

**BIOCONTROLE PÓS-COLHEITA DA PODRIDÃO DE *Lasiodiplodia* EM FRUTOS DE MANGA
POR LEVEDURAS SAPROFÍTICAS**

**POSTHARVEST BIOCONTROL OF *Lasiodiplodia* ROT OF MANGO FRUITS BY
SAPROPHYTIC YEASTS**

Sami J. Michereff¹, Josefa B. Silva, Norma S.S. Silveira², Raquel A. Pedrosa,
Rosa L.R. Mariano¹, Luciana A. Tavares & Selma C.C.H. Tavares³

¹Departamento de Agronomia - Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife - PE. ²Departamento de Botânica, Universidade Federal de Alagoas, 57040-480, Maceió - AL. ³Centro de Pesquisa Agropecuária do Tópico Semi-Árido, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Caixa Postal 23, 56300-000 Petrolina, PE.

Recebido para publicação em 15 de julho de 1996

ABSTRACT

Among eighteen yeast isolates studied as potential agents for biocontrol of stem-end rot on mango fruits caused by *Lasiodiplodia theobromae*, five were selected for testing in relation to three pathogen concentrations (1×10^3 , 1×10^4 and 1×10^5 conidia/ml). The isolate LM-5 (*Candida marítima*) showed high control level at all pathogen concentrations. When tested against five pathogen isolates, LM-5 again demonstrated high control efficiency, and at *in vitro* test, highly inhibited *L. theobromae* spore germination. The isolate LM-5 demonstrated great potential as agent for postharvest biocontrol of mango rot.

INTRODUÇÃO

A mangueira (*Mangifera indica* L.) é infectada por diversos patógenos, em diferentes órgãos e estágios de desenvolvimento. Na fase de pós-colheita, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. (sin. *Botryodiplodia theobromae* Pat.) destaca-se como um dos patógenos mais destrutivos, causando podridão do pedúnculo e da porção basal do fruto, progredindo para a polpa, inutilizando totalmente o produto para comercialização (1, 2). A doença torna-se mais séria em pomares velhos e/ou quando programas de aplicação de fungicidas em pré-colheita reduzem a incidência e a severidade da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). As perdas podem aumentar quando os frutos são armazenados por prolongados períodos em temperaturas superiores a 28°C (3).

A podridão dos frutos causada por *L. theobromae* constitui em doença de difícil controle, podendo ser iniciada na colheita, a partir de inóculo oriundo do solo, ou se desenvolver durante o amadurecimento do fruto, a partir de infecções latentes iniciadas no campo (4). As medidas preconizadas para o controle da doença envolvem: evitar o estresse hídrico durante o desenvolvimento dos frutos e a maturação; evitar a colheita de frutos imaturos; evitar ferimentos nos frutos durante o processo de colheita; resfriar os frutos imediatamente após a colheita; armazenar em locais bem ventilados; efetuar a aplicação pré-colheita de oxiclreto de cobre e pós-colheita de procloraz; e efetuar a imersão pós-colheita de frutos em água quente (52°C) combinada com benomil por 5 minutos (3, 4). Essas medidas muitas vezes tornam-se inviáveis ou inefetivas, sendo de fundamental importância o estabelecimento de um programa de controle integrado (1).

O interesse público e científico sobre a presença de resíduos de pesticidas nos alimentos e no ambiente tem aumentado em anos recentes. Adicionalmente, o desenvolvimento de isolados

de patógenos resistentes a fungicidas pós-colheita tem contribuído para diminuir a capacidade para o controle pós-colheita de doenças de frutos (5). Nesse contexto, consideráveis esforços têm sido feitos para avaliar o potencial de microrganismos antagonistas como uma alternativa ao uso de fungicidas químicos para o controle de doenças pós-colheita em frutos de clima temperado (6, 7). Dentre os fatores que favorecem a utilização de antagonistas no controle de doenças pós-colheita de frutos, destacam-se: a facilidade no manuseio do ambiente, pois o ambiente de armazenamento é controlável; a proteção localizada, pois existe a possibilidade de adicionar o agente antagonista no local onde sua presença é necessária; e a proteção efetiva com a duração necessária, pois alguns frutos de rápido consumo necessitam de proteção por curto período (6).

As leveduras são freqüentemente utilizadas para o controle de doenças pós-colheita por possuírem diversas características favoráveis, tais como: colonização na superfície de frutos e hortaliças por um período relativamente longo em condições de baixa umidade; produção de polissacarídeos extracelulares que contribuem para a própria sobrevivência, restringindo os locais de colonização e germinação dos patógenos; rápida multiplicação e utilização de nutrientes; raramente produzem metabólitos que podem ser danosos à saúde do homem; reduzida sensibilidade aos efeitos de fungicidas comumente utilizados em tratamentos químicos (8). A utilização de leveduras tem propiciado resultados promissores no controle de doenças pós-colheita, principalmente de podridões de frutos causadas por *Botrytis cinerea* (5, 9, 10, 11, 12, 13, 14) e *Penicillium expansum* (11, 15, 16).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de isolados de leveduras no biocontrole de *L. theobromae* em manga, pelo tratamento de frutos em pós-colheita.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolamento de leveduras e preparo das suspensões. Foram coletados frutos de manga em diferentes áreas de plantio do Estado de Pernambuco onde não ocorriam sintomas de doenças causadas por *L. theobromae*. Os frutos foram lavados em água corrente e, após secagem à temperatura ambiente, fragmentos (1 cm²) da casca foram retirados, pesados (1 g) e colocados em tubos de ensaio contendo 9 ml de água de torneira esterilizada. As amostras foram submetidas à agitação em banho de ultra-som durante 10 minutos e, após agitação em "vortex", foram efetuadas diluições (10⁻¹ e 10⁻²), distribuindo-se alíquotas de 0,1 ml em placas de Petri contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA), adicionado de tetraciclina (150 ppm). Após 48 horas de incubação à temperatura de 25±2°C, as colônias isoladas foram repicadas para placas com meio BDA. Observações micromorfológicas das células leveduriformes foram efetuadas posteriormente e os isolados com as características desejadas foram repicados para tubos contendo meio BDA e conservados à temperatura de aproximadamente 5°C. As suspensões das leveduras utilizadas nos testes foram preparadas a partir de culturas com 48 horas de crescimento em placas com meio BDA. Após raspagem do crescimento, as células foram transferidas para tubos de ensaio com água destilada esterilizada e mantidas sob agitação em "vortex" por 1 minuto. A concentração das suspensões foi ajustada em hemacitômetro para aproximadamente 1x10⁸ células/ml.

Fitopatógeno e preparo do inóculo. Cinco isolados de *L. theobromae*, originalmente obtidos de frutos de manga (BT1/93, BT187/93, BT610/93, BT4494/93) e uva (BT255/93) com sintomas de podridão, foram cedidos pelo Laboratório de Fitopatologia do Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Petrolina, PE). O inóculo de *L. theobromae* foi obtido de culturas com 30 dias de idade, desenvolvidas em placas com meio

BDA sobreposto por papel de filtro esterilizado e incubadas a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ sob luminosidade constante. Os picnídios foram coletados da superfície do meio de cultura pela adição de água destilada esterilizada e raspagem, sendo a suspensão resultante submetida à agitação mecânica em liquidificador para liberação dos picnidiosporos. Após filtragem em camada dupla de gaze, a concentração dos conídios foi ajustada em hemacitômetro.

Frutos. Os frutos de manga (cv. Tommy Atkins) utilizados nos bioensaios foram adquiridos da produtora Frutifort Ltda. (Petrolina, PE). Os frutos foram colhidos no ponto de maturidade comercial e processados conforme procedimento padrão, incluindo imersão em tanque com água potável, imersão em água quente (52°C , 5 minutos), secagem, classificação e acondicionamento em embalagens.

Seleção preliminar de isolados de leveduras antagonistas a *Lasiodiplodia theobromae* em frutos de manga

Foram avaliados 11 isolados de leveduras obtidos da superfície de frutos de manga no presente estudo (LM) e sete isolados obtidos da Coleção de Culturas de Microrganismos do Laboratório de Ecologia de Fitopatógenos (Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE), originalmente isolados da superfície de frutos de pimentão (LD) (17). Os frutos de manga foram superficialmente desinfestados pela imersão em NaClO 1% por 5 minutos, lavados em água destilada esterilizada e submetidos à secagem em câmara asséptica por 30 minutos. Posteriormente, os frutos foram feridos com estilete esterilizado (cerca de 2 mm de profundidade) em quatro pontos equidistantes e 0,05 ml da suspensão de células da levedura foi depositado no ferimento. Duas horas após, os ferimentos foram inoculados com 0,01 ml da suspensão de esporos (1×10^4 conídios/ml) de *L. theobromae* (isolado BT4494/93). A testemunha consistiu de frutos com ferimentos tratados com água destilada esterilizada (sem a presença de leveduras) e inoculados com o patógeno. Os frutos foram colocados sobre placas de Petri contendo algodão hidrófilo umedecido com água esterilizada, sendo o conjunto envolvido em saco de polietileno transparente e incubado à temperatura de $30\pm 2^{\circ}\text{C}$. O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, com oito repetições, cada uma constituída por um fruto com quatro áreas feridas. A avaliação foi efetuada 10 dias após a inoculação de *L. theobromae*, pela análise da incidência de lesões.

Eficiência de isolados de leveduras sob diferentes concentrações de inóculo de *Lasiodiplodia theobromae*

Cinco isolados de leveduras (LM-2, LM-4, LM-5, LM-6, LM-9), que demonstraram previamente maior potencial como agentes de biocontrole de *L. theobromae*, e o fungicida benomil (Benlate 500, 500 g i.a./kg, Du Pont do Brasil S.A.), utilizado como padrão de controle (1.000 ppm), foram avaliados no tratamento de ferimentos em frutos de manga, em relação a três concentrações de inóculo do patógeno (isolado BT4494/93): 1×10^3 , 1×10^4 e 1×10^5 conídios/ml. O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 7×3 , com oito repetições. Os demais procedimentos e a avaliação foram efetuados conforme descrito na seleção preliminar.

Eficiência do isolado LM-5 (*Candida maritima*) sobre diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*

O isolado LM-5, considerado o melhor antagonista nos testes anteriores, foi identificado como *Candida maritima* (Spiem.) van Uden et Buck, pela Fundação Tropical de Pesquisas e

Tecnologia "André Tosello" (Campinas, SP). Este isolado e o fungicida benomil (1.000 ppm) foram avaliados quanto à eficiência no controle da podridão de frutos de manga em relação a cinco isolados do patógeno (BT1/93, BT187/93, BT255/93, BT610/93, BT4494/93), inoculados na concentrações de 1×10^4 conídios/ml. Os procedimentos foram efetuados conforme descrito na seleção preliminar. O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5×3 , com oito repetições. As avaliações da incidência de lesões foram realizadas do primeiro ao quinto dia após a inoculação de *L. theobromae* e, com os dados obtidos, foram calculadas as áreas abaixo das curvas de progresso da doença (AACPD). Os valores da AACPD foram obtidos pela integração trapezoidal $AACPD = \sum (y_i + y_{i+1})/2 \cdot d_{ti}$, onde y_i e y_{i+1} são os valores de incidência observados em duas avaliações consecutivas e d_{ti} é o intervalo de tempo entre as avaliações (18).

Eficiência do isolado LM-5 (*Candida maritima*) na inibição da germinação de conídios de *Lasiodiplodia theobromae*

A habilidade do isolado LM-5 para produzir substâncias inibidoras à *L. theobromae* (isolado BT4494/93) foi avaliada pelo método da germinação de conídios em lâmina. Sobre 0,2 ml de suspensão de conídios de *L. theobromae* (1×10^4 conídios/ml) em lâminas escavadas foram depositados 0,2 ml de suspensão de células da levedura (1×10^8 células/ml). O fungicida benomil foi utilizado na concentração de 1.000 ppm. A testemunha consistiu na deposição de 0,2 ml de água destilada esterilizada sobre a suspensão de conídios do fitopatógeno. As lâminas foram colocadas em câmara úmida e mantidas à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, em regime de luz contínua. Após seis horas de incubação, uma gota de azul de Aman foi depositada na cavidade da lâmina e procedeu-se à contagem do número de conídios germinados e não germinados, em microscópio ótico. Considerou-se como conídio germinado aquele que apresentava o comprimento do tubo germinativo, com no mínimo, duas vezes sua maior largura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos 11 isolados de leveduras da superfície de frutos de manga coletados em áreas de plantio do Estado de Pernambuco. A presença de leveduras na superfície de frutos de manga confirma as observações de JANISIEWICZ (5), de que os frutos são ricos em açúcares e outros nutrientes, resultando em uma superfície favorável ao desenvolvimento de vários microrganismos, dentre os quais as leveduras constituem o principal componente.

Dentre os 18 isolados de leveduras testados como agentes de biocontrole de *L. theobromae* em frutos de manga, cinco (LM-2, LM-5, LM-6, LM-9 e LM-11) destacaram-se como mais promissores ao proporcionarem redução superior a 50% na incidência de podridão (Figura 1). Esses isolados foram obtidos da superfície de frutos de manga, uma vez que os oriundos da coleção de culturas apresentaram baixa eficiência no controle da doença. Resultados similares foram obtidos por WISNIEWSKI *et al.* (19) quando avaliaram o controle de *B. cinerea* em maçã com a utilização de leveduras, uma vez que o melhor antagonista, oriundo da superfície de frutos, reduziu em 63% a severidade da doença, enquanto outros isolados, oriundos de coleções de culturas, reduziram a doença entre 12 e 37%.

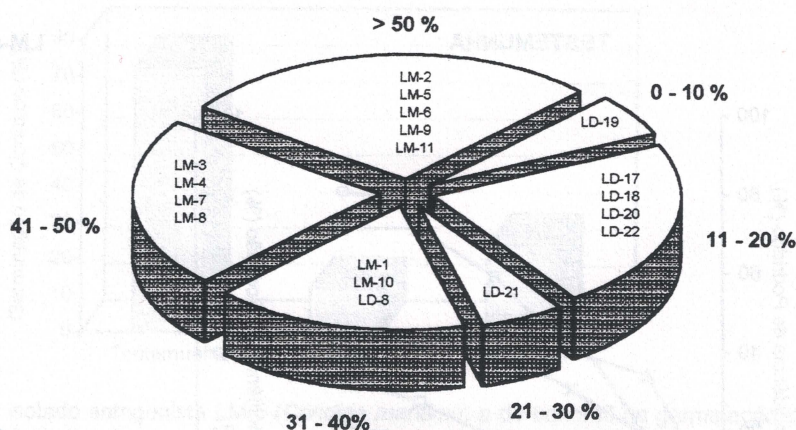


Figura 1. Seleção de isolados de leveduras (LM, LD) com potencial de biocontrole sobre *Lasiodiplodia theobromae* baseada na porcentagem de redução da incidência de podridão em frutos de manga.

Ao serem testados sob diferentes concentrações de inóculo de *L. theobromae*, os cinco isolados de leveduras mais promissores evidenciaram eficiência variável no controle da podridão em frutos de manga (Tabela 1). A redução na eficiência dos agentes de biocontrole foi proporcional ao incremento na concentração de inóculo de *L. theobromae*, assemelhando-se ao verificado em estudos (20, 21) visando o biocontrole de podridões de frutos causadas por *P. expansum* e *B. cinerea*, com a utilização de leveduras. O isolado LM-5 destacou-se como o mais efetivo, principalmente nas menores concentrações de inóculo de *L. theobromae* (10^3 e 10^4 conídios/ml), embora sem diferir significativamente dos demais isolados de leveduras. O fungicida benomil proporcionou os níveis mais elevados de controle da doença em todas as concentrações de inóculo de *L. theobromae*.

Tabela 1. Eficiência dos isolados de leveduras (LM-2, LM-5, LM-6, LM-9, LM-11) e de benomil no controle da podridão de frutos de manga sob diferentes concentrações de inóculo de *Lasiodiplodia theobromae*.

| Tratamento | Concentração de Inóculo de <i>L. theobromae</i> (conídios/ml) | | |
|------------|---|-----------------|-----------------|
| | 1×10^3 | 1×10^4 | 1×10^5 |
| Testemunha | 65,6 a ¹ | 93,8 a | 100,0 a |
| LM-2 | 46,9 ab B | 65,6 a AB | 93,8 a A |
| LM-6 | 31,2 ab B | 75,0 a A | 93,8 a A |
| LM-9 | 28,1 ab C | 62,5 a B | 96,9 a A |
| LM-11 | 28,1 ab B | 78,1 a A | 93,8 a A |
| LM-5 | 12,5 b C | 53,1 a B | 87,5 ab A |
| Benomil | 6,2 b B | 6,2 b B | 50,0 b A |

¹Porcentagem de incidência de podridão por fruto. Média de 8 repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem significativamente entre si (Tukey 5%).

Quando aplicado em fermentos de frutos de manga e confrontado com diferentes isolados de *L. theobromae*, o isolado LM-5 (*Candida marítima*) reduziu drasticamente o progresso da podridão em todas as situações (Figura 2).

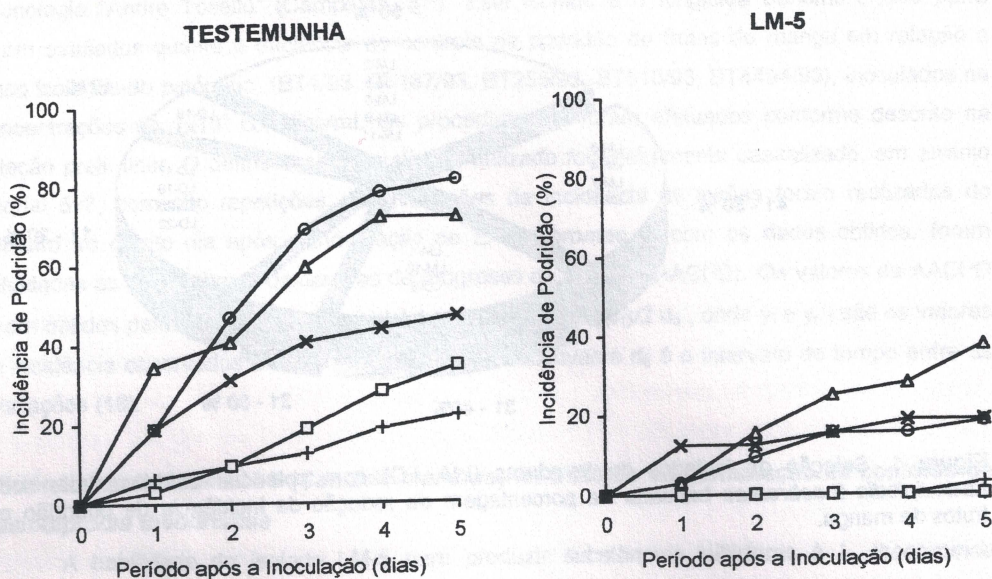


Figura 2. Curvas de progresso da podridão de frutos de manga causada por diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae* [BT1/93 (+), BT187/93 (□), BT255/93 (Δ), BT610/93 (X) e BT4494/93 (O)] em relação ao tratamento com o isolado antagonista LM-5 (*Candida maritima*).

O isolado antagonista apresentou alta eficiência no controle da doença causada pelos isolados BT187/93 e BT1/93, que demonstraram menor virulência e agressividade em relação aos demais isolados do fitopatógeno (Tabela 2). Estes resultados indicam a alta variabilidade genética de *L. theobromae*, o que pode dificultar a seleção de um isolado antagonista com ampla gama de atividade. O fungicida manteve alta eficiência no controle da doença em relação a todos os isolados do fitopatógeno.

Tabela 2. Eficiência do isolado antagonista LM-5 (*Candida maritima*) e de benomil no controle da podridão de frutos de manga causada por diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*.

| Tratamento | Isolados de <i>L. theobromae</i> | | | | |
|------------|----------------------------------|----------|----------|----------|-----------|
| | BT1/93 | BT187/93 | BT255/93 | BT610/93 | BT4494/93 |
| Testemunha | 54,7 ¹ | 75,0 | 225,0 | 148,4 | 243,8 |
| LM-5 | 1,6 | 0,0 | 89,1 | 62,5 | 51,7 |
| Benomil | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |

¹Área abaixo da curva de progresso da incidência de podridão por fruto entre o primeiro e quinto dia após a inoculação do patógeno, calculada conforme SHANER & FINNEY (18). Média de 8 repetições.

Os resultados obtidos nos testes com frutos confirmam as observações de SMILANICK (22), de que a utilização de diferentes isolados e concentrações de inóculo do fitopatógeno apresenta destacada importância entre as estratégias para a seleção de antagonistas visando o controle de doenças pós-colheita.

O isolado antagonista LM-5, além de demonstrar eficiência no controle da podridão em frutos de manga, reduziu a germinação de conídios de *L. theobromae* em lâmina, superando o obtido com o fungicida benomil (Figura 3), assemelhando-se ao constatado por ELAD *et al.* (23) na interação entre células da levedura *Rhodotorula glutinis* e conídios de *B. cinerea*.

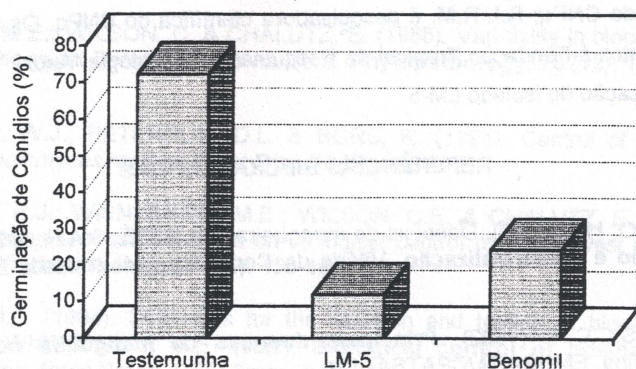


Figura 3. Efeito do isolado antagonista LM-5 (*Candida marítima*) e de benomil na germinação de conídios de *Lasiodiplodia theobromae*.

A inibição da germinação de conídios de *L. theobromae* pode estar associada ao mecanismo de competição por nutrientes, conforme verificado em vários estudos (5, 23, 24, 25), uma vez que patógenos pós-colheita de frutos são principalmente necrotróficos e dependem de nutrientes exógenos para germinação e início do processo patogênico. Leveduras antagonistas podem reduzir a disponibilidade de nutrientes e rapidamente paralisar o processo de infecção, pois, em contraste a fungos filamentosos, podem utilizar os nutrientes disponíveis, aumentando em número e colonizando a superfície rapidamente (5).

Além da competição por nutrientes, outros mecanismos, como competição por espaço e indução de mecanismos de resistência no hospedeiro (23, 24, 25), podem estar envolvidos na interação entre o isolado LM-5 e *L. theobromae* na superfície de frutos de manga, pois a participação de produtos metabólitos inibidores em interações antagonicas por leveduras não tem sido observado (24).

Segundo JANISIEWICZ (5), o modo de ação de muitos agentes biocontroladores pós-colheita não está totalmente compreendido. Esse fato é atribuído à limitada compreensão das interações entre o hospedeiro, o patógeno e o antagonista, uma vez que, para o desenvolvimento efetivo do biocontrole de doenças pós-colheita de frutos, é fundamental o entendimento da etiologia da doença, particularmente o período e os mecanismos de infecção do fruto e os fatores relacionados à severidade da doença.

Considerando as diferentes fontes de infecção de frutos de manga por *L. theobromae*, a utilização do isolado antagonista LM-5 poderia envolver duas estratégias diferentes. Na primeira, os frutos poderiam ser imersos na suspensão de células do antagonista após a lavagem, o que preveniria a infecção de ferimentos por inóculo oriundo do solo. Na segunda estratégia, considerando que *L. theobromae* pode permanecer como infecção latente até o fruto atingir o amadurecimento, poderia ser efetuado o tratamento térmico dos frutos, resfriamento e imersão na suspensão de células do antagonista, o que poderia resultar no atraso do desenvolvimento do fitopatógeno até o biocontrolador tornar-se efetivo.

Apesar do grande potencial evidenciado pelo isolado LM-5 de *C. marítima* como agente de biocontrole das podridões de frutos de manga causadas por *L. theobromae*, é de fundamental importância a realização de estudos a nível de "packinghouse" para utilização deste microrganismo na linha de produção e estocagem comercial (5).

AGRADECIMENTOS

J.B.S. e R.A.P são bolsistas de Iniciação científica do CNPq; L.A.T. é bolsista de

aperfeiçoamento do CNPq; R.L.R.M. é pesquisadora científica do CNPq. Os autores expressam seus agradecimentos à Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello", Campinas - SP, pela identificação do isolado LM-5.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. SOUZA FILHO, H.P. (1992). Doenças da mangueira. IN: JOSÉ, S.A.R.; SOUZA, I.V.B. (org.). **Manga: Produção e comercialização**. Vitória da Conquista, Universidade Estadual do Sul da Bahia. p.71-82.
02. TAVARES, S.C.C.H. (1992). **Principais doenças da mangueira no Submédio São Francisco**. Petrolina, EMBRAPA/CPATSA. 18p.
03. JOHNSON, G.I. (1994). Stem-end rot. In: PLOETZ, R.C.; ZENTMYER, G.A.; NISHIJIMA, W.T.; ROHRBACH, K.G. & OHR, H.D. **Compendium of tropical fruit diseases**. St. Paul, The American Phytopathological Society. p.39-41.
04. JOHNSON, G.I. & COATES, L.M. (1993). Postharvest diseases of mango. **Postharv. News Inform.**, 4: 27-34.
05. JANISIEWICZ, W.J. (1991). Biological control of postharvest fruit diseases. IN: ARORA, D.K.; RAI, B.; MUKERJI, D.G. & KNUDSEN, G.R. (eds.). **Handbook of applied mycology, vol 1: Soil and plants**. New York, Marcel Dekker. p.301-326.
06. WILSON, C.L. & WISNIEWSKI, M.E. (1989). Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: An emerging technology. **Annu. Rev. Phytopathol.**, 27: 425-441.
07. WILSON, C.L. & WISNIEWSKI, M.E. (1992). Future alternatives to synthetic fungicides for the control of postharvest diseases. IN: TJAMOS, E.C.; COOK, J. & PAPAVIDAS, G.C. (eds.). **Biological control of plant diseases**. New York, Plenum Press. p.133-138.
08. CHALUTZ, E. (1993) Biological control of postharvest diseases - Introduction. **Bul. OILB/SROP**, 16 (11): 93-94.
09. JANISIEWICZ, W.J. (1988). Biocontrol of postharvest diseases of apples with antagonistic mixtures. **Phytopathology**, 78 (2): 194-198.
10. JANISIEWICZ, W.; ROITMAN, J. & MACHONEY, N. (1991). Biological control of postharvest diseases of pome fruits. IN: WILSON, C. & CHALUTZ, E. (eds.). **Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables**. Washington, USDA. p.49-59.
11. JIJAKLI, M.H. & LEPOIVRE, P. (1993). Biological control of postharvest *Botrytis cinerea* and *Penicillium* on apples. **Bul. OILB/SROP**, 16 (11): 106-110.
12. ROBERTS, R.G. (1990). Postharvest biological control of gray mold of apple by *Cryptococcus laurentii*. **Phytopathology**, 80 (6): 526-530.
13. ROBERTS, R.G. (1991). Characterization of postharvest biological control of deciduous fruit diseases by *Cryptococcus* spp. IN: WILSON, C. & CHALUTZ, E. (eds.). **Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables**. Washington, USDA. p.37-41.
14. WISNIEWSKI, M.E.; BILES, C.; DROBY, S.; MCLAUGHLIN, R.; WILSON, C. & CHALUTZ, E. (1991). Mode of action of the postharvest biocontrol yeast *Pichia guilliermondii* I. characterization of attachment to *Botrytis cinerea*. **Physiol. Mol. Plant Pathol.**, 39 (3): 245-258.
15. CHALUTZ, E. & WILSON, C.L. (1990). Postharvest biocontrol of green and blue mold and sour rot of citrus by *Debaryomyces hansenii*. **Plant Dis.**, 74 (2): 134-137.
16. WILSON, C.L. & CHALUTZ, E. (1990). Postharvest biocontrol of *Penicillium* rots of citrus with antagonistic yeasts and bacteria. **Sci. Hortic.**, 40 (1): 105-112.
17. MELO, R.A.; MARIANO, R.L.R.; MICHEREFF, S.J.; MENEZES, M. & COELHO, R.S.B. (1995). Controle biológico da podridão mole do pimentão (*Capsicum annuum*) causada por *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. **Summa Phytopathol.** 21 (3-4): 206-212.
18. SHANER, G. & FINNEY, R.E. (1977). The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, 67 (10): 1051-1056.

19. WISNIEWSKI, M.E.; WILSON, C. & CHALUTZ, E. (1988). Variability in biocontrol of fruit rots among isolates of the yeast *Debaryomyces hansenii*. *Phytopathology*, 78 (12): 1592 (Abstr.).
20. JANISIEWICZ, W.J.; PETERSON, D.L. & BORS, R. (1994). Control of storage decay of apples with *Sporobolomyces roseus*. *Plant Dis.*, 78 (5): 466-470.
21. McLAUGHLIN, R.J.; WISNIEWSKI, M.E.; WILSON, C.E. & CHALUTZ, E. (1990). Effect of inoculum concentration and salt solutions on biological control of postharvest diseases of apple with *Candida* spp. *Phytopathology*, 80 (5): 456-461.
22. SMILANICK, J.L. (1994). Strategies for the isolation and testing of biocontrol agents. IN: WILSON, C.L. & WISNIEWSKI, M.E. (eds). *Biological control of postharvest diseases: Theory and practice*. Boca Raton, CRC Press. p.25-41.
23. ELAD, Y.; KÖHL, J. & FOKKEMA, N.J. (1994). Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. *Phytopathology*, 84 (10): 1193-1200.
24. DROBY, S.; WISNIEWSKI, M.; WILSON, C.; AVRAHAM, A.; SHOSEYOV, O. & CHALUTZ, E. (1993). Possible modes of action of yeast antagonists of postharvest diseases. *Bull. OILB/SROP*, 16 (11): 186-189.
25. McLAUGHLIN, R.J.; WILSON, C.L.; DROBY, S.; BEN-ARIE, R. & CHALUTZ, E. (1992). Biological control of postharvest diseases of grape, peach, and apple with the yeasts *Kloeckera apiculata* and *Candida guilliermondii*. *Plant Dis.* 76 (5): 470-473.