

Zimevit: un biofungicida que combina la acción de una bacteria y una levadura para el control del moho gris de la vid ocasionado por *Botrytis cinerea*.

Zimevit: a biofungicide that combines the action of one bacteria and one yeast for the control of gray mold of grape caused by *Botrytis cinerea*.

MONDINO, Pedro¹; CASANOVA, Leticia¹; CALERO, Graciela²; BETANCUR, Oscar³; ALANIZ, Sandra¹

1 Unidad de Fitopatología, Facultad de Agronomía, Montevideo - Uruguay, pmond@fagro.edu.uy, leticasa1@gmail.com, salaniz@fagro.edu.uy; 2 Escuela Superior de Vitivinicultura, Universidad del Trabajo del Uruguay, El Colorado Canelones - Uruguay, mairuag@gmail.com; 3 Departamento de Estadística y Cómputo, E.E.M.A.C, Paysandú - Uruguay, obent@fagro.edu.uy

RESUMO: *Botrytis cinerea*, provoca pérdidas importantes en la producción de vid. Zimevit, un biofungicida desarrollado en Uruguay que combina la acción de una bacteria (*Bacillus subtilis*, UYBC38) y una levadura (*Metschnikowia pulcherrima*, M26) fue evaluado a campo en las variedades Cabernet Franc y Gewurztraminer. Los tratamientos fueron: Zimevit; iprodione como tratamiento convencional y agua como testigo. En los tres ensayos efectuados la aplicación de Zimevit resultó en una menor incidencia y severidad del moho gris en los racimos al momento de la cosecha sin diferenciarse del fungicida iprodione. El hecho de que Zimevit haya logrado reducir tanto la incidencia como la severidad de la enfermedad estaría demostrando la existencia de un doble efecto inhibitorio, tanto sobre la germinación de esporas como sobre el desarrollo posterior de la enfermedad. Si bien se recomienda realizar nuevas evaluaciones para conocer su comportamiento en años con clima favorable al desarrollo de la enfermedad, puede afirmarse que Zimevit aparece como una herramienta potencial a ser usada en sistemas de manejo integrado del moho gris de la vid en Uruguay.

PALABRAS CLAVE: *Botrytis cinerea*; control biológico; moho gris; Zimevit

ABSTRACT: *Botrytis cinerea*, causes significant losses in grapes production. Zimevit, a biological product developed in Uruguay that combines the action of a bacterium (*Bacillus subtilis*, UYBC38) and the yeast (*Metschnikowia pulcherrima*, M26), was tested in field in the varieties Cabernet Franc and Gewurztraminer. The treatments were: Zimevit, iprodione as conventional treatment, and water as untreated control. In the three tests carried, Zimevit application resulted in a lower incidence and severity of gray mold on grapes at harvest. No statistically significant differences were observed between the Zimevit and iprodione treatments. The decrease in the incidence and severity would indicate that Zimevit has a double inhibitory effect on *B. cinerea*, both on spores germination and disease development. This effect is attributed to the combined action of *M. pulcherrima* and *B. subtilis*. In spite of that further evaluations are needed in years with favorable conditions to disease development, Zimevit appears as a tool with potential for use in integrated management systems of gray mold of grapes in Uruguay.

KEY WORDS: biological control; *Botrytis cinerea*; grey mold.; Zimevit

Correspondências para: pmond@fagro.edu.uy

Aceito para publicação em 20/04/2012

Introducción

La viticultura en Uruguay ocupa 8.000 ha con aproximadamente 27 millones de plantas. La producción de uva en el año 2010 superó los 110 millones de kilogramos y se destina en su mayoría a la elaboración de vino (INAVI, 2010). El principal desafío de los viticultores consiste en lograr una producción de muy alta calidad, cuidando el medio ambiente y la salud del consumidor. El moho gris causado por *Botrytis cinerea* Pers.:Fr causa podredumbres de los racimos, provocando pérdidas importantes en la producción e interfiriendo con la fermentación, afectando el sabor y color del vino.

El manejo de *B. cinerea* basado en el uso de fungicidas de síntesis química ha demostrado no ser sustentable, debido a la facilidad con que las poblaciones de *B. cinerea* se han tornado resistentes a los principales grupos químicos utilizados (POMMER & LORENZ, 1982; ELAD et al., 1991; LATORRE et al., 1994). En trabajos recientes se pudo constatar la resistencia a fungicidas por parte de *B. cinerea* en Uruguay (GEPP et al., 2011). Por otra parte, la mayor conciencia y conocimiento público sobre los efectos negativos del uso de fungicidas en el medio ambiente y en la salud de aplicadores y consumidores se ha visto reflejado en las regulaciones gubernamentales que han restringido fuertemente su uso. Las mayores restricciones impiden la aplicación de fungicidas especialmente durante el período de precosecha. Es precisamente durante este período, que las uvas maduran y se tornan más susceptibles a la infección por *B. cinerea* (ELMER & REGLINSKI, 2006).

Las limitaciones del control químico del moho gris de la vid han obligado al desarrollo de métodos culturales y biológicos que, incorporados en sistemas de manejo integrado (MI), permitan minimizar las pérdidas. El control biológico aparece como una herramienta promisoria y factible de ser utilizada en estos sistemas, debido entre otras cosas, a que los agentes de biocontrol son

percibidos como poco agresivos sobre el medio ambiente. A su vez, al poseer complejos modos de acción, su riesgo de generar resistencia es menor. El hecho de que existan diversos productos biológicos para el control de *B. cinerea* que han alcanzado la etapa comercial muestra que es posible lograr un control exitoso. Algunos de los géneros de microorganismos que han mostrado poseer potencial para el bicontrol de *B. cinerea* son *Trichoderma* y *Clonostachys* entre los hongos filamentosos (HARMAN et al., 1996; LATORRE et al., 1997; SUTTON et al., 1997; COTA et al., 2008), *Bacillus* y *Pseudomonas* entre las bacterias (WALKER et al., 2001; JACOBSEN et al., 2004) y *Cryptococcus*, *Pichia* y *Candida* entre las levaduras (XIANG-HONG et al., 2010; LIMA et al., 1998; NUNES, et al., 2002; MASIH et al., 2000; KARABULUT et al., 2003; GARMENDIA et al., 2005). Las levaduras tienen la capacidad de colonizar las superficies de las plantas y las heridas por largos períodos bajo condiciones de muy baja humedad y antagonizan a los patógenos mediante la competencia por espacios y nutrientes (SCHENA et al., 2000; MERCIER & WILSON 1994). En el caso de las bacterias como *Bacillus* y *Pseudomonas* su principal modo de acción parece ser la producción de antibióticos (ANJAIAH 2004; HANG et al., 2005).

Si bien el control biológico de *B. cinerea* en ensayos de campo ha tenido resultados erráticos, eso se explica entre otros factores, por la variabilidad natural del ambiente en el campo. Para mejorar la efectividad del control biológico se han propuesto diversos mecanismos entre los cuales se encuentra la combinación de agentes de biocontrol con modos de acción complementarios (GUETSKY et al., 2001; ELMER & REGLINSKI, 2006).

Aplicaciones foliares tanto de bacterias como de levaduras saprófitas han demostrado ser efectivas en el control de *B. cinerea* (ELAD et al., 1994; MAGNIN-ROBERT et al., 2007; LIU et al., 2010). Bacterias y levaduras pueden aplicarse en forma conjunta debido a que poseen requerimientos

ecológicos y nutricionales diferentes entre sí. Por otra parte los mecanismos mediante los cuales ejercen su acción biocontroladora son diferentes y su aplicación simultanea ha mostrado tener un efecto sinérgico en el control de *B. cinerea* (NUNES et al., 2002; CALVO et al., 2003).

Zimevit es un producto biológico desarrollado en Uruguay que combina las acciones de una bacteria y una levadura, aisladas a partir de muestras de suelo de un viñedo y de la superficie de las uvas respectivamente. La bacteria es una cepa de *Bacillus subtilis* (cepa UYBC38) y la levadura fue identificada como *Metschnikowia pulcherrima* (cepa M26). Ambos aislamientos demostraron ser fuertemente inhibitorios del crecimiento de *B. cinerea* in vitro y no interfieren con las levaduras responsables de la fermentación para la producción de vino (RABOSTO et al., 2006).

B. cinerea tiene la capacidad de establecerse en los restos florales durante el período de floración de la vid, luego al crecer el racimo queda protegido dentro del mismo (infecciones latentes). Finalmente cuando las uvas maduran, se tornan susceptibles a la invasión de este hongo (ELMER & MICHAELIDES, 2004). Esta característica del ciclo de *B. cinerea* en la uva, define los momentos de aplicación: floración, previo al cierre del racimo y envero. La aplicación de agentes de control biológico tiene por objetivo lograr que los antagonistas se instalen y colonicen los sitios de infección antes de que arribe el patógeno (Mondino, 2006).

La variedad Cabernet Franc es apropiada para zonas frías por su temprana maduración; presenta racimos de tamaño mediano-pequeño con una compacidad media, las bayas son de tamaño pequeño y contienen un grosor de piel medio. Estas características le otorgan alta sensibilidad al moho gris. Gewurztraminer es una variedad de uva de color rosado y especialmente aromática y de sabor cítrico, originaria de Europa central empleada para la elaboración de ciertos vinos blancos de calidad.

Presenta racimos pequeños y compactos lo que dificulta la aireación de las bayas haciéndolos muy sensibles a *B. cinerea*, a pesar del grueso tamaño de la piel de la uva.

El presente trabajo tiene por objetivo evaluar el uso del biofungicida Zimevit que combina la acción de una cepa de la bacteria *Bacillus subtilis* con una cepa de la levadura *Metschnikowia pulcherrima*, en ensayos de campo para el control del moho gris occasionado por *Botrytis cinerea* en uva de las variedades Cabernet Franc y Gewurztraminer.

Materiales y métodos

Localización de los ensayos y variedades de uva utilizadas

Los ensayos fueron realizados en viñedos pertenecientes a la Escuela Superior de Vitivinicultura, Universidad del Trabajo del Uruguay, Ruta 48 km 18, El Colorado Canelones. Coordenadas 34° 42` 48 S y 56° 14` 56 O. El primer ensayo se realizó durante la temporada 2008-2009 en la variedad Cabernet Franc y los dos siguientes durante la temporada 2009-2010 en las variedades Cabernet Franc y Gewurztraminer.

Ambos viñedos son conducidos en espaldera de 1,5m de altura, guiada por 3 alambres sostenidos por postes de madera separados 8m entre ellos. La orientación de la filas es Norte Sur y el marco de plantación 1m entre plantas por 3m entre filas.

Tratamientos efectuados, forma y momentos de aplicación

En los tres ensayos se efectuaron los siguientes tratamientos: 1) biofungicida Zimevit (Laboratorio Santa Elena, Montevideo, Uruguay) a una concentración de 300mL 100L⁻¹ de agua, 2) fungicida Rovral (iprodione) (Rovral Aquaflo, Bayer, 500g i.a. L⁻¹) a una concentración de 150mL 100L⁻¹ de agua como tratamiento convencional y, 3) agua como testigo sin aplicación.

En cada ensayo se utilizaron 6 filas de 80m. Cada fila posee 10 tramos de 8m delimitados por

postes de madera. Los tramos terminales de cada fila se excluyeron del ensayo para eliminar el efecto de borde. Cada tratamiento estuvo compuesto por tres repeticiones. Cada repetición se compuso por cuatro tramos consecutivos evaluándose solamente los dos tramos centrales. Los tratamientos fueron asignados mediante sorteo aleatorio.

En cada tratamiento la aplicación de los productos se realizó en forma manual mediante máquina de mochila aplicando directamente a la zona de los racimos hasta lograr el punto de goteo, en los estadios fenológicos de floración, estadio de "arveja" y envero.

Evaluación de los ensayos

Al inicio de la cosecha se evaluó incidencia y severidad en la totalidad de los racimos de los dos tramos centrales de cada tratamiento. Para evaluar incidencia se consideró que un racimo se encontraba enfermo si poseía al menos una baya afectada. Para la evaluación de la severidad se utilizó una escala visual que diferencia entre siete valores de porcentaje de infección: 1, 5, 10, 20, 30, 50 y 75% (CHAMBRE D'AGRICULTURE GIRONDE, 2000). El uso de la escala visual fue entrenado previamente y una sola persona realizó la evaluación, mientras que otra anotaba los datos de forma de minimizar errores debido a la subjetividad del evaluador.

Análisis de los resultados

Los valores de incidencia se analizaron utilizando un modelo lineal generalizado asumiendo una distribución binomial y la función de enlace logit, mientras que los valores de severidad mediante un modelo lineal generalizado asumiendo una distribución multinomial y la función de enlace logit acumulativa. En ambos casos las medias fueron comparadas mediante el test Tukey con un valor de $P \leq 0,05$. Todos los análisis se efectuaron el paquete estadístico SAS 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC. USA)

Resultados y discusión

Los resultados de incidencia y severidad de *B. cinerea* en racimos de uva de los tres ensayos efectuados, se muestran en la Tabla 1.

La aplicación de Zimevit resultó en una menor incidencia del moho gris en los racimos al momento de la cosecha comparado con el tratamiento testigo en los tres ensayos efectuados. Con excepción del ensayo 3, las diferencias entre las medias resultaron estadísticamente significativas.

En los tres ensayos las aplicaciones de Zimevit redujeron la severidad de la enfermedad en los racimos afectados. En todos los casos la reducción lograda resultó estadísticamente significativa en comparación con el tratamiento testigo.

En ninguno de los 3 ensayos realizados hubo diferencias estadísticamente significativas entre las aplicaciones del producto biológico Zimevit y del fungicida iprodione tanto para la incidencia como para la severidad del moho gris. En el caso del ensayo realizado sobre la variedad Gewurztraminer el valor de severidad obtenido fue menor incluso, al logrado mediante el fungicida iprodione, aunque sin diferenciarse estadísticamente de éste. Estos resultados alimentan la expectativa de uso del Zimevit en el manejo del moho gris de la vid tanto en sustitución, como en complemento del control químico en base a iprodione.

El hecho de que Zimevit haya logrado reducir tanto la incidencia como de la severidad de la enfermedad estaría demostrando la existencia de un doble efecto inhibitorio, tanto sobre la germinación de esporas como sobre el desarrollo de la enfermedad. Este efecto se debe atribuir a la acción combinada de *M. pulcherrima* y de *B. subtilis*.

Diferentes levaduras y bacterias han demostrado ser útiles para el control de *B. cinerea* en diferentes cultivos. Recientemente se ha demostrado que la aplicación de *Hanseniaspora uvarum* redujo la incidencia del moho gris en uvas

Zimevit: un biofungicida que

Tabla1: Efecto del biofungicida Zimevit (*Bacillus subtilis* + *Metschnikowia pulcherrima*) en la incidencia y severidad del moho gris causado por *B. cinerea* en uvas de las variedades Cabernet Franc y Gewurztraminer durante las zafras 2008-2009 y 2009-2010.

Ensayo	Safra	Variedad	Tratamiento	Incidencia^a	Severidad^b
1	2008-2009	Cabernet Franc	Zimevit	0,3977 b ^c	4,12 a ^c
			Rovral ^d	0,3063 b	2,07 a
			Testigo	0,6751 a	7,33 b
2	2009-2010	Cabernet Franc	Zimevit	0,4208 a	0,67 a
			Rovral	0,1180 a	0,12 a
			Testigo	0,5521 b	1,37 b
3	2009-2010	Gewurztraminer	Zimevit	0,07892 a	0,96 a
			Rovral	0,1008 a	1,87 ab
			Testigo	0,2338 a	5,58 b

^a Para evaluar la incidencia todo racimo con al menos una baya afectada se consideró enfermo.

^b Para evaluar la severidad se utilizó una escala visual que diferencia entre siete valores de porcentaje de infección 1, 5, 10, 20, 30, 50 y 75%.

^c En cada ensayo las medias en las columnas seguidas por la misma letra no se diferencian estadísticamente según el test de Tukey ($P \leq 0,05$).

^d Iprodione (500g i.a. L⁻¹)

tanto inoculadas artificialmente como por inoculación natural. Los autores del trabajo sugieren que la inhibición lograda se debe principalmente a su efecto inhibidor de la germinación de esporas y del desarrollo de las lesiones (LIU et al., 2010). En tanto que Saravanakumar et al., (2008) demostraron que la cepa MACH1 de *Metschnikowia pulcherrima* inhibe la germinación de conidios y produce degeneración del micelio de *B. cinerea*. Otros trabajos muestran que cepas de *B. subtilis* han sido capaces de antagonizar a *B. cinerea* mediante la producción de diferentes antibióticos (HANG et al., 2005). Sin embargo no se han encontrado trabajos que evalúen el potencial biocontrolador de ambos tipos de microorganismos actuando en conjunto. El

control del moho gris en uva mediante el uso de Zimevit resulta de la acción combinada de estos dos antagonistas y los ensayos realizados son los primeros evaluando este formulado comercial.

En los tres ensayos realizados la incidencia y severidad de la enfermedad resultaron ser muy bajas, menor al 1% y 5% respectivamente, lo que es consecuencia de años poco favorables al desarrollo del moho gris en racimos. Durante las dos temporadas en que se realizaron los ensayos, los eventos de lluvia fueron aislados. Durante la temporada 2008-2009 no ocurrieron precipitaciones en los meses de diciembre y enero con un periodo de 55 días consecutivos sin lluvia, mientras que durante la temporada 2009-2010 no ocurrieron lluvias luego del 7 de febrero y hasta la

cosecha. Como consecuencia no existieron periodos lo suficientemente prolongados de alta humedad relativa como para que la epidemia de *B. cinerea* alcanzase la etapa de desarrollo exponencial.

Las condiciones climáticas poco conducentes al desarrollo de la enfermedad ponen un manto de dudas acerca de qué desempeño tendría Zimevit en condiciones ambientales más favorables al desarrollo del moho gris. Esto es debido a que existiría la posibilidad de que los niveles de enfermedad hubiesen sido mayores si el patógeno hubiera tenido mejores condiciones para desarrollarse sobre la planta. Sin embargo se debe tener en cuenta que las condiciones ambientales que favorecen al patógeno también pueden potenciar la acción de estos antagonistas favoreciendo su actividad antagónica.

B. cinerea es un hongo oportunista por excelencia y su estrategia es invadir tejidos muertos o en descomposición, como los restos florales, y establecerse allí esperando la oportunidad de invadir los tejidos sanos (HOLZ et al., 2004). Es por esto que la precolonización de los órganos de la planta y de las heridas por parte de los antagonistas, es un elemento clave en el biocontrol de *B. cinerea*. La estrategia de aplicación de Zimevit durante la floración y antes del cierre de racimo procura que tanto la levadura como la bacteria antagonistas colonicen estos restos florales, compitan por ellos con *B. cinerea* y ejerzan un efecto antagónico directo sobre el patógeno. Es importante que esta acción colonizadora y antagonista la puedan ejercer cuando las condiciones ambientales sean favorables al patógeno. En nuestro caso no disponemos de información generada acerca de cuáles serían las condiciones ambientales que potencien la acción colonizadora de flores y frutos por ambos antagonistas. Lo óptimo sería que las mismas condiciones que favorecen al patógeno en forma

simultánea favorezcan también la acción de los antagonistas. Si esto fuese así, es probable que, condiciones como las ocurridas durante las dos temporadas en que se desarrollaron los ensayos, hayan perjudicado simultáneamente tanto a los antagonistas como al patógeno.

La aplicación de mezclas de antagonistas puede brindar algunas ventajas como por ejemplo la de afectar al patógeno en diferentes etapas de su desarrollo, evitando la infección o previniendo la esporulación. En este caso el producto biológico ha demostrado que impide la instalación de las infecciones reduciendo la incidencia de la enfermedad en todos los ensayos. A su vez las reducciones en la severidad logradas en los tres ensayos pueden explicarse por una menor esporulación de *B. cinerea* sobre las bayas afectadas minimizando el contagio a bayas contiguas.

Si bien las temporadas en que se realizaron los ensayos fueron desfavorables al desarrollo de la enfermedad por las esporádicas precipitaciones ocurridas, los resultados obtenidos indican que es posible pensar en la integración del biofungicida Zimevit en un programa de manejo integrado del moho gris de la vid. Sin embargo será necesario evaluar el comportamiento de este biofungicida en condiciones de mayor presión de enfermedad por lo que es recomendable repetir ensayos de campo antes de brindar una recomendación definitiva.

Agradecimientos

Todos los ensayos fueron realizados en viñedos pertenecientes a la Escuela Superior de Vitivinicultura, Universidad del Trabajo del Uruguay. Laboratorio Santa Elena formuló y cedió sin costo el Zimevit utilizado en estos ensayos. Colaboraron en los tres ensayos los estudiantes Esteban Valenzuela; Fiorella Chiola; Leonel López y Juan Porro.

Referencias Bibliográficas

- ANJAIAH, V. Biological Control Mechanisms of Fluorescent *Pseudomonas* Species involved in Control of Root Diseases of Vegetables/ Fruits. In: MUKERJI, K.G. (Ed) Fruits and Vegetables diseases. Kluwer Academic Publishers, 2004, p.453- 500.
- CALVO, J. et al. Biological control of postharvest diseases of apples by yeast mixtures. BioControl, v.48, n.5, p.579-593, 2003.
- CHAMBRE D'AGRICULTURE GIRONDE. Aide à l'estimation des dégâts de pourriture grise au vignoble. Visitado 23 agosto de 2011. Online. Disponible en Internet <http://www.titrivin.com/Bibliographie/Vigne/Botrytis-Rouge.pdf>, 2000.
- COTA, L. et al., Biological control of strawberry gray mold by *Clonostachys rosea* under field conditions. Biological Control, v.46, p.515-522, 2008.
- ELAD, Y. et al., Multiple fungicide resistance to benzimidazoles, dicarboxymides and diethofencarb in field isolates of *Botrytis cinerea* in Israel. Plant Pathology, v.41, n.1, p. 41-46, 1991.
- ELAD, Y. et al., Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. Phytopathology, v.84 n.10, p.1193-1200, 1994.
- ELMER, P.A.G.; MICHAELIDES, T.M. Epidemiology of *Botrytis cinerea* in orchard and vine crops, In: ELAD Y. et al., (eds.). *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Kluwer Academic. Dordrecht. The Netherlands. 2004, Cap. 14, p.243-272.
- ELMER, P.A.G.; REGLINSKI, T. Biosuppression of *Botrytis cinerea* in grapes, Plant Pathology, v.55, n.2, p.155-177, 2006.
- GARMENDIA, G. et al. Levaduras nativas como controladores de enfermedades postcosecha de frutas en Uruguay, Agrociencia, v. 9, n.1 y n.2, p.327-335, 2005.
- GEPP, V. et al. Resistencia a fungicidas en *Botrytis cinerea* en el Uruguay. Agrociencia, v.15, n.2, 2011 (en prensa).
- GUETSKY, R. et al. Combining biocontrol agents to reduce the variability of biological control. Phytopathology v.91, n.7, p.621-627, 2001.
- HANG, N.T.T. et al. *Bacillus subtilis* S1-0210 as a biocontrol agent against *Botrytis cinerea* in strawberries. Plant Pathol. J., v.21, n.1, p.59-63, 2005.
- HARMAN, G.E. et al. Biological and integrated control of *Botrytis* bunch rot of grape using *Trichoderma* spp. Biol. Control, v. 7, n.3, p.259-266, 1996.
- HOLZ, G. et al. The ecology of *Botrytis* on plant surfaces. In: ELAD, Y. et al. (eds.). *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. The Netherlands. 2004, Cap.2, p.9-27.
- INAVI Estadísticas del Instituto Nacional de Vitivinicultura del Uruguay, Visitado 23 agosto de 2011. Online. Disponible en Internet http://www.inavi.com.uy/sitio/home/fotos/registro_vinedos/1.pdf, 2010.
- JACOBSEN, B.J. et al. The role of bacillus-based biological control agents in integrated pest management systems: plant diseases. Phytopathology, v.94, n.11, p.1272-1275, 2004.
- KARABULUT, O.A. et al. Near-harvest applications of *Metschnikowia fructicola*, ethanol, and sodium bicarbonate to control postharvest diseases of grape in central California. Plant Disease, v.87, n.11, p.1384-1389, 2003.
- LATORRE, B. et al. Dicarboximide-resistant strains of *B. cinerea* from table grapes in Chile: Survey and characterization. Plant Disease, v.78, n.10, p.990-994, 1994.
- LATORRE, B.A. et al. Effectiveness of conidia of *Trichoderma harzianum* produced by liquid fomentation against *Botrytis* bunch rot of table grape in Chile. Crop Protection, v.16, n.3, p.209-214, 1997.
- LIMA, G. et al. Activity of the yeasts *Cryptococcus laurentii* and *Rhodotorula glutinis* against postharvest rots on different fruits. Biocontrol Science and Technology, v8, n.2, p.257-267, 1998.
- LIU, H.M. et al. Control of gray mold of grape by *Hanseniaspora uvarum* and its effects on postharvest quality parameters. Ann. Microbiol., v.60, n.1, p.31-35, 2010.
- MAGNIN-ROBERT, M. et al. Biological control of *Botrytis cinerea* by selected grapevine-associated bacteria and stimulation of chitinase and β-1,3 glucanase activities under field conditions. European Journal of Plant Pathology, v. 118, n.1, p43-57, 2007.
- MASIH, E.I. et al. Can the grey mould disease of the grape-vine be controlled by yeasts? FEMS Microbiol. Lett., v.189, n.2, p. 233-237, 2000.
- MERCIER, J.; WILSON, C.L. Colonisation of apples

- wounds by naturally occurring microflora and introduced *Candida oleophila* and their effect on infection by *Botrytis cinerea* during storage. Biological Control, v.4, n.2, p.138-144, 1994.
- MONDINO, P. Aislamiento y selección de Agentes de Control Biológico. In: MONDINO, P.; VERO, S. (Eds.) Control Biológico de patógenos de plantas. Facultad de Agronomía. Montevideo. 2006, Cap.6, p.79-90.
- NUNES, C. et al. Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on apples and pears with the combination of *Candida sake* and *Pantoea agglomerans*. J. Food Protection, v.65, n.1, p.178-184, 2002.
- POMMER, E.H.; LORENZ, G. Resistance of *Botrytis cinerea* Pers, to dicarboximide fungicides - a literature review. Crop Protection, v.1, n.2, p.221-230, 1982.
- RABOSTO, X. et al. Grapes and vineyard soils as sources of microorganisms for biological control of *Botrytis cinerea*. Am. J. Enol. Vit., v.57, n.3, p.332-338, 2006.
- SARAVANAKUMAR, D. et al. *Metschnikowia pulcherrima* strain MACH1 outcompetes *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* and *Penicillium expansum* in apples through iron depletion. Postharvest Biology and Technology v.49, n.1, p.121-128, 2008.
- SCHENA, L. et al. Molecular approaches to assist the screening and monitoring of postharvest biocontrol yeasts. Eur. J. Plant Pathol., v.106, n.7, p.681-691, 2000.
- SUTTON, J. et al. *Gliocladium roseum*, a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. Plant Disease v.81, n.4, p.316-328, 1997.
- WALKER, R. et al. The potential biocontrol agent *Pseudomonas antimicrobica* inhibits germination of conidia and outgrowth of *Botrytis cinerea*, Lett Appl Microbiol., v.32, n.5, p.346-348, 2001.