Universidade: presente!

XXXI SIC

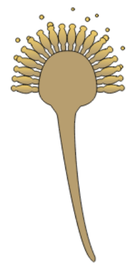
EFEITO DO USO DE *Bacillus* NO DESENVOLVIMENTO DE *Aspergillus carbonarius* E SÍNTESE DE OCRATOXINA A EM UVAS

Rafaela Diogo Silveira, Juliane Elisa Welke

Lab. Toxicologia de Alimentos
ICTA/UFRGS

INTRODUÇÃO

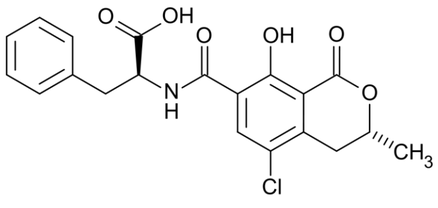
Ocorrência de fungos em uvas



Aspergillus carbonarius

Uvas Chardonnay

Produção de micotoxinas



Ocratoxina A (OTA)

Estratégias para o controle

Fungicidas sintéticos

- Resíduos indesejáveis
- Doença de Parkinson
- Leucemia
- Mieloma
- Asma

Biocontrole

- Microrganismos antagonistas
- *Bacillus*
- Reconhecido como seguro

Objetivo

✓ Avaliar diferentes cepas de *Bacillus* sp. como alternativa para controle de *A. carbonarius* em uva Chardonnay

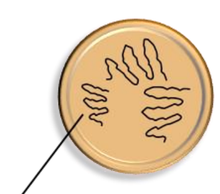
MATERIAIS E MÉTODOS

Microrganismos

✓ *Bacillus* sp. P1, *Bacillus* sp. P7, *Bacillus* sp. P11 e *Bacillus* sp. P45

✓ *Aspergillus carbonarius* ITAL293 (produtor de OTA)

Atividade antagonista



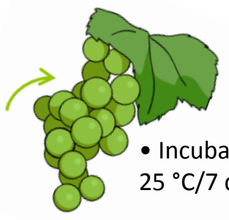
***Bacillus* spp.**

- Cultivo em ágar BHI
- 37 °C/24h

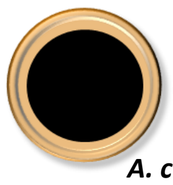
- Cultivo em caldo BHI
- 125 rpm a 37 °C/48h

Suspensão de células

(10^9 UFC mL^{-1})



- Incubação a 25 °C/7 dias



A. carbonarius

- Cultivo em ágar batata dextrose
- 25 °C/7 dias

Suspensão de esporos

(10^3 esporos mL^{-1})

Parâmetros avaliados

Crescimento fúngico

✓ Porcentagem de bagas sem desenvolvimento de *A. carbonarius*
- Critérios visuais

✓ Contagem fungos (UFC mL^{-1}):
- Diluição seriada

Produção de OTA

✓ Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção por estectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS:

Atividade antioxidante

✓ Oxidação da Glutationa (GSH)
✓ Desoxirribose
✓ ABTS
✓ ORAC

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1. Antagonismo de *Bacillus* spp. contra *A. carbonarius*

Tratamentos	Contagem fúngica (UFC mL^{-1})[a]	Redução - *A. carbonarius* (%)[b]	Imagens
***Bacillus* sp. P1**	0	100	
***Bacillus* sp. P7**	$3{,}2\ 10^4 \pm 2{,}5\ 10^2$	58	
***Bacillus* sp. P11**	ND	75	
***Bacillus* sp. 45**	ND	25	
Controle (sem *Bacillus* sp.)	$8{,}8 \times 10^6 \pm 4{,}0\ 10^4$	0	

a Valores representam as médias ± desvio padrão; b Porcentagem de bagas sem desenvolvimento de *A. carbonarius;* ND: não determinado (análise em andamento)

Tabela 2. Concentração inibitória da cepa *Bacillus* P1 como estratégia de biocontrole de *A. carbonarius*

Suspensão de células de *Bacillus* P1 (UFC mL^{-1})	Redução do crescimento (%)
10^6	0
10^7	0
10^8	75
10^9	100

Tabela 3. Efeito do uso da cepa *Bacillus* P1 como estratégia de biocontrole de *A. carbonarius*.

Tratamento	ABTS (% remoção do ABTS)	ORAC (µmol ET mL^{-1})	GSH (nMol GSH mL^{-1})	Desoxirribose (% Inibição da geração de ^{-}OH)
Controle (uva sem inoculação)	$79{,}55 \pm 1{,}0^B$	$83{,}20 \pm 4{,}0^C$	$800{,}3 \pm 5{,}7^C$	$12{,}3 \pm 2{,}77^C$
A. carbonarius	$92{,}0 \pm 0{,}2^A$	$113{,}5 \pm 0{,}7^B$	$832{,}6 \pm 8{,}61^B$	$45{,}76 \pm 1{,}50^B$
Bacillus P1	$92{,}5 \pm 0{,}4^A$	$125{,}1 \pm 2{,}0^A$	$1053{,}4 \pm 3{,}9^A$	$60{,}6 \pm 5{,}3^A$
Bacillus sp. P1 + *A. carbonarius*	$93{,}0 \pm 0{,}1^A$	$138{,}93 \pm 3{,}3^A$	$1003{,}7 \pm 3{,}1^A$	$74{,}4 \pm 7{,}0^A$

a ET: Equivalente de Trolox; Letras diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey (P<0,05), letras iguais não diferem entre si significativamente.

CONCLUSÕES

✓ A utilização de *Bacillus* para o biocontrole de *A. carbonarius* foi promissora, principalmente com a cepa P1;

✓ As uvas tratadas com a cepa P1 de *Bacillus* sp. apresentaram maior atividade antioxidante nos testes ORAC, GSH e Desoxirribose do que as uvas controle e incoluladas com *A. carbonarius*

Agradecimentos:
CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
FAPERGS
UFRGS UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL