

BIODIVERSIDADE DE FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS EM GRÃOS DE CAFÉ (*Coffea arabica*)

Fabiana Aparecida Couto¹, Elisângela de Fátima Rezende², Josiane Gonçalves Borges³, Daiani Maria da Sliva⁴,
Fabiana Reinis Franca Passamani⁵, Luis Roberto Batista⁶

¹ Aluna do curso de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola, DBI-UFLA, facouto@yhoo.com.br

² Aluna do curso de Pós-graduação em Ciências dos Alimentos, DCA-UFLA, rezende.e@gmail.com

³ Aluna do curso de Graduação em Engenharia de Alimentos, DCA-UFLA, josianejgb@yahoo.com.br

⁴ Aluna do curso de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola, DBI-UFLA, daiiani0905@yahoo.com.br

⁵ Mestra em Engenharia Ambiental, UFES, fabireiniz@yhoo.com.br

⁶ Professor Dr. Adjunto, Departamento de Ciência dos Alimentos, DCA-UFLA, luisrb@ufla.net.br

RESUMO: No Brasil existem poucos artigos agrícolas com preços baseados em parâmetros qualitativos e, dentre eles, o café se destaca como um dos principais produtos cujo valor aumenta com a melhoria de sua qualidade, sendo este um fator limitante para sua exportação. A qualidade inferior do café pode ser justificada pela ocorrência de condições ambientais favoráveis à incidência de microrganismos contaminantes. O estudo da biodiversidade das espécies fúngicas é essencial para a melhoria da qualidade e consequentemente do aumento das exportações deste produto. Este estudo teve como objetivo estudar a biodiversidade de fungos filamentosos presentes em 11 amostras de café (*Coffea arabica*). Duzentos e sete isolados foram obtidos, sendo estes isolados pertencentes a 30 distintas espécies. Os principais gêneros encontrados nos grãos de café foram *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*.

Palavras-chave: Biodiversidade, café, fungos filamentosos.

BIODIVERSITY FILAMENTOUS FUNGI OF ISOLATED IN COFFEE GRAINS (*Coffea arabica*)

ABSTRACT: There is in Brazil few agricultural articles with prices based on qualitative parameters and, amongst them, the coffee is one of the main products whose value increases with the improvement of its quality, this is a limiters factor for its exportation. The inferior quality of the coffee can be justified by the occurrence of ambient conditions favorable to the incidence of contaminant's microorganism. The study of the biodiversity of the species of the fungi is essential for the improvement of the quality and the increase of the exportations of this product too. This study had as objective to study the biodiversity of filamentous fungi that existed in 11 samples of coffee (Arabian Coffea). The isolates had been found was two hundred seven isolate. These isolate pertaining 30 distinct species. The main genera found in the coffee grains were *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*.

Key words: Biodiversity, *coffea*, filamentous fungi

INTRODUÇÃO

A biodiversidade refere-se a todas as espécies de microrganismos, plantas e animais existentes interagindo dentro um ecossistema. Os sistemas agroecológicos que enfatizam a conservação do solo, da água e a recuperação da biodiversidade são necessários para satisfazer a crescente demanda socioeconômica e ambiental (Altiere et al., 1999).

Durante os próximos 50 anos, a expansão agrícola mundial poderá ameaçar a biodiversidade em um impacto mundial. Os ecossistemas naturais têm sofrido muita pressão devido ao aumento populacional, agricultura intensiva e abundante aplicação de pesticidas, fertilizantes e combustíveis fósseis (Moreira, 2008).

As previsões realizadas sobre o elevado número da população mundial, relatam que devido ao aumento da população humana, ocorrerá uma maior utilização das áreas agrícolas. Esta intensificação agrícola resultará em um aumento na poluição da água, erosão do solo e segurança alimentar e como consequência, levará ao declínio de microrganismos, vegetais e animais (Hole et al., 2005).

Com exceção dos insetos, os fungos representam um dos grupos mais ricos em espécies de todos os organismos. Os fungos existentes no solo são muito importantes na decomposição e reciclagem de nutrientes vegetais. Por esta razão, os fungos interagem com uma grande comunidade microbiana como bactérias, actinomicetos e pequenos invertebrados. Os fungos ascomicetos têm a capacidade de decompor a celulose e hemicelulose. Estes microrganismos também são importantes em processos de degradação de xenobióticos e poluentes orgânicos que são jogados no solo (Moreira et al., 2008).

Os microrganismos encontrados no ambiente terrestre apresentam importantes funções nos ciclos biogeoquímicos e no funcionamento dos ecossistemas. Além das funções ambientais, eles também apresentam grande capacidade biotecnológica, tais como, controle biológico, biorremediação, bioinoculantes para produção agroflorestal, produção de antibióticos, enzimas, corantes e outros compostos químicos. No entanto, a biodiversidade microbiana ainda não é totalmente conhecida e consequentemente o seu potencial biotecnológico ainda não foi explorado. Algumas

razões podem ser atribuídas para este fato. Existem muitos microrganismos que não podem ser identificados morfológicamente e até recentemente os microrganismos eram identificados apenas por meio de crescimento em meios de cultura específicos e através de testes bioquímicos (Moreira & Siqueira, 2006).

Diversos microrganismos têm sido isolados de produtos agrícolas em diferentes etapas de processamento. A diversidade de fungos encontrados nos grãos de café depende de vários fatores como variedade do café, região geográfica, clima e método de processamento (Perrone et al., 2007).

É necessário ressaltar que a qualidade final do café envolve vários aspectos como, boa aparência, sabor, aroma, alto valor nutricional e segurança do ponto de vista toxicológico. No entanto, muitos fatores têm contribuído para o detrimento da qualidade da bebida do café. Um dos fatores é a grande diversidade microbiana presente no processamento dos grãos de café. Por esta razão, os microrganismos presentes na fermentação do café devem ser estudados e analisados. A falta de manuseio durante as operações agrícolas favorece as contaminações microbianas e podem prejudicar a qualidade do café. Uma queda nas exportações entre 1961 e 1995, ocorreu devido à demanda por cafés especiais de bebida superior pelos países importadores, Estados Unidos, Alemanha, Itália, Japão e França. No entanto, o Brasil ainda é o maior produtor de café, produzindo em 2007 um total de 33,7 milhões de sacas. Este valor corresponde a 29,15% da produção mundial. Esta grande produção de café resulta no mercado de trabalho como fonte geradora de empregos e mão-de-obra no meio rural (Mapa, 2008).

Este estudo teve como objetivo estudar a biodiversidade de fungos filamentosos presentes em 11 amostras de café (*Coffea arabica*), provenientes de diferentes cidades dos estados de Minas Gerais e Espírito Santo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 11 amostras de grãos de café beneficiados de *Coffea arabica*, que foram gentilmente cedidas pela Cooperativa Agrícola Alto Rio Grande, na cidade de Lavras – MG. Estas amostras foram provenientes das cidades de Bom Sucesso, Campo Belo, Candeias, Lagoa Dourada, Lavras, Luminárias, Nepomuceno, Oliveira, Perdões, Viçosa, Vitória e analisadas no laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal de Lavras – MG. Para o isolamento dos fungos foi utilizada a técnica de plaqueamento direto em meio Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) por 7 dias a 25°C, sendo que para cada amostra analisada, houve o plaqueamento com processo de desinfecção com NaClO a 1% conforme descrito por Samson et al (2004) e o plaqueamento das amostras sem desinfecção. Após o período de incubação, os isolados foram purificados em meio Malte Agar (MA) a 25° por 7 dias. Em seguida as culturas puras foram transferidas para placas de Petri contendo Czapeck Yeast Agar (CYA) as temperaturas 25°C e 37°C e MEA (Agar Extract Malt) a 25°C por um período de 7 dias. A identificação das espécies do gênero *Aspergillus* foi realizada de acordo com o manual de identificação de KLICH (2002), Samson et al (2004) e Samson et al. (2007). E as espécies de *Penicillium* foram identificadas de acordo com Pitt (2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de café *Coffea arabica* provenientes dos estados de Minas Gerais e Espírito Santo, apresentaram um grande potencial microbiológico tendo em vista a diversidade de espécies pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Eurotium*, *Emericella*, *Cladosporium* e *Trichoderma*. As figuras 1 e 2 demonstram a diversidade de fungos filamentosos encontrada nas amostras que não sofreram processo de desinfecção com NaClO 1%.

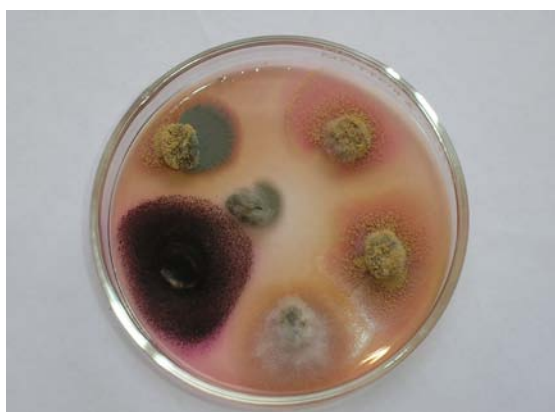


Figura 1. Isolamento de fungos filamentosos isolados em grãos de café sem o processo de desinfecção com hipoclorito de sódio 1%.



Figura 2. Isolamento de fungos filamentosos isolados em grãos de café utilizando o processo de desinfecção com hipoclorito de sódio 1%.

Conforme apresentado na tabela 1 e 2, todas as amostras estudadas apresentaram contaminações por diversas espécies de fungos filamentosos. No entanto, quando realizou-se a desinfecção da superfície dos grãos, o índice de contaminação por fungos filamentosos reduziu drasticamente. As amostras que passaram pelo processo de desinfecção apresentaram elevado índice de contaminação por leveduras.

Tabela 1. Nível de contaminação de fungos filamentosos identificados nas amostras analisadas sem o processo de desinfecção com hipoclorito 1%.

| Amostra | <i>Aspergillus</i> Seção <i>Flavi</i> | <i>Aspergillus</i> Seção <i>Nigri</i> | <i>Aspergillus</i> Seção <i>Circundati</i> | <i>Fusarium</i> | <i>Mucor</i> | <i>Penicillium</i> | <i>Eurotium</i> | Total |
|---------|--|--|--|-----------------|--------------|--------------------|-----------------|-------|
| A1 | - | - | - | 1 | - | - | - | 62 |
| A2 | 1 | - | 3 | 6 | - | 3 | - | 64 |
| A3 | - | - | - | - | - | 1 | 1 | 46 |
| A4 | 1 | 1 | - | - | - | 1 | 1 | 41 |
| A5 | - | - | - | 1 | - | 1 | - | 54 |
| A6 | - | - | - | 2 | - | - | - | 40 |
| A7 | 2 | 12 | 2 | 2 | - | - | - | 63 |
| A8 | - | - | - | - | - | 2 | - | 64 |
| A9 | - | 1 | - | 1 | - | 3 | - | 42 |
| A10 | - | - | - | 4 | - | 1 | - | 44 |
| A11 | - | - | - | 6 | - | 1 | - | 64 |
| A12 | 1 | 39 | - | 13 | - | 1 | 4 | 83 |

Tabela 2. Nível de contaminação de fungos filamentosos identificados nas amostras analisadas com o processo de desinfecção com hipoclorito 1%.

| Amostra | <i>Aspergillus</i> Seção <i>Flavi</i> | <i>Aspergillus</i> Seção <i>Nigri</i> | <i>Aspergillus</i> Seção <i>Circundati</i> | <i>Fusarium</i> | <i>Mucor</i> | <i>Penicillium</i> | <i>Eurotium</i> | Total |
|---------|--|--|--|-----------------|--------------|--------------------|-----------------|-------|
| A1 | 1 | 9 | 34 | 26 | 2 | 36 | - | 137 |
| A2 | - | 19 | 39 | 36 | - | 22 | - | 138 |
| A3 | - | 47 | 16 | 5 | - | 51 | - | 137 |
| A4 | 4 | 25 | 63 | 9 | - | 21 | - | 145 |
| A5 | 1 | 4 | 19 | 12 | - | 33 | - | 116 |
| A6 | - | 25 | 41 | 7 | - | - | - | 112 |
| A7 | 3 | 100 | 3 | 2 | - | - | - | 157 |
| A8 | 2 | 15 | 31 | 29 | - | 36 | - | 136 |
| A9 | - | 6 | 66 | 18 | - | 35 | - | 125 |
| A10 | - | 21 | 14 | 29 | - | 33 | - | 113 |
| A11 | 14 | 37 | 69 | 3 | - | 20 | - | 147 |
| A12 | 38 | 100 | 29 | - | - | - | 9 | 207 |

Dentre as amostras analisadas, a que apresentou maior índice de contaminação foi a amostra que não passou pelo processo de desinfecção do Espírito Santo. Foram encontrados 207 isolados de fungos filamentosos, sendo que deste total 50% pertenciam à Seção *Nigri*. Noon et al (2008) relatou que em amostras de café (*Coffea arabica*) da Tailândia, os fungos pertencentes a esta Seção também foram encontrados em 75% das amostras. Membros pertencentes a esta seção são economicamente importantes por causa da produção de micotoxinas incluindo a ocratoxina A.

Um estudo realizado sobre a aplicação potencial do fungo *Aspergillus niger* para tratamento de efluentes, demonstrou que o isolado *A.niger* foi muito efetivo na remoção de cor do efluente têxtil. No entanto, vários fatores como, pH, tipos de inoculação e concentração de glicose afetam a taxa de descoloração obtida por este fungo (Assadi, 2001).

Das onze amostras analisadas foram obtidos 207 isolados, sendo estes pertencentes a 30 diferentes espécies. Na tabela 3, pode-se observar as principais espécies de fungos filamentosos encontradas nos grãos de café beneficiados de *Coffea arabica*.

Tabela 3. Espécies de fungos filamentosos encontrados nas amostras de café (*Coffea arabica*).

| GÊNERO/ ESPÉCIE | NÚMERO DE ISOLADOS |
|-------------------------------------|--------------------|
| <i>A. aculeatus</i> | 1 |
| <i>Aspergillus flavus</i> | 15 |
| <i>Aspergillus foetidus</i> | 31 |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | 2 |
| <i>Aspergillus lacticoffeatus</i> | 1 |
| <i>Aspergillus niger</i> | 18 |
| <i>Aspergillus niger Agregado</i> | 2 |
| <i>Aspergillus ochraceus</i> | 22 |
| <i>Aspergillus oryzae</i> | 2 |
| <i>Aspergillus ostianus</i> | 6 |
| <i>Aspergillus sclerotiorum</i> | 1 |
| <i>Aspergillus sydowii</i> | 1 |
| <i>Aspergillus tubingensis</i> | 16 |
| <i>Aspergillus versicolor</i> | 3 |
| <i>Aspergillus wentii</i> | 2 |
| <i>Aspergillus westerdijkiae</i> | 5 |
| <i>Aspergillus sp.</i> | 1 |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i> | 1 |
| <i>Eurotium chevalieri</i> | 2 |
| <i>Emericella nidulans</i> | 1 |
| <i>Fusarium sp.</i> | 27 |
| <i>Mucor sp.</i> | 9 |
| <i>P. aurantiogriseum</i> | 1 |
| <i>P. funiculosum</i> | 2 |
| <i>P. hirsutum</i> | 1 |
| <i>Penicillium brevicompactum</i> | 27 |
| <i>Penicillium restrictum</i> | 1 |
| <i>P. roquefortii</i> | 2 |
| <i>Penicillium sp.</i> | 2 |
| <i>Trichoderma sp.</i> | 1 |
| | Total: 207 |

Estes resultados demonstram que os principais gêneros de fungos filamentosos encontrados nos grãos de café foram *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Estes resultados também foram obtidos por Visotto (2008) que isolou 56 fungos agrupando os isolados em morfo-tipos distintos e relatou que os gêneros predominantes foram *Aspergillus* e *Penicillium*, mas que a presença de *Fusarium*, *Mucor* e *Cladosporium* foram também constatadas.

De acordo com Gama (2005), os fungos do gênero *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Verticillium* foram registrados em brocas de café isolados da superfície do solo e da parte aérea das plantas de *Coffea canephora*. Mas o único gênero encontrado em todas as partes do corpo da broca nos dois ambientes estudados foi o gênero *Fusarium*.

Uma pesquisa foi realizada em 80 amostras de café beneficiado, proveniente de São Sebastião do Paraíso – MG, resultando em amostras classificadas como bebida mole e dura. Estas amostras apresentaram índices de infecção pelos fungos *Fusarium roseum*, *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus flavus*, acentuadamente menores que nos cafés classificados como bebida rio e riada. No entanto, estas amostras apresentaram elevado índice de infecções dos fungos *Fusarium sp.* e *Penicillium spp.* O fungo do gênero *Cladosporium* predominou nos cafés classificados como de bebida mole e dura (Carvalho et al., 1989).

Alguns microrganismos pertencem aos gêneros *Fusarium* e *Mucor* são muito importantes em processos biotecnológicos, pois podem atingir a mineralização e assim eliminar os efeitos residuais em potencial (Moreira & Siqueira, 2002).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que existe uma grande diversidade de fungos filamentosos em grãos de café (*Coffea arabica*). Estes fungos são muito importantes, pois, além de interferir na qualidade da bebida produzida, também podem apresentar diversos potenciais biotecnológicos.

AGRADECIMENTOS

- FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais)
- Cooperativa Agrícola Alto Rio Grande, Lavras – MG

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTIERI, M.A. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. **Agriculture Ecosystems & Environment**, n.74, p. 19-21, 1999.
- ASSADI, M.M.; JAHANGIRI, M.R.. Textile wastewater treatment by *Aspergillus niger*. **Desalination**, n. 141, p. 1-6, 2001.
- GAMA, F.C.; TEIXEIRA, A.G.; COSTA, J.N.M.; LIMA, D.K.S. Influência do ambiente na diversidade de fungos associados a *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleóptera, Scolytidae) e frutos de *Coffea canephora*. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.72, n.3, p.359-361, 2005.
- HOLE, D.G.; PERKINS, A.J.; WILSON, J.D.; ALEXANDER, I.H.; GRICE, P.V.; EVANS, A.D. Does organic farming benefit biodiversity? **Biological Conservation**, n. 122, p.113-117, 2005.
- KLICH M.A. AND PITT J.I. (1988). A Laboratory Guide to Common *Aspergillus* Species and their Teleomorphs. North Ryde: CSIRO Division of Food Processing .
- MAPA, **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, Informe estatístico do café 2006/2007, disponível em <<http://www.agricultura.gov.br>>, acessado em 3 de abril de 2009.
- MOREIRA, F. M. DE S.; SIQUEIRA, J. O. . Microbiologia e Bioquímica do Solo.. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. v. 1. 729 p.
- PERRONE, G. et al. Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. **Studies in Mycology**. 59. p. 53-66. 2007.
- VISOTTO, L.E.; COSTA, M.D.; COELHO, J.L.C.; OLIVEIRA, M.G.A.; MENDES, F.Q. Isolamento de fungos toxigênicos em grãos de café (*Coffea arabica* L.) e avaliação da produção in vitro de ocratoxina A. Revista Brasileira de Armazenamento. Especial Café – Viçosa, n.10, p.49-53, 2008.