

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Rafaela Diogo Silveira

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

Porto Alegre, 2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Rafaela Diogo Silveira

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

Trabalho de conclusão do curso de graduação apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Nutrição

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Juliane Elisa Welke

Coorientador: Dr. Flávio Fonseca Veras

Porto Alegre, 2020

CIP - Catalogação na Publicação

Silveira, Rafaela Diogo
Efeito do uso de Bacillus no desenvolvimento de
Aspergillus carbonarius e síntese de Ocratoxinas em
Uvas / Rafaela Diogo Silveira. -- 2020.
122 f.
Orientadora: Juliane Elisa Welke.

Coorientador: Flávio Fonseca Veras.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Medicina, Curso de Nutrição, Porto Alegre, BR-RS,
2020.

1. Controle biológico. 2. Micotoxinas. 3. Uva. 4.
Aspergillus carbonarius. 5. Bacillus. I. Welke,
Juliane Elisa, orient. II. Veras, Flávio Fonseca,
coorient. III. Título.

Efeito do uso de *Bacillus* no desenvolvimento de *Aspergillus carbonarius* e síntese de Ocratoxinas em uvas

Trabalho de conclusão do curso de graduação apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Nutrição

BANCA EXAMINADORA:

Prof^ª. Dr^ª. Janaína Guimarães Venzke

Prof^ª. Dr^ª. Bruna Dachery

Orientadora – Prof^ª. Dr^ª. Juliane Elisa Welke

Coorientador – Dr. Flávio Fonseca Veras

AGRADECIMENTOS

À minha família por todo suporte, amor incondicional, respeito e educação que sempre dedicaram a mim.

Às minhas amigas maravilhosas que torcem muito por mim, estão sempre ao meu lado em qualquer situação, me incentivam, e que tornaram toda a minha trajetória até então mais leve, divertida e significativa.

À minha orientadora brilhante Juliane Welke e ao meu coorientador incrível Flávio Veras por terem confiado e acreditado em mim, por terem me proporcionado tanto aprendizado, pela paciência, dedicação, parceria e amizade.

Aos alunos e servidores do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA) por estarem sempre disponíveis a atender minhas demandas, pela simpatia e comprometimento. E, principalmente, ao pessoal do laboratório 118 por me ajudarem sempre que necessário e deixarem o ambiente mais alegre e descontraído.

A esta Universidade, corpo docente, banca, direção e administração que me deram a oportunidade de aprender, que agregaram na minha formação e me deram tantas oportunidades que contribuíram para o meu desenvolvimento profissional e pessoal.

Meus mais sinceros agradecimentos a todos vocês.

RESUMO

Uvas podem ser contaminadas por fungos toxigênicos, como *Aspergillus carbonarius*, um dos principais responsáveis pela ocorrência de Ocratoxina A (OTA) em uvas. Tal micotoxina está associada a efeitos genotóxicos, teratogênicos e imunossupressores. A inibição do crescimento fúngico é considerada a melhor forma para evitar a contaminação por OTA. Neste caso, o controle de fungos é feito principalmente pela aplicação de fungicidas sintéticos, que podem trazer diversas consequências negativas, tais como: risco ocupacional, geração de resíduos no solo, na água e na própria uva, e alterar sua composição fenólica, perfil volátil, aparência e textura. Por esses motivos, alternativas de biocontrole vêm ganhando destaque na agricultura, principalmente por serem práticas mais sustentáveis para o controle de pragas e doenças. O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de quatro cepas de *Bacillus* (P1, P7, P11 e P45) em inibir o desenvolvimento de *A. carbonarius* e a síntese de OTA em uvas Chardonnay, bem como avaliar o efeito da cepa mais promissora no perfil volátil. As bagas utilizadas foram inoculadas com suspensão de células de cada *Bacillus* (10^9 UFC mL⁻¹) e com *A. carbonarius* (10^3 esporos mL⁻¹). Todas as cepas apresentaram atividade antifúngica, com destaque para a cepa P1, que demonstrou 100% de inibição fúngica e síntese de OTA. Além disso, as uvas tratadas com essa cepa de *Bacillus* apresentaram maior concentração de compostos voláteis com odores agradáveis. As cepas de *Bacillus* investigadas são potenciais agentes de controle biológico para prevenir ou reduzir a ocorrência de *A. carbonarius* em uvas, e ainda inibir a síntese de OTA, proporcionando um alimento seguro e de qualidade.

PALAVRAS-CHAVE: biocontrole, micotoxinas, uva, *Aspergillus carbonarius*, *Bacillus*, Ocratoxina A

ABSTRACT

Grapes can be contaminated by toxigenic fungi, such as *Aspergillus carbonarius*, one of the main responsible for the occurrence of Ochratoxin A (OTA) in grapes. Such mycotoxin is associated with genotoxic, teratogenic and immunosuppressive effects. The inhibition of fungal growth is considered the best way to avoid contamination by OTA. In this case, the control of fungi is done mainly by the application of synthetic fungicides, which can bring several negative consequences, such as: occupational risk, generation of residues in the soil, in the water and in the grape itself, and change its phenolic composition, volatile profile, appearance and texture. For these reasons, biocontrol alternatives have been gaining prominence in agriculture, mainly because they are more sustainable practices for the control of pests and diseases. The aim of this study was to evaluate the ability of four strains of *Bacillus* (P1, P7, P11 and P45) to inhibit the development of *A. carbonarius* and the synthesis of OTA in Chardonnay grapes, as well as to evaluate the effect of the most promising strain on the profile volatile of grapes. The berries used were inoculated with cell suspension from each *Bacillus* (10^9 CFU mL⁻¹) and with *A. carbonarius* (10^3 spores mL⁻¹). All strains showed antifungal activity, especially the strain P1, which showed 100% fungal inhibition and OTA synthesis. In addition, the grapes treated with this strain of *Bacillus* showed higher concentration of volatile compounds with pleasant odors. The *Bacillus* strains investigated are potential biological control agents to prevent or reduce the occurrence of *A. carbonarius* in grapes, and also inhibit the synthesis of OTA, providing a safe and quality food.

KEY WORDS: biocontrol, mycotoxins, grape, *Aspergillus carbonarius*, *Bacillus*, Ochratoxin A.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da Ocratoxina A (OTA).

Figura 2. Estrutura química dos lipopeptídeos Iturina, Surfactina e Fengicina.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ocorrência de *Aspergillus carbonarius* em uvas de diferentes países.

Tabela 2 – Estudos focados na utilização de *Bacillus* como biocontrole.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 JUSTIFICATIVA	15
3 OBJETIVOS	16
3.1 Objetivos gerais	15
3.2 Objetivos específicos	15
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
4.1 <i>Aspergillus carbonarius</i>	17
4.2 Ocratoxina A	19
4.3 Uso de pesticidas sintéticos em uvas	20
4.4 Estratégias de biocontrole	22
4.5 Importância do perfil volátil para a qualidade das uvas	37
5 ARTIGO ORIGINAL 1 - Effect of <i>Bacillus</i> strains on the production of Ochratoxin forms by <i>Aspergillus carbonarius</i> in grapes	41
6 ARTIGO ORIGINAL 2 - Volatile profile of the must of Chardonnay grapes treated with <i>Bacillus velezensis</i> as a biocontrol strategy for <i>Aspergillus carbonarius</i> and Ochratoxin	75
7 CONCLUSÃO	102
REFERÊNCIAS	103

1. INTRODUÇÃO

A uva é um fruto oriundo da videira pertencente ao gênero *Vitis* e à família *Vitaceae*. Mais de sessenta espécies compõem o gênero *Vitis*, sendo que a espécie mais comum é a *Vitis vinifera*, que apresenta diversas cultivares com fins distintos, como: uvas destinadas para produção de vinho, uvas de mesa e uvas para produção de passas (Embrapa, 2012).

A viticultura é uma atividade econômica recente no Brasil e o Rio Grande do Sul é o principal estado produtor de uvas para processamento (Embrapa, 2003), contribuindo com aproximadamente 90% da produção nacional de uvas. Na safra de 2018 foram colhidos, no Rio Grande do Sul, cerca de 663,2 milhões de quilogramas de uvas destinadas ao processamento, sendo essa colheita acima da média histórica dos últimos dez anos que foi de 607,5 milhões de quilogramas (Conab, 2018). Em 2019, devido às adversidades climáticas, houve uma diminuição de 10 a 15% em relação à quantidade colhida na safra de 2018 (Conab, 2019). Já em 2020 houve uma queda de 17,8% na produção geral de uva, comparada à safra de 2019. Foram colhidos 504 milhões de quilogramas de uvas, e as possíveis causas para essa redução da safra são: o excesso de chuva na floração e a seca no enchimento da baga e na maturação (Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural, 2020).

A ocorrência de fungos nas uvas durante o seu cultivo é bastante comum, destacando a presença de *Aspergillus carbonarius* e *Aspergillus niger*, os quais são reconhecidos como os principais responsáveis pela ocorrência da micotoxina denominada Ocratoxina A (OTA) nesta fruta (DACHERY et al., 2015). Esse metabólito fúngico secundário está relacionado à genotoxicidade, nefrotoxicidade, teratogenicidade e carcinogenicidade (ROCHA et al., 2014).

Na produção convencional de uvas, o controle dos fungos é feito através da aplicação de fungicidas sintéticos. O uso destes pesticidas para o controle de pragas pode levar a geração de cepas resistentes aos fungicidas (DEISING; REIMANN; PASCHOLATI, 2008), resíduos indesejáveis nas uvas após a colheita (ROMANAZZI et al., 2016), alteração do perfil volátil (ALEM et al., 2019) e da composição fenólica (OLIVA et al., 2008). O uso intensivo de fungicidas em vinhedos pode levar à contaminação do solo e da água (KOMÁREK et al., 2010), além de apresentarem risco

toxicológico em organismos-testes (principalmente em *Danio rerio*) (LI et al., 2018), promoverem hepatotoxicidade em ratos Wistar (KNEBEL et al., 2019). Além disso, a exposição crônica à fungicidas está epidemiologicamente associada ao aumento da incidência de hipertireoidismo (SHRESTHA et al., 2019), leucemia mieloide (PATEL et al., 2019) e Parkinson (NARAYAN et al., 2017).

Os agrotóxicos são utilizados para proteger as plantas contra pestes, e contribuem, significativamente, para o aumento da produtividade agrícola (NAGY et al., 2019), para a redução de perdas causadas pela ação de ervas daninhas, patógenos, pragas e insetos (AKTAR; SENGUPTA; CHOWDHURY, 2009), e para a consequente redução no preço desses produtos que serão ofertados (VEIGA, 2007). Entretanto, a exposição (dérmica, oral e inalatória) a esses compostos está relacionada à ocorrência de doenças em humanos, tais como: leucemia, mieloma e cânceres de próstata, pâncreas, pulmão e ovário (HOPPIN et al., 2017). Além disso, em 2017, 2.548 casos de intoxicação por agrotóxicos foram registrados no Brasil, envolvendo 1.195 pessoas da região sul do país (SINITOX, 2017). Devido aos eventos citados, novas estratégias de controle fúngico vêm sendo estudadas, como é o caso do controle biológico.

O biocontrole caracteriza-se pelo uso de microrganismos, parasitoides ou insetos para inibir ou diminuir o desenvolvimento de fitopatógenos e controlar a presença de insetos transmissores de doenças, além de evitar os efeitos negativos das práticas agrícolas convencionais no ambiente, promovendo segurança ocupacional, sustentabilidade e um alimento seguro (TORRES et al., 2016). No caso dos biofungicidas, sua aplicação em qualquer etapa do desenvolvimento do alimento, até mesmo no dia da colheita, confere maior vantagem em relação ao uso de fungicidas sintéticos, uma vez que estes possuem um intervalo de segurança. O mecanismo de ação desses agentes pode ser justificado pela sua capacidade de afetar o patógeno através de parasitismo, competição por nutrientes e síntese de metabólitos, como os lipopeptídeos fengicina, iturina e surfactina (CALVO et al., 2019; CAULIER et al., 2019). Hanif et al. (2019) atribuem a atividade antifúngica de *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 à síntese de Fengicina. Já Dang et al. (2019) relatam que a produção de Iturina por *Bacillus amyloliquefaciens* C2LP inibiu o crescimento de diversas espécies fúngicas, como: *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* e *Colletotrichum gloeosporioide*. A Surfactina, outro lipopeptídeo sintetizado por *Bacillus*, apresentou atividade antagonista contra *Plasmopara viticola*, em estudo conduzido por Li et al. (2019).

Diferentes cepas de *Bacillus* isoladas de intestino de peixes da região amazônica (*Potamorhina latior*, *Piaractus mesopotamicus* e *Leporinos* sp.) demonstraram o potencial como agentes antifúngicos. Experimentos *in vitro* confirmaram sua atividade antagonista, redução da germinação de esporos e da síntese de micotoxinas, além de serem capazes de produzir os lipopeptídeos citados anteriormente (VERAS et al., 2016).

As práticas agrícolas também podem afetar algumas características físico-químicas das uvas, como a composição fenólica, atividade antioxidante, perfil volátil, aparência e textura das bagas (MULERO et al., 2015). Em relação à composição das uvas, o seu perfil volátil está relacionado com a localização geográfica das videiras (KOUNDOURAS et al., 2006), tipo de solo, características climáticas (SABON et al., 2002) e variedade de uva (ARMANINO et al., 2008). O aroma é um dos fatores mais importantes relacionado à qualidade de vinhos e as práticas agrícolas podem afetar o perfil volátil das uvas (NICOLLI et al., 2018).

OLIVA et al. (2008) elucidaram que a aplicação de pesticidas sintéticos pode afetar negativamente a composição aromática de vinhos. Os vinhos que foram elaborados com uvas Monastrell na Espanha que tinham sido tratadas com os fungicidas sintéticos fluquinconazol e fenehexamida apresentaram menor concentração de ésteres etílicos e acetato de etila (aroma frutal e doce, respectivamente) do que os vinhos elaborados a partir de uvas que não receberam esses fungicidas.

Já em estudo conduzido por Escribano-viana et al. (2018), o agente de biocontrole comercial “Serenade Max”, que contém $5,3 \times 10^{10}$ UFC/mL de *Bacillus subtilis* QST 713, foi pulverizado em uvas da cultivar Tempranill. O biofungicida não afetou negativamente o perfil volátil das uvas e do vinho que foi produzido a partir das bagas tratadas, e por isso o agente natural não influenciou na qualidade de ambos. Em outro estudo, *Bacillus vanillea* XY18 foi utilizado no processo de cura de favas de baunilha. Houve um aumento na quantidade de vanilina, que é um aldeído formado a partir da hidrólise enzimática da glucovanilina (GU et al. 2015). E, por fim, Jeong et al. (2017) inocularam o *Bacillus licheniformis* em soja e verificaram um aumento nos níveis de álcoois e carbonetos, principalmente. Os voláteis obtidos em ambos os estudos são importantes para a qualidade desses alimentos, já que são compostos cuja presença é desejada tanto na soja, quanto na baunilha. Jeong et al. (2017) afirmam que bactérias “starters”, como *B. licheniformis*, podem ser utilizadas para manipular e customizar o sabor da soja fermentada, comida tipicamente japonesa. Ademais, GU et al. (2015)

relatam que o uso de *Bacillus* aumenta a síntese de vanilina sem gerar atributos sensoriais desagradáveis.

Além de apresentarem compostos aromáticos, as uvas também possuem um elevado teor de compostos fenólicos (SOMKUWAR et al., 2018), que são os responsáveis pela atividade antioxidante capaz de ter efeito protetor contra o câncer e doenças cardiovasculares (AUNE et al., 2018). Tal ação pode ocorrer através da interferência no processo de oxidação das células, quelando metais e sequestrando radicais livres (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Tendo em vista que as práticas agrícolas interferem na qualidade das uvas, Mulero et al. (2015) avaliaram como o uso de fungicidas afeta a composição fenólica e a atividade antioxidante de vinhos produzidos a partir de uvas da cultivar Monastrell. Seis soluções diferentes compostas por fungicidas comerciais foram pulverizadas nas videiras. As uvas foram colhidas e passaram por um processo de microvinificação. Após a realização dos métodos utilizando o radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e a cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês: *High Performance Liquid Chromatography*; HPLC), foi observado que as quantidades de alguns compostos fenólicos, como os flavonoides, diminuíram e a atividade antioxidante também foi menor, quando comparada com a da amostra controle.

Além de induzirem o aumento da concentração de compostos voláteis, os *Bacillus* também são capazes de elevar a atividade antioxidante. Em estudo conduzido por Yang et al. (2019) *Bacillus amyloliquefaciens* SWJS22 aumentou a quantidade de fenólicos totais e de flavonoides em farelo de soja através da ação da β -glucosidase e da protease presente nessa cepa.

Considerando os riscos que tanto o uso de pesticidas, quanto a exposição à micotoxinas pode trazer para a saúde humana, animal, e gerar danos no ambiente, faz-se necessário o estudo e a introdução de alternativas de biocontrole, como o uso de novas cepas do gênero *Bacillus*.

2. JUSTIFICATIVA

O uso de agrotóxicos está relacionado ao risco de intoxicação, principalmente ocupacional (NARAYAN et al., 2017), e ao acúmulo de resíduos químicos no ambiente (DE MICCOLIS ANGELINI et al., 2014). Portanto, cada vez mais as alternativas ao seu uso vêm sendo estudadas e utilizadas, principalmente através do emprego de agentes de biocontrole. Testes *in vitro* demonstraram que as cepas P1, P7 e P11 de *Bacillus* sp. e P45 de *Bacillus subtilis*, isoladas do intestino de peixes da Bacia Amazônica, foram promissoras na redução do crescimento micelial de *Aspergillus carbonarius* e da síntese de OTA em meio de cultura (VERAS et al., 2016).

Levando isso em consideração, uma avaliação da aplicação prática dessas bactérias se faz necessário. Desta forma, a verificação do seu efeito sobre o crescimento de fungos toxigênicos na cultivar de uva Chardonnay, sendo considerada a cultivar mais suscetível à colonização do *Aspergillus carbonarius* e acúmulo de Ocratoxina A (VERAS et al., 2020), poderia favorecer seu uso como uma alternativa de biocontrole, mais especificamente, como um biofungicida.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Verificar o potencial de *Bacillus* sp. P1, P7, P11 e *Bacillus subtilis* P45 em inibir o desenvolvimento de *Aspergillus carbonarius* e a síntese de Ocratoxina A na cultivar de uva Chardonnay.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a capacidade de cepas do gênero *Bacillus* em atuar como uma alternativa de biocontrole do desenvolvimento de *A. carbonarius* e produção de OTA em uva;
- Verificar o efeito da inoculação do *Bacillus* no perfil volátil das uvas.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 *Aspergillus carbonarius*

O fungo filamentosso *A. carbonarius* é o principal produtor de OTA em uvas. O desenvolvimento desse fungo ocorre, frequentemente, em bagas que foram danificadas durante o seu período de amadurecimento. Entretanto, *A. carbonarius* é uma espécie tão invasiva que é capaz de penetrar nas bagas mesmo quando não há danos na superfície das uvas, e em qualquer estágio de maturação. Dessa forma, cachos sem aparente desenvolvimento fúngico também podem conter OTA (GONÇALVES et al., 2020).

Em meio de cultura *Synthetic Grape Juice* (SGM, composição: glicose, frutose, ácido tartárico, ácido málico, fosfato de amônio, fosfato monopotássico, sulfato de magnésio, cloreto de sódio, cloreto de cálcio, cloreto de cobre, sulfato de ferro, sulfato de zinco, hidrato de catequina e ágar), as condições ideais para desenvolvimento de *A. carbonarius* ocorreram entre 30 a 35 °C com atividade de água entre 0,93 e 0,98 (MITCHELL et al., 2004). Entretanto, as condições ideais para a produção de OTA, analisadas em *Synthetic Nutrient Medium* (SNM) de composição semelhante ao SGM, foram 15 e 20 °C e a atividade de água de 0,95 a 0,98 (BELLÍ et al., 2004). ESTEBAN et al., (2004) verificaram que *A. carbonarius* podem se desenvolver entre 10-40 °C em meio de cultura *Yeast Extract Sucrose* (YES) composto por extrato de levedura, sacarose, sulfato de magnésio e ágar.

A ocorrência de *A. carbonarius* já foi detectada em uvas cultivadas em diversos países, conforme mostrado na Tabela 1, e a presença de OTA foi verificada em todos os estudos.

Tabela 1. Ocorrência de *Aspergillus carbonarius* e presença de OTA em cultivares de uva de diferentes países.

Cultivar	Níveis de OTA detectados (µg /g)	País	Referência
Alvarinho, Loureiro, Vinhão, Tinta Barroca, Touriga Franca e Cabernet Sauvignon	0,012 – 5,24	Portugal	(SERRA; MENDONÇA; VENÂNCIO, 2006)

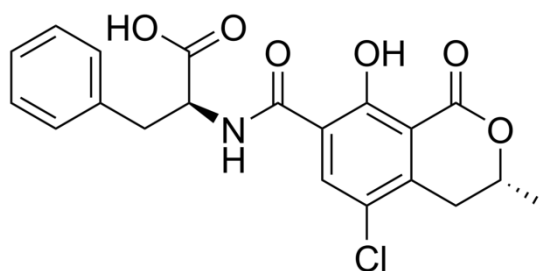
Não mencionada	0,5 - 87,5	França	(SAGE et al., 2002)
Não mencionada	8,38	Líbano	(EL KHOURY et al., 2008)
Negro Amaro, Malvasia Nero, Sangiovese, Primitivo, Verdeca e Trebbiano	< 0,001 - > 0,1	Itália	(BATTILANI et al., 2003)
Não mencionada	0,002 - > 0,04	Itália	(OLIVERI; TORTA; CATARA, 2008)
Negro Amaro	2,0 – 9,0	Itália	(COZZI et al., 2013)
Não mencionada	222,00	China	(HUANG et al., 2020)
Garnacha, Tempranillo, Bobal, Graciano, Cabernet Sauvignon, Merlot, Macabeo, Moscatel, Chardonnay e Sauvignon blanc	0,05 – 477,3	Espanha	(BELLÍ et al., 2006)
Cabernet Sauvignon, Garnatxa blanca, Macabeu, Moscatel e Palomino Fino	1,92 – 195,46	Espanha	(BAU et al., 2005)
Pinot, Cabernet Sauvignon, Tempranillo, Syrah, Merlot, Chardonnay, Xare-lo, Zalema, Chelva, Palomino, Ximénez e Montepila	263 - 2568	Espanha	(GARCÍA-CELA et al., 2015)
Xinomauro, Athiri, Cabernet Sauvignon, Sauvignon Blanc, Agiorgitiko, Athiri, Aidani, Asyrtiko, Mandilaria, Grenache Rouge, Limnio e Muscat	0 – > 0,025	Grécia	(TJAMOS; ANTONIOU; TJAMOS, 2006)
Malbec, Chardonnay, Merlot, Cabernet e Bonarda	18 - 234	Brasil	(ROSA et al., 2004)
Sultana, Zante Currant, Carina, Waltham Cross e Muscat Gordo Blanco	Não mencionado	Austrália	(LEONG et al., 2004)
Não mencionado	1,03	Eslováquia	(MIKUŠOVÁ et al., 2010)

4.2 Ocratoxina A

A OTA é um metabólito secundário produzido por fungos filamentosos toxigênicos quando há condições climáticas favoráveis, tais como temperatura e umidade, e em áreas geográficas específicas (WELKE; HOELTZ; NOLL, 2009). A exposição à OTA pode ocorrer através do consumo de alimentos contaminados por essa micotoxina, como milho (MAGNOLI et al., 2003; SEKIYAMA et al., 2005), trigo (RIBA et al., 2008), café (LEONG et al., 2007), e uva (LASRAM et al., 2007)

A OTA apresenta uma molécula de cloro em sua estrutura (Figura 1), fluorescência azul quando exposta à luz ultravioleta, além de ser solúvel em solventes orgânicos e ligeiramente solúvel em água (FRENETTE et al., 2008) A molécula de cloro presente na estrutura da OTA potencializa seu caráter tóxico (SCHMIDT-HEYDT et al., 2012), pois a torna uma substância lipossolúvel capaz de penetrar membranas celulares e se acumular nos tecidos conjuntivo, epitelial, muscular e adiposo (PÜSSA, 2008). Essa toxina também é conhecida por promover danos oxidativos através da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e formar adutos covalentes com o DNA (Ácido desoxirribonucleico) (HADJEBA-MEDJDOUB et al., 2012).

Figura 1. Estrutura química da ocratoxina A (EL KHOURY; ATOUI, 2010)



Os efeitos tóxicos dessa micotoxina estão relacionados à genotoxicidade (EDITE BEZERRA DA ROCHA et al., 2014), caracterizada pela carcinogenicidade através da indução de mutações (NOHMI, 2018), nefrotoxicidade (JECFA, 2001), relacionada à indução de morte celular no epitélio do túbulo proximal renal (RACHED et al., 2008), teratogenicidade (EL KHOURY; ATOUI, 2010), sendo capaz de atravessar a barreira placentária e se acumular nos tecidos fetais (EL KHOURY; ATOUI, 2010),

neurotoxicidade (SAVA et al., 2006), estresse oxidativo, lipoperoxidação e danos no DNA de células neurais foram observados em estudo com camundongos (SAVA et al., 2006) e imunossupressão (ROSSIELLO et al., 2008), causada pela depleção dos linfócitos e redução da atividade dos anticorpos (KUMAR et al., 2008). Além disso, em nível celular, os efeitos da OTA estão relacionados com a inibição da síntese proteica através da competição com a fenilalanina-tRNA ligase (BAYMAN; BAKER, 2006), uma vez que, a OTA é uma isocumarina ligada à uma molécula de fenilalanina (PÛSSA, 2008).

A Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classifica a OTA no grupo 2B, como possivelmente carcinogênica para humanos (IARC, 1993). O Comitê de Peritos em Aditivos Alimentares da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO)/Organização Mundial da Saúde (OMS) determinou como parâmetro de exposição segura a ingestão semanal tolerável provisória (PTWI) de 112 ng/kg de peso corporal, o que corresponde a uma exposição tolerável provisória de 16 ng/kg de peso corporal por dia (JECFA, 2007).

4.3 Uso de pesticidas sintéticos no cultivo das uvas

A ocorrência de fungos nas uvas pode ser observada durante o cultivo, colheita, transporte e armazenamento (DACHERY et al., 2016). Com o intuito de prevenir e combater a contaminação fúngica, fungicidas como Procimidona (ANVISA, 2015), Mancozebe (ANVISA, 2018), Pirimetanil (ANVISA, 2016), Famoxadona (ANVISA, 2016) e Fenamidona (ANVISA, 2015) são aplicados em diferentes estágios de maturação das uvas, e são permitidos, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para aplicação foliar, respeitando o limite máximo recomendado (LMR) e o intervalo de segurança, que é de 21 dias para o Pirimetanil e 7 dias para os demais.

Em 2018 foram registrados 450 agrotóxicos (Mapa, 2018), entre os quais encontra-se o Sulfoxaflor, classificado como medianamente tóxico (classe III), que passou a ser permitido para aplicação em uvas (ANVISA, 2018). Já em 2019, até o mês de março, 57 agrotóxicos tinham sido registrados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), sendo alguns deles, como o Piriproxifeno e o Glifosato, permitidos para aplicação em culturas de uva e classificados como

extremamente tóxicos (classe I) (Diário Oficial da União, 2019). O Glifosato apresenta risco para os trabalhadores de lavouras e para as pessoas que vivem próximo a essas áreas. Entretanto, ainda não foi classificado como carcinogênico para que o seu uso seja proibido (ANVISA, 2019). Já o Piriproxifeno está relacionado ao aumento da resistência de vários insetos, como é o caso da mosca branca (GRAFTON-CARDWELL et al., 2005), que causa danos às culturas e é vetor de várias espécies do gênero *Begomovirus* (WANG et al., 2010). Além disso, o uso de pesticidas pode levar a geração de cepas resistentes na população de patógenos (DEISING; REIMANN; PASCHOLATI, 2008), contaminação do solo e da água (KOMÁREK et al., 2010), alteração da composição fenólica (OLIVA et al., 2008) e do perfil volátil de uvas e vinhos (GARCÍA et al., 2004)

O efeito tóxico dos fungicidas é especialmente preocupante para os agricultores, bem como para a população que vive em torno dos vinhedos devido a dissipação destes produtos no ambiente após a pulverização. Estudos epidemiológicos têm demonstrado a relação entre a exposição ocupacional aos fungicidas e o aumento da incidência de hipertireoidismo em agricultores da Carolina do Norte e de Iowa, Estados Unidos (SHRESTHA et al., 2019). Leucemia mieloide aguda em crianças da *International Childhood Cancer Cohort Consortium* (Austrália, Dinamarca, Israel, Noruega e Reino Unido) cujos pais e mães se expuseram à fungicidas em Portugal (PATEL et al., 2019), doença de Parkinson nos Estados Unidos (NARAYAN et al., 2017), asma em agricultores dos Estados Unidos (HOPPIN et al., 2017), e melanoma na Itália e no Brasil (FORTES et al., 2016) são outros exemplos dos efeitos desses compostos. Entre os fungicidas usados nos vinhedos estão incluídos o captan, a piraclostrobina, hexaclorobenzeno (clorotalonil) e o tebuconazol (IBRAVIN, 2018). Estudos têm mostrado que o captan provoca estresse oxidativo, necrose e apoptose em linfócitos (INOUE et al., 2018), a piraclostrobina induz teratogenicidade e imunotoxicidade em *Danio rerio* (LI et al., 2018), o hexaclorobenzeno induz a progressão do quadro de endometriose em ratas (CHIAPPINI et al., 2019) e o tebuconazol promove hepatotoxicidade em ratos Wistar e em células hepáticas HepG2 e HepaRG (KNEBEL et al., 2019).

4.4 Estratégias de biocontrole

O biocontrole caracteriza-se pelo uso de microrganismos, parasitoides ou insetos para inibir ou diminuir o desenvolvimento de fitopatógenos e controlar a presença de insetos transmissores de doenças que servem como alternativa à utilização de pesticidas sintéticos, promovendo sustentabilidade, segurança ocupacional e do alimento. Esses microrganismos podem atuar competindo por espaço e nutrientes (TORRES et al., 2016), produzindo moléculas bioativas e induzindo respostas defensivas (CALVO et al., 2019; CAULIER et al., 2019). Um exemplo de biocontrole que vem sendo estudado é a utilização de cepas do gênero *Bacillus*.

Bacillus sp. é uma bactéria gram-positiva que pode formar esporos e atuar nas folhas e raízes de plantas, competindo com patógenos (FAN et al., 2018). Diversos estudos testaram espécies do gênero *Bacillus* como alternativa de biocontrole principalmente para fungos (Tabela 2). A maioria dos estudos mostrados na Tabela 2 foi realizada *in vitro* a partir de diferentes meios de cultura: *Potato dextrose agar* (VERAS et al., 2016; MA et al., 2018; MASSAWE et al., 2018; SAECHOW et al., 2018; LI et al., 2018; PAZ et al., 2018; MANNAA; KIM, 2018; GUARDADO-VALDIVIA et al., 2018; CAO et al., 2011; JIANG et al., 2014; WANG et al., 2018; CHEN et al., 2018; CALVO et al., 2017), *Yeast extract sucrose* (VERAS et al., 2016), *Luria agar* (PINTO et al., 2018), *Luria-Bertani* (LUO et al., 2018; (MASUM et al., 2018), *Plate count agar* (NIGRIS et al., 2018; ÖZTOPUZ et al., 2018), *Malt extract broth* (ÖZTOPUZ et al., 2018), *Minimal salt* (MASSAWE et al., 2018), *Nutrient broth* (LI et al., 2019a; SHUKLA et al., 2018), *Yeast malt extract agar* (PANDIN et al., 2018), *Brain-heart infusion* (WAMBACQ et al., 2018), *Corn silage infusion* (WAMBCQ et al., 2018) e *Tryptone yeast extract broth with glucose*

Tabela 2. Estudos focados na utilização de *Bacillus* spp. como biocontrole de fungos, vírus, bactérias e nematoides.

Cepa	Origem do <i>Bacillus</i>	Tipo de avaliação	Método	Objetivo	Principais resultados	País	Referência
Estudo <i>in vitro</i>							
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 19659 e P45B, <i>Bacillus</i> sp. P1, P7, P11, P11, P34, P39A, P51 e B312, <i>Bacillus licheniformis</i> P40	Intestino de peixes típicos da Amazônia brasileira (<i>Potamorhina latior</i> , <i>Piaractus mesopotamicus</i> , <i>Leporinus</i> sp., <i>Semaprochilodus</i> sp. e <i>Myletus edulis</i>)	<i>In vitro</i> (PDA ^a e YES ^b)	Inoculação em meio de cultura contendo 10 ⁷ UFC/mL do <i>Bacillus</i> e 10 ⁶ esporos/mL de espécies de fungos toxigênicos <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Monascus</i>	Avaliar a capacidade dos <i>Bacillus</i> em afetar os parâmetros de crescimento dos fungos toxigênicos e da produção de micotoxinas, e a habilidade de produzirem lipopeptídeos	Efeito antagonista, diminuição da quantidade de esporos e das micotoxinas Aflatoxina B1, OTA e citrinina e síntese dos lipopeptídeos Iturina, Fengicina e Surfactina	Brasil	(VERAS et al., 2016)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> Plantarum F321	subsp. <i>Vitis vinifera</i> cv. Merlot	<i>In vitro</i> (LA ^c)	Caracterização genômica do <i>Bacillus</i> cultivado em meio LA a 28 °C por 24 horas. O DNA da cepa foi extraído utilizando o Wizard Genomic DNA Purification kit	Realizar e analisar o sequenciamento genômico do <i>B. amyloliquefaciens</i> e comparar com o genoma de outras espécies	Identificação dos genes responsáveis pela produção de lipopeptídeos, compostos bioativos, atividade antimicrobiana e crescimento da planta, tais como: baciloene, difidicina, macrolactina, surfactina, fengicina e sideróforo	Portugal	(PINTO et al., 2018)
<i>Bacillus altitudinis</i> Lc5	Arroz preto	<i>In vitro</i> (Illumina HiSeq 2500)	Sequenciamento genômico utilizando a plataforma Illumina HiSeq 2500. Os genes responsáveis pela síntese de antibióticos e metabólitos secundários foram analisados usando antiSMASH 4.4.0	Identificar os genes da cepa responsáveis pela promoção de crescimento da planta e biocontrole	Elucidação dos genes responsáveis pela síntese de enzimas antioxidantes (catalase, peroxidase e superóxido dismutase) e metabólitos secundários (bacilisina, fengicina, surfactina, fengicina, entre outros)	Índia	(POTSHANGBAM et al., 2018)
<i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Bacillus cereus</i> e <i>Bacillus mojavenis</i>	Solo de pomares de figo	<i>In vitro</i> (PCA ^e e MEB ^f)	Meio de cultura contendo 10 ⁵ esporos/mL ⁻¹ (para testar efeito antifúngico na germinação de esporos) ou 10 ⁶ esporos/mL ⁻¹ (para testar o efeito antifúngico no crescimento micelial) do fungo testado (<i>Aspergillus niger</i> , <i>foetidus</i> , <i>ochraceus</i> e <i>Fusarium solani</i>) e 0,5-5 mL da cultura de <i>Bacillus</i> incubado a 28-30 °C por 24 horas	Avaliar a produção de enzimas líticas e os efeitos antifúngicos das cepas	Inibição do crescimento micelial e da germinação de esporos, produção de enzimas líticas (quitosanase, quitinase, protease e N-acetil-β-hexosaminidase)	Turquia	(ÖZTOPUZ et al., 2018)
<i>Bacillus velezensis</i> PEBA20	-	<i>In vitro</i>	Sequenciamento genômico	Sequenciar e analisar os genes da	Caracterização dos genes	China	(KONG et al., 2018)

				utilizando a plataforma Illumina HiSeq 2500	cepa responsáveis pela atividade de biocontrole	relacionados à promoção de crescimento da planta e produção de substâncias antimicrobianas (mersacidina, amilomicilina, bacilomicina D, fengicina, surfactina, difidicina, macrolactina e bacillaene)		
<i>Bacillus velezensis</i> B6	Solo	<i>In vitro</i>		Sequenciamento genômico utilizando a plataforma Illumina HiSeq 2500	Realizar a sequência genômica da cepa e avaliar quais são os genes responsáveis pela atividade de biocontrole	Determinação dos genes responsáveis pela produção de lipopeptídeos (mycosubtilina, surfactina e fengicina) e antibióticos (bacilene e bacilisina) com atividade antibacteriana, antifúngica e hemolítica	China	(GAO et al., 2018)
<i>Bacillus atrophaeus</i> GQJK17	Solo contendo rizosfera de Goji Berry	<i>In vitro</i> (PDA ^a)		<i>Fusarium solani</i> com 6mm de diâmetro foi inoculado no centro da placa e o <i>Bacillus</i> foi inoculado a 2 cm de distância do <i>Fusarium</i> , por 3 a 5 dias a 28 °C; Sequenciamento genômico através da <i>Polymerase chain reaction</i> (PCR)	Analisar o mecanismo molecular da capacidade de biocontrole da cepa	Atividade antagonista contra <i>F. solani</i> elucidada através da observação da área de inibição; Identificação dos genes responsáveis pela produção de surfactina, fengicina, peligipeptina, xenocoumacina, bacilomicina e rizocitocina	China	(MA et al., 2018)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> e <i>Bacillus velezensis</i>	Sementes de milho	<i>In vitro</i> (PDA ^a e MS ^s)		Técnica de cultura dupla realizada com 5 microlitros da cultura de <i>Bacillus</i> em meio MS, e micélio de 6 mm do fungo <i>Sclerotinia sclerotium</i> em meio PDA incubados a 25 °C por 5 dias	Destacar os efeitos dos compostos voláteis produzidos pelos <i>Bacillus</i> contra <i>S. sclerotium</i>	Inibição do crescimento micelial, atividade antibiótica e mudanças morfológicas nas células fúngicas	China	(MASSAWE et al., 2018)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> BAS23	Solo de cultura de arroz	<i>In vitro</i> (PDA ^a) e <i>in vivo</i> (sementes de arroz)		<i>In vitro</i> : culturas duplas contendo micélio de 5 mm dos fungos <i>Curvularia lunata</i> , <i>Fusarium semitectum</i> e <i>Helminthosporium oryzae</i> a 4,5cm de distância do <i>Bacillus</i> (1 alçada); <i>In vivo</i> : Sementes de arroz imersas em suspensão bacteriana por 1 hora	Avaliar a atividade antagonista do <i>Bacillus</i> contra fungos patogênicos presentes no arroz	Inibição do crescimento micelial dos fungos, produção dos lipopeptídeos iturina, fengicina e surfactina, e promoção do crescimento da planta	Tailândia	(SAECHOW et al., 2018)
<i>Bacillus subtilis</i> KU-153	Comida fermentada	<i>In vitro</i>		<i>In vitro</i> : <i>Bacillus subtilis</i>	Avaliar a habilidade do <i>Bacillus</i>	Redução de 58,1% dos níveis de	Coreia do Sul	(SHUKLA et al., 2018)

	tradicional coreana (Kimchi)	(NB ^h) e em vinho tinto	foram inoculados em 25 mL de NB contendo 40µg/L de OTA e incubados por 48h a 35 °C; <u>Em vinho:</u> 2 mL de vinho tinto inoculados com 40µg/L de OTA e 0,4g de <i>Bacillus</i> , por 24 horas as 35 °C	em reduzir a quantidade de OTA	OTA em meio de cultura e de 90% no vinho tinto		
<i>Bacillus subtilis</i> SEM-9	Bicho da seda	<i>In vitro</i> (PDA ^a e NB ^h) e in planta (Repolho chinês)	<u>In vitro:</u> Meio NB contendo 5-6 µL da cultura de SEM-9 colocado em discos de papel filtro, que foram postos em contato com o meio PDA contendo espécies de <i>Fusarium</i> (<i>sambucinum</i> , <i>catenulatum</i> , <i>oxysporum</i> , <i>proliferatum</i> , <i>equiseti</i> e <i>graminearum</i>), a 30 °C por 2-3 dias; <u>In planta:</u> Plantas de repolho chinês foram pulverizadas três vezes com suspensão de SEM-9 contendo 5 x 10 ⁸ UFC/mL	Caracterizar a sequência genômica da cepa SEM-9 e a sua função na promoção de crescimento de plantas e na atividade antagonista contra patógenos; Avaliar a atividade antagonista do <i>Bacillus in vitro</i> e da promoção de crescimento na planta	Elucidação dos genes relacionados com a regulação da produção de biofilme e de lipopeptídeos (surfactina, fengicina, bacilisina e subtilosina-A); atividade antagonista contra <i>Fusarium</i> spp. (inibição do crescimento micelial e da germinação de esporos) e promoção de crescimento da planta	China	(LI et al., 2018)
<i>B. amyloliquefaciens</i> EUCB10	Eucalipto	<i>In vitro</i> (PDA ^a) e in planta (<i>Eucalyptus urophylla</i> , <i>grandis</i> e <i>urograndis</i>)	<u>In vitro:</u> culturas duplas contendo micélio de 1 cm de diâmetro das espécies fúngicas <i>B. cinerea</i> ou <i>Calonectria gracilis</i> , e o <i>Bacillus</i> incubadas por 7 dias a 28 °C; <u>In planta:</u> Estacas de <i>E. urograndis</i> foram submersas em suspensão de <i>Bacillus</i> 10 ³ UFC/mL por uma hora e depois suas folhas foram pulverizadas com 10 ⁶ esporos/mL de <i>C. gracilis</i> e o <i>B. cinerea</i> foi inoculado nos danos realizados nas folhas	Avaliar a cepa de <i>Bacillus</i> como agente de biocontrole contra <i>Botrytis cinerea</i> e <i>Calonectria gracilis</i>	Inibição do crescimento micelial do <i>B. cinerea</i> e do <i>C. gracilis</i> , e aumento do crescimento das raízes do Eucalipto	Brasil	(PAZ et al., 2018)
<i>Bacillus velezensis</i> QST713	Biofungicida comercial (Serenade Max)	<i>In vitro</i> (YMEA ¹) e <i>in vivo</i> (cogumelo)	<u>In vitro:</u> fungo inoculado no centro do meio e o <i>Bacillus</i>	Determinar a sequência genômica da cepa e realizar	Diminuição da incidência de <i>T. aggressivum</i> , inibição do	França	(PANDIN et al., 2018)

			em três pontos a 3 cm de distância, a 25 °C por 5 dias; <i>In vivo</i> : meio de cultura contendo o cogumelo (<i>Agaricus bisporus</i>) foi contaminado com <i>Trichoderma aggressivum</i> e tratado com 5×10^6 UFC/gr ⁻¹ da cepa QST713	experimentos para enfatizar sua atividade de biocontrole	crescimento micelial e da esporulação fúngica e identificação dos genes responsáveis pela formação de biofilme e síntese de metabólitos secundários (surfactina, bacilomisinina D, macrolactina, fengicina, entre outros)		
<i>Bacillus velezensis</i> NRRL B-23189		<i>In vitro</i> (BHP e CSI ^b) e <i>in vivo</i> (azevém e trevo branco)	<i>In vitro</i> : meios de cultura contendo diferentes concentrações de suspensão bacteriana e 1×10^4 conidiosporos/mL ⁻¹ de <i>P. roqueforti</i> e <i>paneum</i> ; <i>In planta</i> : mini-silos contendo mistura de azevém e trevo branco, <i>Penicillium</i> e suspensão de <i>Bacillus</i>	Avaliar o efeito antagonista do <i>Bacillus</i> contra <i>Penicillium roqueforti</i> e <i>Penicillium paneum</i> em condições de silagem	Inibição do crescimento de <i>P. roqueforti</i> e <i>P. paneum</i> e redução na quantidade de conidiosporos	Bélgica	(WAMBACQ et al., 2018)
<i>Bacillus</i> sp. PPM3	Sedimento marinho do Mar Vermelho	<i>In vitro</i> (ISP1G ¹) e <i>in planta</i> (milho)	<i>In vitro</i> : 2×10^8 UFC/mL ⁻¹ de suspensão bacteriana e 1×10^6 esporos/mL ⁻¹ de <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Mucor</i> sp. e <i>Alternaria</i> sp. inoculados por 5 dias a 25 °C; <i>Polymerase chain reaction</i> (PCR) para identificação dos genes; <i>In vivo</i> : Sementes de milho imersas em 10^6 UFC/mL de suspensão bacteriana por uma hora e plantadas em solo previamente contaminado com 10^6 esporos/mL de <i>F. graminearum</i>	Identificar as características genéticas e fenotípicas da cepa e avaliar a atividade inibitória	Redução do crescimento micelial e inibição da germinação de esporos de todos os fungos analisados, identificação dos genes responsáveis pela síntese de surfactina, iturina, bacilomicina e mycosubtilina e promoção de crescimento da planta	Sérvia	(RADOVANOVIĆ et al., 2018)
<i>Bacillus megaterium</i> KU143	Grãos de arroz armazenados na Coreia	<i>In vitro</i> (PDA ³) e <i>in vivo</i> (grãos de arroz)	<i>In vitro</i> : 10^5 conídios/mL de suspensão fúngica (<i>Aspergillus candidus</i> e <i>fumigatus</i> , <i>Penicillium fellutanum</i> e <i>islandicum</i>)	Avaliar a atividade antifúngica das cepas e dos compostos voláteis de <i>Bacillus</i> contra <i>Aspergillus</i> e <i>Penicillium</i> sp. e identificar esses voláteis	Inibição de crescimento micelial e atividade antagonista contra todas as espécies fúngicas estudadas, síntese de hexanona e dimetil-hexano	Coreia do Sul	(MANNAA; KIM, 2018)

			<p>inoculada com 1 mL do filtrado de cultura bacteriana contendo 10^8 células/mL, a 28 °C por 10 horas;</p> <p><i>In vivo</i>: Grãos de arroz tratados com suspensão bacteriana contendo 10^8 células/mL e inoculados com 10^7 conídios/mL por 7 dias</p>			
<i>Bacillus atrophaeus</i> B5	<p>Coleção de cepas do Laboratório de Biotecnologia do Instituto Tecnológico de Tepic, México</p>	<p><i>In vitro</i> (PDA³) e <i>in vivo</i> (graviola e abacate)</p>	<p><i>In vitro</i>: 10^7 UFC/mL de suspensão bacteriana inoculada com 10^6 esporos/mL⁻¹ de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> a 28°C por 7 dias;</p> <p><i>In vivo</i>: graviola e abacate foram imersos em 10^7 UFC/mL de suspensão bacteriana e inoculados com 15 µL de suspensão de esporos fúngicos contendo 10^6 esporos/mL, e armazenadas a 25 °C por 5 a 10 dias</p>	<p>Avaliar a eficácia da cepa em controlar a ocorrência de antracnose¹ em graviola e abacate</p>	<p>Redução do desenvolvimento de <i>C. gloeosporioides</i>, diminuição dos sintomas de antracnose¹ e identificação dos genes envolvidos na síntese de surfactina, bacilomicina e iturina</p>	<p>México</p> <p>(GUARDADO-VALDIVIA et al., 2018)</p>
<i>Bacillus subtilis</i> SQR 9	<p>Solo contendo rizosfera de pepino</p>	<p><i>In vitro</i> (PDA³) e <i>in planta</i> (Pepino)</p>	<p><i>In vitro</i>: <i>Fusarium oxysporum</i> inoculado no centro da placa e o <i>Bacillus</i> entre a borda da placa e o fungo, por 7 dias a 28°C;</p> <p><i>In planta</i>: suspensão bacteriana (4×10^{10} UFC/mL) aplicada no solo das mudas de pepino contaminado com 4×10^6 conídios/mL de <i>F. oxysporum</i></p>	<p>Avaliar o potencial antagonista da cepa SQR 9 contra <i>F. oxysporum</i> e estudar o mecanismo de ação do <i>Bacillus</i></p>	<p>Inibição do crescimento micelial, redução de até 64% da incidência de <i>F. oxysporum</i> e aumento do crescimento da planta</p>	<p>China</p> <p>(CAO et al., 2011)</p>

<i>Bacillus subtilis</i> CCTCC M 207209		<i>In vitro</i> (PDA ^a) e <i>in vivo</i> (uvas de mesa: Thompson, Kyoho e Red earth)	<i>In vitro</i> : a suspensão de 1×10^5 esporos/mL de <i>Aspergillus carbonarius</i> foi espalhada no PDA e a cultura líquida contendo 1×10^8 UFC/mL do <i>Bacillus</i> foi inoculada no centro do PDA, mantido a 25-30°C por 5 dias; <i>In vivo</i> : suspensão de <i>Bacillus</i> (1×10^8 UFC/mL) e de <i>Aspergillus</i> (1×10^5 esporos/mL) foi injetada nas uvas a 2 mm sob a casca. As bagas foram mantidas a 25-30 °C por 30 dias ou a -1 °C por 80 dias	Investigar o efeito inibitório do <i>B.subtilis</i> sobre o fungo <i>A. carbonarius</i> que contamina as uvas de mesa durante o armazenamento refrigerado	A inibição do <i>A. carbonarius</i> foi observada em todas as amostras tratadas com o <i>B. subtilis</i>		(JIANG et al., 2014)
<i>Bacillus subtilis</i> WXCDD105	Solo de rizosfera de plantas de tomates saudáveis	<i>In vitro</i> (PDA ^a) e <i>in planta</i> (Tomate)	<i>In vitro</i> : meios contendo 10^8 UFC/mL ⁻¹ da cepa de <i>Bacillus</i> e 10^5 UFC/mL ⁻¹ de <i>Botrytis cinerea</i> ou de <i>Cladosporium fulvum</i> inoculados a 28 °C por 5 dias; <i>In planta</i> : Mudanças de tomate foram pulverizadas com uma solução contendo 10^8 UFC/mL ⁻¹ de <i>Bacillus</i> uma vez por semana, por três semanas, e após, inoculadas com 10^5 UFC/mL ⁻¹ de <i>Botrytis cinerea</i> e <i>Cladosporium fulvum</i>	Triar novas bactérias ativas e identificar seus efeitos antagonistas	Inibição de mais de 80% do crescimento fúngico, aumento do crescimento das mudas de tomate e da germinação das sementes	China	(WANG et al., 2018)
<i>Bacillus velezensis</i> LDO2	Raiz de amendoim	<i>In vitro</i> (PDA ^a) e <i>in vivo</i> (Amendoim)	<i>In vitro</i> : micélios de 6 mm de diâmetro dos fungos dos gêneros <i>Aspergillus</i> , e <i>Penicillium</i> , e 10^6 UFC/mL bactéria do gênero <i>Ralstonia</i> foram inoculados no centro da cultura e 10^8 UFC/mL do <i>Bacillus</i> foi inoculado a 25 mm de distância, a 28 °C e até que os fungos da cultura	Avaliar a atividade de biocontrole da cepa LDO2 em amendoim e entender os mecanismos genéticos da atividade antimicrobiana, e de promoção de crescimento da planta	Aumento da altura da planta e comprimento das raízes, inibição do crescimento de <i>A. flavus</i> e <i>R. solanacearum</i> e identificação dos genes responsáveis pela síntese dos lipopeptídeos fengicina e surfactina	China	(CHEN et al., 2019)

			<p>controle tivessem crescido por toda a placa, ou, no caso da bactéria patogênica, a 30 °C por 24 horas;</p> <p><i>In planta</i>: sementes pré-germinadas de amendoim foram cultivadas com 10⁹ UFC/mL do <i>Bacillus</i> por 2 semanas, para avaliar a promoção de crescimento</p>				
<i>Bacillus licheniformis</i> GL174	<i>Vitis vinifera</i> cultivar Glera (cultivada <i>in vitro</i>)	<i>In vitro</i> (PCA [®]) e <i>in vivo</i> (Uva)	<p><i>In vitro</i>: a cepa GL174 foi inoculada com os fungos <i>Phaeoacremonium aleophilum</i>, <i>Phaeomoniella</i> spp., <i>Botryosphaeria</i> spp., <i>Botrytis cinerea</i>, <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Phytophthora infestans</i>, por 1 semana a 28 °C</p> <p><i>In planta</i>: estacas da uva e suas folhas foram inoculadas com o <i>Bacillus</i> e com micélios de 10 mm de diâmetro de <i>Botrytis cinerea</i> e plantas com 60 dias tiveram suas folhas infiltradas com 10³ células/mL de suspensão bacteriana</p>	Investigar a atividade de biocontrole da cepa e os seus mecanismos de ação	Inibição do crescimento micelial, degradação da parede celular de fungos (quitinase), identificação dos genes envolvidos na atividade de biocontrole e produção de enzimas líticas (acetolactato sintase e acetoina redutase)	Itália	(NIGRIS et al., 2018)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> BUZ-14	Superfície de frutos de pêssego	<i>In vitro</i> (PDA [®]) e <i>in vivo</i> (laranja, maçã, uva, cereja e pêssego).	<p><i>In vitro</i>: 10⁸ UFC/mL de <i>Botrytis cinerea</i>, <i>Monilinia fruticola</i> e <i>laxa</i>, <i>Penicillium digitatum</i>, <i>P. expansum</i> e <i>P. italicum</i> foram inoculados no centro de cada cultura, e, após, 10⁹ UFC/mL da cepa BUZ-14 foi inoculada distante do centro, por 7 dias a 25 °C;</p> <p><i>In vivo</i>: danos de 3 mm de profundidade e de diâmetro foram realizados nas frutas, que foram inoculadas com 10 µL de 10⁵ conídios/mL de <i>B. cinerea</i>, <i>P. digitatum</i>, <i>P. expansum</i> ou <i>P. italicum</i>.</p>	Avaliar o potencial da cepa BUZ-14 em controlar doenças que ocorrem após a colheita de laranja, maçã, uva e pêssego	Inibição do crescimento micelial de todos os fungos testados <i>in vitro</i> e redução da incidência das espécies de <i>Penicillium</i> , de <i>Monilinia</i> e de <i>Botrytis cinerea</i> nas frutas testadas	Espanha	(CALVO et al., 2017)

			e 10 µL de 10 ⁸ UFC/mL da cepa BUZ-14, por 7 dias a 20 °C			
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Rizosfera de soja, pepino, pimentão, berinjela e tomate	<i>In vitro</i> (LB ^d) e <i>in vivo</i> (arroz)	<i>In vitro</i> : meio LB inoculado com 1 x 10 ⁸ UFC/mL ⁻¹ de <i>Acidovorax oryzae</i> , e, depois, com 1 x 10 ⁸ UFC/mL ⁻¹ do <i>Bacillus</i> , a 30°C por 48 horas; <i>In vivo</i> : sementes de arroz germinadas foram imersas em mistura contendo a bactéria patogênica e a bactéria antagonista (1:1; 1 x 10 ⁸ UFC/mL ⁻¹), e mantidas a 28 °C por 7 dias	Isolar, caracterizar e determinar a atividade antibacteriana de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Os <i>Bacillus</i> reduziram em até 80% o número de células e em 65% a formação de biofilme da bactéria <i>A. oryzae</i> , além de promoverem o crescimento da planta	China e Bangladesh (MASUM et al., 2018)
Estudos <i>in vivo</i>						
<i>Bacillus pumilus</i> SS-10.7 e <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SS-12.6 e SS-38.4	Coleção previamente estabelecida e caracterizada	Beterraba	As folhas de plantas de beterraba foram injetadas com 10 ⁷ UFC/mL de <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Aptata</i> P53 e com 1 mg/mL ⁻¹ dos lipopeptídeos (Iturina A, Fengicina A e Surfactina) isolados ou com 10 ⁷ UFC/mL de <i>B. amyloliquefaciens</i> SS-12.6	Avaliar o controle biológico de <i>Pseudomonas syringae</i> utilizando extratos lipopeptídicos de <i>B. amyloliquefaciens</i> e de <i>B. pumilus</i>	Diminuição de necrose nas folhas e supressão notável do patógeno.	Sérvia (NIKOLIĆ et al., 2019)
<i>Bacillus</i> spp. KFP-5, KFP-7 e KFP-17	Coleção de cepas do Laboratório de Interação Planta-microrganismo, Paquistão	Arroz	Raízes de mudas de arroz foram imersas em suspensão bacteriana contendo 8x10 ⁹ UFC/mL ⁻¹ , e o fungo <i>Pyricularia oryzae</i> foi inoculado após 40-60 dias do transplante da planta	Avaliar a eficácia das cepas de <i>Bacillus</i> em suprimir a incidência de brusone ² em variedades de arroz	Diminuição da incidência da doença brusone ² e aumento da atividade de enzimas antioxidantes (Superóxido dismutase, Peroxidase, Polifenol oxidase e Fenilalanina amônia-liase)	Paquistão (RAIS et al., 2018)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> GJ1	Folhas saudáveis de <i>Citrus sinensis</i>	Laranja	<i>Citrus sinensis</i> (laranjeira) irrigadas com uma solução de <i>Bacillus</i> (OD ³ 600 nm) uma vez a cada 7 dias, e o genoma da cepa GJ1 foi extraído utilizando o “ <i>Pure Plasmid Mini Kit</i> ”	Avaliar a atividade de biocontrole da cepa GJ1, e realizar transcrição gênica para elucidar as diferenças nos mecanismos de detoxificação	Redução de 50% da incidência de <i>Candidatus</i> Liberibacter e identificação de genes da cepa responsáveis pelas repostas defensivas	China (TANG et al., 2018)
<i>Bacillus cereus</i> Jdm1	Isolado pelo Laboratório de	Tomate	Mudas de tomate irrigadas	Avaliar a eficiência da cepa Jdm1	Aumento do crescimento da	China (XIAO et al., 2018)

				Nematologia do Instituto de Proteção Vegetal	com 40 mL de suspensão do <i>Bacillus</i> (10^7 UFC/mL) por 7 semanas, e 600 nematoides recém-eclodidos foram pipetados na região ao redor das raízes das mudas; No teste de campo, as mudas foram irrigadas com $1,5 \times 10^6$ UFC/mL do <i>Bacillus</i>	contra <i>Meloidogyne incognita</i> e o seu impacto nas comunidades bacterianas presentes na rizosfera do tomate	planta, alteração da comunidade bacteriana da rizosfera do tomate, aumento da mortalidade do <i>M. incognita</i> e diminuição da eclosão dos seus ovos		
<i>Bacillus</i> MBI600	<i>amyloliquefaciens</i>	Biofungicida Serifel BASF SE	Tomate	Plantas irrigadas com solução contendo $5,5 \times 10^7$ UFC/mL do <i>Bacillus</i> , e, um dia após, as folhas do tomate foram esfregadas com inóculos de <i>Tomato spotted wilt</i> e <i>Potato vírus Y</i>	Testar a atividade antiviral da cepa MBI600 em plantas de tomate	Redução de 80% da incidência de <i>Tomato spotted wilt vírus</i> e diminuição do acúmulo sistêmico de <i>Potato vírus Y</i>	Estados Unidos	(BERIS et al., 2018)	
<i>Bacillus velezensis</i> LM2303	-		Trigo	800 mL de caldo de cultura bacteriana (2×10^8 UFC/mL) foram pulverizados no trigo, e 300 mL de suspensão contendo <i>Fusarium graminearum</i> (2×10^5 esporos/mL) foram pulverizados dois dias depois	Avaliar a eficácia do <i>Bacillus</i> em inibir o crescimento fúngico no trigo, sequenciar e analisar o genoma da cepa LM2303	Redução da ocorrência do <i>Fusarium</i> , identificação dos genes envolvidos na formação de biofilme, atividade antibacteriana e promoção de crescimento da planta	China	(CHEN et al., 2018)	

^a PDA – Potato dextrose agar. ^b YES – Yeast extract sucrose. ^c LA – Luria-agar. ^d LB – Luria-Bertani ^e PCA – Plate count agar ^f MEB – Malt extract broth ^g MS – Minimal salt ^h NB – Nutrient broth ⁱ YMEA – Yeast malt extract agar ^j BHI – Brain-heart infusion ^k CSI – Corn silage infusion ^l ISP1G – Tryptone yeast extract broth com adição de glicose ^m MRS – De Man, Rogosa and Sharpe ¹ Antracnose – doença fúngica causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (EMBRAPA, 2015). ² Brusone – doença causada pelo fungo *Pyricularia oryzae*, que causa necrose na planta e pode levar a sua morte (EMBRAPA, 2015). ³ OD – Optical density

Entre os estudos realizados *in vitro* pode-se destacar o que foi conduzido por ÖZTOPUZ et al. (2018), um dos únicos estudos com fungos ocratoxigênicos. Neste caso, os autores avaliaram a produção de enzimas líticas e os efeitos das cepas de *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus* e *Bacillus mojavensis*, isoladas do solo de pomares de figo, contra as espécies *Aspergillus niger*, *Aspergillus foetidus*, *Aspergillus ochraceus* e *Fusarium solani*. Os fungos *A. niger* e *A. ochraceus* são comumente encontrados em café, e responsáveis pelo apodrecimento dos grãos (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003), já *A. foetidus* pode ser encontrado em milho e amendoim e sintetizar a micotoxina fumonisina (PALENCIA et al., 2014). E o *F. solani* é encontrado com frequência em batatas, e favorece a entrada de bactérias e de outros fungos no tubérculo (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003). Para testar o efeito antifúngico dos *Bacillus* no crescimento micelial de *A. niger*, o meio de cultura *Malt extract broth* foi inoculado com 10^6 esporos mL⁻¹ e 5 mL da cultura de *Bacillus*, e incubado a 30 °C por 24 horas. Uma inibição de até 33% do crescimento micelial e da germinação de esporos do fungo foram verificadas, além da identificação das enzimas líticas quitosanase, quitinase, protease e N-acetil- β -hexosaminidase. A quitina é um polissacarídeo que está presente na parede celular dos fungos (YANG; ZHANG, 2019), já a quitosana é um derivado da desacetilação parcial da quitina (LOPES et al., 2017). Tanto a quitina quanto a quitosana são compostas por monômeros de N-acetil-D-glicosamina e D-glicosamina unidas por ligações β (1-4) (COSTA SILVA; DOS SANTOS; FERREIRA, 2006; FRÁGUAS et al., 2015). A enzima N-acetil- β -hexosaminidase é uma hidrolase que cliva as ligações entre esses monômeros (XI; PAN; ZHANG, 2015). Logo, todas essas enzimas identificadas, incluindo as proteases, causam danos na estrutura celular do fungo.

Outra abordagem de biocontrole é a trazida por MASSAWE et al. (2018) que visaram determinar os efeitos dos compostos voláteis produzidos pelos *Bacillus amyloliquefaciens* e *B. velezensis* contra *Sclerotinia sclerotium*, um fungo comumente encontrado em alcachofra, alface, amendoim, batata e berinjela, e responsável pela ocorrência do chamado mofo branco, que causa podridão na região do caule da planta e amarelamento das folhas (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003). As cepas de *Bacillus* foram isoladas de sementes de milho e a avaliação da atividade antibiótica dos seus compostos voláteis foi realizada da seguinte forma: 5 microlitros da

cultura contendo *Bacillus* foi inoculada em meio *Minimal salt* e um micélio de *S. sclerotium* de 6 mm de diâmetro foi inoculado na extremidade central da partição que continha o meio *Potato dextrose agar*; o meio foi incubado por 5 dias a 25 °C. Os efeitos observados foram uma inibição do crescimento micelial de 78,1% e 75,24% causada por *B. velezensis* VM10 e *B. amyloliquefaciens* VM42, respectivamente. Esses resultados sugerem que *Bacillus* produzem compostos aromáticos, como 2-undecanona, benzotiazol, 1,3-butadieno e N,N-dimetildodecilamina, capazes de prevenir o crescimento fúngico.

Em relação à avaliação da inibição da síntese de micotoxinas através da utilização de cepas de *Bacillus*, poucos estudos foram realizados com esse intuito. VERAS et al. (2016), por exemplo, utilizaram cepas de *Bacillus subtilis* ATCC 19659, *Bacillus* sp. P1, *Bacillus* sp. P7, *Bacillus* sp. P11, *Bacillus* sp. P34, *Bacillus* sp. P39A, *Bacillus licheniformis* P40, *Bacillus subtilis* P45B, *Bacillus* sp. P51 e *Bacillus* sp. B312 isoladas do intestino das seguintes espécies de peixes típicos da região amazônica brasileira: *Potamorhina latior*, *Piaractus mesopotamicus*, *Leporinus* sp., *Semaprochilodus* sp. e *Myletus edulis*. A determinação do efeito do *Bacillus* na produção da micotoxina OTA foi realizada por meio da inoculação de 10^6 esporos/mL de *Aspergillus carbonarius* ITAL293, e 10^7 UFC/mL de suspensão bacteriana em meio *Potato Dextrose agar*, que foi incubado por 10 dias a 25 °C. A porcentagem de redução de OTA pelas cepas P1 e P11 foi de 97,5% e 97,3%, respectivamente. Sugere-se que essas cepas bacterianas sejam candidatas promissoras para a atividade de biocontrole de fungos toxigênicos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Monascus* e *Fusarium*.

Em outros estudos, como os conduzidos por POTSHANGBAM et al. (2018) e PINTO et al. (2018), foi efetivada a caracterização genômica de *Bacillus altitudinis* Lc5 e de *Bacillus amyloliquefaciens* F321, respectivamente, para elucidar os seus mecanismos de ação na atividade de biocontrole. POTSHANGBAM et al. (2018) reportaram que *B. altitudinis* Lc5 foi a primeira cepa dessa espécie isolada das folhas de arroz negro. Entretanto, a espécie *B. altitudinis* já é conhecida pelo seu efeito antagonista contra o fungo *Monilinia fructicola* (LIU et al., 2018), por exemplo, causador da podridão-parda em ameixa, pêsego, uva e maçã (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003). O sequenciamento genômico foi realizado através da plataforma Illumina HiSeq 2500. Foram identificados os genes responsáveis pela produção de enzimas antioxidantes, como a catalase e a peroxidase, e de metabólitos secundários, como a fengicina, surfactina e liquenisina. Já PINTO et al. (2018) isolaram

o *B. amyloliquefaciens* F321 de uvas *Vitis vinifera*, cultivar Merlot, e extraíram o seu DNA utilizando o *Wizard Genomic DNA Purification kit*. A espécie *B. amyloliquefaciens* foi capaz de inibir o crescimento de *Fusarium graminearum*, produtor das micotoxinas desoxinivalenol (DON) e zearalenona, em estudo concretizado por GU et al. (2017). Foram elucidados por PINTO et al. (2018) os genes *bcr-BVY13_11500* e *fosB-BVY13_12675*, responsáveis pela síntese de bacitracina e fosfomicina (compostos que conferem resistência à ação de outros microrganismos), e grupos de genes envolvidos na produção de difidina, macrolatina e fengicina (atividade de biocontrole).

Há ainda trabalhos em que foi avaliado o potencial de *Bacillus* no biocontrole de fungos em alimentos, como: tomate (WANG et al., 2018), laranja, maçã e uva (CALVO et al., 2017), arroz (RAIS et al., 2018) e trigo (CHEN et al., 2018). *Bacillus subtilis* WXCDD105 foi utilizado por WANG et al. (2018) para controlar a ocorrência de *Botrytis cinerea* e *Cladosporium fulvum* em tomate. *B. cinerea* é o causador do chamado mofo cinzento, encontrado com frequência em alface, abacate, berinjela, batata e cebola. Os sintomas típicos são a queima das pontas das folhas, manchas marrons nas folhas e apodrecimento das flores e dos frutos (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003). *Cladosporium fulvum* é conhecido por causar manchas amarelas na superfície das folhas, bem como manchas brancas a verde-oliva, que se tornam marrons durante a esporulação do fungo (THOMMA et al., 2005) o que impede a realização de fotossíntese, diminuindo a produtividade e a qualidade da fruta (MESARICH et al., 2018). WANG et al. (2018) pulverizaram as mudas de tomate com uma solução contendo 10^8 UFC/mL⁻¹ da cepa WXCDD105 uma vez por semana, durante três semanas. Após esse período, uma suspensão contendo 10^5 UFC/mL⁻¹ de *B. cinerea* e *C. fulvum*, diluída em *Potato dextrose broth*, foi aplicada nas mudas. O resultado obtido foi uma redução de 74,7% e 72,07% da ocorrência de *B. cinerea* e *C. fulvum*, respectivamente. Os autores concluíram que além de ter atividade antifúngica, a cepa de *Bacillus* também foi capaz de promover o crescimento das mudas e manter a qualidade dos tomates.

Enquanto isso, CALVO et al. (2016) realizaram danos de 3 mm de profundidade e de diâmetro em laranjas (cultivar Valencia), maçãs (cultivar Golden delicious) e uvas (cultivar Sultanina), que foram inoculadas, respectivamente, com 10 µL de 10^5 conídios/mL de *Penicillium digitatum*, *P. italicum* e *P. expansum*, e *Botrytis cinerea*. Depois, as frutas foram inoculadas com 10 µL de 10^8 UFC/mL do *Bacillus*

amyloliquefaciens BUZ-14, durante 7 dias a 20 °C. Os fungos pertencentes ao gênero *Penicillium* causam bolores verdes em grãos de milho e lesões aquosas sobre a casca de frutas, principalmente no período pós-colheita (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003). CALVO et al. (2016) observaram que a incidência de *P. expansum* nas maçãs foi de apenas 20% e a redução do *B. cinerea* foi de 20% nas uvas, concluindo que a cepa de *Bacillus* é promissora para tratamentos preventivos contra espécies de *Penicillium*.

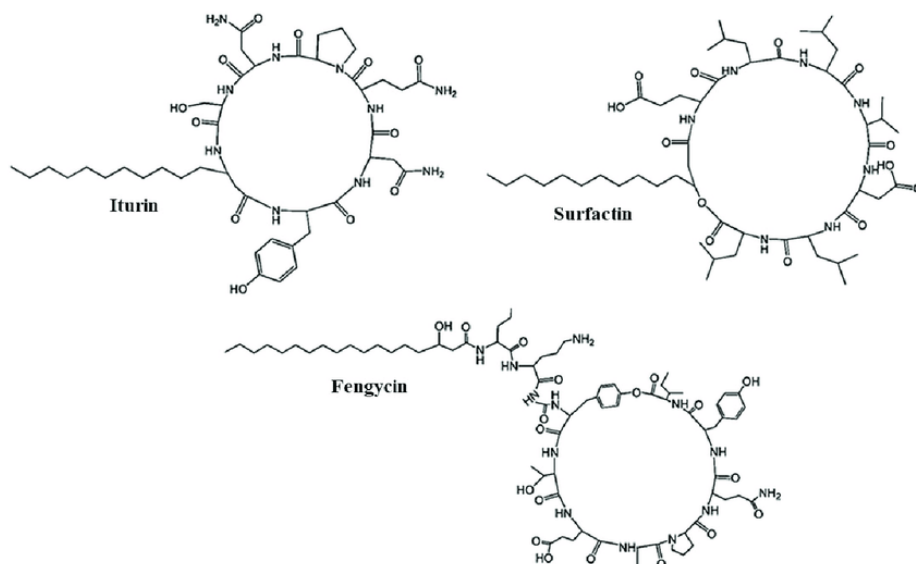
Bacillus spp. KFP-5, KFP-7 e KFP-17 foram utilizados por RAIS et al. (2018) para o controle do fungo *Pyricularia oryzae*, causador da doença brusone em arroz que leva à formação de lesões necróticas de coloração marrom na planta e a sua consequente morte (Embrapa, 2015). No estudo conduzido por RAIS et al. (2018), as raízes de mudas de arroz foram imersas em suspensão bacteriana contendo 8×10^9 UFC/mL⁻¹, e, após transcorridos 60 dias do cultivo do arroz, as mudas foram inoculadas com o fungo *P. oryzae*. As cepas de *Bacillus* reduziram em cerca de 44% a severidade da doença brusone nas mudas de arroz, além disso, os *Bacillus* induziram o aumento da ação das enzimas antioxidantes Superóxido dismutase, Peroxidase, Polifenol oxidase e Fenilalanina amônia-liase. Finalizando, *Bacillus* spp. KFP-5, KFP-7 e KFP-17 foram considerados os candidatos ideais para o manejo de brusone no arroz.

Produtos à base de *Bacillus* spp. estão disponíveis comercialmente como agentes de biocontrole contra fungos fitopatogênicos. O Serenade produzido pela Agro Bayer é composto por *Bacillus subtilis* (QST 713, 10^9 UFC g⁻¹) e recomendado para o controle de doenças como: mancha-de-alternaria (*Alternaria dauci*), mofo-cinza (*Botrytis cinerea*), antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) e mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em cenoura, coentro, alface, batata, uva, abacate, alho, maçã, amendoim, berinjela, tomate, entre outros alimentos (Agro Bayer, 2018). O Duravel produzido pela BASF é a base de *Bacillus amyloliquefaciens* (MBI 600, 10^{10} esporos viáveis g⁻¹), e é recomendado para controle de *Cryptosporiopsis perennans*, *Botrytis squamosa*, *Phyllosticta citricarpa*, *Xanthomonas campestris*, entre outros patógenos, em tomate, berinjela, pimentão, frutas cítricas e maçã (BASF, 2018). Os biofungicidas apresentam como vantagem em relação aos fungicidas sintéticos a possibilidade de serem aplicados em qualquer etapa do desenvolvimento do alimento e até o dia da colheita (IHARA, 2017), logo não possuem intervalo de segurança (Agro Bayer, 2018).

Em relação aos metabólitos secundários produzidos pelas espécies de *Bacillus*, os lipopeptídeos capazes de inibir o crescimento fúngico, incluindo as iturinas,

fengicinas e surfactinas, cujas estruturas são mostradas na Figura 2, têm sido identificados como um dos responsáveis pelo efeito antifúngico de *Bacillus* (DANG et al., 2019; HANIF et al., 2019; LI et al., 2019b).

Figura 2. Estrutura química dos lipopetídeos Iturina, Surfactina e Fengicina. (HAMLEY, 2015; KHAN; MAYMON; HIRSCH, 2017)



Hanif et al. (2019) atribuem a atividade antifúngica do *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42, contra *Fusarium graminearum* em Potato dextrose agar (PDA), à síntese de fengicina. Por outro lado, Dang et al. (2019) relatam que a síntese de iturina por *Bacillus amyloliquefaciens* C2LP inibiu o crescimento de cinco espécies fúngicas: *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani* em meio PDA. A Surfactina apresentou atividade contra *Plasmopara viticola* em uvas *Vitis vinifera* cv. Marselan, em estudo conduzido por Li et al. (2019), e diminuiu o crescimento de *Magnaporthe grisea* em meio de cultura PDA (WU et al., 2019). As surfactinas não possuem atividade antifúngica, todavia, atuam de forma sinérgica amplificando a atividade das iturinas e das fengicinas (COUTTE et al., 2010); as iturinas alteram a estrutura e a permeabilidade da membrana celular dos fungos criando canais transmembrana que permitem a liberação de íons vitais, como o K^+ , das células fúngicas (HSIEH et al., 2008), já as fengicinas atuam interagindo com os componentes lipídicos da membrana citoplasmática do fungo, como o ergosterol, inibindo o seu crescimento (DELEU et al., 2005).

Enzimas líticas como a quitinase (PAN et al., 2019), a glucanase (CAULIER et al., 2018), as celulases e as proteases (KARUPPIAH et al., 2019) também são sintetizadas por espécies de *Bacillus* e apresentaram atividade antifúngica contra *Alternaria solani*, *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani* em meio Luria- Bertani (LB) (CAULIER et al., 2018).

As espécies do gênero *Bacillus* apresentadas mostraram ser alternativas promissoras ao uso de pesticidas sintéticos, além disso, são capazes de promover o crescimento das plantas e manter a qualidade das frutas. Estudos com outros alimentos, cepas de *Bacillus*, e microrganismos patogênicos são necessários para dar continuidade a esse avanço biotecnológico e aumentar o espectro de ação do gênero.

4.6 Importância do perfil volátil para a qualidade das uvas

Os compostos voláteis possuem baixo ponto de ebulição e são capazes de estimular uma resposta sensorial no sistema olfativo humano (GAŞIOR; WOJTYCZA, 2016). Esses compostos pertencem às classes dos álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, tióis e ésteres (CANUTI et al., 2009). Metabólitos secundários das uvas também podem estar relacionados ao aroma, incluindo compostos das classes dos terpenos, C₁₃-norisoprenoides e fenóis, que podem ser encontrados nas formas livre ou como moléculas glicoconjugadas (ALEM et al., 2019)

Os terpenos presentes nas uvas ocorrem em maior quantidade na casca do que na polpa (ALEM et al., 2018) e são comumente encontrados conjugados à glicose, arabinose, ramnose e apiose. Os terpenos glicosilados são compostos não voláteis que durante o processo de fermentação sofrem hidrólise através da ação enzimática das glicosidases, e são transformados na sua forma ativa (livre) (MAICAS; MATEO, 2005) conferindo um aroma floral aos vinhos (WELKE et al., 2014).

Os norisoprenoides são derivados da biodegradação de carotenoides (ROBINSON et al., 2014) sendo α -ionona, β -ionona e a β -damascenona os principais compostos C₁₃-norisoprenoides presentes em vinhos e que contribuem para a formação de aromas florais e frutados (WINTERHALTER; ROUSEFF, 2001). Algumas das formas glicoconjugadas mais comumente encontradas são: 3,4-di-hidro-3-oxo-actinidiol, 7,8-dihidrovomifoliol, 3-oxo- α -ionol e 3-oxo-retro- α -ionol (SÁNCHEZ-GÓMEZ et al., 2018). E, assim como os terpenos, também são hidrolisados durante a fermentação (BAHENA-GARRIDO et al., 2019).

Os fenóis também podem ser encontrados tanto na forma glicoconjugada quanto na forma livre. Alguns exemplos de fenóis ativos são o maltol, guaiacol, eugenol, 4-vinilguaiacol, siringol e *trans*-isoeugenol. Esses compostos podem contribuir para um aroma doce, caramelado, floral ou defumado (LAN et al., 2019)

Álcoois e aldeídos são oriundos da oxidação de moléculas de ácidos graxos e responsáveis pelo “green aroma” (adstringência) das uvas (ROBINSON et al., 2014). Além de alguns álcoois, como o 2-feniletanol, estarem relacionados ao aroma floral e aldeídos, como ao aroma amanteigado em vinhos (WELKE et al., 2014).

Em relação à classe dos ésteres, os compostos que se destacam são o éster de acetado e os ésteres de ácidos graxos, que são sintetizados pelas leveduras durante a fermentação alcoólica do vinho (SUMBY; GRBIN; JIRANEK, 2010). Os ésteres trazem atributos frutados e florais ao vinho (POIVET et al., 2018) Já os compostos ácidos, como o ácido succínico, ácido acético, ácido propanoico e ácido isobutanoico possuem aroma de melão (LASIK-KURDYS; MAJCHER; NOWAK, 2018), de vinagre, de especiarias e um aroma rançoso, respectivamente (TANG et al., 2019).

Os tióis são compostos sulfurados (PEÑA-GALLEGO et al., 2012), cuja origem se dá a partir de ácidos graxos e são encontrados ligados à cisteína ou à glutatona, e são compostos sem odor até que ocorra a lise enzimática durante a fermentação (BELDA et al., 2017). Alguns componentes majoritários são o 4-mercapto-metilpentan-2-ona, 3-mercaptohexan-1-ol e o acetato 3-mercaptohexil, que trazem para o vinho aromas de groselha e maracujá (KING et al., 2008). Já os ácidos podem possuir aroma pungente, amanteigado e gorduroso, enquanto as cetonas atribuem odores herbal e frutal (LIU et al., 2020).

As características aromáticas das uvas e dos vinhos são resultantes de diversos fatores, tais como: localização geográfica das videiras (KOUNDOURAS et al., 2006), tipo de solo, características climáticas (SABON et al., 2002), variedade de uva (ARMANINO et al., 2008), tipo de levedura utilizada na etapa de fermentação (TORRENS et al., 2004) e das técnicas utilizadas na produção de vinho (ESTI; TAMBORRA, 2006).

Outro fator que afeta o perfil volátil das uvas é o uso de fungicidas sintéticos. O efeito dos fungicidas ciprodinil, fludioxonil e pirimetanil na composição aromática do vinho branco de *Vitis vinifera*, cultivar Airen, foi estudado por GARCÍA et al. (2004). Os fungicidas foram dissolvidos em uma solução contendo água e etanol (9:1 v/v) e adicionados separadamente no mosto, que foi fermentado com *Saccharomyces*

cerevisiae, em duas doses (1 mg L⁻¹ e 5mg L⁻¹). Através de análise cromatográfica, foi observado que a quantidade de álcoois isoamílicos aumentou, o que reduz a qualidade do vinho, pois em altas quantidades são considerados compostos indesejáveis; a quantidade aumentada de acetato isoamilo afetou negativamente o aroma do vinho, já que é um composto muito frutado.

Por outro lado, OLIVA et al. (2008) analisaram como a pulverização dos fungicidas comerciais Equatin Pro GR (famoxadona), Teldor WG (fenehexamida), Castellan GD (fluquinconazol), Stroby WG (metil-kresoxim), Arius SC (quinoxifeno) e Flint WG (trifloxistrobina) em uvas *Vitis vinifera*, cultivar Monastrell, diluídos e aplicados entre 14 a 35 dias antes da colheita das uvas, afeta o perfil volátil do vinho tinto. Ao final do tratamento, as uvas passaram pelo processo de microvinificação logo após as uvas terem sido colhidas. As quantidades de ácidos, acetatos de etila, ésteres etílicos e de terpenos encontradas nessas amostras foram inferiores às quantidades da amostra controle. Essas diminuições podem ter ocorrido por, principalmente, dois motivos: efeito sobre a atividade fermentativa da levedura, grande parte dos compostos voláteis estudados são oriundos desse processo, e sobre a atividade da glicosidase, enzima responsável pela transformação dos terpenos na sua forma livre/aromática. Portanto, os vinhos obtidos a partir das uvas Monastrell tratadas com esses fungicidas tinham um fraco potencial vínico.

Há ainda estudos que averiguaram como algumas cepas de *Bacillus* influenciam no perfil volátil de determinados alimentos. GU et al. (2015) avaliaram como a utilização de *Bacillus* pode estar envolvida na formação de vanilina, um aldeído, durante o processo de cura de favas de baunilha. Células de *Bacillus vanillea* XY18 e *Bacillus subtilis* XY20 foram utilizadas no processo de cura. As favas de baunilha passaram oito semanas sendo curadas através do processamento com ar quente e com os *Bacillus*. Cinco compostos voláteis (ácido hexanoico, ácido benzoico, 2-acetil-1H-pirrol, acetato de 2-feniletila e apocinina) foram identificados como resultantes do metabolismo de *Bacillus* e nenhum atributo sensorial desagradável foi gerado. Esse resultado sugere que a enzima β-D-glicosidase produzida por essas cepas participe da formação de vanilina através da hidrólise de glucovanilina. A cepa XY20 aumentou a produção de ácido butanoico na baunilha, que é utilizado na indústria alimentícia como um aditivo de sabor.

JEONG et al. (2017) por sua vez, utilizaram *Bacillus licheniformis*, isolados do “doenjang”, uma pasta de soja fermentada, e do “meju”, soja fermentada seca, para

avaliar a sua efetividade na produção de compostos aromáticos nesses alimentos. A soja esterilizada foi inoculada com 5×10^5 UFC/g do *Bacillus* e incubada por vinte e oito dias em uma temperatura de 25 °C. A análise dos voláteis foi realizada através do método cromatográfico GC-MS. Os principais voláteis formados foram o álcool oct-1-en-3-ol e o carboneto 3-hidroxiбутан-2-ona. Espécies de *Bacillus* são essenciais para produzir o sabor tradicional do “doenjang” (HONG; JUNG; KIM, 2012) tradicionalmente consumido na Coreia.

E, em estudo realizado por AZOKPOTA et al. (2010) sementes de alfarroba africanas foram fermentadas com *Bacillus subtilis* B51, B52 e B53 e foi realizada uma avaliação qualitativa e quantitativa dos compostos voláteis. As cepas de *B. subtilis* foram isoladas dos condimentos fermentados “afitin”, “iru” e “sonru”, comumente consumidos em Benim. Cerca de 0,5 mL da diluição de cada cepa de *Bacillus* foi adicionado a 50g de alfarroba esterilizada, que foi mantida incubada a 37 °C por 24 horas ou 48 horas. A extração e a identificação dos compostos voláteis foram realizadas através do método de destilação-extração “Likens-Nickerson”. Os compostos identificados são das classes dos álcoois, aldeídos, cetonas, pirazinas, ésteres, ácidos e sulfurados. *B. subtilis* foi considerado um potencial starter para ser utilizado na fermentação de alfarroba africana para produzir condimentos Benineses.

Até o momento, apenas um estudo avaliou o perfil volátil de uvas e vinho após inoculação com espécie de *Bacillus*. ESCRIBANO-VIANA et al. (2018) pulverizaram em videiras de uvas *Vitis vinifera* cultivar Tempranillo, localizadas na Espanha, o biofungicida comercial “Serenade Max” contendo $5,3 \times 10^{10}$ UFC/mL de *Bacillus subtilis* QST 713. O biofungicida foi aplicado em dois momentos: 21 dias e 3 dias antes da colheita. O processo de vinificação foi realizado através de fermentação alcoólica espontânea a 25 °C, e fermentação malolática a 20 °C utilizando as bactérias ácido lácticas comerciais “Uvaferm alpha”. Os testes de pH, acidez total e concentrações de ácido málico, ácido glucônico e potássio não mostraram diferenças significativas quando comparados com as amostras controle. A aplicação do biofungicida reduziu 7% da quantidade de álcoois, como o 1-hexanol, nas amostras de vinho. Concluiu-se que o tratamento com o biofungicida não influenciou negativamente a qualidade das uvas ou do vinho, e que foi positivo do ponto de vista microbiológico, já que ocasionou um aumento na produção das uvas e melhorou a implantação da bactéria utilizada na fermentação malolática.

7 CONCLUSÃO

As cepas de *Bacillus* estudadas têm potencial para serem utilizadas como agente de controle biológico em uvas a fim de prevenir ou reduzir a ocorrência de *A. carbonarius*, bem como na síntese de OTA e suas formas modificadas, sendo uma alternativa sustentável e promovendo um alimento seguro. Uma vantagem dos biofungicidas sobre os pesticidas sintéticos é que podem ser aplicados em qualquer etapa do desenvolvimento do alimento e até o dia da colheita.

Bacillus sp. P1 se destacou entre as demais por apresentar 100% de inibição fúngica e síntese de OTA, incluindo suas formas modificadas. Os voláteis produzidos em uvas tratadas com *Bacillus* sp. P1 possuem uma descrição de odor agradável, o que pode contribuir positivamente para as características de aroma e sabor das uvas Chardonnay. Através desses achados, pode-se concluir que a cepa de *Bacillus* sp. é uma alternativa sustentável para o controle fúngico em uvas, proporcionando um alimento seguro e com melhor descrição de odor.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA EMBRAPA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA (Brasil). Embrapa. **Brusone**. Valácia Lobo, Marta Filippi, Anne Prabhu. Disponível em: <<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fuzvmwzg02wyiv80166sqfmvyttys.html>>. Acesso em: 5 ago. 2019.

AGRO BAYER. Bayer. **Fungicida Bactericida Serenade®**. Disponível em: <https://www.agro.bayer.com.br/fungicida-serenade>. Acesso em: 03 jan. 2020.

AKTAR, W.; SENGUPTA, D.; CHOWDHURY, A. Impact of pesticides use in agriculture: Their benefits and hazards. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 2, n. 1, p. 1–12, 2009.

ALEM, H. et al. Impact of agronomic practices on grape aroma composition: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 3, p. 975–985, 2019.

ARMANINO, C. et al. Modelling aroma of three Italian red wines by headspace-mass spectrometry and potential functions. **Analytica Chimica Acta**, v. 614, n. 2, p. 134–142, 2008.

AUNE, D. et al. Dietary intake and blood concentrations of antioxidants and the risk of cardiovascular disease, total cancer, and all-cause mortality: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 108, n. 5, p. 1069–1091, 2018.

AZOKPOTA, P. et al. Volatile compounds profile and sensory evaluation of Beninese condiments produced by inocula of *Bacillus subtilis*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 3, p. 438–444, 2010.

BAHENA-GARRIDO, S. M. et al. The potential aroma and flavor compounds in *Vitis* sp. cv. Koshu and *V. vinifera* L. cv. Chardonnay under different environmental conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 4, p. 1926–1937, 2019.

BATTILANI, P. et al. Occurrence of ochratoxin A-producing fungi in grapes grown in Italy. **Journal of Food Protection**, v. 66, n. 4, p. 633–636, 2003.

BAU, M. et al. Ochratoxigenic species from Spanish wine grapes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 98, n. 2, p. 125–130, 2005.

BAYMAN, P.; BAKER, J. L. Ochratoxins: A global perspective. **Mycopathologia**, v. 162, n. 3, p. 215–223, 2006.

BASF. **Duravel® Fungicida e bactericida biológico para o manejo de controle de doenças em frutas e hortaliças.** Disponível em: <https://agriculture.basf.com/br/pt/protecao-de-cultivos-e-sementes/produtos/duravel.html>. Acesso em: 01 abr. 2020.

BATTILLANI, P.; PIETRI, A. Ochratoxin in grapes and wine. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.108, p. 639-643, 2002.

BAYONOVE, C. (2003). In C. Flanzy (Ed.), *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos* (pp. 137–146). Mundi-Prensa, Madrid, Spain: AMV Ediciones

BELDA, I. et al. Influence of *Torulaspora delbrueckii* in varietal thiol (3-SH and 4-MSP) release in wine sequential fermentations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 257, n. April, p. 183–191, 2017.

BELLÍ, N. et al. Incubation time and water activity effects on ochratoxin a production by *Aspergillus section Nigri* strains isolated from grapes. **Letters in Applied Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 72–77, 2004.

BELLÍ, N. et al. Mycobiota and ochratoxin A producing fungi from Spanish wine grapes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 111, p. 40–45, 2006.

BERIS, D. et al. *Bacillus amyloliquefaciens* strain MBI600 induces salicylic acid dependent resistance in tomato plants against Tomato spotted wilt virus and Potato virus y. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018.

CALVO, H. et al. **Potential of a new strain of *Bacillus amyloliquefaciens* BUZ-14 as a biocontrol agent of postharvest fruit diseases.** [s.l.] Elsevier B.V., 2017. v. 63

CALVO, H. et al. The role of iturin A from *B. amyloliquefaciens* BUZ-14 in the inhibition of the most common postharvest fruit rots. **Food Microbiology**, v. 82, n. January, p. 62–69, 2019.

CANUTI, V. et al. Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry for profiling free volatile compounds in Cabernet Sauvignon grapes and wines. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 15, p. 3012–3022, 2009.

CAO, Y. et al. *Bacillus subtilis* SQR 9 can control *Fusarium* wilt in cucumber by colonizing plant roots. **Biology and Fertility of Soils**, v. 47, n. 5, p. 495–506, 2011.

CAULIER, S. et al. Versatile antagonistic activities of soil-borne *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. against *Phytophthora infestans* and other potato pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. FEB, p. 1–15, 2018.

CAULIER, S. et al. Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* group. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. FEB, p. 1–19, 2019.

CHEN, L. et al. A comprehensive understanding of the biocontrol potential of *Bacillus velezensis* LM2303 against *Fusarium* head blight. **PLoS ONE**, v. 13, n. 6, p. 1–22, 2018.

CHEN, L. et al. Antimicrobial, plant growth-promoting and genomic properties of the peanut endophyte *Bacillus velezensis* LDO2. **Microbiological Research**, v. 218, n. August 2018, p. 41–48, 2019.

CHIAPPINI, F. et al. Exposure to environmental concentrations of hexachlorobenzene induces alterations associated with endometriosis progression in a rat model. **Food and Chemical Toxicology**, v. 123, n. August 2018, p. 151–161, 2019.

Conab, 2018. **Histórico mensal**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuário-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-uva/item/10453-uva-analise-mensal-novembro-2018>>. Acesso em: 01 fev. 2020.

COSTA SILVA, H. S. R.; DOS SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: Derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 776–785, 2006.

COUTTE, F. et al. Production of surfactin and fengycin by *Bacillus subtilis* in a bubbleless membrane bioreactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 2, p. 499–507, 2010.

COZZI, G. et al. Increase of fumonisin B2 and ochratoxin A production by black aspergillus species and oxidative stress in grape berries damaged by powdery mildew. **Journal of Food Protection**, v. 76, n. 12, p. 2031–2036, 2013.

DACHERY, B. et al. Occurrence of ochratoxin A in grapes, juices and wines and risk assessment related to this mycotoxin exposure. **Ciência Rural**, v. 46, n. 1, p. 176–183, 2015.

DANG, Y. et al. Enhanced production of antifungal lipopeptide iturin A by *Bacillus amyloliquefaciens* LL3 through metabolic engineering and culture conditions optimization. **Microbial Cell Factories**, v. 18, n. 1, p. 1–14, 2019.

DA ROCHA ROSA, C.A., PALACIOS, V., COMBINA, M., FRAGA, M.E., DE OLIVEIRA REKSON, A., MAGNOLI, C.E., DALCERO, A.M., 2002. Potential ochratoxin A producers from wine grapes in Argentina and Brazil. *Food Additives and Contaminants* 19, 408–414.

DELEU, M., PAQUOT, M., & NYLANDER, T. (2005). Fengycin interaction with lipid monolayers at the air–aqueous interface—implications for the effect of fengycin on biological membranes. *Journal of Colloid and Interface Science*, 283, 358–365.

DE MICCOLIS ANGELINI, R. M. et al. Occurrence of fungicide resistance in populations of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) on table grape and strawberry in southern Italy. **Pest Management Science**, v. 70, n. 12, p. 1785–1796, 2014.

DEISING, H. B.; REIMANN, S.; PASCHOLATI, S. F. Mechanisms and significance of fungicide resistance. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 286–295, 2008.

EDITE BEZERRA DA ROCHA, M. et al. Mycotoxins and their effects on human and animal health. **Food Control**, v. 36, n. 1, p. 159–165, 2014.

EBELER, S.E. and J.H. THORNGATE, Wine Chemistry and Flavor: Looking into the Crystal Glass. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2009. 57(18): p. 8098-8108.

EDWARDS, S. G.; O'CALLAGHAN, J.; DOBSON, A. D. W. PCR-based detection and quantification of mycotoxigenic fungi. *Mycological Research*, London, v. 106, p. 1005-1025, 2002.

EL KHOURY, A. et al. Fungal contamination and Aflatoxin B1 and Ochratoxin A in Lebanese wine-grapes and musts. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 6, p. 2244–2250, 2008.

EL KHOURY, A. E.; ATOUI, A. Ochratoxin a: General overview and actual molecular status. **Toxins**, v. 2, n. 4, p. 461–493, 2010.

Empresa Brasileira de Pesquisas sobre Agropecuária (Embrapa). **Antracnose**. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/soja/arvore/CONTAG01_102_271020069133.html> Acesso em: 03 abr. 2020.

Empresa Brasileira de Pesquisas sobre Agropecuária (Embrapa). Marta Cristina Corsi de Filippi. **Brusone no arroz**. 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1030631/brusone-no-arroz>. Acesso em: 03 abr. 2020.

Empresa Brasileira de Pesquisas sobre Agropecuária (Embrapa), 2012. Uvas para processamento. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/uva_para_processamento/arvore/CONT000g5f8cou802wx5ok0bb4szwyx060i6.html#>. Acesso em: 02 mar. 2020.

Empresa Brasileira de Pesquisas sobre Agropecuária (Embrapa), 2003. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasViniferasRegioesClimaTemperado/mercado.html>>. Acesso em: 01 fev. 2020.

ESCRIBANO-VIANA, R. et al. Evaluating a preventive biological control agent applied on grapevines against *Botrytis cinerea* and its influence on winemaking. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 12, p. 4517–4526, 2018.

ESTEBAN, A. et al. Effects of temperature and incubation time on production of ochratoxin a by black aspergilli. **Research in Microbiology**, v. 155, n. 10, p. 861–866, 2004.

ESTI, M.; TAMBORRA, P. Influence of winemaking techniques on aroma precursors. **Analytica Chimica Acta**, v. 563, n. 1- 2 SPEC. ISS., p. 173–179, 2006.

FAN, B. et al. *Bacillus velezensis* FZB42 in 2018: The gram-positive model strain for plant growth promotion and biocontrol. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. OCT, 2018.

FORTES, C. et al. Occupational Exposure to Pesticides with Occupational Sun Exposure Increases the Risk for Cutaneous Melanoma. **Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v. 58, n. 4, p. 370–375, 2016.

FRÁGUAS, R. M. et al. Preparo e caracterização de filmes comestíveis de quitosana. **Polímeros**, v. 25, n. spe, p. 48–53, dez. 2015.

FRENETTE, C. et al. Structure-activity relationships for the fluorescence of ochratoxin A: Insight for detection of ochratoxin A metabolites. **Analytica Chimica Acta**, v. 617,

n. 1–2, p. 153–161, 2008.

GAO, H. et al. Research on volatile organic compounds from *Bacillus subtilis* CF-3: Biocontrol effects on fruit fungal pathogens and dynamic changes during fermentation. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. MAR, 2018.

GARCÍA-CELA, E. et al. Fungal diversity, incidence and mycotoxin contamination in grapes from two agro-climatic Spanish regions with emphasis on *Aspergillus* species. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 8, p. 1716–1729, 2015.

GARCÍA, M. A. et al. Effect of Fungicide Residues on the Aromatic Composition of White Wine Inoculated with Three *Saccharomyces cerevisiae* Strains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1241–1247, 2004.

GAŚIÓR, R.; WOJTYCZA, K. Sense of smell and volatile aroma compounds and their role in the evaluation of the quality of products of animal origin - A review. **Annals of Animal Science**, v. 16, n. 1, p. 3–13, 2016.

GONÇALVES, A. et al. The route of mycotoxins in the grape food chain. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 71, n. 2, p. 89–104, 2020.

GRAFTON-CARDWELL, E. E. et al. Various novel insecticides are less toxic to humans, more specific to key pests. **California Agriculture**, v. 59, n. 1, p. 29–34, 2005.

GU, F. et al. Contribution of bacillus isolates to the flavor profiles of vanilla beans assessed through aroma analysis and chemometrics. **Molecules**, v. 20, n. 10, p. 18422–18436, 2015.

GUARDADO-VALDIVIA, L. et al. Identification and characterization of a new *Bacillus atrophaeus* strain B5 as biocontrol agent of postharvest anthracnose disease in soursop (*Annona muricata*) and avocado (*Persea americana*). **Microbiological Research**, v. 210, p. 26–32, 2018.

HADJEBA-MEDJDOUB, K. et al. Structure-activity relationships imply different mechanisms of action for ochratoxin A-mediated cytotoxicity and genotoxicity. **Chemical Research in Toxicology**, v. 25, n. 1, p. 181–190, 2012.

HAMLEY, I. W. Lipopeptides: From self-assembly to bioactivity. **Chemical Communications**, v. 51, n. 41, p. 8574–8583, 2015.

HANIF, A. et al. Fengycin Produced by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 Inhibits *Fusarium graminearum* Growth and Mycotoxins Biosynthesis. **Toxins**, v. 11, n. 5, p. 1–11, 2019.

HONG, Y.; JUNG, H. J.; KIM, H. Y. Aroma characteristics of fermented Korean soybean paste (Doenjang) produced by *Bacillus amyloliquefaciens*. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n. 4, p. 1163–1172, 2012.

HOPPIN, J. A. et al. Pesticides are associated with allergic and non-allergic wheeze among male farmers. **Environmental Health Perspectives**, v. 125, n. 4, p. 535–543, 2017.

HSIEH, F. C. et al. Comparing methods for identifying *Bacillus* strains capable of producing the antifungal lipopeptide iturin A. **Current Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 1–5, 2008.

HUANG, X. et al. Diversity and ochratoxin A-fumonisin profile of black *Aspergilli* isolated from grapes in China. **World Mycotoxin Journal**, v. 13, n. 2, p. 225–233, 2020.

INOUE, T. et al. Captan-induced increase in the concentrations of intracellular Ca^{2+} and Zn^{2+} and its correlation with oxidative stress in rat thymic lymphocytes. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 63, p. 78–83, 2018.

IHARA. **ECO-SHOT**.

Disponível

em:

<http://www.ihara.com.br/produtos/biologicos/ecoshot/177/>. Acesso em: 01 abr. 2020.

JEONG, D. W. et al. Effects of the predominant bacteria from meju and doenjang on the production of volatile compounds during soybean fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 262, n. September, p. 8–13, 2017.

JIANG, C. et al. Inhibition of *Aspergillus carbonarius* and fungal contamination in table grapes using *Bacillus subtilis*. **Food Control**, v. 35, n. 1, p. 41–48, 2014.

KARUPPIAH, V. et al. Co-cultivation of *Trichoderma asperellum* GDFS1009 and *Bacillus amyloliquefaciens* 1841 Causes Differential Gene Expression and Improvement in the Wheat Growth and Biocontrol Activity. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. MAY, 2019.

KHAN, N.; MAYMON, M.; HIRSCH, A. Combating *Fusarium* Infection Using *Bacillus*-Based Antimicrobials. **Microorganisms**, v. 5, n. 4, p. 75, 2017.

KHOURY, A. et al. Fungal contamination and Aflatoxin B1 and Ochratoxin A in Lebanese wine-grapes and musts. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.46, n.6, p.2244-2250, 2008. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.02.026>>

KING, E. S. et al. Coinoculated fermentations using *Saccharomyces* yeasts affect the volatile composition and sensory properties of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 22, p. 10829–10837, 2008.

KNEBEL, C. et al. The azole fungicide tebuconazole affects human CYP1A1 and CYP1A2 expression by an aryl hydrocarbon receptor-dependent pathway. **Food and Chemical Toxicology**, v. 123, n. November 2018, p. 481–491, 2019.

KOMÁREK, M. et al. Contamination of vineyard soils with fungicides: A review of environmental and toxicological aspects. **Environment International**, v. 36, n. 1, p. 138–151, 2010.

KONG, W. J. et al. Draft genome sequence of *Bacillus velezensis* PEBA20, a strain with a plant growthpromoting effect and biocontrol potential. **Genome Announcements**, v. 6, n. 21, p. 20–21, 2018.

KOUNDOURAS, S. et al. Influence of vineyard location and vine water status on fruit maturation of nonirrigated cv. Agiorgitiko (*Vitis vinifera* L.). Effects on wine phenolic and aroma components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 14, p. 5077–5086, 2006.

KUMAR, M. et al. Immunotoxicity of ochratoxin A and citrinin in New Zealand White rabbits. **World Rabbit Science**, v. 16, n. 1, p. 7–12, 2008.

LAN, Y. BIN et al. Characterization and differentiation of key odor-active compounds of ‘Beibinghong’ icewine and dry wine by gas chromatography-olfactometry and aroma reconstitution. **Food Chemistry**, v. 287, n. 17, p. 186–196, 2019.

LASIK-KURDYS, M.; MAJCHER, M.; NOWAK, J. Effects of different techniques of malolactic fermentation induction on diacetyl metabolism and biosynthesis of selected aromatic esters in cool- climate grape wines. **Molecules**, v. 23, n. 10, 2018.

LASRAM, S. et al. Occurrence of ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in grapes from a Tunisian vineyard. **International Journal of Food Microbiology**, v. 114, n. 3, p. 376–379, 2007.

LEONG, S.L. et al. Australian research on ochratoxigenic fungi and ochratoxin A. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.111, n.S1, p.S10-S17, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.02.005>>.

LEONG, S. L. et al. Ochratoxin A-producing *Aspergilli* in Vietnamese green coffee beans. **Letters in Applied Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 301–306, 2007.

LI, H. et al. Developmental toxicity, oxidative stress and immunotoxicity induced by three strobilurins (pyraclostrobin, trifloxystrobin and picoxystrobin) in zebrafish embryos. **Chemosphere**, p. 781–790, 2018.

LI, Yan et al. Surfactin and fengycin contribute to the protection of a *Bacillus subtilis* strain against grape downy mildew by both direct effect and defence stimulation. **Molecular Plant Pathology**, 18 maio 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/mpp.12809>.

LI, Q. et al. Characterization and sequence analysis of potential biofertilizer and biocontrol agent *Bacillus subtilis* strain sem-9 from silkworm excrement. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 65, n. 1, p. 45–58, 2019a.

LI, Y. et al. Surfactin and fengycin contribute to the protection of a *Bacillus subtilis* strain against grape downy mildew by both direct effect and defence stimulation. **Molecular Plant Pathology**, p. 1–14, 2019b.

LIU, C. et al. Antagonistic activities of volatiles produced by two *Bacillus* strains against *Monilinia fructicola* in peach fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 15, p. 5756–5763, 2018.

LIU, H. et al. Aromatic characterization of mangoes (*Mangifera indica* L.) Using solid phase extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry and olfactometry and sensory analyses. **Foods**, v. 9, n. 1, 2020.

LOPES, J. C. et al. Biomassa e extração de quitina e quitosana a partir de isolados de *Cunninghamella* sp. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 38, n. 1, p. 25, 2017.

LUO, Y. et al. Complete genome sequence of industrial biocontrol strain *Paenibacillus polymyxa* HY96-2 and further analysis of its biocontrol mechanism. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. JUL, p. 1–14, 2018.

MA, J. et al. Analysis of the Complete Genome Sequence of *Bacillus atrophaeus* GQJK17 Reveals Its Biocontrol Characteristics as a Plant Growth-Promoting Rhizobacterium. **BioMed Research International**, v. 2018, 2018.

MAGNOLI, C. et al. Mycoflora and ochratoxin-producing strains of *Aspergillus* section *Nigri* in wine grapes in Argentina. **Letters in Applied Microbiology**, v. 37, n. 2, p. 179–184, 2003.

MAICAS, S.; MATEO, J. J. Hydrolysis of terpenyl glycosides in grape juice and other fruit juices: A review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 67, n. 3, p. 322–335, 2005.

MANNAA, M.; KIM, K. D. Biocontrol activity of volatile-producing *Bacillus megaterium* and *Pseudomonas protegens* against *Aspergillus* and *Penicillium* spp. predominant in stored rice grains: Study II. **Mycobiology**, v. 46, n. 1, p. 52–63, 2018.

MASSAWE, V. C. et al. Volatile compounds of endophytic *Bacillus* spp. have biocontrol activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Phytopathology**, v. 108, n. 12, p. 1373–1385, 2018.

MASUM, M. M. I. et al. **Halotolerant bacteria belonging to operational group *Bacillus amyloliquefaciens* in biocontrol of the rice brown stripe pathogen *Acidovorax oryzae***. [s.l: s.n.]. v. 125

MESARICH, C. H. et al. Specific hypersensitive response-associated recognition of new apoplastic effectors from *Cladosporium fulvum* in wild tomato. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 31, n. 1, p. 145–162, 2018.

MIKUŠOVÁ, P. et al. Contamination by moulds of grape berries in Slovakia. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 27, n. 5, p. 738–747, 2010.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Adalton Mazetti Fernandes. **Doenças causadas por fungos**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalicas/batata/doencas>. Acesso em: 03 abr. 2020.

MULERO, J. et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of red wine made from grapes treated with different fungicides. **Food Chemistry**, v. 180, p. 25–31, 2015.

NAGY, K. et al. Interlaboratory evaluation of the genotoxic properties of pencycuron, a commonly used phenylurea fungicide. **Science of the Total Environment**, v. 647, p. 1052–1057, 2019.

NARAYAN, S. et al. Occupational pesticide use and Parkinson's disease in the Parkinson Environment Gene (PEG) study. **Environment International**, v. 107, n. October 2016, p. 266–273, 2017.

NICOLLI, K. P. et al. Sensory, olfactometry and comprehensive two-dimensional gas chromatography analyses as appropriate tools to characterize the effects of vine management on wine aroma. **Food Chemistry**, v. 243, p. 103–117, mar. 2018.

NIGRIS, S. et al. Biocontrol traits of *Bacillus licheniformis* GL174, a culturable endophyte of *Vitis vinifera* cv. Glera. **BMC Microbiology**, v. 18, n. 1, p. 1–16, 2018.

NIKOLIĆ, I. et al. Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. aptata on sugar beet with *Bacillus pumilus* SS-10.7 and *Bacillus amyloliquefaciens* (SS-12.6 and SS-38.4) strains. **Journal of Applied Microbiology**, v. 126, n. 1, p. 165–176, 2019.

NOHMI, T. Thresholds of genotoxic and non-genotoxic carcinogens. **Toxicological Research**, v. 34, n. 4, p. 281–290, 2018.

OLIVA, J. et al. Effect of the use of recent commercial fungicides [under good and critical agricultural practices] on the aroma composition of Monastrell red wines. **Analytica Chimica Acta**, v. 617, n. 1–2, p. 107–118, 2008.

OLIVERI, C.; TORTA, L.; CATARA, V. A polyphasic approach to the identification of ochratoxin A-producing black *Aspergillus* isolates from vineyards in Sicily. **International Journal of Food Microbiology**, v. 127, n. 1–2, p. 147–154, 2008.

ÖZTOPUZ, Ö. et al. Isolation and Evaluation of New Antagonist *Bacillus* Strains for the Control of Pathogenic and Mycotoxigenic Fungi of Fig Orchards. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 186, n. 3, p. 692–711, 2018.

PALENCIA, E. R. et al. Analyses of black aspergillus species of peanut and maize for ochratoxins and fumonisins. **Journal of Food Protection**, v. 77, n. 5, p. 805–813, 2014.

PAN, M. et al. Molecular engineering of chitinase from *Bacillus* sp. DAU101 for enzymatic production of chitooligosaccharides. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 124, p. 54–62, 2019.

PANDIN, C. et al. Complete genome sequence of *Bacillus velezensis* QST713: A biocontrol agent that protects *Agaricus bisporus* crops against the green mould disease. **Journal of Biotechnology**, v. 278, n. 2010, p. 10–19, 2018.

PATEL, D. M. et al. Parental occupational exposure to pesticides, animals and organic dust and risk of childhood leukemia and central nervous system tumors: Findings from the International Childhood Cancer Cohort Consortium (I4C). **International Journal of Cancer**, 2019.

PAZ, I. C. P. et al. Biocontrol of *Botrytis cinerea* and *Calonectria gracilis* by eucalypts growth promoters *Bacillus* spp. **Microbial Pathogenesis**, v. 121, p. 106–109, 2018.

PEÑA-GALLEGO, A. et al. S-Cysteinylation and S-glutathionylation thiol precursors in grapes. A review. **Food Chemistry**, v. 131, n. 1, p. 1–13, 2012.

PETER SCHREIER & WALTER G. Jennings (1979) Flavor composition of wines: A review, *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 12:1, 59-111, DOI: 10.1080/10408397909527273

PINTO, C. et al. Draft genome sequence of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* strain Fito-F321, an endophyte microorganism from *Vitis vinifera* with biocontrol potential. **Standards in Genomic Sciences**, v. 13, n. 1, p. 1–12, 2018.

POIVET, E. et al. Functional odor classification through a medicinal chemistry approach. **Science Advances**, v. 4, n. 2, 2018.

POTSHANGBAM, M. et al. Draft Genome Sequence of *Bacillus altitudinis* Lc5, a

Biocontrol and Plant Growth-Promoting Endophyte Strain Isolated from Indigenous Black Rice of Manipur. **Genome Announcements**, v. 6, n. 26, p. 5–6, 28 jun. 2018.

RACHED, E. et al. Evaluation of putative biomarkers of nephrotoxicity after exposure to ochratoxin a in vivo and in vitro. **Toxicological Sciences**, v. 103, n. 2, p. 371–381, 2008.

RADOVANOVIĆ, N. et al. Biocontrol and plant stimulating potential of novel strain *Bacillus* sp. PPM3 isolated from marine sediment. **Microbial Pathogenesis**, v. 120, n. October 2017, p. 71–78, 2018.

RAIS, A. et al. Antagonistic *Bacillus* spp. reduce blast incidence on rice and increase grain yield under field conditions. **Microbiological Research**, v. 208, p. 54–62, 2018.

RIBA, A. et al. Mycoflora and ochratoxin A producing strains of *Aspergillus* in Algerian wheat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 122, n. 1–2, p. 85–92, 2008.

ROBINSON, A. L. et al. Origins of grape and wine aroma. Part 1. Chemical components and viticultural impacts. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 65, n. 1, p. 1–24, 2014.

ROMANAZZI, G. et al. Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 113, p. 69–76, 2016.

ROSA, C. A. R. et al. Occurrence of ochratoxin A in wine and grape juice marketed in Rio de Janeiro, Brazil. **Food Additives and Contaminants**, v. 21, n. 4, p. 358–364, 2004.

ROSSIELLO, M. R. et al. Ochratoxin A inhibits the production of tissue factor and plasminogen activator inhibitor-2 by human blood mononuclear cells: Another potential mechanism of immune-suppression. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 229, n. 2, p. 227–231, 2008.

SABON, I. et al. Determination of volatile compounds in Grenache wines in relation with different terroirs in the Rhone Valley. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 22, p. 6341–6345, 2002.

SAECHOW, S. et al. Antagonistic activity against dirty panicle rice fungal pathogens and plant growth-promoting activity of bacillus amyloliquefaciens BAS23. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 9, p. 1527–1535, 2018.

SAGE, L. et al. Fungal flora and ochratoxin A production in grapes and musts from France. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 5, p. 1306–1311, 2002.

SÁNCHEZ-GÓMEZ, R. et al. The Microvine, a plant model to study the effect of vine-shoot extract on the accumulation of glycosylated aroma precursors in grapes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 8, p. 3031–3040, 2018.

SAVA, V. et al. Acute neurotoxic effects of the fungal metabolite ochratoxin-A. **NeuroToxicology**, v. 27, n. 1, p. 82–92, 2006.

SCHMIDT-HEYDT, M. et al. Wavelength-dependent degradation of ochratoxin and citrinin by light in vitro and in vivo and its implications on Penicillium. **Toxins**, v. 4, n. 12, p. 1535–1551, 2012.

SEKIYAMA, B. L. et al. Aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in maize-based food products. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, n. 3, p. 289–294, 2005.

SERRA, R.; MENDONÇA, C.; VENÂNCIO, A. Ochratoxin A occurrence and formation in Portuguese wine grapes at various stages of maturation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 111, p. 35–39, 2006.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820–897, 2015.

SHENOY K, CUNNINGHAM BT, RENFROE JW, CROWLEY PH. Growth and survival of northern leopard frog (*Rana pipiens*) tadpoles exposed to two common pesticides. **Environ Toxicol Chem** 2009; 28:1469–74.

SHRESTHA, S. et al. Pesticide use and incident hyperthyroidism in farmers in the Agricultural Health Study. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 76, n. 5, p. 332–335, 2019.

SHUKLA, S. et al. Ochratoxin A reduction ability of biocontrol agent *Bacillus subtilis* isolated from Korean traditional fermented food Kimchi. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 2018.

SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. *Química Nova*, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 776-785, 2006.

(SINITOX), Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas. **Casos de Intoxicação por Agrotóxico de Uso Agrícola por Unidade Federada, Segundo Circunstância Registrado em 2017**. 2017. Disponível em: <https://sinitox.icict.fiocruz.br/sites/sinitox.icict.fiocruz.br/files//2%20-%20Agrotoxico%20Uso%20Agricola1.pdf>. Acesso em: 01 nov. 2020.

SISDEVIN. **Produção de uvas e produtos vitivinícolas elaborados na safra 2020, no Estado do Rio Grande do Sul - resumo geral**. 2020. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/202007/08133156-sisdevin-dados-da-safra-2020.pdf>. Acesso em: 01 nov. 2020

SMYTH, H. and D. Cozzolino, Instrumental Methods (Spectroscopy, Electronic Nose, and Tongue) As Tools To Predict Taste and Aroma in Beverages: Advantages and Limitations. *Chemical Reviews*, 2012. 113 (3): p.1429-1440.

SOMKUWAR, R. G. et al. Estimation of polyphenols by using HPLC–DAD in red and white wine grape varieties grown under tropical conditions of India. **Journal of Food**

Science and Technology, v. 55, n. 12, p. 4994–5002, 2018.

SUMBY, K. M.; GRBIN, P. R.; JIRANEK, V. Microbial modulation of aromatic esters in wine: Current knowledge and future prospects. **Food Chemistry**, v. 121, n. 1, p. 1–16, 2010.

TANG, J. et al. Transcriptome sequencing and ITRAQ reveal the detoxification mechanism of Bacillus GJ1, a potential biocontrol agent for Huanglongbing. **PLoS ONE**, v. 13, n. 8, p. 1–30, 2018.

THOMMA, B. P. H. J. et al. Cladosporium fulvum (syn. Passalora fulva), a highly specialized plant pathogen as a model for functional studies on plant pathogenic Mycosphaerellaceae. **Molecular Plant Pathology**, v. 6, n. 4, p. 379–393, 2005.

TJAMOS, S. E.; ANTONIOU, P. P.; TJAMOS, E. C. Aspergillus spp., distribution, population composition and ochratoxin A production in wine producing vineyards in Greece. **International Journal of Food Microbiology**, v. 111, 2006.

TORRENS, J. et al. Volatile compounds of red and white wines by headspace-solid-phase microextraction using different fibers. **Journal of Chromatographic Science**, v. 42, n. 6, p. 310–316, 2004.

TORRES, M. J. et al. Antagonistic effects of Bacillus subtilis subsp. subtilis and B. amyloliquefaciens against Macrophomina phaseolina: SEM study of fungal changes and UV-MALDI-TOF MS analysis of their bioactive compounds. **Microbiological Research**, v. 182, p. 31–39, 2016.

VÁZQUEZ, J. A.; RODRÍGUEZ-AMADO, I.; MONTEMAYOR, M. I.; FRAGUAS, J.; GONZÁLEZ, M. D. P.; MURADO, M. A. Chondroitin sulfate, hyaluronic acid and chitin/chitosan production using marine waste sources: Characteristics, applications and eco-friendly processes: A review. *Marine Drugs*, Basel, v. 11, n. 3, p. 747-774, 2013.

VEIGA, M. M. Agrotóxicos: Eficiência econômica e injustiça socioambiental. **Ciencia**

e Saude Coletiva, v. 12, n. 1, p. 145–152, 2007.

VERAS, F. F. et al. Inhibition of mycotoxin-producing fungi by *Bacillus* strains isolated from fish intestines. **International Journal of Food Microbiology**, v. 238, p. 23–32, 2016.

WAMBACQ, E. et al. *Bacillus velezensis* as antagonist towards *Penicillium roqueforti* s.l. in silage: in vitro and in vivo evaluation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 125, n. 4, p. 986–996, 2018.

WANG, H. et al. A biocontrol strain of *Bacillus subtilis* WXCDD105 used to control tomato botrytis cinerea and *Cladosporium fulvum* cooke and promote the growth of seedlings. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 5, 2018.

WANG, X. W. et al. De novo characterization of a whitefly transcriptome and analysis of its gene expression during development. **BMC Genomics**, v. 11, n. 1, 2010.

WELKE, J. E. et al. Main differences between volatiles of sparkling and base wines accessed through comprehensive two dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection and chemometric tools. **Food Chemistry**, v. 164, p. 427–437, 2014.

WELKE, J. E.; HOELTZ, M.; NOLL, I. B. Aspectos relacionados à presença de fungos toxigênicos em uvas e ocratoxina A em vinhos. **Ciencia Rural**, v. 39, n. 8, p. 2567–2575, 2009.

WINTERHALTER, P.; ROUSEFF, R. Carotenoid-Derived Aroma Compounds: An Introduction. n. 7, p. 1–17, 2001.

XI, Y.; PAN, P. L.; ZHANG, C. X. The β -N-acetylhexosaminidase gene family in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. **Insect Molecular Biology**, v. 24, n. 6, p. 601–610, 2015.

WU, Shimei et al. Characterization of Antifungal Lipopeptide Biosurfactants Produced by Marine Bacterium *Bacillus* sp. CS30. **Marine Drugs**, v. 17, n. 4, p.199-215, 29 mar. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/md17040199>.

XI, Y.; PAN, P.-l.; ZHANG, C.-x.. The β -N-acetylhexosaminidase gene family in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. **Insect Molecular Biology**, [s.l.], v. 24, n. 6, p.601-610, 25 ago. 2015. Wiley.

XIAO, L. et al. Effects of *Bacillus cereus* strain Jdm1 on *Meloidogyne incognita* and the bacterial community in tomato rhizosphere soil. **3 Biotech**, v. 8, n. 8, p. 0, 2018.

YANG, J. et al. A value-added approach to improve the nutritional quality of soybean meal byproduct: Enhancing its antioxidant activity through fermentation by *Bacillus amyloliquefaciens* SWJS22. **Food Chemistry**, v. 272, p. 396–403, 2019.

YANG, J.; ZHANG, K. Q. **Chitin synthesis and degradation in fungi: Biology and enzymes**. [s.l.] Springer Singapore, 2019. v. 1142

YANG, J., Wu, X-b., CHEN, H-l., SUN-WATERHOUSE, D., ZHONG, H-b., Cui, C., A value-added approach to improve the nutritional quality of soybean meal byproduct: Enhancing its antioxidant activity through fermentation by *Bacillus amyloliquefaciens* SWJS22, **Food Chemistry** (2018), doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.037>.