



## MICROBIAL CONSORTIUM OF YEASTS AND LACTIC ACID BACTERIA AS BIOLOGICAL CONTROL AGENTS FOR POWDERY MILDEW AND DOWNY MILDEW UNDER FIELD CONDITIONS †

[CONSORCIO MICROBIANO DE LEVADURAS Y BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO PARA OÍDIUM Y MILDIU BAJO CONDICIONES DE CAMPO]

Hanna Cáceres Iparraguirre<sup>1</sup>, Lucero Esthefany Bendezú Huamán<sup>2</sup>,  
José Luis Santos Balduino<sup>2</sup> and Elio Javier Huamán-Flores<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Centro de Innovación Productiva y Transferencia Tecnológica Agroindustrial Ica (CITE Agroindustrial Ica), km 293.2 Carretera Panamericana Sur, distrito de Salas Guadalupe, Ica, CP 11001, Perú. Email: [hannacaceres@gmail.com](mailto:hannacaceres@gmail.com)

<sup>2</sup> Empresa Biolevasa S.A.C., A.H. Micaela Bastidas Manzana F<sup>1</sup>-Lote 5, distrito de Parcona, Ica, CP 11003, Perú.

<sup>3</sup> Universidad Privada Autónoma de Ica, Av. Avelardo Maurtua N° 489, distrito y provincia de Chincha CP 11702, departamento de Ica, Perú.

\* Corresponding author

### SUMMARY

**Background.** Agriculture needs strategies to control pests and diseases that affect it biological control agents are a sustainable alternative for their adoption and diffusion in this important sector. **Objectives.** This research was carried out with the objective of determining the activity of the microbial consortium formed by yeasts and lactic acid bacteria as biological control agents to minimize the damage caused by the phytopathogens *Erysiphe necator* and *Plasmopara viticola* in grapevines grown under field conditions in the Ica Valley. **Methodology.** The microbial consortium consisted of two strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Hanseniaspora opuntiae* yeasts and two strains of lactic acid bacteria, *Lactobacillus brevis* and *Lactococcus lactis*, whose consortium growth capacity was measured in the laboratory. The incidence and severity of the microbial consortium for the control of the two phytopathogens was evaluated in two vine varieties cultivated under field conditions, in the phenological stage of cluster closure and in formation plants. **Results.** Biological control agents as a preventive treatment in Torontel grapes, in the phenological state of fruit set, controlled the appearance of *E. necator*. In bunches of Autumn Crips grapes, the 10 L dose of the microbial consortium was equal to the *L. lecanii* treatment for the curative control of *E. necator* and in forming plants of the Autumn Crips variety, the 1 L dose of the microbial consortium was better than the treatment chemical for the control of *P. viticola*. **Implications.** Agriculture is an important sector in the Peruvian economy; however, it is dependent on chemical phytosanitary inputs that have economic, environmental and social effects for its sustainability. **Conclusion.** This study demonstrated that yeasts and lactic acid bacteria have the potential to be used in the integrated management of these fungi, being less harmful to the environment.

**Key words:** *Saccharomyces cerevisiae*; *Hanseniaspora opuntiae*; *Lactobacillus brevis*; *Lactococcus lactis*, biopesticides; biological control.

### RESUMEN

**Antecedentes.** La agricultura necesita de estrategias para el control de las plagas y enfermedades que la afectan, los agentes de control biológico son una alternativa sustentable para su adopción y difusión en este importante sector. **Objetivos.** Esta investigación se realizó con el objetivo de determinar la actividad del consorcio microbiano formado por levaduras y bacterias ácido-lácticas como agentes de control biológico para minimizar el daño ocasionado por los fitopatógenos *Erysiphe necator* y *Plasmopara viticola* en vid cultivada en condiciones de campo en el valle de Ica. **Metodología.** El consorcio microbiano estuvo formado por dos cepas de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y *Hanseniaspora opuntiae* y dos cepas de bacterias ácido-lácticas *Lactobacillus brevis* y *Lactococcus lactis* a quienes se

† Submitted March 14, 2024 – Accepted June 26, 2024. <http://doi.org/10.56369/tsaes.5515>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = H Cáceres Iparraguirre: <http://orcid.org/0000-0001-5040-8950>; LE Bendezú Huamán: <http://orcid.org/0000-0002-8497-9361>; JL Santos Balduino: <http://orcid.org/0009-0004-7764-5840>; EJ Huamán-Flores: <http://orcid.org/0000-0002-8461-5082>

les midió en laboratorio su capacidad de crecimiento en consorcio. Se evaluó la incidencia y severidad del consorcio microbiano para el control de los dos fitopatógenos en dos variedades de vid cultivadas en condiciones de campo, en estado fenológico de cierre de racimo y en plantas de formación. **Resultados.** Los agentes de control biológico como tratamiento preventivo en uva Torontel, en estado fenológico de cuajado, controlaron la aparición de *E. necator*. En racimos de uva Autumn Crips, la dosis de 10 L del consorcio microbiano resultó igual al tratamiento con *L. lecanii* para el control curativo de *E. necator* y en plantas en formación de la variedad Autumn Crips, la dosis de 1 L del consorcio microbiano resultó mejor que el tratamiento químico para el control de *P. viticola* en hojas. **Implicaciones.** La agricultura es un sector importante en la economía del Perú; sin embargo, es dependiente de insumos fitosanitarios químicos que tienen efectos económicos, medioambientales y sociales para su sustentabilidad. **Conclusión.** Este estudio demostró que las levaduras y bacterias ácido-lácticas tienen potencial para su uso en el manejo integrado de estos hongos, siendo menos dañino para el medio ambiente.

**Palabras claves:** *Saccharomyces cerevisiae*; *Hanseniaspora opuntiae*; *Lactobacillus brevis*; *Lactococcus lactis*; bioplaguicidas; control biológico.

## INTRODUCCIÓN

La canasta agroexportadora peruana está compuesta por más de 160 productos, de los cuales 15 representan el 90 % del valor exportado y se concentran principalmente en tres regiones del país: Ica (15 % de participación), Piura (12 %) y la Libertad (9 %). En el caso de Ica, alberga a más de 70 productos agrícolas, de los que destacan la uva con 14 % de participación en la producción regional, el espárrago con 11 %, la mandarina con 10 %, el tomate con 8 %, la cebolla con 7 % y la palta con 4 %. Todos ellos, son productos de alta demanda internacional. En ese escenario, la uva no solo es el primer producto de agroexportación del Perú (El Peruano, 2024), sino que es la estrella de la región Ica (INEI, 2024).

El cultivo de la vid es atacado por dos fitopatógenos de importancia, uno de ellos es la enfermedad denominada moho polvoriento en vid causada por *Erysiphe necator* y de nombre común oídio, que genera pérdidas en la cantidad y calidad del rendimiento, reduciendo la productividad, a veces del 20 % al 40 % (Sosa-Zuniga et al., 2022). Este hongo ataca los órganos jóvenes como hojas y brotes, que están cubiertos con una capa blanquecina y polvorienta; que al final de la actividad del hongo en la planta, cambia a marrón oscuro o marrón y rara vez mata a sus hospedantes. El hongo adquiere de la planta los nutrientes y tiene efectos en la fisiología, debido a que, disminuye la fotosíntesis, aumenta la respiración y transpiración. El oídio persiste como micelio en brotes infectados de la temporada anterior, y como cleistotecios en las hojas y otros órganos aéreos de la vid. La susceptibilidad de los racimos de la vid, varía a lo largo de la temporada de crecimiento, siendo muy susceptible entre las etapas fenológicas de cuajado y envero. El riesgo de infección depende de la presencia de hongo en el viñedo, que está directamente relacionada con la temperatura y la humedad ambiental. Esta enfermedad no se puede curar sino tratar (Campbell et al., 2007).

El segundo hongo de importancia es el mildiu veloso, causado por *Plasmopara viticola*, considerado como amenaza para la producción de vid, debido a las pérdidas de rendimiento cuantitativas y cualitativas asociadas con epidemias graves de la enfermedad (Gessler et al., 2011). La mayoría de los cultivares de *Vitis vinifera* son altamente susceptibles al patógeno (Toffolatti et al., 2018; Toffolatti et al., 2021). *P. viticola* es un patógeno policíclico, capaz de producir numerosos ciclos de infección durante una sola temporada de crecimiento de la vid. En invierno produce oosporas, que son estructuras sexuales que se encuentran en las hojas muertas en el suelo del viñedo. En primavera, con condiciones climáticas favorables, las oosporas producen un solo macrosporangio, donde se forman las esporas asexuales (las zoosporas). Las zoosporas infectan los tejidos receptivos de la vid a través de las estomas en presencia de agua libre, proporcionada por la lluvia o el rocío, a temperaturas inferiores a 32 °C (Massi et al., 2021). Tanto *E. necator* como *P. viticola* son parásitos obligados (Qiu et al., 2015 y Milli et al., 2012).

Para el control del oídio y mildiu, se han utilizado una serie de fungicidas sintéticos, que son insumos ampliamente utilizados en la agricultura, lo que resulta en un alto costo para los productores y causa serios problemas en su entorno. Debido a ello, existe una tendencia a reducir y restringir el uso de estos productos, lo que se materializa en la prohibición progresiva de los productos más tóxicos (Jesús et al., 2014). A todo ello hay que sumar la creciente concientización de la población en relación con este problema y, en consecuencia, el creciente rechazo de los consumidores hacia los alimentos tratados con estos productos (Gerez et al., 2012; Zhang et al., 2019). En línea con el enfoque descrito anteriormente, existe una creciente necesidad y demanda, tanto por parte de la industria como de los consumidores, de las nuevas tecnologías limpias (Di Francesco y Mari, 2014), que incluyen los nuevos agentes de control biológico que no son tóxicos y son amigables con el medio ambiente (Spadaro y Gullino, 2004; Schnürer y

Magnusson, 2005; Sathe *et al.*, 2007; Hasan *et al.*, 2013). Para reducir el uso de fungicidas sintéticos, es importante el desarrollo de nuevos materiales fungicidas o enfoques que sean más benéficos para el medio ambiente o poseer nuevos modos de acción (Hazir *et al.*, 2017). Las nuevas herramientas basadas en consorcios microbianos a base de levaduras y bacterias ácido-lácticas, podrían ser estrategias prometedoras. Las levaduras se han destacado como antagonistas altamente eficientes. En comparación con otros microorganismos, las levaduras tienen requerimientos nutricionales simples, son capaces de colonizar rápidamente a su hospedante durante largos períodos de tiempo, pueden crecer en condiciones adversas sin requerimientos especiales de nutrientes, no producen compuestos nocivos para la salud humana (Liu *et al.*, 2013), muestran diferentes mecanismos antagónicos, como competir por espacio y nutrientes (di Francesco *et al.*, 2017), producir enzimas hidrolíticas (Zhou *et al.*, 2016), producir compuestos orgánicos volátiles (Parafati *et al.*, 2017), inducir la resistencia del hospedante (Parafati *et al.*, 2016), cambios de pH en la superficie de la planta, producción de etanol y biosíntesis de toxinas llamadas micocinas (Hatoum *et al.*, 2012).

Las bacterias ácido-lácticas han demostrado un efecto inhibitorio hacia las bacterias, levaduras y, sobre todo, hongos filamentosos (Dalié *et al.*, 2010). La capacidad antagonista y bioprotectora de las bacterias ácido lácticas se atribuye a la competencia por nutrientes (colonización) y antibiosis debido a su capacidad para sintetizar diferentes compuestos antimicrobianos, incluidos ácidos orgánicos (ácido láctico, acético y proiónico), bacteriocinas, peróxido de hidrógeno, ácidos grasos hidroxilados y dióxido de carbono (Lamont *et al.*, 2017; Gajbhiye y Kapadnis, 2018; Chinazor *et al.*, 2019; Bartkiene *et al.*, 2020; Zebboudj *et al.*, 2020). Estos hallazgos se han considerado de gran interés porque, fundamentalmente, se trata de microorganismos considerados GRAS (Generally Recognized as Safe) por la Food and Drug Administration (FDA, EE. UU.) y con el estatus de “Qualified Presumption of Safety” (QPS) por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

De acuerdo a la literatura revisada, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es capaz de suprimir el crecimiento de *Botrytis cinerea* en uva de la variedad Thompson Seedless (Wang *et al.*, 2018), así también se demostró la inhibición eficaz de *B. cinerea in vitro* y en bayas de uva, influyendo en genes de defensa clave y reduciendo la expresión de BcLTF2 que es un regulador positivo de la conidiogénesis de este fitopatógeno (Tsioka *et al.*, 2024). Por otro lado, hay más géneros de levaduras que tienen eficacia para controlar este fitopatógeno como es el caso de

*Metschnikowia aff. fructicola*, *Metschnikowia pulcherrima* y *Hanseniaspora uvarum* que redujeron significativamente la germinación de las esporas en al menos un 86% (Oztekin y Karbancioglu-Guler, 2024) lo que ofrece soluciones potenciales para el manejo de enfermedades en viticultura. La bacteria ácido-láctica *Lactococcus lactis* ha suprimido el crecimiento de hongos que descomponen la cebolla (*Rhizopus stolonifer*, *Penicillium citrinum*, *Aspergillus flavus* y *A. niger*) (Chinazor *et al.*, 2019).

Sin embargo, en la búsqueda continua de nuevos antagonistas que puedan alcanzar altos niveles de protección en los cultivos, existen escasos reportes hasta el momento sobre la capacidad antagonista de consorcios microbianos a base de levaduras y bacterias ácido-lácticas como agentes de control biológico para *E. necator* y *P. viticola*. Por lo tanto, los objetivos de esta investigación fueron (1) Crear un consorcio microbiano a base de dos levaduras y dos bacterias ácido-lácticas y (2) Determinar la eficacia del consorcio microbiano a base de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y *Hanseniaspora opuntiae* y de las bacterias ácido-lácticas *Lactococcus lactis* y *Lactobacillus brevis* para el control de dos hongos fitopatógenos que atacan a la vid bajo condiciones de campo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar de pruebas *in vitro*

La investigación *in vitro*, se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología de la empresa BIOLEVASA S.A.C., ubicado en el distrito, provincia y departamento de Ica. En esta región hay un importante desarrollo de la agricultura para consumo interno y para exportación.

### Material biológico

#### Caracterización morfológica de levaduras y bacterias ácido-lácticas

Las cepas empleadas en este estudio cuentan con código de MycoBank y de American Type Culture Collection (ATCC) (Tabla 1). Para la evaluación macroscópica de las levaduras se sembraron en agar GPY (composición en g/L: glucosa 20, extracto de levadura 10, peptona de caseína 20, agar bacteriológico 20) (Mohd Azhar y Abdulla, 2018) y las bacterias ácido-lácticas se sembraron en agar MRS (composición g/L): glucosa 20; extracto de levadura 5; peptona de carne 10; extracto de carne 8; fosfato dipotásico 2; acetato de sodio trihidratado 5; citrato de triamonio 2; sulfato de magnesio 0.2; sulfato de manganeso 0.05; Tween 80 polisorbato 1; agar

bacteriológico 20) (Abouloifa *et al.*, 2020). Se evaluaron ocho variables: forma, tamaño, elevación, bordes, pigmentación, textura, opacidad y apariencia (Kandler y Weiss, 1986; Kurtzman *et al.*, 2011).

### **Evaluación de Porcentaje de Inhibición de Crecimiento**

Las pruebas de inhibición micelial de las levaduras se determinaron mediante el método de cultivo dual; en el centro de placas con medio PDA (Composición en g/L: extracto de papa 4; dextrosa 20; agar bacteriológico 20). Se utilizaron cepas de *Botrytis cinerea* y *Lasiodiplodia theobromae* por ser hongos cultivables en medios artificiales en laboratorio, ya que *E. necator* y *P. viticola* son parásitos obligados en el cultivo de vid. Se colocaron discos de agar con micelio del hongo fitopatógeno (*B. cinerea* y *L. theobromae*) y se sembraron dos líneas de levadura en cada extremo a 2 cm del centro de la placa y para el control solo se inocularon con los discos de los fitopatógenos. En el caso de los enfrentamientos con bacterias ácido-lácticas el medio usado fue YPD (composición en g/L: dextrosa 20; extracto de levadura 10; peptona de caseína 20). Posteriormente, las placas se incubaron a  $28 \pm 2$  °C y el crecimiento radial se observó al tercer, quinto y séptimo día; realizándose un total de 26 repeticiones para cada cepa de levadura seleccionada. Se midió el crecimiento del fitopatógeno controlado con las levaduras o las bacterias ácido-lácticas sembradas en paralelo (Abdel-Rahim y Abo-Elyousr, 2017; Kamel-Madbouly *et al.*, 2020).

El porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio se evaluó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición de crecimiento} = \left[ \frac{A - B}{A} \right] \times 100$$

Dónde: A es el crecimiento del fitopatógeno en la placa control y B es el crecimiento del fitopatógeno, controlado con las levaduras o las bacterias ácido-lácticas sembradas en paralelo.

### **Producción de Compuestos Orgánicos Volátiles – Enzimas - Biopelículas**

De acuerdo al convenio de asociación entre las entidades participantes en la investigación, la Universidad Autónoma de Ica, proporcionó resultados sin publicar sobre las mejores levaduras y bacterias ácido-lácticas que tuvieron mejor producción de compuestos orgánicos volátiles, siguiendo la metodología de Gao *et al.*, 2017 y Chen *et al.*, 2019; mejores cepas que tuvieron producción de enzimas, siguiendo la metodología de Ionita *et al.*, 1997; Kumar *et al.*, 2012; Zaferanloo *et al.*, 2014; Kedar *et al.*, 2018;

Agrawal y Kotasthane, 2012; Teather y Wood 1982; Ghose, 1987; y cepas con mejor producción de biopelículas siguiendo la metodología de Giobbe *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2018; Ren *et al.*, 2013. A partir de esos resultados se procedió a formar el consorcio microbiano.

### **Formación del Consorcio Microbiano**

Se siguió la metodología de difusión en pozos de Al-Malkey *et al.* (2017), donde las levaduras y las bacterias ácido-lácticas crecieron en su medio de cultivo respectivo, posteriormente se tomaron 100 µL del cultivo y se realizó la frotación por toda la superficie de placas con agar nutritivo (composición en g/L: pluripeptona 5; extracto de carne 3; cloruro de sodio 8; agar bacteriológico 15). Luego, se hicieron pocillos (6 – 9 mm de diámetro) en las placas cultivadas, se inocularon con 50 µL de otra cepa a probar con el objetivo de encontrar alguna zona de inhibición entre ambas cepas después de ser puestas a incubación a  $28 \pm 2$  °C y como controles se colocaron en agua destilada (Al-Malkey *et al.*, 2017).

### **Preparación del consorcio microbiano para aplicación en campo**

Se utilizó el consorcio microbiano, obtenido como resultado de la investigación "PIMEN-16-P-814-183-20 Mejora de la calidad y mayor vida útil de bioplaguicida a base de bacterias ácido-lácticas y levaduras mediante la producción controlada" de la empresa BIOLEVASA S.A.C. Las cepas de levaduras se sembraron en caldo extracto de levadura peptona dextrosa, YPD (Difco TM) por sus siglas en inglés (composición en g/L: glucosa 20; extracto de levadura 10; peptona de caseína 20), el pH fue ajustado a 5 - 8 + 0.2 con el uso de HCl, posteriormente fueron colocadas en el agitador a 200 rpm por un periodo de 48 horas a temperatura ambiente. Las cepas de bacterias ácido-lácticas se sembraron en caldo MRS (de Man, Rogosa y Sharpe) (composición en g/L: glucosa 20; extracto de levadura 5; peptona de carne 10; extracto de carne 8; fosfato dipotásico 2; acetato de sodio trihidratado 5; citrato de triamonio 2; sulfato de magnesio 0,2; sulfato de manganeso 0,05; Tween 80 polisorbato 1) el pH fue ajustado a 6,2 con el uso de HCl, posteriormente fueron agitadas a 200 rpm por un periodo de 24 - 48 horas a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo de crecimiento de la biomasa, se procedió a juntar las cuatro cepas en un solo envase y llevarlas para aplicación en campo. El Consorcio Microbiano tenía  $1.6 \times 10^9$  UFC/mL de concentración.

## Ensayos en campo

### Área de estudio

Se realizaron tres ensayos en campo y estuvieron ubicados en la provincia y departamento de Ica, región tradicionalmente dedicada a la producción de uvas para Pisco, uvas para vino y uvas de mesa. Ubicado en la costa sur del Perú. Su clima en verano es típicamente árido y soleado, y en invierno es seco y despejado. Durante el transcurso del año, el mes con temperatura más alta es marzo con 36 °C y la temperatura más baja se da en el mes de junio con 10 °C; llueve muy poco, escasamente la lluvia se da en el mes de febrero, acumulando 2.98 mm/mes (Figura 1).

### Material vegetal

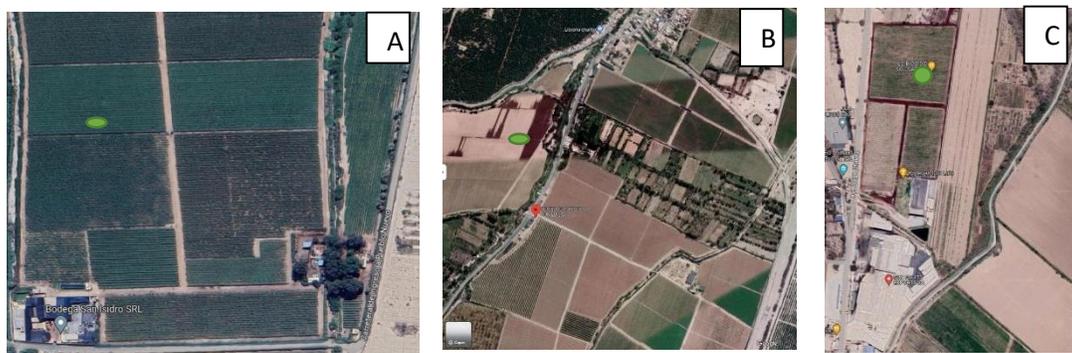
El primer ensayo se llevó a cabo en las plantaciones de vid, *Vitis vinifera*, variedad Torontel, variedad de uva con destino para producir Pisco, considerada bebida bandera de Perú. La edad de las plantas era de 12 años y se encontraban injertadas con el patrón Paulsen. Las plantas fueron conducidas en un sistema de espaldera y manejadas con riego por goteo. El suelo era de tipo franco arcilloso. Las vides fueron podadas a inicios de septiembre y en el momento del ensayo se encontraban en el estado fenológico de cuajado hasta alcanzar bayas de 5 mm de calibre. El viñedo está ubicado en el Fundo La Caravedo, en el distrito de Pueblo Nuevo (14° 8' 3,09" S; 75° 41' 11,109" W; altitud 414 metros sobre el nivel del mar). El segundo ensayo se llevó a cabo en las plantaciones de vid de la variedad Autumn Crisp, variedad de uva de mesa para agroexportación. La edad de las plantas era de 2 años y se encontraban injertadas con el patrón Salt Creek. En el momento del ensayo se encontraban en el estado fenológico de racimo cerrado hasta alcanzar bayas de 26 mm de calibre. El viñedo pertenece a la empresa Sociedad

Agrícola Don Luis S.A., ubicado en el distrito de San Juan Bautista (13° 58' 41.91" S; 75° 44' 0.71" W; altitud 438 metros sobre el nivel del mar) y el tercer ensayo se llevó a cabo en las plantaciones de vid de la variedad Autumn Crisp, son plantas injertadas con el patrón Salt Creek, de 2 meses, y eran plantas en formación. Estas plantas están instaladas en la empresa San Fruits Exports S.A., ubicada en el distrito de San José de Los Molinos (13° 55' 57.0" S; 75° 40' 59" W; altitud 491 metros sobre el nivel del mar).

### Evaluación de los tratamientos en campo

Los ensayos se llevaron a cabo durante la campaña agrícola 2022, la aplicación de los tratamientos fue por vía foliar utilizando un pulverizador de arrastre de 2000 de la marca Chasky y Jacto con 18 a 26 portaboquillas con una presión de 150 L/minuto. Se realizaron las aplicaciones a las 8 horas del día, al igual que la aplicación de los fungicidas químicos. En la presente investigación no se consideraron plantas de control, porque la variedad Torontel y Autumn crisp son muy susceptibles al ataque del hongo *E. necator* y *P. viticola*, por lo que se decidió tomar el método químico como un tratamiento de control, como una forma de compararlo con el tratamiento del consorcio microbiano, considerándolo un tratamiento experimental.

**El primer ensayo**, se llevó a cabo iniciando en la etapa fenológica de cuajado hasta bayas de 5 mm de diámetro (código J de la escala fenológica de Baggiolini, 1952). El órgano evaluado fueron los racimos. El tratamiento 1, consistió en aplicar el consorcio microbiano a la dosis de 1 L en 200 L de agua y el tratamiento 2, a base de un fungicida comercial de ingrediente activo Tebuconazole, a la dosis de 100 mL en 200 L de agua (dosis que utilizaba el responsable de sanidad del fundo La Caravedo). Se



**Figura 1.** Área de estudio (punto verde): (A) Plantaciones de vid en Fundo La Caravedo, (B) Plantaciones de vid en empresa Don Luis y (C) Plantaciones de vid en la empresa San Fruits. Google [Vista satelital de Google Maps del Fundo La Caravedo, de la empresa Don Luis y de la empresa San Fruits]. Recuperado el 2 de enero del 2024.

marcaron 18 plantas, en las cuales se marcaron 8 hojas y 4 racimos por planta, haciendo un total de 144 hojas y 72 racimos de unidades experimentales para evaluación por tratamiento. Se realizaron tres aplicaciones (primera aplicación día 0, segunda aplicación día 16 y tercera aplicación día 26), y fueron de tipo preventiva para el control de *E. necator*. Antes y después de cada aplicación se realizaron evaluaciones de monitoreo. **El segundo ensayo**, se llevó a cabo, en la etapa fenológica de racimo cerrado, en bayas de 26 mm de diámetro (código L de la escala fenológica de Baggiolini, 1952). Los órganos evaluados fueron los racimos. El tratamiento 1, consistió en aplicar el consorcio microbiano a la dosis de 5 L en 1000 L de agua, el tratamiento 2, consistió en aplicar el consorcio microbiano a la dosis de 10 L en 1000 L de agua y el tratamiento 3, a base de un fungicida comercial de ingrediente activo *Lecanicillium lecanii*, a la dosis de 1.6 L en 200 L de agua (dosis que utilizaba el responsable de sanidad de Sociedad Agrícola Don Luis S.A.). Se marcaron 10 plantas, en las cuales se marcaron 4 racimos por planta, haciendo un total de 40 racimos de unidades experimentales para evaluación por tratamiento. Se realizó una aplicación de tipo curativa para el control de *E. necator* y se realizó dos evaluaciones de monitoreo. **El tercer ensayo**, se llevó a cabo en plantas en formación, con una altura promedio de 1 m. Los órganos evaluados fueron las hojas. El tratamiento 1, consistió en aplicar el consorcio microbiano a la dosis de 1 L en 200 L de agua y el tratamiento 2, a base de un fungicida comercial de ingrediente activo oxiclورو de cobre al 80 %, a la dosis de 2 kg en 200 L de agua (dosis que utilizaba el responsable de sanidad de la empresa San Fruits Exports S. A.). Se marcaron 15 plantas, en las cuales se marcaron 5 hojas, haciendo un total de 75 hojas de unidades experimentales para evaluación por tratamiento. Se realizó una aplicación, y fue de tipo curativa para el control de *P. viticola* y se realizaron dos evaluaciones de monitoreo.

### VARIABLES EVALUADAS EN LAS PLANTAS

No se consideraron plantas de control, porque la variedad de uva Torontel, para elaborar Pisco y la variedad de uva de mesa Autumn Crips son muy susceptibles al ataque de los hongos *E. necator* y *P. viticola*. Es por eso, que se decidió tomar el método químico como un tratamiento de control, como una forma de compararlo con el tratamiento del consorcio microbiano, considerándolo un tratamiento experimental. Las plantas de vid tratadas en esta investigación son parte de lotes de cultivo comercial, por lo tanto, no podía tener riesgo de sufrir alta incidencia y severidad de la enfermedad y tampoco formar inóculos de los fitopatógenos para la

propagación a los demás lotes comerciales. Las variables evaluadas en campo fueron incidencia y gravedad de la enfermedad. Concluida las aplicaciones y al finalizar las evaluaciones se midió la eficacia de los productos utilizados en cada ensayo. La incidencia de oídio (I, en porcentaje) se determinó de acuerdo con la fórmula:

$$I\% = \frac{\text{Número de hojas y racimos infectados}}{\text{Total de hojas y racimos evaluados}} \times 100$$

La severidad de la enfermedad se registró antes de la aplicación de los productos. Se clasificó en una escala de 0 a 5, donde: 0 = sin infección; 1 = 1-10 % del área de la hoja infectada con el hongo; 2 = 11-25 %; 3 = 26-50 %; 4 = 51-75 % y 5 = 76-100 % (Horsfall, 1942). Las puntuaciones se convirtieron en un índice de severidad de la enfermedad (D.S.I.), utilizando la fórmula dada por Wheeler (1969):

$$DSI\% = \left[ \frac{n \cdot v}{ZN} \right] * 100$$

Donde n = Número de hojas / racimos en cada escala, v = Valor numérico de cada escala, Z = Valor numérico de la escala más alta, y N = Total de hojas / racimos en la muestra (Nashwa y Abo-Elyou, 2012) (Naz *et al.*, 2018).

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos para las variables incidencia y severidad evaluadas se expresaron en porcentaje y se realizó la transformación angular de Bliss. Luego, los datos se sometieron a la prueba de normalidad de Kolmogorov – Smirnov. Para el ensayo realizado en la empresa Sun Fruits (dos tratamientos), se utilizó la prueba no paramétrica de U de Mann Whitney para muestras independientes, con un nivel de significancia de 0.05. Para el ensayo en la empresa Don Luis (tres tratamientos), se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis con un nivel de significancia de 0.05. Se utilizó el software InfoStat versión 2020.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización morfológica de levaduras y bacterias ácido-lácticas

Las dos levaduras utilizadas en la investigación *H. opuntiae* y *S. cerevisiae* coinciden entre ellas en sus características morfológicas según (Kurtzman *et al.*, 2011). Las bacterias ácido lácticas *L. lactis* y *L. brevis* coinciden entre ellas en su morfología en cinco características y difieren en tres características como elevación, color y opacidad de acuerdo a (Kandler y Weiss, 1986), tal como se observa en la tabla 1.

**Tabla 1. Caracterización morfológica de las levaduras y bacterias ácido-lácticas.**

Especie	Código	Forma	Tamaño	Elevación	Bordes	Color	Textura	Opacidad	Apariencia
<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	488270	Circular	Moderado	Convexo	Entero	Crema	Liso	Opaco	No Brillante
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	492348	Circular	Moderado	Convexo	Entero	Crema	Liso	Opaco	No Brillante
<i>Lactococcus lactis</i>	ATCC 7963	Circular	Pequeño	Convexo	Entero	Amarillo	Cremoso	No opaco	Brillante
<i>Lactobacillus brevis</i>	ATCC14869	Circular	Pequeño	Elevado	Entero	Crema	Cremoso	Opaco	Brillante

### Porcentaje de inhibición de crecimiento en laboratorio con *B. cinerea* y *L. theobromae*

De las dos levaduras aplicadas en el estudio se tiene que *H. opuntiae* presentó 58 % de inhibición de crecimiento de *B. cinerea* (Tabla 2), estos datos concuerdan con lo reportado para el control de *Corynespora cassicola* donde *H. opuntiae* inhibió aproximadamente 50 % de su crecimiento por la acción de compuestos liberados por la levadura, la cual induce la respuesta de defensa de la planta de una manera dependiente de la dosis, puede ser inducida después de 24 h de pretratamiento y mantenida sin reducción significativa hasta por 5 días. Los investigadores no descartan la idea que los compuestos liberados por la levadura pueden difundirse por toda la planta y/o que, una vez dentro de la célula vegetal, pueden inducir las respuestas de defensa como verdaderos elicitores (Ferreira-Saab *et al.*, 2018).

Para la evaluación de la levadura *S. cerevisiae*, se obtuvo 56 % y 55 % de inhibición de crecimiento para *L. theobromae* y *B. cinerea*, estos resultados fueron superiores con lo obtenido por Oro *et al.* (2014) quienes utilizaron a tres levaduras *Wickerhamomyces anomalus*, *Metschnikowia pulcherrima* y *S. cerevisiae*, como agentes de biocontrol en cerezas dulces sobre la podredumbre parda poscosecha, principalmente causada por *Monilinia laxa*. La levadura *S. cerevisiae* redujo la pudrición parda cuando se aplicó en la concentración de  $10^8$  UFC/mL y tuvo 21 % de índice de infección comparado con el control que tuvo 41 % de índice de infección. Ninguna de las levaduras produjo sustancias fitotóxicas, tanto en la fruta intacta como en la herida inoculada (Oro *et al.*, 2014). Los resultados obtenidos por Liu, *et al.* (2017) fueron superiores a los obtenidos en la presente investigación, quienes evaluaron 216 cepas de levaduras *S. cerevisiae* aisladas del vino para controlar el fitopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides*, un agente causante de la antracnosis de la uva presentada antes de la cosecha. Tres de las cepas dieron positivo para antagonizar al fitopatógeno y produjeron compuestos antifúngicos, inhibieron la germinación de conidios de *C. gloeosporioides* y produjeron  $\beta$ -1,3-glucanasa y

quitinasa. Todos los aislamientos colonizaron frutos de uva en grandes cantidades y controlaron al fitopatógeno cuando se inocularon artificialmente en frutos de uva. La aplicación del aislado de *S. cerevisiae* GA8 dio como resultado una reducción del 70 % de la enfermedad por *C. gloeosporioides* en bayas de uva (Liu *et al.*, 2017).

De las dos bacterias ácido-lácticas evaluadas, *Lactobacillus brevis* presentó 49 % y 65 % de inhibición de crecimiento para *L. theobromae* y *B. cinerea*. Estos resultados son inferiores a lo obtenido por Hadi y Zuheir (2016) quienes determinaron la actividad antifúngica *in vitro* de las bacterias ácido-lácticas (*L. fermentum*, *L. reuteri*, *Lactobacillus* sp. N° 1, *Lactobacillus* sp. N° 2 y *Lactococcus* sp.) contra *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora infestans*, *Pythium ultimum* y *Alternaria* sp. Todas las bacterias ácido-lácticas tuvieron 100 % de inhibición frente a los fitopatógenos en agar MRS como en agar PDA a 37 °C durante 5 días.

### Formación del Consorcio Microbiano

Las cuatro cepas empleadas en los enfrentamientos no produjeron halos de inhibición entre sí mismas, resultando la interacción entre estas de forma positiva y por tanto las cepas fueron compatibles para formar el consorcio microbiano (Belkar y Gade, 2012).

### Evaluaciones de incidencia y severidad en campo

#### Primer ensayo

*E. necator* es un fitopatógeno que ataca los órganos jóvenes como hojas, brotes, ramas, inflorescencias y frutos; siendo las etapas fenológicas de cuajado a envero las más susceptibles. El hongo es más agresivo en racimos que en hojas, esto se debe a que el hongo tiene preferencia por el tejido tierno, y en ese momento se produce el cese del crecimiento de las hojas y el transporte de nutrientes se dirige a los grupos en crecimiento. El fitopatógeno ataca las bayas verdes del racimo. En el momento de la post cosecha, el hongo no muere, sino que permanece inactivo en el cultivo hasta

un nuevo crecimiento de la planta, como lo indican varios estudios. La susceptibilidad de estos órganos difiere según la variedad (Bulit, 1978) (Pearson y Gartel, 1985), siendo Torontel una variedad susceptible a este hongo, racimos de color verde-amarillo, con semillas, de bayas medianas y de sabor dulce. Esta uva es destinada para elaborar Pisco y vinos, recibe menor número de aplicaciones sanitarias que las uvas de mesa, pero de igual forma, se realizan aplicaciones fitosanitarias para mantener en los umbrales permitidos del hongo, ya que la infección severa de la fruta o el follaje tiene efectos nocivos y bien documentados sobre la calidad del cultivo y de sus derivados como el vino (Gadoury *et al.*, 2007). Por este motivo se realizaron aplicaciones de tipo preventivo, en racimos cuando las bayas alcanzaron 5 mm de calibre. Luego de las tres aplicaciones realizadas en un período de 26 días y después de su monitoreo hasta los 33 días no se reportó incidencia y severidad del hongo, lo cual coincide con lo reportado por Cáceres *et al.* (2021) donde afirman que conforme avanza el crecimiento del racimo, aumenta la severidad del hongo, al realizar aplicaciones de extractos vegetales para el control de *E. necator* en uva Moscatel de Alejandría. Es decir, no había compactación de las bayas pequeñas, contaban con mayor circulación de aire que impide el crecimiento del fitopatógeno y por lo tanto permitía una buena aplicación y crecimiento de los agentes de control biológico entre las bayas. El rendimiento de la uva Torontel es 15 TM/Ha.

### Segundo ensayo

La variedad Autumn Crips, es uva de mesa verde-amarilla, sin semillas, de bayas grandes, de textura crujientes, jugosas y de sabor dulce (Farag, 2022), destinada para agroexportación, susceptible a hongos como *E. necator* y de acuerdo, al programa sanitario que manejan los profesionales de cada fundo, se debe

realizar monitoreos constantes y aplicaciones semanales para el control de esta enfermedad. El porcentaje de incidencia y severidad de *E. necator* en racimos con bayas de 26 mm de calibre, no mostraron diferencia estadísticamente significativa, pero se observó que en la evaluación realizada el día seis, la media y el porcentaje de incidencia y severidad fue igual cuando se aplicó el consorcio 10 L y cuando se aplicó *L. lecanii*, es decir al recibir la aplicación de 10 L del consorcio de levaduras y bacterias ácido-lácticas en 1000 L de agua para aplicación y en el tratamiento con *L. lecanii*, el cual es un hongo entomopatógeno, generalmente más utilizado para control de insectos plaga (Tabla 3). También se puede observar que desde el día cero hasta el día seis, el porcentaje de la incidencia de la plaga baja desde 30 % a 7 %. Por el contrario, sucede con el porcentaje de severidad de la plaga, es decir, en el día cero la severidad de escala cero o sin presencia de fitopatógeno es en promedio 64 % y en el día seis la severidad de escala cero es en promedio 91 %. Estos resultados coinciden parcialmente con lo obtenido por Trias *et al.* (2008), quienes evaluaron la eficacia de las bacterias ácido-lácticas contra las bacterias y hongos fitopatógenos de descomposición *Xanthomonas campestris*, *Erwinia carotovora*, *Penicillium expansum*, *Monilinia laxa* y *B. cinerea*. La actividad antagonista de 496 cepas de bacterias ácido-lácticas se probó *in vitro* y todos los microorganismos probados excepto *P. expansum* fueron inhibidos por al menos un aislado. Los ácidos orgánicos fueron los mediadores de inhibición preferidos, pero también se detectó peróxido de hidrógeno cuando las cepas BC48, TM128, PM141 y FF441 se probaron contra *E. carotovora*. Este informe respalda el potencial de las bacterias ácido-lácticas como agentes de biocontrol contra la pudrición poscosecha. El rendimiento de la uva Autumn Crips es 35 TM/Ha.

**Tabla 2. Medias del porcentaje de inhibición de crecimiento en cepas evaluadas.**

Tratamiento	Especie	<sup>1</sup> PIC	<sup>2</sup> PIC	<sup>1</sup> PIC	<sup>2</sup> PIC
		Pre-screening <i>L. theobromae</i>	<i>L. theobromae</i> Día 7	Pre-screening <i>B. cinerea</i>	<i>B. cinerea</i> Día 7
1	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	5.67 <sup>bc*</sup>	<i>N.M.</i>	80.00 <sup>n</sup>	58.07 <sup>a</sup>
2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	52.00 <sup>g</sup>	55.56 <sup>b</sup>	61.00 <sup>l</sup>	54.99 <sup>a</sup>
3	<i>Lactococcus lactis</i>	7.00 <sup>cd*</sup>	<i>N.M.</i>	12.00 <sup>c*</sup>	<i>N.M.</i>
4	<i>Lactobacillus brevis</i>	50.00 <sup>g</sup>	49.00 <sup>a</sup>	56.00 <sup>jk</sup>	64.53 <sup>b</sup>

ANVA. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

PIC: porcentaje de inhibición de crecimiento.

<sup>1</sup> datos obtenidos de la evaluación de 3 repeticiones en el pre-screening.

<sup>2</sup> datos obtenidos de 26 repeticiones (a las cepas que brindaron los mejores porcentajes de inhibición en el pre-screening).

\*PIC inferiores a 50 no se consideró realizar 26 repeticiones.

*N.M.*: no se realizó la siembra y por lo tanto no hubo medición

**Tabla 3. Medias del porcentaje de incidencia y severidad en segundo ensayo, control curativo de *E. necator* en racimos con baya calibre 26 de uva Autumn Crips en Sociedad Agrícola Don Luis S.A.**

		INCIDENCIA EN RACIMO			SEVERIDAD EN RACIMO				
		Media	Desviación estándar	Kruskal Wallis	Porcentaje de incidencia de plaga	Media	Desviación estándar	Kruskal Wallis	Porcentaje de severidad de plaga con 0%
Dia 0	Consorcio 5 L	2.30	2.85	0.63	40.00	15.69	19.46	0.05	60.00
	Consorcio 10 L	1.45	2.66		30.00	6.21	10.1		70.00
	<i>L. lecanii</i>	2.15	2.81		37.00	14.16	18.51		63.00
Dia 3	Consorcio 5 L	1.15	2.33	0.45	20.00	5.31	10.76	0.28	80.00
	Consorcio 10 L	1.00	2.21		17.00	4.33	9.52		83.00
	<i>L. lecanii</i>	0.57	1.74		10.00	1.84	5.60		90.00
Dia 6	Consorcio 5 L	0.72	1.92	0.67	12.00	1.84	5.60	0.83	88.00
	Consorcio 10 L	0.43	1.53		7.00	1.19	4.24		93.00
	<i>L. lecanii</i>	0.43	1.53		7.00	1.19	4.24		93.00

Prueba de Kruskal Wallis.  $p < 0.05$  es significativo  
 N=120, n1=40, n2=40, n3=40

El oídio puede ser devastador en variedades de vid susceptibles, como la variedad Torontel y Autumn Crips. Entre los factores ambientales que limitan o favorecen su desarrollo, se encuentran la temperatura, la precipitación y la humedad relativa. Temperaturas mayores de 15 °C favorecen el desarrollo y propagación del hongo, encontrándose en el rango óptimo entre 24 y 27 °C. Por encima de 33 °C, se inhibe la germinación de los conidios. El hongo se desarrolla en condiciones de alta humedad, pero no por agua libre, es decir, el hongo no necesita agua libre en la superficie del tejido verde para que ocurra la infección. Solo requiere que la humedad relativa del aire oscile entre 40 y 95 % para que ocurra la germinación de las esporas (Carroll y Wilcox, 2003; Inia, 2016). Debe tenerse en cuenta que la liberación de ascosporas, siempre se ha asociado con períodos lluviosos en los que la precipitación acumulada osciló entre 2.0 y 58.5 mm (Ahmed, 2018). En zonas húmedas es posible que las ascosporas constituyan la principal fuente de inóculo primario mientras que, en zonas más secas, es el micelio presente en las yemas infectadas, la principal fuente de inóculo primario (Pearson y Gartel, 1985). En una revisión general, de los datos meteorológicos del CITEagroindustrial Ica, se observa que no hubo precipitaciones, la humedad relativa promedio durante el período de la investigación fue de 76 %. Respecto a la temperatura, ésta fluctuó entre 12.1 y 31.5 °C (temperatura mínima en octubre de 2022 y temperatura máxima en enero de 2023, respectivamente). Por lo tanto, la lluvia no estuvo presente, sin embargo, la humedad relativa y la temperatura fueron las ideales para la germinación de las esporas y con ello la presencia de la enfermedad durante toda la campaña evaluada.

### Tercer ensayo

La mayoría de los cultivares de *V. vinifera* son susceptibles a *P. viticola*, las zoosporas infectan los tejidos receptivos de la vid a través de los estomas en presencia de agua libre, proporcionada por las lluvias o el rocío y a temperaturas inferiores de 32 °C. Lo cual coincide con las fechas de la aparición de la enfermedad en el mes de diciembre, donde no hay lluvia, pero sí presencia de rocío y las temperaturas se mantienen debajo de los rangos que requiere el hongo para el desarrollo de la enfermedad.

El porcentaje de incidencia y severidad de *P. viticola* en hojas, no mostraron diferencia estadísticamente significativa, pero se observó que en la evaluación realizada el día cinco, la media y el porcentaje de incidencia y severidad fue igual cuando se aplicó el consorcio 1 L y cuando se aplicó oxiclورو de cobre, es decir al recibir la aplicación de 1 L del consorcio de levaduras y bacterias ácido-lácticas en 200 L de agua para aplicación y en el tratamiento con oxiclورو de cobre al 80 %, a la dosis de 2 Kg en 200 L de agua, el cual es un fungicida muy usado que inhibe la germinación de las esporas afectando la cadena respiratoria (Tabla 4). También se puede observar que desde el día cero hasta el día cinco, el porcentaje de la incidencia de la plaga baja desde 23 % a 5 %. Por el contrario, sucede con el porcentaje de severidad de la plaga, es decir en el día cero, la severidad de escala cero o sin presencia de fitopatógeno es en promedio 77 % y en el día cinco la severidad de escala cero es en promedio 95 %. Estos resultados coinciden con la investigación realizada por De Miccolis *et al.* (2022), quienes afirman que al aplicar Cerevisane, compuesto derivado de la pared celular de la cepa LAS117 de

**Tabla 4. Medias del porcentaje de incidencia y severidad en el tercer ensayo, control curativo de *P. viticola* en hojas de uva Autumn Crips en Sun Fruits Exports S.A.**

Día	Tratamiento	INCIDENCIA EN HOJA				SEVERIDAD EN HOJA			
		Media	Desviación estándar	UM	Porcentaje de incidencia de plaga	Media	Desviación estándar	UM	Porcentaje de severidad de plaga con 0%
Dia 0	Consortio	1.68	2.63	0.58	27.00	3.49	5.88	0.08	73.00
	Químico	1.45	2.51		19.00	2.06	4.37		81.00
Dia 2	Consortio	0.61	1.78	0.39	11.00	1.17	3.43	0.66	89.00
	Químico	0.38	1.44		7.00	1.07	3.80		93.00
Dia 5	Consortio	0.31	1.30	0.99	5.00	0.71	3.02	0.99	95.00
	Químico	0.31	1.30		5.00	0.71	3.02		95.00

UM= U de Mann Whitney.  $p^* < 0.05$  es significativo  
 N=150, n1=75, n2=75

*S. cerevisiae* en hojas de vid de la variedad Italia con aplicaciones a intervalos de 1 semana, demostró ser eficaz contra *P. viticola* e incluso provocó un aumento en los niveles de expresión de varios genes relacionados con las respuestas de defensa frente a patógenos fúngicos y otros estreses y la regulación a la baja de genes implicados en varios procesos relacionados con el crecimiento y desarrollo de las plantas. Los genes regulados al alza incluyeron genes que codifican (i) enzimas involucradas en el metabolismo hormonal (es decir, ácido salicílico, jasmonato, etileno) y respuestas de plantas relacionadas, (ii) compuestos de defensa (es decir, proteínas relacionadas con la patogénesis, fenilalanina amoniaco-liasa, estilbeno sintasas, lipoxigenasa, proteínas quinasas similares a receptores de repeticiones ricas en leucina, proteínas de transferencia de lípidos vegetales no específicas, proteínas quinasas de serina-treonina involucradas en la transducción de señales, superóxido dismutasa y glutatión *S*-transferasa implicada en la respuesta al estrés oxidativo), (iii) metabolitos secundarios (es decir, fenilpropanoides, terpenoides, lignina) y (iv) procesos fotosintéticos (recolección de luz, proteínas de unión a clorofila A/B y componentes de los fotosistemas). Por lo tanto, *Cerevisane* producto de *S. cerevisiae* puede ser una herramienta útil en los programas de protección contra *P. viticola* destinados a reducir el uso de fungicidas sintéticos y prevenir la resistencia a los fungicidas. Así, también los resultados de la presente investigación coinciden con lo expresado por Markello *et al.* (2022), quienes afirman que el control de *P. viticola* se basa principalmente en el uso de cobre y fungicidas sintéticos, pero que actualmente existe un interés creciente en el desarrollo de bioplaguicidas microbianos para el control del *P. viticola* en la viticultura integrada y orgánica. Investigaron la efectividad del agente de biocontrol bacteriano *Lysobacter capsici* AZ78, y mostraron que fue

igualmente efectivo que el fungicida de referencia (Kocide®2000) para controlar el *P. viticola* en hojas y racimos, demostrando que esta bacteria tiene potencial para desarrollarse aún más como biopesticida comercial (Markello *et al.*, 2022) y que este consorcio a base de levaduras y bacterias ácido-lácticas también van por el mismo camino.

Para el control de *E. necator* y *P. viticola* se recomienda además de las aplicaciones fitosanitarias realizar control cultural, el cual debe tenerse en cuenta desde el momento de la instalación de las plantas, la selección de un sitio abierto, la orientación de las filas para favorecer la circulación del aire y la búsqueda de los rayos del sol para penetrar directamente en toda la planta de vid no solo pueden disminuir la incidencia y la gravedad de la enfermedad, pero también ayudan a aumentar la cobertura de los compuestos que se aplican para controlar este hongo (Berkett, 2019).

Por otro lado, el tratamiento químico aplicado mostró un efecto inhibitorio al detener el crecimiento del hongo *E. necator* y *P. viticola*. La mayoría de los fungicidas sintéticos actúan al inhibir la biosíntesis de esteroides en la membrana plasmática, lo que resulta en la alteración de la formación y estructura celular y también inhibiendo el mecanismo de división celular, al interrumpir la biosíntesis de tubulina y el huso mitótico (Jiménez-Reyes *et al.*, 2019). Por el contrario, las levaduras producen enzimas hidrolíticas, compuestos orgánicos volátiles y biosíntesis de toxinas llamadas micocinas (Hatoum *et al.*, 2012). Las cepas de las bacterias ácido-lácticas producen diferentes clases de compuestos químicos. Entre ellos, el grupo de las bacteriocinas es el mejor estudiado, las cuales inhiben el crecimiento y la reproducción de una variedad de bacterias y son los metabolitos primarios más prometedores para desarrollar fármacos antibióticos. Además, las bacteriocinas pueden inhibir

la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas. Se dividen en dos categorías. El primero son los antibióticos, que contienen lantionina o la ausencia de lantionina. El *Lactobacillus lactis* del grupo de lantionina causa daño celular en bacterias Gram-positivas. La segunda categoría de bacteriocinas es Helveticin M y Helveticin J, producidas por *L. crispatus* y *L. helveticus*. Ambas bacteriocinas se utilizan como conservantes de alimentos (Raman *et al.*, 2022).

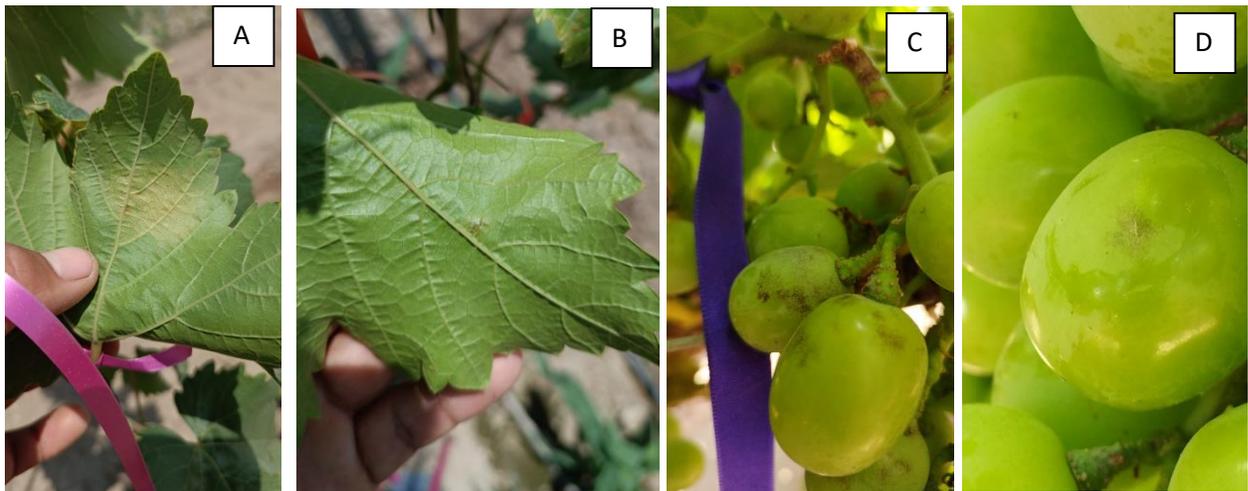
Las propiedades antifúngicas de las bacterias ácido-lácticas han sido corroboradas con numerosas investigaciones mediante ensayos *in vitro* o en campo. Se ha reportado que *L. brevis* y *L. lactis* han sido utilizadas con éxito juntas para el control del patógeno *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* (Xap) causante de la mancha aceitosa del granado. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* PB6, *Lactobacillus brevis* PFR77 y *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* PFL9 en condiciones de laboratorio son potentes antagonistas del fitopatógeno reduciendo la infección en frutos. En condiciones de campo, el índice de severidad de la enfermedad varió entre 4.61 % a 21.38 % cuando se utilizaron solas o con la adición de estreptociclina, resultando ser una alternativa para el control de dicha enfermedad (Gajbhiye *et al.*, 2023).

En resumen, el control de las infecciones de la vid por el *E. necator* y *P. viticola* se convierte en un desafío con las opciones de agentes de control biológico, porque los productores de vid se han acostumbrado a

usar productos químicos alternando sólo con ingredientes activos y no incluyendo productos como bioplaguicidas o extractos vegetales. Esto produce en ocasiones la presencia de residuos al final de la cosecha, limitando la calidad de la fruta para el consumo de la población y para el comercio internacional, el cual es muy estricto respecto a los límites máximos de residuos de plaguicidas.

Nuestros resultados sugieren que el consorcio a base de levaduras y bacterias ácido-lácticas deberían incluirse dentro de los programas fitosanitarios y usarse con mayor frecuencia para el control de *E. necator* y *P. viticola*, ya que existen diversas investigaciones que muestran la eficacia de las levaduras y bacterias ácido-lácticas para el control de fitopatógenos y no solo se limita a ello su función, sino que también generan aumento de genes que codifican enzimas involucradas en el metabolismo hormonal, compuestos de defensa, proceso fotosintético y metabolismo secundario (De Miccolis *et al.*, 2022).

El uso de los bioplaguicidas se considera una tecnología limpia contraria al uso de fungicidas de origen químico, que nos ayuda a no tener problemas de residuos de plaguicidas en la fruta, garantizan la salud del consumidor y la distribución final a los usuarios en beneficio del agricultor, también protege la fauna benéfica de los campos de cultivos y a la población aledaña a los mismos.



**Figura 2.** A: Daño de *Plasmopara viticola* en hojas de vid de la variedad Autumn Crisp B: fitopatógeno controlado después de la aplicación. C: Daño de *Erysiphe necator* en bayas de vid de la variedad Autumn Crisp D: fitopatógeno controlado después de la aplicación.



**Figura 3.** Racimos infectados con *Erysiphe necator* de la categoría 0 -1- 2 – 3 – 4 – 5 en CITE agroindustrial, Ica.

### CONCLUSIONES

El consorcio microbiano formado por levaduras y bacterias ácido-lácticas aplicado de manera preventiva en uva Torontel en estado fenológico de cuajado controló la aparición de *E. necator*. En racimos de uva Autumn Crips, la dosis de 10 L del consorcio microbiano resultó igual al tratamiento con *L. lecanii*, otro microorganismo también usado como agente de control biológico. En plantas en formación de la variedad Autumn Crips, la dosis de 1 L del consorcio microbiano resultó igual que el tratamiento químico para el control de *P. viticola*. Este estudio demostró que las levaduras y bacterias ácido-lácticas tienen potencial para su uso en el manejo integrado de estos hongos, siendo menos dañino para el medio ambiente.

#### Agradecimientos

Al CITEagroindustrial, Ica del Instituto Tecnológico de la Producción, por el aporte no monetario para la participación de su investigador Ph.D. Hanna Cáceres Iparraquirre. Al Dr. Hernando Martín Campos Martínez, Rector de la Universidad Autónoma de Ica, por donar las cepas utilizadas en la investigación y compartir parte de los resultados sin publicar de la investigación que realiza en su casa de estudios.

**Funding.** We thank Pro Innovate Peru for financing this research, PIMEN-16-P-814-183-20.

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no conflict of interest in carrying out this research. The Autonomous University of Ica

voluntarily shares part of the unpublished results of its research for this article.

**Compliance with ethical standards.** The authors declare that they have complied with national and international regulations for the management and control of pests, the protection of the phytosanitary applicator operator, and the protection of biodiversity.

**Data availability.** Dataset are available with the corresponding author upon reasonable request

**Author contribution statement (CRediT).** H. Cáceres, conceptualization, investigation, writing-original draft, review, editing and supervision; L. Bendezú, conceptualization, methodology and investigation; J.L. Santos, investigation; E. Huamán, data curation and formal analysis.

### REFERENCES

- Abdel-Rahim, I.R. and Abo-Elyousr, K.A.M., 2017. Using of endophytic *Saccharomycopsis fibuligera* and thyme oil for management of gray mold rot of guava fruits. *Biological Control*, 110, pp.124–131. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.04.014>
- Abouloifa, H., Rokni, Y., Bellaouchi, R., Ghabbour, N., Karboune, S., Brasca, M., Sallah, R.B., Chihib, N.E., Saalaoui, E. and Asehrou, A., 2020. Characterization of probiotic properties of antifungal *Lactobacillus* strains isolated

- from traditional fermenting green olives. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12, pp.683-696. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09543-8>
- Agrawal, T. and Kotasthane, A.S., 2012. Chitinolytic assay of indigenous *Trichoderma* isolates collected from different geographical locations of Chhattisgarh in Central India. *SpringerPlus*, 1(1), pp.73. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-1-73>
- Ahmed, M.F.A., 2018. Evaluation of some biocontrol agents to control Thompson Seedless grapevine powdery mildew disease. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28(1), pp.93. <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0098-0>
- Al-Malkey, M.K., Ismeel, M.C., Al-Hur, F.J.A., Mohammed, S.W. and Nayyef, H.J., 2017. Antimicrobial effect of probiotic *Lactobacillus* spp. on *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Contemporary Medical Sciences*, 3(10), pp. 218-223. <https://doi.org/10.22317/jcms.v3i10.169>
- Al-Shammari, R.H. and Majeed, H.Z., 2016. Efficiency of Lactic Acid Bacteria as biological control agents against some Fungi. *Al-Mustansiriyah Journal of Science*, 27(2), pp.35-40. [pdf] Disponible en: <http://iasj.net/iasj/article/114359> [Consultado 10 Enero 2023].
- Bartkiene, E., Ruzauskas, M., Bartkevics, V., Pugajeva, I., Zavistanaviciute, P., Starkute, V., Zokaityte, E., Lele, V., Dauksiene, A. and Grashorn M., et. al., 2020. Study of the antibiotic residues in poultry meat in some of the EU countries and selection of the best compositions of lactic acid bacteria and essential oils against *Salmonella enterica*. *Poultry Science*, 99(8), pp.4065-4076. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.05.002>
- Belkar, Y.K and Gade, R.M., 2012. Compatibility of fluorescent *Pseudomonas* with beneficial microorganisms. *Journal of Plant Disease Sciences*, 7(2), pp. 269-270.
- Berkett, L. and Cromwell, M., 2019. Oídio de la Vid (Powdery Mildew of Grapes) [Online]. Disponible en: <https://grapes.extension.org/oidio-de-la-vid-powdery-mildew-of-grapes/> [Consultado 10 enero 2023].
- Bulit, J. and Lafon, R., 1978. Powdery mildew of the vine: The Powdery Mildews. New York: Academic Press.
- Cáceres, H., Siguas-Guerrero, J., Sotomayor-Parán, R., y Soto-Cordova, M., 2021. Actividad antifúngica de extractos vegetales contra *Erysiphe necator* en el cultivo de vid en condiciones de campo en la región Ica-Perú. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 24(46), pp.1-12. <https://doi.org/10.56369/tsaes.3481>
- Campbell, P., Bendek, C., Torres, R., Donoso, A. and Latorre, B.A., 2007. The risk assessment index in grape powdery mildew control decisions and the effect of temperature and humidity on conidial germination of *Erysiphe necator*. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 4, pp.522-532. [pdf] Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2486896> [Consultado 10 Enero 2023].
- Carroll, J.E., and Wilcox, W.F., 2003. Effect of humidity on the development of grapevine powdery mildew. *Phytopathology*, 93(9), pp.1137-1144. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.9.1137>
- Chen, P.H., Chen, R.Y. and Chou, J.Y., 2018. Screening and evaluation of yeast antagonists for biological control of *Botrytis cinerea* on strawberry fruits. *Microbiology*, 46(1), pp.33-46. <https://doi.org/10.1080/12298093.2018.1454013>
- Chen, X., Wang, Y., Gao, Y., Gao, T. and Zhang, D., 2019. Inhibitory abilities of *Bacillus* isolates and their culture filtrates against the gray mold caused by *Botrytis cinerea* on postharvest fruit. *The Plant Pathology Journal*, 35(5), pp.425-436. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.03.2019.0064>
- Chinazor, N., Oladele C., Olufunke, A. and Temitope, S., 2019. Antagonistic activity of Lactic Acid Bacteria bioactive molecules against fungi isolated from onion (*Allium cepa*). *EC Microbiology*, 15, pp.318-327.
- Dalié, D.K.D., Deschamps, A.M. and Richard-Forget, F., 2010. Lactic acid bacteria–Potential for control of mould growth and mycotoxins: A

- review. *Food Control*, 21(4), pp.370-380. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.07.011>
- De Miccolis Angelini, R.M., Raguseo, C., Rotolo, C., Gerin, D., Faretra, F. and Pollastro, S., 2022. The Mycovirome in a Worldwide Collection of the Brown Rot Fungus *Monilinia fructicola*. *Journal of Fungi*, 8(5), pp.481. <https://doi.org/10.3390/jof8050481>
- Di Francesco, A. and Mari, M., 2014. Use of biocontrol agents in combination with physical and chemical treatments: efficacy assessment. *Stewart Postharvest Review*, 1(2). <https://doi.org/10.2212/spr.2014.1.2>
- Di Francesco, A., Ugolini, L., D'Aquino, S., Pagnotta, E. and Mari, M., 2017. Biocontrol of *Monilinia laxa* by *Aureobasidium pullulans* strains: Insights on competition for nutrients and space. *International journal of Food Microbiology*, 248, pp.32-38. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.02.007>
- El peruano, 2024. Por tercer año consecutivo, Perú bate récord histórico el 2023 en exportaciones. [Online]. Disponible en:<[https://www.elperuano.pe/noticia/235293-peru-bate-record-historico-el-2023-en-exportaciones#:~:text=Los%20env%C3%A9dos%20peruanos%20al%20mundo%20arribaron%20a%20180%20destinos%2C%20de,%25%20e%20India%20\(4%25\)>](https://www.elperuano.pe/noticia/235293-peru-bate-record-historico-el-2023-en-exportaciones#:~:text=Los%20env%C3%A9dos%20peruanos%20al%20mundo%20arribaron%20a%20180%20destinos%2C%20de,%25%20e%20India%20(4%25)>)> [Consultado 10 marzo 2024].
- Farang, A.R., 2022. Effect of bud load and fruiting unit length of the Autumn Crisp grape variety on growth, yield, and fruit quality. *Alexandria Journal of Agricultural Sciences*, 67(3), pp.182-192. <https://doi.org/10.21608/alexja.2022.165806.1026>
- Ferreira-Saab, M., Formey, D., Torres, M., Aragon, W. and Padilla E., et. al., 2018. Compounds Released by the biocontrol Yeast *Hanseniaspora opuntiae* protect plants against *Corynespora cassiicola* and *Botrytis cinerea*. *Frontiers in Microbiology*, 9, pp.e01596. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01596>
- Gadoury, D.M., Seem, R. C., Wilcox, W.F., Henick-Kling, T., Conterno, L., Day, A. and Ficke, A., 2007. Effects of diffuse colonization of grape berries by *Uncinula necator* on bunch rots, berry microflora, and juice and wine quality. *Phytopathology*, 97(10), pp.1356-1365. <https://doi.org/10.1094/PHTO-97-10-1356>
- Gajbhiye, M. and Kapadnis, B., 2018. Bio-efficiency of antifungal lactic acid bacterial isolates for pomegranate fruit rot management. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: *Biological Sciences*, 88, pp.1477-1488. <https://doi.org/10.1007/s40011-017-0891-7>
- Gajbhiye, M.H., Bankar, A.V. and Kapadnis, B.P., 2023. Lactic Acid Bacteria in the Management of Oily Spot Disease of Pomegranate. *Current Microbiology*, 80(1), pp.19. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-03113-y>
- Gao, Z., Zhang, B., Liu, H., Han, J. and Zhang, Y., 2017. Identification of endophytic *Bacillus velezensis* ZSY-1 strain and antifungal activity of its volatile compounds against *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea*. *Biological Control*, 105, pp.27-39. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.11.007>
- Gerez, C.L., Torres, M.J., De Valdez, G.F. and Rollán, G., 2013. Control of spoilage fungi by lactic acid bacteria. *Biological Control*, 64(3), pp.231-237. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.10.009>
- Gessler, C., Pertot, I. and Perazzolli, M., 2011. *Plasmopara viticola*: A review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea*, 50(1), pp.3-44.
- Ghose, T.K., 1987. Measurement of cellulase activities. *Pure Applied Chemistry*, 59, pp.257-268. <https://doi.org/10.1351/pac198759020257>
- Giobbe, S., Marceddu, S. and Scherm, B., et al., 2007. The strange case of a biofilm-forming strain of *Pichia fermentans*, which controls *Monilinia* brown rot on apple but is pathogenic on peach fruit. *FEMS Yeast Research*, 7(8), pp.1389-1398. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2007.00301.x>

- Google (s.f.). Vista satelital de Google Maps del Fundo La Caravedo, de la empresa Don Luis y de la empresa San Fruits en el departamento y provincia de Ica-Perú]. Recuperado el 2 de enero del 2024.
- Hatoum, R., Labrie, S. and Fliss, I., 2012. Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: from fundamental to novel applications. *Frontiers in Microbiology*, 3, pp.421. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00421>
- Hasan, S., Gupta, G., Anand, S., Chaturvedi, A. and Kaur, H., 2013. Biopotential of microbial antagonists against soilborne fungal plant pathogens. *International Journal of Agriculture and Food Science Technology*, 4(2), pp.37-39.
- Hatoum, R., Labrie, S., and Fliss, I., 2012. Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: from fundamental to novel applications. *Frontiers in Microbiology*, 3, pp.421. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00421>
- Hazir, S., Shapiro-Ilan, D.I., Bock, C.H. and Leite, L.G., 2017. Trans-cinnamic acid and *Xenorhabdus szentirmaii* metabolites synergize the potency of some commercial fungicides. *Journal of invertebrate Pathology*, 145, pp.1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2017.03.007>
- Horsfall, J.G. and Heuberger, J.W., 1942. Measuring magnitude of a defoliation disease in tomatoes. *Phytopathology*, 32, pp.226-232.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática., 2024. Producción de uva aumentó 27,6% en noviembre 2023 [Online]. Disponible en: <<https://m.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/noticias/nota-de-prensa-n-011-2024-inei.pdf>> [Consultado 10 marzo 2024].
- Instituto de Investigaciones Agropecuarias., 2016. Oídio de la vid (Anamorfo. *Oidium tuckeri* Berk. Teleomorfo. *Uncinula necator* (Schwein.) Burril) [Online]. Disponible en: <http://web.inia.cl/sanidadvegetal/2016/11/08/oidio-de-la-vid-anamorfo-oidium-tuckeri-berk-teleomorfo-uncinula-necator-schwein-burriel/#:~:text=El%20o%C3%ADdio%20de%20la%20vid,producci%C3%B3n%20de%20uva%20de%20mesa> [Consultado 09 enero 2023].
- Ionita, A., Moscovici, M., Popa, C., Vamanu, A., Popa, O. and Dinu, L., 1997. Screening of yeast and fungal strains for lipolytic potencial and determination of some biochemical properties of microbial lipases. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 3, pp. 147-151. [https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(96\)00044-6](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(96)00044-6)
- Jess, S., Kildea, S., Moody, A., Rennick, G., Murchie, A.K. and Cooke, L.R., 2014. European Union policy on pesticides: implications for agriculture in Ireland. *Pest Management Science*, 70(11), pp.1646-1654. <https://doi.org/10.1002/ps.3801>
- Jiménez-Reyes, M.F., Carrasco, H., Olea, A. F. and Silva-Moreno, E., 2019. Natural compounds: A sustainable alternative to the phytopathogens control. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 64(2), pp. 4459–4465. <https://doi.org/10.4067/S0717-97072019000204459>
- Kamel-Madbouly, A., Abo-Elyousr, K.A.M. and Mohamed-Ismail, I., 2020. Biocontrol of *Monilinia fructigena*, causal agent of brown rot of apple fruit, by using endophytic yeasts. *Biological Control*, 144, pp.e104239. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104239>
- Kandler, O. and Weiss, N., 1986. Genus *Lactobacillus*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Bacterias ácido-lácticastimore: Williams and Wilkins.
- Kedar, S., Arun-Vashistht, M., Prashanth, A., Parveen, N., Chakraborty, S. and Sindhu, S., 2018. Isolation, partial purification, biochemical characterization and detergent compatibility of alkaline protease produced by *Bacillus subtilis*, *Alcaligenes faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa* obtained from seawater samples. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(1), pp.39–46. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.10.001>
- Kumar, D., Kumar, L., Nagar, S., Raina, C., Parshad, R. and Kumar, V., 2012. Screening, isolation and production of lipase/esterase producing *Bacillus* sp. strain DVL2 and its potential evaluation in esterification and resolution reactions. *Archives of Applied Science Research*, 4(4), pp.1763-1770.

- Kurtzman, C.P., Fell, J.W., Boekhout, T. and Robert, V., 2011. Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of Yeasts. *The Yeasts*, 5, pp.87–110. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00007-0>
- Lamont, J.R., Wilkins, O., Bywater-Ekegård, M. and Smith, D.L., 2017. From yogurt to yield: Potential applications of lactic acid bacteria in plant production. *Soil Biology and Biochemistry*, 111, pp.1-9. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.03.015>
- Liu, J., Sui, Y., Wisniewski, M., Droby, S. and Liu, Y., 2013. Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. *International Journal of Food Microbiology*, 167(2), pp.153-160. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.09.004>
- Liu, Z., Du, S., Ren, Y., and Liu Y., 2017. Biocontrol ability of killer yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*) isolated from wine against *Colletotrichum gloeosporioides* on grape. *Journal of Basic Microbiology*, 58(1), pp.60-67. <https://doi.org/10.1002/jobm.201700264>
- Markellou, E., Kapaxidi, E., Karamaouna, F., Samara, M., Kyriakopoulou, K., Anastasiadou, P., Vavoulidou, E., Meidanis, M., Machera, K. and Mandoulaki, A., et. al., 2022. Evaluation of plant protection efficacy in field conditions and side effects of *Lysobacter capsici* AZ78, a biocontrol agent of *Plasmopara viticola*. *Biocontrol Science and Technology*, 32(8), pp.930-951. <https://doi.org/10.1080/09583157.2022.2064431>
- Massi, F., Torriani, S.F., Borghi, L. and Toffolatti, S.L., 2021. Fungicide resistance evolution and detection in plant pathogens: *Plasmopara viticola* as a case study. *Microorganisms*, 9(1), pp.119. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010119>
- Milli, A., Cecconi, D., Bortesi, L., Persi, A., Rinalducci, S., Zamboni, A., Zocatelli, G., Lovato, A., Zolla, L. and Polverari, A., 2012. Proteomic analysis of the compatible interaction between *Vitis vinifera* and *Plasmopara viticola*. *Journal of Proteomics*, 75(4), pp.1284–1302. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.11.006>
- Mohd-Azhar, S.H. and Abdulla, R., 2018. Bioethanol production from galactose by immobilized wild-type *Saccharomyces cerevisiae*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14, pp.457-465. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.04.013>
- Nashwa, S.M.A. and Abo-Elyousr, K.A.M., 2012. Evaluation of various plant extracts against the early blight disease of tomato plants under greenhouse and field conditions. *Plant Protection Science*, 48(2), pp.74–79. <https://doi.org/10.17221/14/2011-pps>
- Naz, R., Nosheen, A., Yasmin, H., Bano, A. and Keyani, R., 2018. Botanical-chemical formulations enhanced yield and protection against *Bipolaris sorokiniana* in wheat by inducing the expression of pathogenesis-related proteins. *PLoS ONE*, 13(4), pp. 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196194>
- Oro, L., Ferliziani, E., Ciani, M. and Romanazzi, G., 2014. Biocontrol of postharvest brown rot of sweet cherries by *Saccharomyces cerevisiae* Disva 599, *Metschnikowia pulcherrima* Disva 267 and *Wickerhamomyces anomalus* Disva 2 strains. *Postharvest Biology and Technology*, 96(1), pp.64-68. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.05.011>
- Oztekin, S. y Karbancioglu-Guler, F. 2024. Reclutamiento de levaduras antagonistas aisladas de uva para el biomanejo sostenible de *Botrytis cinerea* en uvas. *Seguridad Alimentaria y Energética*, 13(1), pp.1-17. <https://doi.org/10.1002/fes3.528>
- Parafati, L., Vitale, A., Restuccia, C. and Cirvilleri, G., 2017. Performance evaluation of volatile organic compounds by antagonistic yeasts immobilized on hydrogel spheres against gray, green and blue postharvest decays. *Food Microbiology*, 63, pp.191-198. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.11.021>
- Parafati, L., Vitale, A., Restuccia, C. and Cirvilleri, G., 2016. The effect of locust bean gum (LBG)-based edible coatings carrying biocontrol yeasts against *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* causal agents of postharvest decay of mandarin fruit. *Food*

- Microbiology*, 58, pp.87-94.  
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.03.014>
- Pearson, R.C. and Gartel, W., 1985. Occurrence of hyphae of *Uncinula necator* in buds of grapevine. *Plant Disease*, 69(2), pp.149-151.  
<https://doi.org/10.1094/PD-69-149>
- Qiu, W., Feechan, A. and Dry, I., 2015. Current understanding of grapevine defense mechanisms against the biotrophic fungus (*Erysiphe necator*), the causal agent of powdery mildew disease. *Horticulture Research*, 2, pp.15020.  
<https://doi.org/10.1038/hortres.2015.20>
- Raman, J., Kim, J.S., Choi, K.R., Eun, H., Yang, D., Ko, Y.J. and Kim, S.J., 2022. Application of lactic acid bacteria (LAB) in sustainable agriculture: Advantages and limitations. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14), pp.e7784.  
<https://doi.org/10.3390/ijms23147784>
- Ren, D., Stenlokke, J., de la Cruz, C., Bergmark, L., Sorensen, S. and Burmolle, M., 2013. High-throughput screening of multispecies biofilm formation and quantitative PCR-Based assessment of individual species proportions, useful for exploring interspecific bacterial interactions. *Microbacterias ácido-lácticas Ecology*, 68(1), pp.146-154.  
<https://doi.org/10.1007/s00248-013-0315-z>
- Sathe, S.J., Nawani, N.N., Dhakephalkar, P.K. and Kapadnis, B.P., 2007. Antifungal lactic acid bacteria with potential to prolong shelf-life of fresh vegetables. *Journal of Applied Microbiology*, 103(6), pp.2622-2628.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03525.x>
- Schnürer, J. and Magnusson, J., 2005. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), pp. 70-78.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.014>
- Sosa-Zuniga, V., Martínez-Barradas, V., Espinoza, C., Tighe-Neira, R., Valenzuela, Á.V., Inostroza-Blancheteau, C. and Arce-Johnson, P., 2022. Characterization of physiological and antioxidant responses in Run1Ren1 *Vitis vinifera* plants during *Erysiphe necator* attack. *Frontiers in Plant Science*. 13, pp.964732.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.964732>
- Spadaro, D. and 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), pp.185-194.  
[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00380-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00380-5)
- Teather, R., Wood, P., 1982. Use of congo red – polysaccharide interaction in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Applied and Environmental Microbiology*, 43(4), pp.777-780.  
<https://doi.org/10.1128/aem.43.4.777-780.1982>
- Toffolatti, S.L., De Lorenzis, G., Costa, A., Maddalena, G., Passera, A., Bonza, M. C., Pindo, M., Stefani, E., Cestaro, A. and Casati, P., et al., 2018. Unique resistance traits against downy mildew from the center of origin of grapevine (*Vitis vinifera*). *Scientific Reports*, 8, pp. e12523.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-30413-w>
- Toffolatti, S.L., De Lorenzis, G., Brilli, M., Moser, M., Shariati, V., Tavakol, E., Maddalena, G., Passera, A., Casati, P. and Pindo, M., et al., 2020. Novel aspects on the interaction between grapevine and *Plasmopara viticola*: Dual-rna-seq analysis highlights gene expression dynamics in the pathogen and the plant during the battle for infection. *Genes*, 11(3), pp.261.  
<https://doi.org/10.3390/genes11030261>
- Trias-Mansilla, R., Bañeras-Vives, L., Montesinos-Seguí, E. and Badosa-Romañó, E., 2008. Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi. *International Microbiology*, 11, pp.231-236.  
<https://doi.org/10.2436/20.1501.01.66>
- Tsioka, A., Psilioti, K., Poulaki, E., Papoutsis, G., Tjamos, G. y Gkizi, D., 2024. Estrategias de biocontrol contra *Botrytis cinerea* en viticultura: evaluación de la eficacia y el modo de acción de cepas de levadura enológica seleccionadas, *Letters in Applied Microbiology*, 77(3) ovae026,  
<https://doi.org/10.1093/lambio/ovae026>
- Wang, X., Glawe, D.A., Kramer, E., Weller, D. and Okubara, P.A., 2018. Biological control of *Botrytis cinerea*: interactions with native vineyard yeasts from Washington State.

- Phytopathology*, 108(6), pp.691-701.  
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-17-0306-R>
- Wheeler, B.E.J., 1969. An introduction to plant disease. New York: John Wiley & Sons Ltd.
- Zebboudj, N., Yezli, W., Hamini-Kadar, N. and Kihal, M., 2020. Antifungal activity of lactic acid bacteria against *Fusarium* species responsible for tomato crown and root rots. *Environmental and Experimental Biology*, 18, pp.7-13.  
<https://doi.org/10.22364/eeb.18.02>
- Zaferanloo, B., Quang, T.D., Daumoo, S., Ghorbani, M.M., Mahon, P.J. and Palombo, E.A., 2014. Optimization of protease production by endophytic fungus, *Alternaria alternata*, isolated from an Australian native plant. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(6), pp.1755–1762.  
<https://doi.org/10.1007/s11274-014-1598-z>
- Zhang, P., Zhu, Y., Ma, D., Xu, W., Zhou, J., Yan, H., Yang, L. and Yin, J., 2019. Screening, identification, and optimization of fermentation conditions of an antagonistic endophyte to wheat head blight. *Agronomy*, 9(9), pp.476.  
<https://doi.org/10.3390/agronomy9090476>
- Zhou, Y., Zhang, L. and Zeng, K., 2016. Efficacy of *Pichia membranaefaciens* combined with chitosan against *Colletotrichum gloeosporioides* in citrus fruits and possible modes of action. *Biological Control*, 96, pp.39-47.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.02.001>