



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTAGONISTA DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS CONTRA O FUNGO *Botrytis cinerea*

Fernanda **Smaniotto**¹; Suikinai Nobre **Santos**²; Itamar Soares de **Melo**³; Sonia Cláudia do Nascimento de **Queiroz**⁴.

Nº 18403

RESUMO – O presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação antagonista de bactérias ácido-láticas (BAL), provenientes de formulações simbióticas comerciais e isoladas de alimentos pertencentes à Coleção de Microrganismos de Importância Agrícola e Ambiental (CMAA) da Embrapa Meio Ambiente contra o fungo *Botrytis cinerea*, causador da doença chamada “podridão cinzenta” nos vegetais. Para isso foram realizadas avaliações antagônicas pela técnica de pareamento direto em placa de Petri. Os isolados crescidos foram repicados em meio BDA e MRS com apenas duas estrias no extremo da placa, foram adicionados discos do fungo *B. cinerea* no outro extremo e as placas foram incubadas à 28 °C. Nas placas controle foram crescidos somente a linhagem do fungo modelo utilizada. Acessaram-se o total de quarenta e dois isolados e 61% destes apresentaram potencial antagônico contra o *B. cinerea*. As linhagens que apresentaram atividades positivas ao ensaio foram caracterizadas a partir da análise do perfil de ácidos graxos para classificação taxonômica, sendo classificadas como sendo dos gêneros *Paenibacillus* sp., *Bacillus* sp. e *Lactobacillus* sp.. Os microrganismos avaliados neste estudo apresentam-se como potenciais ferramentas a serem utilizadas no controle biológico do *Botrytis cinerea*, agente causador do mofo cinzento, presente nas principais cadeias de frutas e hortaliças.

Palavras-chaves: *Bactérias ácido-láticas, mofo cinzento, fitopatógeno, probiótico.*

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas, PUCC, Campinas-SP; fer_smtto@hotmail.com

2 Colaborador, Pós-Doutoranda em Agronomia, Laboratório de Microbiologia Ambiental, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariuna-SP.

3 Colaborador, Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente: Doutorado em Agronomia, ESALQ, Piracicaba-SP.

4 Orientador: Pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; sonia.queiroz@embrapa.br.



ABSTRACT – *The objective of this study was to evaluate the antagonistic action of lactic acid bacteria (BAL) from commercial and isolated symbiotic formulations of food belonging to the Collection of Microorganisms of Agricultural and Environmental Importance (CMAA) of Embrapa Environment against the fungus Botrytis cinerea, which causes the disease called "gray mold" in vegetables. For this, antagonistic evaluations were performed by direct Petri dish pairing technique. The grown isolates were spiked in BDA and MRS medium with only two streaks at the end of the plate, discs of the fungus B. cinerea were added at the other end and the plates were incubated at 28 ° C. In the control plates were grown only the strain of the fungus model used. A total of forty-two isolates were used, and 61% of these had antagonistic potential against B. cinerea. The strains that presented positive activities to the test were characterized from the analysis of the fatty acid profile for taxonomic classification, being classified as being of the genus Paenibacillus sp., Bacillus sp. and Lactobacillus sp .. The microorganisms evaluated in this study are potential tools to be used in the biological control of Botrytis cinerea, the causative agent of the gray mold, present in the main fruit and vegetable chains.*

Keywords: Acid-lactic bacteria, gray mold, phytopathogen, probiotic.

1. INTRODUÇÃO

Com o contínuo aumento da população mundial, surgiram preocupações quanto à quantidade e qualidade de alimentos disponíveis para a população. Um dos motivos para tal preocupação é a exposição frequente dos cultivos (pré e pós-colheita) à microrganismos patogênicos, os quais causam diversas doenças e como consequência há diminuição na produtividade gerando grandes perdas econômicas para os produtores (GOUVEA, 2007; SANTOS *et al.*, 2014). Assim, há necessidade de investimentos em pesquisa que visem desenvolver tecnologias que reduzam as perdas na produção dos alimentos.

Uma das doenças mais encontradas nas cadeias de frutas e hortaliças é a chamada “podridão cinzenta” ou “mofo cinzento”, causada pelo fungo *Botrytis cinerea*, que destrói o tecido vegetal (HENZ *et al.*, 2008). Este fungo é classificado como filamentoso e é muito comum nas plantações de morango (SANHUEZA *et al.*, 2008). Possui ampla distribuição, atingindo várias hortaliças e frutíferas (HAMAMM, 2011).



O tratamento e controle das doenças normalmente são feitos por fungicidas sintéticos (CALVO, CARRIDO, 2013). Estas substâncias podem ser prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente, por serem tóxicas e pela possibilidade do surgimento de cepas resistentes (GOUVEA, 2007; SANTOS *et al.*, 2014). Cada vez mais os produtores estão buscando alternativas mais seguras e saudáveis para esses produtos comerciais, optando por processos naturais (SANTOS *et al.*, 2016). Uma das alternativas é o uso de controle biológico com ação antimicrobiana, que nada mais são que microrganismos que tem objetivo de prevenir doenças (SANTOS *et al.*, 2016). Estes microrganismos exercem uma reação de antagonismos contra os patógenos, inibindo-os e por fim controlando a doença (HERMMANS, 2013).

Pode-se denominar esses microrganismos benéficos como probióticos (GRAJEK *et al.*, 2005). Para que sejam utilizados como probióticos, esses microrganismos precisam ser considerados seguros, não possuírem riscos de serem tóxicos, não causarem nenhuma doença, além de precisarem ser resistentes aos antibióticos (MATTILA-SANDHOLM, 2002). Seu uso permite alcançar uma estabilidade microbiológica, prevenir a produção de toxinas e a multiplicação de microrganismos patogênicos (DE MARTINS *et al.*, 2002). Um conjunto de microrganismos muito utilizado como probióticos são as bactérias ácido-láticas (BAL), que auxiliam na saúde, usadas em diversos alimentos (GRAJEK *et al.*, 2005). São bactérias gram positivas e altamente exigentes em seu crescimento, contribuem para a fermentação e degradação de açúcares no leite e apresentam efeitos antagonistas que impossibilitam a proliferação de outras bactérias gram positivas e outros microrganismos (KLANDER, 1983). Sua principal característica é a fermentação da glicose convertendo-a à ácido lático (HAYEK, IBRAHIN, 2013).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação antagonista de bactérias ácido-láticas (BAL) contra o fungo *Botrytis cinerea*, causador da doença chamada “podridão cinzenta”, comum nas principais cadeias produtivas de frutas e hortaliças.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Simbióticos comercializados

Para avaliar a atividade antagonista de bactérias ácido-láticas foram feitas diluições seriadas decimais de dois suplementos simbióticos comercializados, o SIMBIOFLORA®, fabricado pela FARMOQUIMICA e o suplemento HEALTHY ORIGINS PROBIOTIC 30 BILLION CFU's®, fabricado pela FloraFIT®. No simbiótico SIMBIOFLORA®, foi diluído um sachê de 6 gramas em 100 mL de solução salina estéril (0,85%), já o suplemento HEALTHY ORIGINS PROBIOTIC®



foram diluídas duas cápsulas em 100 ml de solução salina estéril (0,85%). Diluições seriadas foram realizadas a partir do material solubilizado, com plaqueamento de 100 µL das concentrações diluídas de 10^{-6} , 10^{-7} e 10^{-8} nos meios específicos para bactérias ácidos lácticas MRS e Bifidobacterium, onde seus componentes e reagentes com suas concentrações se encontram na Tabela 1. As placas resultantes foram mantidas a 26°C por 15 dias.

Tabela 1: Componentes dos meios de cultura utilizados e suas concentrações para 1L de água.

Bifidobacterium		MRS	
Reagentes	Concentração (1L)	Reagentes	Concentração (1L)
Casilone	10 g	Peptona	10 g
Extrato de carne	5 g	Extrato de carne	8 g
Extrato de levedura	5 g	Extrato de levedura	4 g
Glicose	10 g	Glicose	20 g
Fosfato de potássio	3 g	Fosfato de potássio	2 g
Tween 80	1 mL	Acetato de sódio	5 g
Solução de ácido ascórbico	25 mL	Citrato de amônia bibásico	2 g
Solução de L-cisteína	25 mL	Sulfato de magnésio	0,2 g
Ágar	20 g	Sulfato de manganês	0,038 g
Água esterilizada	Completar	Tween 80	1 mL
		Ágar	15 g
		Água esterilizada	Completar

Após o período de crescimento, os isolados foram purificados nos respectivos meios de isolamento, na temperatura de 28 °C, com crescimento de até 72 horas, para prosseguimento nos bioensaios de antagonismos.

2.2. Linhagem de Isolados de Alimentos



Em estudo prévio, isolaram-se dezoito linhagens de bactérias ácido lácticas, que encontram-se depositadas na Coleção de Cultura de Microrganismos de Importância Agrícola e Ambiental (CMAA) da Embrapa Meio Ambiente. As linhagens foram reativadas em meio LDR, inoculando 50 µL em cinco mL de caldo MRS, incubado a 28°C por 48 à 72 horas para realizar a primeira ativação. Na segunda ativação, foram inoculados 50 µL da cultura em meio MRS para um novo caldo MRS com cinco mL e incubado por 28°C, entre 48 à 72 hs. Os microrganismos crescidos foram semeados por estria de esgotamento em placas com agar MRS, a 28°C por 48 à 72 horas. A descrição das linhagens isoladas de fontes alimentares encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2. Lista das bactérias que foram reativadas e a origem do isolamento.

Linhagens Bacterianas	Fonte	Linhagens Bactérias	Fonte
CMAA 1	Leite de Cabra	CMAA 10	Repolho
CMAA 2	Leite de Cabra	CMAA 11	Repolho
CMAA 3	Leite de Cabra	CMAA 12	Repolho
CMAA 4	Leite de Cabra	CMAA 13	Repolho
CMAA 5	Leite de Vaca	CMAA 14	Leite de Cabra
CMAA 6	Leite de Vaca	CMAA 15	Leite de Cabra
CMAA 7	Leite de Vaca	CMAA 16	Mandioca
CMAA 8	Leite de Vaca	CMAA 17	Mandioca
CMAA 9	Mandioca	CMAA 18	Tomate

2.3. Avaliação de antagonismo direto *in vitro*

Para o início dos experimentos *in vitro* o fitopatógeno *B. cinerea* foi mantido em meio de cultura BDA por sete dias de incubação e os isolados bacterianos nos respectivos meios Bifidobacterium e MRS. Foi utilizada a técnica de cultura pareada, na qual um disco de 5 mm contendo o fungo foi colocado à 1,5 cm da borda da placa de petri (90 x 15 mm) em meio BDA e na outra extremidade também foram repicados os isolados bacterianos em duas estrias simples à 1,5 cm da borda da placa. Realizaram-se as leituras no sétimo e décimo quarto dia após as



inoculações. Para a avaliação foram efetuadas as medidas de diâmetro do crescimento do fungo, com o auxílio de régua milimetrada.

2.4. Caracterização bacteriana pelo perfil de ácidos graxos

As bactérias que apresentaram os melhores desempenhos antagônicos, foram identificadas pela extração de seus ácidos graxos, os quais estão presentes na estrutura da membrana celular das bactérias, podendo ser usados para definir os membros de uma comunidade microbiana (MELO, PARMA; 2007). As linhagens foram saponificadas com 1 mL do reagente de saponificação (45 g de NaOH, 150 mL de metanol e 150 mL de água deionizada) e homogenizadas vigorosamente com auxílio de agitador de tubos por 10 segundos. Os tubos foram colocados em água fervente (100°C) por 5 minutos, esfriados, homogenizados por 10 segundos e colocados novamente a 100°C por 25 minutos. Em seguida, foram adicionados 2 mL do reagente de metilação (325 mL de HCl e 275 mL de metanol), seguido de incubação em banho-maria à 80°C por 10 minutos. Os ácidos graxos presentes na fase orgânica foram separados da fase aquosa por meio de adição de 1,25 mL do reagente de extração (200 mL de hexano e 200 mL de terc-butil metil éter). A fase aquosa foi descartada e 3 mL do reagente de lavagem (10,8 g NaOH e 900 mL água deionizada) foram adicionados para limpar a fase orgânica a ser analisada. A fase orgânica, contendo os ácidos graxos, foi transferida para tubos de vidro (“vials”) apropriados para análise cromatográfica (SASSER, 1990). A análise dos ácidos graxos foi realizada por meio de cromatógrafo gasoso (Agilent GC System Serie 6850). Os perfis dos ácidos graxos obtidos foram comparados com os dados contidos na biblioteca TSBA 6 v.6.1, de junho de 2008. O índice de similaridade (IS) maior ou igual a 0,5 e separados no mínimo de 0,1 entre a primeira e a segunda identificação, foi considerado para classificar os isolados a nível específico, índices mais baixos foram considerados apenas para filiação dos isolados a níveis taxonômicos como gênero ou família.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Simbióticos comercializados

Com o produto comercial SIMBIOFLORA® foram isoladas 21 cepas bacterianas, dentre estes, 12 isolados apresentaram atividade antagonista contra o fungo *Botrytis cinerea*, onde os melhores resultados foram visualizados no meio BDA. As linhagens S3, S4, S7, S9, S14, S15, S16, S21, S22 foram identificadas como pertencentes ao gênero *Paenibacillus* sp, o isolado S8 foi identificado como o gênero *Bacillus* sp e as cepas S7, S11 e S19 não foram identificadas, talvez

pelo fato de não constarem na biblioteca do equipamento de GC-MS. Com HEALTHY ORIGINS PROBIOTIC® apenas três cepas foram isoladas (H1, H2, H3) e todas as 3 apresentaram atividade antagonista contra o mesmo fungo, mas não foi possível identificar estas bactérias por meio de seus ácidos graxos pelo mesmo motivo citado anteriormente.

3.2 Bactérias isoladas de alimentos

Dentre as 18 isoladas, 11 tiveram efeito antagônico contra o fungo *Botrytis cinerea*. De todas as bactérias com esse efeito positivo, só foi possível identificar o gênero *Lactobacillus* sp, que é considerado como bactéria ácido-lática. Nos testes de antagonismo com simbióticos comercializados, os melhores resultados visuais foram observados no meio BDA, enquanto nos ensaios com as bactérias isoladas de alimentos foram observados apenas no meio MRS, sendo este específico para o crescimento de bactérias ácido-láticas. Na Figura 1 é possível observar a inibição realizada pelas BALs no crescimento do fungo, comparando com o crescimento exponencial deste no grupo controle e constatar que o antagonismo das bactérias isoladas do simbiótico HEALTHY ORIGINS PROBIOTIC 30 BILLION CFU's® é mais visível, ou seja, tem mais influência do desenvolvimento do fungo.



Figura 1: Antagonismo das bactérias contra *Botrytis cinerea*, impedindo seu crescimento. **A:** Controle, crescimento do fungo sem nenhum limitante. **B:** Bactéria proveniente de alimentos. **C:** Bactéria isolada do simbiótico SIMBIOFLORA®. **D:** Bactéria isolada do simbiótico HEALTHY ORIGINS PROBIOTIC 30 BILLION CFU's®.



3.3. Avaliação das inibições

Levando em consideração que no controle, o fungo cresceu em toda a extensão da placa (9 cm), a eficácia dos testes foi avaliada de acordo com o quanto os fungos foram inibidos em centímetros, nos isolados de simbióticos e nos de origem alimentícia. Uma estimativa da inibição em centímetros foi realizada, classificando-os como muito inibido (+++), inibição mediana (++), pouco inibido (+) e não inibido (-) e colocado suas comparações na Tabela 3, as cepas classificadas como S representam as bactérias isoladas do simbiótico SIMBIOFLORA®, as classificadas como H do simbiótico HEALTHY ORIGINS PROBIOTIC® e com CMAA as de origem alimentícia. Não inibido é quando não houve nenhum impedimento no crescimento do fungo, pouco inibido é quando o fungo foi inibido menos de 4,5 cm, inibição mediana é quando inibiu aproximadamente 4,5 cm (metade da placa) e muito inibido é quando o fungo cresceu menos de 4,5 cm. Quase todos os isolados apresentaram uma boa resposta de inibição, variando de uma inibição mediana para muito inibido, com exceção do CMAA 1305.

Tabela 3: Classificação das inibições feitas pelas BALs de acordo com as medições de diâmetro do crescimento do fungo *Botrytis cinerea*. Não inibido (-), pouco inibido (+), inibição mediana (++) e muito inibido (+++).

LINHAGENS BACTERIANAS	INIBIÇÃO	LINHAGENS BACTERIANAS	INIBIÇÃO
CONTROLE 1	-	CONTROLE 2	-
S3	+++	H2	++
S8	+++	H3	+++
S11	++	CMAA 1313	++
S15	++	CMAA 1318	++
S16	++	CMAA 1317	++
S19	+++	CMAA 1315	++
S7	++	CMAA 1309	++
S22	+++	CMAA 1310	+++
S9	+++	CMAA 1305	+
S4	+++	CMAA 1311	++
S14	++	CMAA 1312	++
S21	++	CMAA 1316	++
H1	+++	CMAA 1319	+++



Os mecanismos antagonísticos observados podem ser resultantes de diferentes ações, como a produção de substâncias pelas bactérias que interferem no metabolismo e desenvolvimento de outro microrganismo (PASINI, 2009). Outra causa são as disputas por recursos alimentares, tendo como consequência a inibição e a diminuição da quantidade de um dos microrganismos localmente (ALVES, 2007) e disputas por espaço para crescerem, onde um dos microrganismos tende a colonizar mais rapidamente que o outro, não o deixando ocupar o local (SHARMA *et al.*, 2009). No referido experimento, todas as causas descritas podem ser relacionadas com o resultado, necessitando de novos ensaios, principalmente bioquímicos, para descobrir a natureza do antagonismo.

Outras pesquisas foram realizadas para testar as atividades antimicrobianas das bactérias ácido-láticas, como a descrita por NETO *et al.* (2005) que também isolaram BAL de alimentos (amostras de queijo de coalho), para testar o potencial antimicrobiano contra cepas de *Staphylococcus spp* e *E. coli.*, além de medirem o diâmetro dos halos de inibição ocorridas. Os gêneros resultantes do isolamento foram *Lactobacillus spp.* e *Lactococcus spp.*, na qual ambas foram capazes de inibir os patógenos usados, sendo que o gênero *Lactobacillus spp* teve melhor potencial de inibição do que o *Lactococcus spp.*. As medidas em diâmetros da inibição também variaram com excessão de uma única cultura que não inibiu, apresentando diferenças deste presente trabalho, na qual nenhuma das culturas deixaram de inibir. A finalidade da pesquisa de NETO *et al.* (2005) seria utilizar as culturas isoladas como forma de melhorar a qualidade sanitária do queijo de coalho, onde representa a mesma finalidade desse presente trabalho, que é melhorar a qualidade e segurança dos alimentos. De todas as 42 bactérias isoladas e testadas, 62% apresentaram atividade antagonística contra o fungo *Botrytis cinerea*, resultado parecido com a pesquisa feita por SCHNEIDER (2016), na qual de 88 isolados de queijo minas frescal, 40 apresentaram atividade frente a pelo menos um dos indicadores utilizados, como *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella*, onde foi comprovado pelo autor a ação antimicrobiana de *Lactobacillus* frente a microrganismos patogênicos. O que demonstra novamente a viabilidade do uso de BALs no controle de patógenos em alimentos.

O gênero *Paenibacillus* dominou os resultados do teste com o simbiótico SIMBIOFLORA®, em comparação com o gênero *Bacillus*, só encontrado em um único isolado. De acordo com Naghmouchi *et al.* (2013) o gênero *Paenibacillus* apresenta potencial probiótico devido à observação de zonas de inibição provocadas pela bactéria contra *E. coli* ATCC 25922. Mesmo com escolha de metodologias diferentes e aplicações diferentes, o gênero *Paenibacillus* mostrou eficácia na inibição dos dois patógenos e uma possível oportunidade para ser usado como



probiótico. A ação antagonista do *Bacillus* sp foi visto em outros trabalhos como é o caso do estudo do Walker *et al.* (1998), na qual testou a atividade antagonista das espécies *Bacillus brevis* e *B. Licheniformis* contra o mesmo fungo e obteve cinco isolados de *Bacillus*, de 92 isolados, que produziram zonas de inibição contra o *Botrytis cinerea*, inibindo o crescimento deste e a proliferação de suas hifas, mas no presente estudo não foi possível identificar a espécie, apenas seu gênero.

Com relação aos resultados com *Lactobacillus* sp. como antagonico, sua atividade também foi observada por Martins (2010) ao produzir zonas claras de inibição do crescimento do patógeno em meio sólido, onde todas as estirpes de *L. gasseri* apresentaram atividade antagonista contra *C. sakazakii*. Lavermicocca *et al.* (2008) também avaliou a atividade antagonista de *Lactobacillus* sp contra um patógeno (*Yersinia enterocolitica*) e todas as cepas testadas serviram como antagonistas. Esse efeito pode ser devido às bactérias ácido-láticas produzirem o ácido lático, que faz com que o metabolismo dos microrganismos sensíveis seja alterado, causando efeito bacteriostático ou bactericida (GRAJEK *et al.*, 2005), que pode ser responsável pela inibição dos patógenos (GARDE *et al.*, 2001).

4. CONCLUSÃO

Do total de bacterias avaliadas neste estudo (42 cepas), 26 (ou 61%) apresentaram efeitos positivos no antagonismo e são consideradas como potenciais probioticos, de acordo com suas características microbianas e seus efeitos no crescimento do patógeno. Devido a isso, podem ser utilizadas como ferramenta no controle biológico do *Botrytes cinerea*, agente causador do mofo cinzento, presente nas principais cadeias produtivas de frutas e hortaliças. Portanto, este trabalho sugere que pode haver um grande avanço nos setores agrícolas que investirem na utilização de bactérias ácido-láticas como forma de substituirem agentes antimicrobianos tóxicos (agrotóxicos), representando uma alternativa mais sustentável e fornecendo para a população alimentos com uma melhor qualidade e segurança quanto ao consumo.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão da bolsa de iniciação científica, às Analistas do laboratório de Microbiologia (LMA) da Embrapa Meio Ambiente Márcia Maria Parma e Juliane Fontana pelo apoio, ajuda e colaboração com as etapas da pesquisa.



6. REFERÊNCIAS

- ALVES, M. L. N. **Avaliação do potencial de leveduras dos gêneros *Pseudozyma* e *Rhodospordium* no controle biológico pós-colheita de bolores**. 2007. 121 f. Dissertação (Mestrado em Controle da Qualidade e Toxicologia dos Alimentos), Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia, 2007.
- CALVO-GARRIDO, C. et al. Biological control of Botrytis bunch rot in organic wine grapes with the yeast antagonist *Candida sake* CPA-1. **Plant Pathology**, v.62, p. 510-519, 2013.
- DE MARTINIS E.C.P.; PÚBLIO, M.R.P.; SANTAROSA, P.R.; FREITAS, F.Z. Antilisterial activity of lactic acid bacteria isolated from vacuum-packaged Brazilian meat and meat products. **Braz J Microbiol**, v. 32, n. 1, p. 32-37, 2001.
- GARDE, S.; RODRIGUES, E.; GAYA, P.; MEDINA, M.; NUÑES, M. PCR detection of the structural genes of nisin Z and lactacin 481 in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* INIA 415, a strain isolated from raw milk Manchego cheese. **Biotechnol. Lett.**, v.23, p.85-89, 2001.
- GOUVEA, A. **Controle em campo e pós-colheita de doenças e metabolismo do morangueiro após tratamento com *Saccharomyces cerevisiae***. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.
- GRAJEK, W.; OLEJNIK, A.; SIP, A. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. **Acta Biochim. Pol.**, v.52, p.665-671, 2005.
- HAMANN, F.A. **Aspectos do controle biológico de *Botrytis cinerea* Pers. Ex. Fr. Em Videira**. 2011. 83 f. Dissertação (Mestrado na área de concentração em Produção Vegetal), Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2011.
- HAYEK, S.A.; IBRAHIN, S.A. Current Limitations and Challenges with Lactic Acid Bacteria: A Review. **Scientific Research**, v.4, n. 11, 2013.
- HENZ, G. P. et al. Incidência de doenças de pós-colheita em frutos de morango produzidos no Distrito Federal. **Embrapa Hortaliças**, Brasília, 2008.
- HERMANNNS, G. **Potencial bacteriocinogênico e probiótico de bactérias lácticas isoladas de leite e queijos artesanais**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2013.
- KLANDER, O. Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. **Ant van Leuw.**, v.49, p.209224, 1983.
- LAVERMICOCCA, P; VALERIO, F; LONIGRO, S.L.; DI LEO, A.; VISCONTI, A. Antagonistic Activity of Potencial Probiotic Lactobacilli Against the Ureolytic Pathogen *Yersinia enterocolitica*. **Current Microbiology**, v.56, p.175-18, 2008.
- MARTINS, J.F.L. **Antagonismo de *Bifidobacterium* spp. e de *Lactobacillus gasserii* sobre *Cronobacter sakazakii***. 97 f. Dissertação – Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 2010.
- MATTILA-SANDHOLM, T.; et.al. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 2-3, p. 173-182, 2002.
- NAGHMOUCHI, K.; BAAH, J.; CUDENNEC, B.; DRIDER, D. Required characteristics of *Paenibacillus polymyxa* JB-0501 as potencial probiotic. **Archives of microbiology**, v.195, n. 8, p. 537-543, 2013.



12º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2018
01 a 03 de agosto de 2018 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-145-5

PASINI, J. **Tratamentos alternativos no controle de podridão pós-colheita de morangos**. 2009. 63 f. Monografia (Tecnóloga em Alimentos), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Rio Grande do Sul, Bento Gonçalves, 2009.

SANHUEZA, R. M. V.; PIT, B.; SPOLTI, P. Controle de podridões de maçãs e de morangos com *Bacillus pumilus* e *Bacillus subtilis* no Rio Grande do Sul, **XX Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Vitória, ES, 2008.

SANTOS, A. F. Ocorrência do mofo cinzento causado por *Botrytis cinerea* em grevéia. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 5, p. 386-387, 2008.

SANTOS, D.A.; OLIVEIRA, D.F.; TONIAL, I.B.; YAMAGUCHI, M.M.; COELHO, A.R. **Controle Biológico em morangos in natura**. In: OLIVEIRA, A. F.; STORTO L. J. Tópicos em ciência e tecnologia de alimentos: resultados de pesquisas acadêmicas. 1ed. São Paulo: Blucher, 2016, v. 2, p. 348, 2014.

SHARMA, R.R., SINGH, D.; SINGH, R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. **Biological Control**, v.50, p. 205–221, 2009.

WALKER, R.; POWELL, A.A.; SEDDON, B. *Bacillus* isolates from the spermosphere of peas and dwarf French beans with antifungal activity against *Botrytis cinerea* and *Pythium* species. **Joumaf of Appleid Microbiology**, v. 84, p. 791-801, 1998.

SCHNEIDER, K. **Aplicação de bactérias lácticas com ação antimicrobiana em queijo minas frescal**. 91f.. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Biotecnologia), Universidade do Oeste de Santa Catarina, RS, 2016.

NETO, L.G.G; SOUZA, M.R.; NUNES, A.C.; NICOLI, J.R.; SANTOS, W.L.M. Atividade antimicrobiana de bactérias ácido-lácticas isoladas de queijos de coalho artesanal e industrial frente a microrganismos indicadores. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 57, n. 2, p. 245-250, 2005.