

Hiêda da Silva Melo

Universidade Federal do Tocantins
hiedamelo@hotmail.com

Sabrina Ribeiro da Silva

Universidade Federal do Tocantins
sabrinaribeiro281@gmail.com

Juliana Paggiaro

Universidade Federal do Tocantins
jupaggiaro22@gmail.com

Anny Caroline Oliveira de Oliveira

Universidade Federal do Tocantins
annycarolineoliveira7@gmail.com

Caio Renderson Brito

Universidade Federal do Tocantins
caiofariasbrito@gmail.com

Helayne da Silva Melo

Universidade Federal do Maranhão
helaynemelosilva@hotmail.com

Talita Pereira de Souza Ferreira

Universidade Federal do Tocantins
cupufer@gmail.com

Aloisio Freitas Chagas Junior

Universidade Federal do Tocantins
chagasjraf@uft.edu.br

CONTROLE BIOLÓGICO DO FUNGO *Rhizopus* sp. EM MORANGOS PÓS- COLHEITA

RESUMO

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* e Kombucha foram utilizados em dois métodos alternativos no controle biológico do fungo *Rhizopus* sp., sendo esse um agente etiológico de doenças pós-colheita. Avaliou-se a atividade antagonista da levedura *S. cerevisiae* e Kombucha contra o fungo *Rhizopus* sp., através de testes *in vitro*, análise de incidência aplicando *S. cerevisiae* e Kombucha, em ambas as concentrações 100, 75, 50, 25 mg L⁻¹. A determinação da capacidade antagonista da levedura *S. cerevisiae* e Kombucha sobre o *Rhizopus* sp. foi caracterizada pela redução do crescimento fúngico em placas, formação de um halo de inibição. Nos testes de confronto direto os resultados encontrados diferem dos esperados mostrando que tanto a *S. cerevisiae* e Kombucha não inibiram o crescimento do fungo patogênico. Para análise de incidência observamos que *S. cerevisiae* demonstrou uma diferença significativa entre as amostras para os tratamentos controle, 50, 25, 75 e 100% para a temperatura 25 °C, já o tratamento com 25% em 17 °C não houve diferença significativa na segunda e terceira amostra. Com isso, pode-se perceber que o tratamento com 100% de levedura foi o que se destacou, pois os fungos tiveram um desenvolvimento parcial na presença da levedura, quanto a Kombucha os tratamentos 50 e 100% realizados a 25 °C apresentaram diferenças significativas entre as amostras. Já para a temperatura 17 °C os tratamentos 25, 50 e 75% foram os que apresentaram diferença significativa entre as amostras.

Palavras-chave: Inibição. Atividade fúngica. Antagonismo. *Fragaria ananassa*. Levedura.

BIOLOGICAL CONTROL OF THE FUNGUS *Rhizopus* sp. IN POSTHARVEST STRAWBERRIES

ABSTRACT

The yeast *Saccharomyces cerevisiae* and Kombucha were used in two alternative methods for the biological control of the fungus *Rhizopus* sp., which is an etiological agent of post-harvest diseases. The antagonistic activity of the yeast *S. cerevisiae* and Kombucha against the fungus *Rhizopus* sp. was evaluated through *in vitro* tests, analysis of incidence applying *S. cerevisiae* and Kombucha, in both concentrations 100, 75, 50, 25 mg L⁻¹. The determination of the antagonistic capacity of the yeast *S. cerevisiae* and Kombucha on *Rhizopus* sp. was characterized by reduced fungal growth on plaques, formation of an inhibition halo. In direct confrontation tests, the results found differ from those expected, showing that both *S. cerevisiae* and Kombucha did not inhibit the growth of the pathogenic fungus. For the analysis of incidence, we observed that *S. cerevisiae* showed a significant difference between the samples for the control treatments, 50, 25,

75 and 100% for the temperature 25 °C, while the treatment with 25% at 17 °C did not there was a significant difference in the second and third samples. With this, the treatment with 100% yeast was the one that stood out, as the fungi had a partial development in the presence of yeast, as for Kombucha, the 50 and 100% treatments performed at 25 °C showed differences significant among the samples. For the temperature 17 °C, the treatments 25, 50 and 75% were the ones that showed a significant difference between the samples.

Keywords: Inhibition. Fungal activity. Antagonism. *Fragaria ananassa*. Yeast.

1. INTRODUÇÃO

Os morangos (*Fragaria x ananassa* Duch.) são ricos em muitos nutrientes, como fibra alimentar, minerais, vitamina C, caroteno, ácido tânico, antocianina, flavona, entre outros compostos, fazendo desta fruta a preferida dos consumidores em todo o mundo (SIMARELLI, 2006; CHAVES et al., 2017; SUN et al., 2021). Sendo uma das frutas mais consumidas devido às suas extraordinárias características organolépticas (sabor, cor e aroma) e por seu valor nutricional (CHU et al., 2020). Porém a deterioração dos frutos causada por vários patógenos pós-colheita são os maiores responsáveis pelas perdas (TIAN et al., 2016). Portanto, inibir e controlar a podridão e contaminação por microrganismo pós-colheita são as principais formas de reduzir as perdas pós safra (TEMIZ & ÖZDEMIR, 2021; SUN et al., 2021). Os morangos são vulneráveis a danos mecânicos durante a colheita e transporte, devido ao seu pericarpo frágil e seu alto teor de água, deixando vulnerável a contaminações, que muitas vezes levam ao apodrecimento dos frutos e, por consequência, deteriorando a sua

qualidade e depreciando seu valor de mercado (TEMIZ & ÖZDEMIR., 2021; XIE et al., 2021).

Espécies do gênero *Fragaria* se desenvolveram de forma congruente com outras plantas da família Rosaceae (DICKINSON et al., 2007), sendo uma família de grande importância mundial e socioeconômica, exibe elevado valor comercial, devido sua produção estar em constante desenvolvimento, ou seja, com um crescimento de 17% nos últimos cinco anos, com ganhos em produtividade, pesquisa no melhoramento da eficiência das plantas e dos sistemas inovadores de produção (OSHITA et al., 2012). Com isso, há uma busca por novas tecnologias que visam proporcionar a qualidade em relação às resistências de doenças e a qualidade na pós-colheita, como armazenagens e conservação dos frutos, visto que o morango possui alta perecibilidade (ANTUNES et al., 2016; ANTUNES et al., 2020; WANG et al., 2021).

Considerado uma fruta altamente vulnerável ao aparecimento de doenças, principalmente no período pós-colheita, como a podridão mole, sendo seu principal agente o fungo *Rhizopus* sp., portanto, as abordagens

atuais para o controle das doenças fúngicas são utilizados fungicidas químicos, que trouxe uma série de efeitos negativos, como poluição ambiental, resistência a drogas de patógenos e preocupações dos consumidores sobre o uso desse pesticidas (JANISIEWICZ & KORSTEN, 2002 ; DROBY et al., 2009; SUN et al., 2021). Sendo assim torna-se necessário explorar alternativas seguras de antimicrobianos em substituição aos fungicidas químicos, que possam controlar os patógenos de forma segura (TIAN, 2006; NUNES, 2012; SUN et al., 2021; WANG et al., 2021).

Para que haja a conservação dos sistemas biológicos, destacam-se o controle biológico e a indução de resistência em plantas. Em ambas, a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que tem grande potencial antagônico sobre alguns fungos, torna-se um importante agente de biocontrole e devido à presença de proteínas na sua parede celular tem capacidade de romper as barreiras das membranas plasmáticas dos seus alvos, tornando-se mais eficientes na competição de espaços e nutrientes em relação a outros microrganismos (PLATANIA et al., 2012; NUNES, 2012).

Outro método alternativo de controle é a Kombucha, que é uma bebida produzida por meio de técnicas de fermentação tradicional, envolvendo a fermentação de chá adoçado por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras, com capacidade de inibir o crescimento de microrganismos patogênicos (JAYABALAN et al., 2014; CHAKRAVORTY et al., 2016).

A partir dessa premissa este artigo objetivou investigar diferentes organismos que possuam atividades antagônicas, tendo em vista

um método de controle, que seja eficiente a ação de doenças fúngicas em frutas, por meio da levedura *S. cerevisiae* e da bebida fermentada Kombucha no controle de doenças provocadas por *Rhizopus* sp., no morango em pós-colheita.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no laboratório de Biotecnologia de Alimentos e Bebidas na Universidade Federal do Tocantins (UFT), localizado no município de Gurupi - TO.

Isolamento e identificação dos fungos

Os frutos do morango (*Fragaria ananassa*) foram coletados no comércio local do município de Gurupi - TO e transferidos para o laboratório Biotecnologia de Alimentos e Bebidas na Universidade Federal do Tocantins, onde apresentavam sinais de infecção fúngica natural. Após 5 dias de armazenamento, o fungo foi isolado, e cultivado em placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), onde foi preparado com 400 mL de batata, 20 g L⁻¹ de dextrose e 20 g L⁻¹ de ágar e água destilada autoclavada q.s.p. e mantidos em câmara de crescimento por 72 horas a 17 e 25 °C.

Para identificação morfológica dos fungos isolados, foram preparadas lâminas contendo estrutura de cada um é observado em microscópio óptico, com um aumento de 40x, observando-se suas particularidades estruturais, principalmente, as estruturas de reprodução, assim como outras características tais como: hifas e conídios.

Testes de patogenicidade nos frutos

Foram coletadas quinze amostras de frutos sadios de morango (Figura 1), que foram adquiridos no comércio local. Passaram por um procedimento de assepsia, lavadas com uma solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 1% e em seguida enxaguadas com água corrente. Após esse procedimento, os frutos foram secos, colocados em bandejas e pesados. Posteriormente, foram tratados com água destilada (testemunha), suspensão de levedura de panificação (*S. cerevisiae*), produto comercial Fermento Biológico Fresco Fleischmann, com água a 100, 75, 50, 25 mL L⁻¹, sendo mantidos a temperatura de 17 e 25 °C e Kombucha 100, 75, 50, 25 ml L⁻¹, a 25 °C durante 14 dias para fermentação.

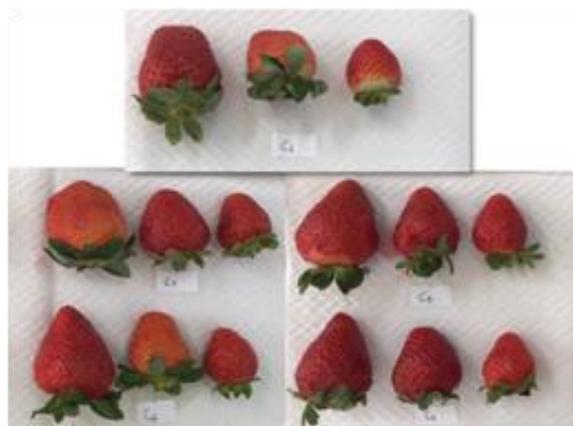


Figura 1: Frutos do morango sadios. Fonte: Autor (2021).

Análise da incidência

A avaliação da incidência foi realizada diariamente após a inoculação do patógeno, verificando-se o número de morangos que apresentaram os sintomas de doenças, como sinais do patógeno por um período de cinco dias. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância realizada através do teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Avaliação do potencial antagonístico *in vitro*

Para avaliação do potencial antagonístico para ambos os tratamentos foram realizados três ensaios *in vitro* por meio de testes de confronto por pareamento direto, testes com meio sólido em placas e teste em meio líquido, verificando-se o crescimento micelial do fitopatógeno na presença da levedura.

A capacidade antagonística da levedura (Figura 2 A) fez-se o uso de 4 discos de papel previamente esterilizados em autoclave, contendo em cada disco 50 µL de levedura sobre placa de Petri com meio BDA, e adição em seguida de um disco de micélio do fungo no centro da placa a fim de verificar o crescimento do patógeno na presença da levedura. As placas foram em seguida incubadas em B.O.D a uma temperatura de 25 ± 2 °C, e avaliadas durante 3 dias.

Foram também feitos testes em placas de Petri contendo meio BDA e adicionado sobre as mesmas 100 µL nas concentrações 100, 75, 50, 25% de levedura (Figura 2 B) onde a solução foi espalhada com o auxílio de uma alça de Drigalski. Em seguida, as placas foram incubadas em B.O.D a uma temperatura de 25 ± 2 °C por dois dias, de forma a promover o crescimento da levedura. Após o crescimento da levedura, foi adicionado um disco de aproximadamente 3 mm de diâmetro do fungo no centro da placa, e avaliado o crescimento fúngico durante 3 dias.

A segunda avaliação para Kombucha foi realizada utilizando meio chá verde (dois sachês de chás, 10% de açúcar p/v, e 2% de ágar p/v, as mesmas avaliações em placa Petri se deu com as mesmas condições da *S. cerevisiae*.

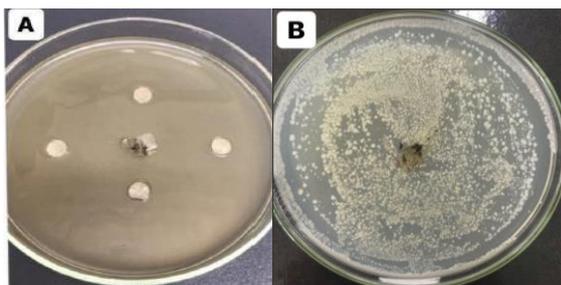


Figura 2: Testes de antagonismos. A) 4 discos de levedura e 1 disco de fungo no centro, B) um disco do fungo *Rhizopus* sp., no centro com levedura crescida na placa Fonte: Autor (2021).

Para o teste em meio líquido com *S. cerevisiae*, foram utilizados quatro Erlenmeyers de 100 mL, contendo meio BD em cada um. Em seguida foram adicionados três discos de micélio-ágar (3 mm de diâmetro) do fungo *Rhizopus* sp. no primeiro dos frascos, no segundo Erlenmeyer foram adicionados 90 mL de meio de cultura, juntamente com 10 mL de levedura, no terceiro foi adicionada a levedura juntamente com 3 discos de fungo nas mesmas condições e o quarto contendo apenas meio de cultura utilizado como branco. Depois desse procedimento, os erlenmeyers foram dispostos em uma mesa agitadora e submetidos a uma rotação de 120 rpm durante 3 dias a uma temperatura de 25 ± 2 °C, as leituras espectrofotométricas das amostras foram realizadas de quatro em quatro horas após a inoculação do fungo a 540 nm das absorbâncias.

O segundo teste em meio líquido com Kombucha, preparado nas mesmas condições. Diferente da levedura foi adicionado Kombucha com 14 dias de fermentação em temperatura ambiente no meio BD. Após decorrido tempo, foram feitas leituras em espectrofotômetro a 540 nm das absorbâncias de cada amostra.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Isolamento e identificação dos fungos

A identificação morfológica foi realizada através de microscopia óptica, modelo Leica DM2500 no Software Leica application vs 4.0 (Figura 3). A identificação do fungo *Rhizopus* sp. foi feito com base nas características macroscópicas e microscópicas mais relevantes, como a coloração das colônias e suas particularidades estruturais tais como: conjuntos e formas das hifas, e os tipos de conídios (SINGH & DAS, 2021).

Segundo Gryganskyi (2018) as características de identificação do fungo *Rhizopus* sp., estão de acordo que micromorfológicas dos esporângios, esporangiósoros e esporangióforos, bem como a presença ou ausência de zigosporos, rizomas e estolões, foram levadas em consideração (SINGH & DAS, 2021).

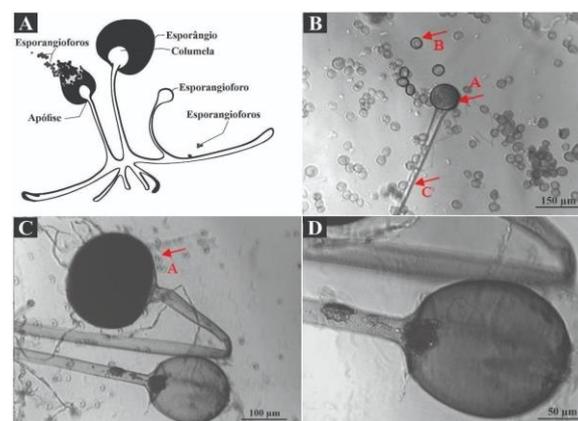


Figura 3: Imagens obtidas de microscópicas ópticas do fungo *Rhizopus* sp. A) esquema ilustrativo das partes constituintes do fungo; B) Partes constituindo do fungo, regiões (a) Esporângio, (b) Esporangióforos, (c) Aplanósoros; C) Esporângio; D) Ampliação do esporângio. Fonte: Autor (2022).

Rhizopus sp. é um importante agente etiológico de doenças pós-colheita de frutos e vegetais, e raramente observada no campo,

devido os frutos adquirirem o inóculo para posterior manifestação dos sintomas durante o transporte e armazenamento, causando o apodrecimento do mesmo (ALVES et al., 2018). O desenvolvimento desse fungo é favorecido por temperatura acima de 21 °C com condições encontradas em várias cidades, principalmente no período chuvoso (VITHIYA, 2021).

Teste de patogenicidade nos frutos

Baseado nos dois testes dos frutos isolados de patógeno, foi possível verificar que ambos foram patogênicos para os frutos do morango que apresentavam lesões no tecido. Apesar disso, a levedura *S. cerevisiae* apresenta maior eficiência no controle do fungo *Rhizopus* sp., sendo assim escolhida para os testes de controle biológico (Figura 4).



Figura 4: Teste de patogenicidade nos frutos, contendo em: A) *Saccharomyces Cerevisiae* B) Kombucha. Fonte do Autor (2022).

Análise da incidência

Os resultados obtidos no teste de incidência para *S. cerevisiae* a 17 e 25 °C são apresentados na Tabela 1. Houve diferença significativa entre as amostras para os

tratamentos controle, 50, 25, 75 e 100% para a temperatura 25 °C, já o tratamento com 25% em 17 °C não houve diferença significativa na segunda e terceira amostra. Com isso, nota-se que o tratamento com 100% de levedura foi o que se destacou, pois os fungos apresentaram dificuldade no seu desenvolvimento na presença da levedura *S. cerevisiae* (Figura 1), para ambas as temperaturas, ou seja, estavam aptos para o consumo. Segundo Bendo (2009) para este mesmo teste utilizando o leite *in natura* como forma de tratamento não obteve tanto sucesso, pois no último dia de avaliação os frutos encontravam-se impróprios para consumo e com a presença do fungo nos frutos.

O alto nível de infestação possivelmente ocorre pelas condições favoráveis para o desenvolvimento do fungo, sendo sua temperatura ideal de crescimento acima de 21 °C (DORTA, 2020). Esses dados sugerem os tratamentos mantidos à temperatura de 25 °C, alta umidade e baixa taxa de respiração no interior das embalagens, assim como alta umidade na superfície dos frutos emergidos nos tratamentos por 5 minutos. Diante disso os frutos mantidos a 17 °C apresentaram baixa proliferação do fungo, preservando sua qualidade do fruto pós-colheita.

De acordo com a tabela 2, os tratamentos 50 e 100% realizados a 25 °C apresentaram diferenças significativas entre as amostras. Já para a temperatura 17 °C os tratamentos 25, 50 e 75% foram os que apresentaram diferença significativa entre as amostras. Mesmo os tratamentos apresentando diferença entre as amostras, visivelmente a Kombucha não foi

eficiente no tratamento quanto à inibição do teste. fungo (Figura 5). Devido a isso não foi possível determinar qual o melhor tratamento para este

Tabela 1: Teste de incidência para levedura *S. cerevisiae*.

Levedura <i>Saccharomyces</i> 17 °C					
Amostras	Controle	25	50	75	100
1	13,40±0,17 ^a	17,54±2,99 ^a	15,42±0,15 ^a	17,26±0,26 ^a	17,24±0,50 ^a
2	12,79±0,12 ^b	12,72±0,14 ^b	14,88±0,67 ^b	11,87±0,68 ^b	14,69±0,28 ^b
3	11,48±0,24 ^c	11,04±0,39 ^b	11,20±0,14 ^c	10,52±0,15 ^c	12,48±0,08 ^c
Levedura <i>Saccharomyces</i> 25 °C					
Amostras	Controle	25	50	75	100
1	25,19±0,53 ^a	26,40±0,40 ^a	28,20±0,85 ^a	22,45±0,05 ^a	26,57±0,88 ^a
2	14,45±0,24 ^b	12,83±0,03 ^b	15,98±0,028 ^b	16,23±1,04 ^b	15,88±0,22 ^b
3	7,06±0,46 ^c	7,89±0,075 ^c	9,01±0,67 ^c	9,43±0,86 ^c	10,36±0,48 ^c

^{a,b,c} Letras diferentes nas linhas indicam diferença estatística pelo teste Tukey (P<0,05); ^{a,a} Letras iguais não diferem entre si significativamente. Fonte: Autor (2021).

Tabela 2: Teste de incidência utilizando a Kombucha 17 e 25 °C.

Kombucha 17 °C					
Amostras	Controle	25	50	75	100
1	13,49±0,29 ^a	16,697±0,385 ^a	17,02±0,46 ^a	14,81±0,46 ^a	17,67±0,31 ^a
2	10,40±0,33 ^b	10,38±0,22 ^b	11,14±0,21 ^b	14,07±0,28 ^b	12,01±0,77 ^b
3	10,20±0,19 ^b	9,17±0,26 ^c	10,09±0,28 ^c	11,62±0,49 ^c	12,49±0,96 ^b
Kombucha 25 °C					
Amostras	Controle	25	50	75	100
1	12,53±0,25 ^a	11,72±0,31 ^a	17,19±0,28 ^a	13,38±0,51 ^a	21,14±0,33 ^a
2	9,64±0,40 ^b	12,11±0,58 ^a	13,53±0,35 ^b	12,74±0,81 ^a	12,20±0,40 ^b
3	9,68±0,26 ^b	10,11±0,32 ^b	11,24±0,20 ^c	13,29±0,95 ^a	10,61±0,50 ^c

^{a,b,c} Letras diferentes nas linhas indicam diferença estatística pelo teste Tukey (P<0,05); ^{a,a} Letras iguais não diferem entre si significativamente. Fonte: Autor (2021).

Segundo Juping et al. (2019), o efeito da Kombucha na preservação pós-colheita da pêra se mostrou eficiente, pois a qualidade do fruto tratado foi 1,5 vezes maior do que a pêra controle, quando armazenadas em temperatura ambiente por 18 dias. Os autores indicam que a Kombucha pode inibir a transformação de polissacarídeos, amido e pectina, e retarda a degradação de nutrientes na fruta. Portanto,

observou diferenças de metodologias com o deste trabalho, onde o autor utilizou o chá preto, com imersão por 15 min, o que pode ser considerado um aspecto que a Kombucha não seja eficiente no teste realizado.

Avaliação do potencial antagonico *in vitro*

Um método muito utilizado em estudos de antagonismo *in vitro*, é a cultura pareada em

disco de ágar, com inúmeros relatos de sucesso na seleção de microrganismos, que busca o controle biológico de fitopatógenos onde permite medir o crescimento micelial (RODRIGUES et al., 2018). O resultado mais eficaz de inibição foi quando a inoculação foi quando a inoculação da levedura foi incubada por 48 horas a uma temperatura 25 ± 2 °C, de forma que promove o crescimento da levedura, indicando que o modo de ação refere a inibição pode estar relacionada com a competição existente por nutrientes.

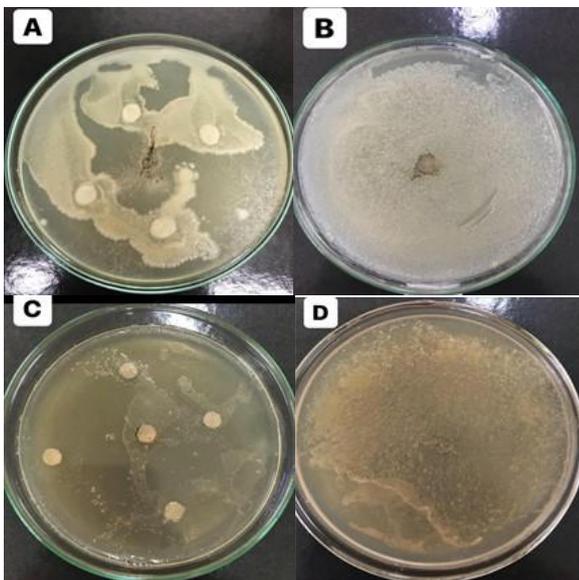


Figura 5: (A)(B) para *S. cerevisiae*; (C) (D) para Kombucha. (A, C) 4 discos de levedura e 1 disco de fungo no centro, teste de confronto direto. (B, D) um disco do fungo *Rhizopus* sp. no centro com levedura crescida na placa.

Analisando o teste *in vitro* com Kombucha observou uma redução do crescimento fúngico, na figura 5 E, demonstra que o antagonista possui potencial de inibição sobre o patógeno, diferente do teste *in vivo* que não obteve resultado tão significativo. O resultado mais eficaz de inibição foi na presença da levedura *S. cerevisiae*, quando a inoculação da levedura *S. cerevisiae* e Kombucha foi incubada por 48 horas a uma temperatura de 25 ± 2 °C, de forma a promover o crescimento da

levedura (Figura 5 C), indicando que o modo de ação referente à inibição pode estar relacionado com a competição por nutrientes e, os testes anteriores obtidos tenham sido considerados ineficientes na inibição do crescimento micelial testado.

Avaliando os testes de antagonismo, realizados em meio líquido, não apresentaram resultados tão significativos quando comparados aos testes de antagonismo em placas. No estudo de Amaral (2020) constatou que esse fenômeno pode ser entendido devido ao fato de que nos testes em placas, a levedura e o fungo, possuem uma certa distância entre si até entrar em confronto, portanto, no tempo de multiplicação e produção de substâncias de inibição pela levedura, o fungo tem espaço e tempo para se desenvolver rapidamente antes de entrar em contato com os compostos inibitórios. Diferentemente destes, em meio líquido que o antagonista está em contato direto com o patógeno, mediante a inoculação.

Como observado na Figura 6, durante o teste de antagonismo em meio líquido a levedura contribuiu para o desenvolvimento do fungo, ou seja, não houve inibição como era o esperado, uma vez que o fungo sozinho obteve um crescimento exponencial durante as 48 horas, o que também foi observado só a levedura. Sugere-se que haja um estudo mais detalhado das características do fungo, em diferentes concentrações de levedura, para que possa obter resultados satisfatórios com relação à inibição do fungo.

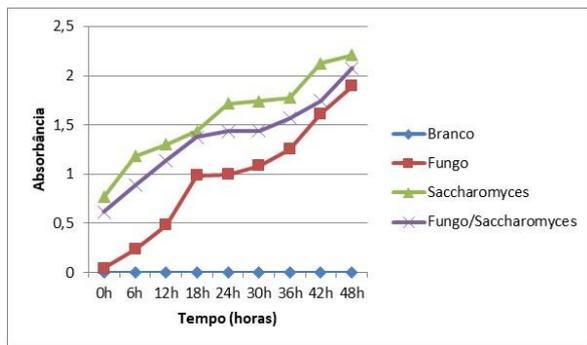


Figura 6. Teste de antagonismo em meio líquido. Absorbância do fungo (ABS F), absorbância levedura (ABS LEV), absorbância fungo e levedura (ABS LEV+F).

O resultado do segundo teste em meio líquido exibido na figura 7, os dados mostram crescimento do Fungo e Fungo/Kombucha cresceram simultaneamente, onde iniciaram o seu crescimento nas primeiras 6 horas de cultivo, o que difere do crescimento só da Kombucha, onde a mesma permaneceu estável durante as primeiras 18 horas, sendo que ocorreu uma elevação no seu crescimento a partir das 36 horas. Com isso observa-se que a Kombucha não apresentou inibição significativa sobre o fungo, pois o seu comportamento foi semelhante. Não foram encontrados na literatura dados relacionados ao resultado do presente estudo, o que torna o estudo de caráter inovador, necessitando de pesquisas e testes mais aprofundados em relação a esse experimento.

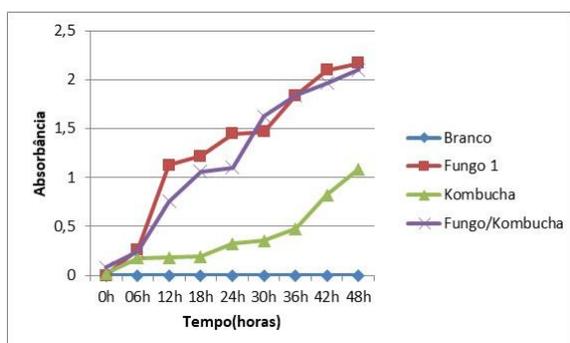


Figura 7. Teste de antagonismo em meio líquido. Absorbância do fungo (ABS F), absorbância

Kombucha (ABS LEV), absorbância fungo e Kombucha (ABS LEV+F).

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtiveram no presente estudo se mostram satisfatórios, pois nos testes conduzidos com o fungo isolado foi possível determinar o seu potencial patogênico nos frutos do morango, além disso, foi possível realizar a caracterização morfológica do fungo *Rhizopus* sp. em nível de gênero através de microscopia óptica.

O presente estudo também conseguiu determinar da capacidade antagônica da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e Kombucha como um possível biofungicida no controle do fungo *Rhizopus* sp., onde foi caracterizado e avaliado a redução do crescimento fúngico em placas, formação de um halo de inibição. Nos testes de confronto direto, não foi possível obter resultados conclusivos, sendo que é necessária uma investigação mais robusta para entender os resultados aqui observados, pois as avaliações dos resultados demonstram que a levedura *S. cerevisiae* e kombucha não inibiram o crescimento do fungo. Diante disso o estudo mostrou que o fungo e os meios de tratamento de inibição, necessitam de pesquisas mais aprofundadas para compreender o comportamento do fungo e outras formas de tratamento, para melhorar a capacidade de inibição no confronto direto.

REFERÊNCIAS

ALVES, K.S.; ROCHA, M.R.; ALVES, C.H.A.; POLASTRELI, J.L.; CAMARA, G.R.; SILVA, W.B.; MORAES, W.B. Modelagem da eficiência do roguing sob diferentes frequências de

- vistorias e taxas de infecção em epidemias virais do mamoeiro. **Scientia Agraria**, v. 19, n. 2, p. 180-185, 2018.
- AMARAL, S.S.; SILVA, A.C.R.S.; SALES, L.A.T.; ALVES, C.S.; MIRANDA, R.C.M.; NASCIMENTO, L.C.S.; ALVES, M.S. Potencial da atividade biológica de actinomicetos contra o fungo *Cryptococcus gattii*. **Interfaces Científicas - Saúde e Ambiente**, v. 8, n. 2, p. 95-104, 2020. doi:10.17564/2316-3798.2020v8n2p95-104.
- ANTUNES, L.E.C.; BONOW, S.; REISSER JÚNIOR, C. Morango: crescimento constante em área e produção. **Anuário Campo & Negócio HF**, v. 37, p. 88-92, 2020.
- ANTUNES, L.E.C.; REISSER JUNIOR, C.; SCHWENGBER, J.E. **Morangueiro**. Embrapa, Brasília, 2016. 589 p.
- BENDO, M.I.; VIECELLI, C.A. Controle biológico de *Rhizopus nigricans* em pós-colheita de morango pela utilização da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e leite in natura. **Revista Faculdade Assis Gurgacz**, v. 2, n. 3, p. 23-35, 2009.
- CHAKRAVORTY, S.; BHATTACHARYA, S.; CHATZINOTAS, A.; CHAKRABORTY, W.; BHATTACHARYA, D.; GACHHUI, R. Fermentação do chá de Kombuchá: dinâmica microbiana e bioquímica. **Int. J. Food Microbiol.** v. 220, p. 63 - 72, 2016. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015.
- CHAVES, V.C.; CALVETE, E.; REGINATTO, F.H. Quality properties and antioxidant activity of seven strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch) cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 225, p. 293-298, 2017. doi:10.1016/j.scienta.2017.07.013.
- CHU, Y.; GAO, C.; LIU, X.; ZHANG, N.; XU, T.; FENG, X.; YANG, Y.; SHEN, X.; TANG, X. Improvement of storage quality of strawberries by pullulan coatings incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsion. **LWT**, v. 122, 109054, 2020. doi:10.1016/j.lwt.2020.109054.
- DICKINSON, T.; LO, E.; TALENT, N. Polyploidy, reproductive biology, and Rosaceae: understanding evolution and making classifications. **Plant Syst.** v. 266, p. 59-78, 2007. doi:10.1007/s00606-007-0541-2.
- DORTA, C. Avaliação das leveduras *Torulaspora globosa* e *Trichosporon asahii* no controle da podridão negra em frutos de tomate. 54f. Monografia (Bacharel em Agroecologia), Universidade Federal de São Carlos, Araras-SP, 2020.
- DROBY S.; WISNIEWSKI, M.; MACARISINB, D.; WILSON, C. Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, n. 2, p. 137-145. 2009. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.11.009.
- GRYGANSKYI, A.P.; GOLAN, J.; DOLATABADI, S.; MONDO, S.; ROBB, S.; IDNURM, A.; MUSZEWSKA, A.; STECZKIEWICZ, K.; MASONJONES, S.; LIAO, H.; GAJDECZKA, M.T.; ANIKE, F.; VUEK, A.; ANISHCHENKO, I.M.; VOIGT, K.; HOOG, G.S.; SMITH, M.E.; HEITMAN, J.; VILGALYS, R.; STAJICH, J.E. Phylogenetic and phylogenomic definition of *Rhizopus* species. **G3: Genes, Genomes, Genetics**. v. 8, n. 6, p. 2007-2018, 2018. doi.org/10.1534/g3.119.400465.
- JANISIEWICZ, W.J.; KORSTEN, L. Biological control of postharvest diseases of fruit. **Ann. Rev. Phytopathol.**, v. 40, p. 411-441, 2002. doi:10.1007/s10658-011-9919-7.
- JAYABALAN, R.; MALBASA, R.V.; LONCAR, E.S.; VITAS, J.S.; SATHISHKUMAR, M. A review on kombucha tea-Microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p. 538-550, 2014. doi:10.1111/1541-4337.12073.
- JUNPING, T.; ZHOU, X.; CHENG, S.; CHEN, Z.; GOU, Y.; YE, J.; XU, F. Biocontrol of pear postharvest decay by Kombucha. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 47, n. 3, p. 668-675, 2019. doi:10.15835/nbha47311407.
- NUNES, C.A. Biological control of postharvest diseases of fruit. **Eur J Plant Pathol.**, v. 133, p. 181-196, 2012. doi:10.1007/s10658-011-9919-7.
- OSHITA, D.; JARDIM, I.C.S.F. Morango: uma preocupação alimentar, ambiental e sanitária, monitorado por cromatografia líquida moderna.

Scientia Chromatographica, v. 4, n. 1, p. 52-76, 2012.

PLATANIA, C.; RESTUCCIA, C.; MUCCILLI, S.; CIRVILLERI, G. Efficacy of killer yeasts in the biological control of *Penicillium digitatum* on Tarocco orange fruits (*Citrus sinensis*). **Food Microbiology**, v. 30, n. 1, p. 219- 225, 2012. doi:10.1016/j.fm.2011.12.010.

RODRIGUES, G.S.; MAGALHÃES, D.M.A.; COSTA, A.M.; LUZ, E.D.M.N. Antagonismo de *Trichoderma* spp. ao agente etiológico da Murcha de Ceratocystis em cacauero. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 1, p. 72-78, 2018. doi:10.1590/0100-5405/172774.

SIMARELLI, M. Fruto na mesa: tempo de morango. **Revista Frutas e Derivados**. IBRAF, ano 1, ed. 02, 2006.

SINGH, R; DAS, S. Identification of *Rhizopus* spp. causing Mucormycosis by MALDI-TOF MS. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 30, p S99, 2021. doi:10.1016/j.ijmmb.2021.08.343.

SUN, Y.; WANG, Y.; XU, Y.; CHEN, T.; LI, B.; ZHANG, Z.; TIAN, Z. Application and mechanism of benzyl-isothiocyanate, a natural antimicrobial agent from cruciferous vegetables, in controlling postharvest decay of strawberry, **Postharvest Biology and Technology**, v. 180, 111604, 2021, doi:10.1016/j.postharvbio.2021.111604.

TEMIZ, N. N.; ÖZDEMIR, K.S. Microbiological and physicochemical quality of strawberries (*Fragaria* × *ananassa*) coated with *Lactobacillus rhamnosus* and inulin enriched gelatin films. **Postharvest Biology and Technology**, v. 173, 111433, 2021. doi:10.1016/j.postharvbio.2020.111433.

TIAN, S.P. Microbial control of postharvest diseases of fruits and vegetables: Current concepts and future outlook. **Microbial Biotechnology in Horticulture**, v. 1, p. 163-202, 2006.

VITHIYA, G. Rising *Rhizopus homothallicus*. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 40, n. 1, 175, 2021. doi:10.1016/j.ijmmb.2021.11.007.

WANG, F.; XIAO, J.; ZHANG, Y.; LI, R.; LIU, L.; DENG, J. Biocontrol ability and action mechanism of *Bacillus halotolerans* against *Botrytis cinerea* causing grey mould in postharvest strawberry fruit, **Postharvest Biology and Technology**, v. 174, 111456, 2021. doi:10.1016/j.postharvbio.2020.111456.

XIE, D.; LIU, D.; GUO, W. Relationship of the optical properties with soluble solids content and moisture content of strawberry during ripening, **Postharvest Biology and Technology**, v. 179, 111569, 2021. doi:10.1016/j.postharvbio.2021.111569.

Hiêda da Silva Melo

Formação superior em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia na Universidade Federal do Tocantins (UFT) - Campus Gurupi. Mestranda em Biotecnologia na UFT - Campus Gurupi, Formação Pedagógica para graduados e não licenciados - Matemática. Técnica em Agropecuária pelo Instituto Federal do Tocantins - Campus Araguatins.

Sabrina Ribeiro da Silva

Graduanda do curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Federal do Tocantins.

Juliana Paggiaro

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Tocantins. Mestranda do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia pela Universidade Federal do Tocantins.

Anny Caroline Oliveira de Oliveira

Bacharel em Biomedicina com ênfase em Análises Clínicas, pelo Centro Universitário Luterano de Palmas. Mestranda em Biotecnologia do PPGBiotec pela Universidade Federal do Tocantins.

Caio Renderson Brito

Possui formação superior em Tecnologia em Segurança Alimentar pelo Centro de Ensino Superior

de Maringá - CESUMAR e técnica em Técnico em Agropecuária pela Casa Familiar Rural de Açailândia - CFR.

Helayne da Silva Melo

Graduada Licenciatura em Ciências Biológicas pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins - Campus Araguatins. Pós-graduada em Gestão Ambiental.

Talita Pereira de Souza Ferreira

É professora efetiva da Fundação Universidade Federal do Tocantins, Campus Gurupi Atua, principalmente, nas seguintes áreas: atividade fungistática, extratos vegetais, plantas medicinais, fungos endofíticos, óleos essenciais, bioprospecção de novos produtos, controle alternativo de pragas, produção de biodiesel, biotecnologia aplicada a alimentos e bebidas (produção de cervejas, bebidas fermentadas e outros alimentos que utilizam fermentação). Possui graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia pela UFT e doutorado em Biotecnologia-UFT.

Aloisio Freitas Chagas Junior

Possui graduação em Agronomia pela Universidade Federal Rural da Amazônia, mestrado em Ciências Biológicas pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e doutorado em Biotecnologia pela Universidade Federal do Amazonas. Atualmente é professor associado da Fundação Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus de Gurupi, nos cursos de Graduação em Agronomia e Pós-Graduação em Biotecnologia (Mestrado) e Produção

Vegetal (Mestrado e Doutorado). Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em microbiologia agrícola, atuando principalmente nos seguintes temas: Isolamento e seleção de micro-organismos de interesse agrícola; Micro-organismos promotores de crescimento vegetal; Biocontrole; Produção de inoculantes.
