect fungi.** Fourth edition. The American Phytopathological Society. 218 pp.
- Cai YZ, Sun M, Xing J, Luo Q, Corke H. 2006. **Structure- radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants.** Life Sci. 78: 2872 – 2888

- Chaves N. y Wang A. 2004. **Combate del moho gris (*Botrytis cinerea*) de la fresa mediante *Gliocladium roseum***. Agronomía costarricense. 28:73-85.
- Cheel J, Theoduloz C, Rodríguez JA, Caligari P, Schmeda-Hirschmann G. 2007. **Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*, *F. vesca* and *F. x ananassa* cv. Chandler**. Food Chem. 102:36-44.
- Dufour, M.C., Fontaine, S., Montarry, J., Corio-Costet, M.F. 2011. **Assessment of fungicide resistance and pathogen diversity in *Erysiphe necator* using quantitative real-time PCR assays**. Pest Manag Sci. 67, 60-69.
- Espinosa, M. 2006. **Estudio de la variabilidad genética y organización cromosómica en el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea***. Tesis para obtener grado de Doctor en Universidad de Cádiz. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Microbiología, Medicina preventiva y Salud pública. Fisiología y Genética. 223 pp.
- Fernández-Larrea V. O. 2001. **Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario**. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). 62:96-100
- García A. M., de Pascual T. S., Santos B. C. (2004). **Evaluation of the Antioxidant Properties of Fruits**. Food Chem. 84:13-18
- Genoscope. 2005. **Sequencing projects of *Botrytis cinerea*. Estimated losses for vineyards in France amount to 15-40% of the harvest, depending on climatic conditions**. <http://genoscope.cns.fr>.
- Guédez C., Cañizález L., Castillo C. y Olivar R. 2009. **Efecto antagonístico de *Trichoderma harzianum* sobre algunos hongos patógenos postcosecha de la fresa (*Fragaria spp*)**. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 29:34-38.
- Hernández, A.N. y Santander J. L. 1999. **Producción, purificación y diagnóstico de sideróforos a partir de la cepa de *Pseudomonas fluorescens* J-1443**. Cultivos Tropicales. 20(1):21-25.
- Howard, C., J. Mass, C. Chandler y E. Albrechts. 1992. **Anthracoze of strawberry caused by *Colletotrichum complex* in Florida**. Plant Diseases. 76:976-981.
- INFOAGRO 2002. <http://www.infoagro.com/abonos/botrytis2.htm>
- Janisiewicz W y Korsten L. 2002. **Biological control of postharvest diseases of fruits**. Annu. Rev. Phytopathol. 40, 411-441.
- Jaramillo, J., Rodríguez, V.P., Guzmán, M., Zapata, M y Rengifo, T. 2007. **Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas en la Producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas**. Gobernación de Antioquía, MANA, CORPOICA, Centro de Investigación "La Selva". FAO 2007.
- Leelasuphakul, W., Hemmanee, P., Chuenchitt, S. 2008. **Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit**. Postharvest Biol Technol. 48,113-21.
- Maas, J.L. 1998. **Compendium of strawberry diseases**. Second edition. The American Phytopathol Soc. (41), 98.
- Mateluna E. R. 2006. **Estudio de actividad antibacteriana de potenciales biocontroles sobre bacterias acéticas involucradas en la pudrición ácida de la uva**. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmaceuticas. Memoria para Obtener título de Ingeniero en Alimentos. Santiago, Chile
- Pérez, M.N., flores, P.J., García, V.L, y Lozano, V.C. 1995. **Factores genéticos y ambientales relacionados con la dinámica temporal y efecto de las enfermedades en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Marin, Nuevo León, México**. Revista Mexicana de Fitopatología. 13:1-9.
- Qin, G., Shiping, T., y Xu, Y. 2004. **Biocontrol of postharvest diseases on sweet cherries by four antagonistic yeast in different storage conditions**. Postharvest Biol Technol. 31:51-58.
- Rivera Coto G. 1999. **Conceptos introductorios a la fitopatología**. Primera reimpresión: editorial universidad estatal a distancia san José Costa Rica, 2007. 44-45 pp.
- SAGARPA, (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación). 2008. http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación). 2010. **Abonos**. <http://www.sag.gob.hn/infoagro/cadenas/fichas/frutas/Ficha%20Tecnica%20Fresa.pdf>. Fecha de recuperación: 9 de noviembre del 2010, 2:46.
- Schipper, M.A. 1984. **A Revision of the Genus *Rhizopus***. Studies in Mycology. Serie No. 25. Centraalbureau voor Schimmelcultures. Baam, The Netherlands. 34 P.
- Sertox. 2004. Revista de Toxicología en línea. <http://www.sertox.com.ar/retel/n08/01.pdf>
- Shanmugam, V., Atri, K., Gupta, S., Kanoujia, N., Singh Naruka, D. 2011. **Selection and differentiation of *Bacillus spp*. Antagonistic to *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici and *Alternaria solani* infecting Tomato**. Folia Microbiol. 56, 170-177.

- Sharma, R. R., Sing, D., Sing, R. 2009. **Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review.** Biol Control. 50, 205-221
- Singh, G. 2003. **Studies on essential oils. Chemical and biocidal investigations on Tagetes erecta leaf volatile oil.** Flavour and Fragrance J. 18:62-65.
- Toledo, Y., Hernández, A., Alvarez, M., Martín, G. y Márquez R. 2002. **Determinación del efecto antagónico de una biopreparado a partir de una cepa de *Burkholderia cepacia* ante *Fusarium sp.* en el cultivo del gladiolo (*Gladiolus sp.*).** Cultivos tropicales. 23: 1-5.
- Yildiz, Ö., Peral-Eyduran, S. 2009. **Functional components of berry fruits and their usage in food technologies.** African J Agric Res. 4, 422-426.
- Zhao, Y., Tu, K., Tu, S., Liu, M., Su, J., Hou, Y., 2010. **A combination of heat treatment and *Pichia guilliermondii* prevents cherry tomato spoilage by fungi.** Int J Food Microbiol. 137, 106-110.
- Zhang, H., Zheng, X., y Yu, T. 2007. **Biological control of postharvest diseases of peach with *Cryptococcus laurentii*.** Food Control. 18:287-291.

M. en C. Rosa Isela Plascencia Tenorio

Egresada del Programa de Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable del Centro Interdisciplinario de investigación para el Desarrollo Integral regional IPN Unidad Michoacán.

Dr. Víctor Olalde Portugal

Investigador Titular. Laboratorio de Bioquímica Ecológica. Departamento de Biotecnología y Bioquímica del Cinvestav-IPN, Unidad Irapuato.

Dra. Hortencia Gabriela Mena Violante

Investigador Titular. Centro Interdisciplinario de investigación para el Desarrollo Integral regional IPN Unidad Michoacán.

Dr. Luis Fernando Ceja Torres

Investigador Titular. Centro Interdisciplinario de investigación para el Desarrollo Integral regional IPN Unidad Michoacán.

Dr. José Venegas González

Investigador Titular. Centro Interdisciplinario de investigación para el Desarrollo Integral regional IPN Unidad Michoacán.

M. en C. Guadalupe Oyoque Salcedo

Investigador Asociado. Centro Interdisciplinario de investigación para el Desarrollo Integral regional IPN Unidad Michoacán.

Dra. María Valentina Angoa Pérez

Investigador Titular. Centro Interdisciplinario de investigación para el Desarrollo Integral regional IPN Unidad Michoacán. valeangoa@hotmail.com