

COMPARAÇÃO DA MICROBIOTA DA SUPERFÍCIE DE FRUTOS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) COLHIDOS EM DUAS LOCALIDADES¹

Evandro M. PAULA (UFV, evandro44@hotmail.com); Cássia C. H. SAKIYAMA (UFV, sakiyama@mail.ufv.br); Otávio P. L. PITTA FILHO (UFV); Arnaldo C. BORGES (UFV); Daison O. SILVA (UFV).

RESUMO: A expressão final da qualidade da bebida do café é o resultado de um conjunto complexo de interação de fatores bióticos e abióticos, entre os quais se destaca a microbiota presente nos frutos durante os vários estádios de maturação. Este trabalho objetivou quantificar e caracterizar quanto à morfologia as populações microbianas encontradas na superfície dos frutos durante quatro estádios de desenvolvimento. As amostras de frutos de café arábica ‘Catuai Vermelho’ nos estádios verde, verde-cana, cereja e passa foram coletadas em Viçosa, MG, e Serra do Salitre, MG. Os grãos foram desinfestação individualmente para se determinar o número de células viáveis pela técnica de contagem de colônias em placas de Petri. A seguir foi feito o isolamento de microrganismos, a partir de colônias morfologicamente distintas, em cada uma das placas. Foram isolados 141 culturas a partir dos grãos amostrados em Viçosa, 85% delas sendo de bactérias, 10% de leveduras e 4% de fungos filamentosos. Diferentemente, de um total de 268 culturas provenientes dos isolados de Serra do Salitre, 94% foram bactérias, 2,5% leveduras e 3,5% fungos filamentosos. Nesta localidade, a diversidade de tipos morfológicos foi maior. Foi constatada a ocorrência da sucessão microbiana, a qual é evidente nos estádios cereja e passa. As culturas de bactérias, fungos filamentosos e leveduras provenientes das duas localidades foram incorporadas ao banco de germoplasma do Departamento de Microbiologia da UFV, para futuros estudos de biotecnológicos.

PALAVRAS-CHAVE: café, bactérias, leveduras, fungos filamentosos, populações.

ABSTRACT: Coffee cherry samples of arabic cultivar Catuaí Vermelho were harvested in different stages of development in Viçosa and Serra do Salitre. The surface microbiota was quantified and morphologically characterized. Following the sample processing, the number of viable cells was determined by counting colonies in solid culture media. One representative of each microorganism colony morphology was isolated and stored. In general, the microbial populations from Viçosa were greater than the ones from Serra do Salitre. Two sets of 141 and 268 isolates were obtained from Viçosa and Serra do Salitre, respectively. Microbial population succession was observed from red ripe to over-ripe cherry maturation phase, with decrease of bacterial population and increase of molds and yeasts.

INTRODUÇÃO

A expressão final da qualidade da bebida do café é o resultado de um conjunto complexo de interação de fatores bióticos e abióticos, entre os quais se destaca a microbiota presente nos frutos durante os vários estádios de maturação. A decomposição natural da mucilagem de frutos de café envolve diferentes microrganismos provenientes da superfície do fruto e do solo (Thompson *et al.*, 1997). As condições climáticas, onde umidade e temperatura são elevadas, ocorre uma aceleração do fenômeno de senescência dos frutos e do processo de estabelecimento e crescimento desses microrganismos. Os objetivos do trabalho foram quantificar e caracterizar quanto a morfologia as populações encontradas na superfície dos frutos durante os estádios de desenvolvimento de frutos de café (*Coffea arabica* L.), ‘Catuaí Vermelho’ produzidos em duas localidades do Estado de Minas Gerais, Viçosa e Serra do Salitre.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem: Amostras de frutos de café (*Coffea arabica* L.) ‘Catuaí Vermelho’ foram coletados em junho de 2000, de lavoura localizada na área da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, e de outra em Serra do Salitre, MG. Os frutos foram amostrados nos estádios de desenvolvimento denominados de verde, verde-cana, cereja e passa. Em cada estádio de desenvolvimento foram coletados 24 frutos sadios (12 plantas, dois frutos de cada planta). O procedimento foi repetido utilizando outras 12 plantas da mesma lavoura. Os frutos foram coletados de forma mais asséptica possível. As amostras foram transportadas sob gelo em caixa de isopor para

¹ Apoio financeiro: CNPq, FAPEMIG.

o Laboratório de Fisiologia de Microrganismos - BIOAGRO/Universidade Federal de Viçosa, onde foram mantidas a 4°C, por até 24 horas para as análises.

Processamento das amostras: No laboratório, cada amostra de 24 frutos foi preparada seguindo-se as etapas de pesagem, lavagem em água de torneira corrente, lavagem individual dos frutos com auxílio de bucha com detergente e desinfetante SANPIC e enxague com água de torneira corrente. A seguir, em condições assépticas, os frutos foram agitados a 150 rpm, por 5 minutos, em 100 ml de água de torneira estéril.

Quantificação das populações microbianas aeróbias: A determinação do número de células viáveis em suspensão na água onde os frutos foram agitados foi realizada pela contagem de colônias em placas (Koch, 1994). As diluições em série foram feitas em solução estéril de tampão fosfato de potássio 0,02 M, pH 7,0 e o plaqueamento, em meio sólido R2A (Reasoner & Geldreich, 1985). As placas foram incubadas a 28°C por 96 horas e o número de colônias foi determinado. As populações microbianas foram expressas como unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de peso fresco do fruto. Todos os dados de populações foram transformados em log (UFC/g fruto)

Isolamento de microrganismos: O isolamento de cada cultura foi feito a partir de uma colônia representativa de cada tipo morfológico, a qual foi transferida para nova placa de meio R2A para obtenção de cultura pura. Após 24 horas de cultivo em R2A, à 28°C, as características morfológicas e de Gram das células isoladas foram determinadas. As colônias típicas de fungos filamentosos foram transferidas para ágar aveia.

Banco de culturas: As culturas de bactérias e leveduras isoladas foram catalogadas e conservadas a -80°C, em meio caldo nutriente contendo 30% de glicerol. As culturas de fungos filamentosos foram estocadas em ágar aveia a 4°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quantificação das populações microbianas aeróbias: As populações microbianas nos estádios de desenvolvimento dos frutos de café, verde, cereja e passa amostrados em Viçosa foram maiores em 1-2 log (UFC/g fruto) do que as dos mesmos estádios da lavoura de Serra do Salitre, enquanto as populações do estádio verde-cana das duas localidades foram aproximadamente iguais (Figura 1). Na lavoura localizada em Viçosa, a população do estádio passa foi maior 2-3 log (UFC/g fruto) do que as populações dos outros três estádios. Na lavoura de Serra do Salitre a diferença entre estas populações foi de apenas 1 log (UFC/g fruto). Os frutos passa já se encontram em fase de deterioração, explicando as populações maiores tanto em Viçosa como em Serra do Salitre.

Isolamento de microrganismos: Bactérias, leveduras e fungos filamentosos foram isolados a partir da superfície de frutos de café em todos os estádios de desenvolvimento e nas localidades de Viçosa e Serra do Salitre. Segundo Thompson (1997), bactérias, leveduras e fungos filamentosos que participam da fermentação de frutos de café originam-se da superfície do fruto e do solo. Obtiveram-se totais de 141 e 268 isolados de microrganismos a partir dos frutos amostrados em Viçosa e em Serra do Salitre, respectivamente (Tabela 1 e 2). Na localidade de Viçosa, as bactérias representaram 86% do total de isolados, leveduras representaram 10% e fungos filamentosos 4% (Tabela 1). As porcentagem de bactérias, leveduras e fungos filamentosos isolados em Serra do Salitre corresponderam respectivamente a 94%, 2,5% e 3,5% (Tabela 2). Nas duas localidades, os bastonetes Gram negativo representaram 60% (Viçosa) e 71% (Serra do Salitre) dos isolados bacterianos (Tabela 1 e 2). McInroy e Kloepper (1995), estudando a microbiota indígena de milho doce e algodão também encontraram maior número de bastonetes Gram negativo entre as bactérias isoladas. Nos estádios verde, verde-cana e cereja, 96% dos isolados constituiu-se de bactérias, tanto em Viçosa quanto em Serra do Salitre. No estádio passa, os isolados bacterianos representaram 17%, em Viçosa, e 75% em Serra do Salitre. As leveduras, que corresponderam a pequenas porcentagens (2%) nos estádios verde, verde-cana e cereja, representaram 15% e 72% dos isolados de frutos das duas localidades. As porcentagens de isolados de fungos filamentosos também foi maior no estádio passa do que nos demais estádios (Tabela 1 e 2). Esses dados evidenciaram a ocorrência de sucessão de populações microbianas nos estádios cereja e passa. Embora as populações microbianas dos frutos de café de Viçosa tenham sido maiores que as populações de Serra do Salitre (Figura 1), a diversidade de tipos morfológicos foi maior em Serra do Salitre, como se pode observar pelo número maior de isolados microbianos na Tabela 2. Estudos sobre a fisiologia desses organismos estão sendo conduzidos.

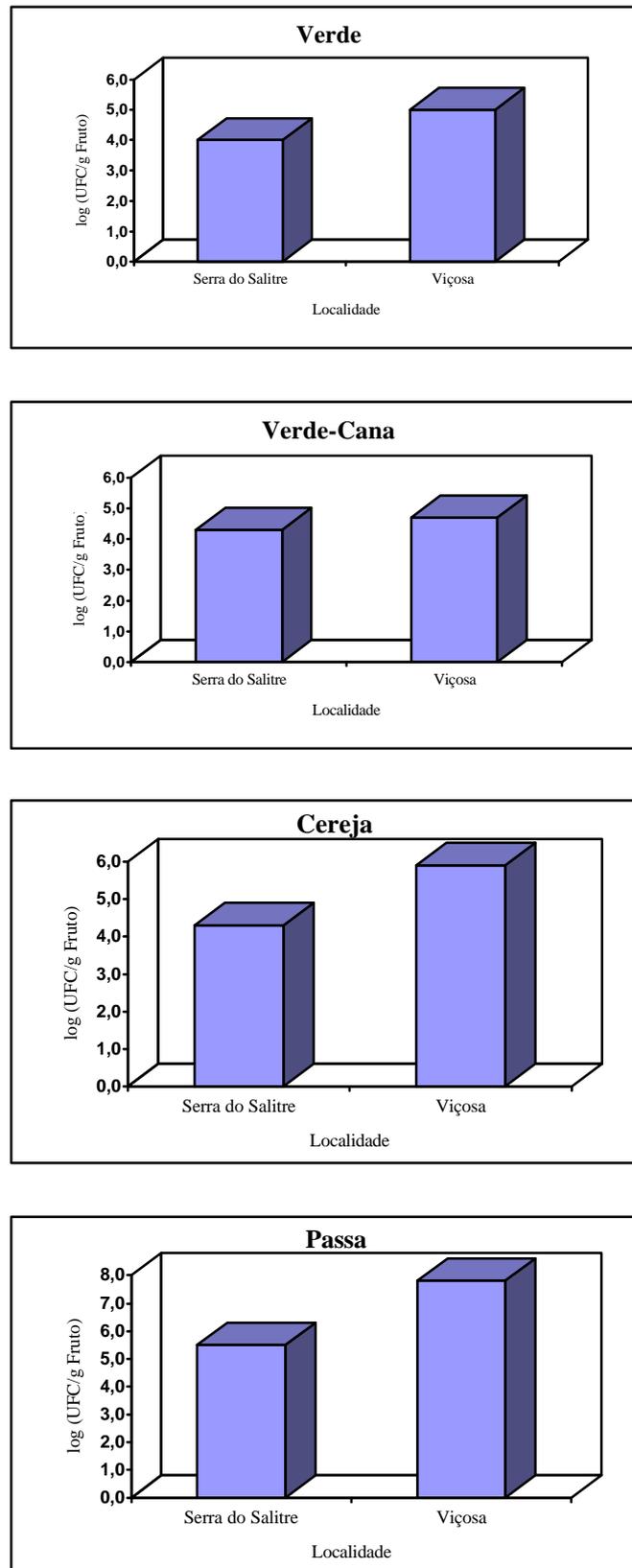


Figura 1. População microbiana isolada em meio R2A a partir de diferentes estádios de desenvolvimento dos frutos de café (*Coffea arabica* L.) coletados em Viçosa e Serra do Salitre.

Isolados Estádio do Fruto	Bactérias			Leveduras	Fungos Filamentosos	Total de isolados
	Cocos Gram +	Bastonetes Gram +	Bastonetes Gram -			
Verde	1	12	28	0	2	43
Verde-cana	2	9	36	1	2	50
Maduro	1	9	20	0	0	30
Passa	0	1	2	13	2	18
Total de Isolados	4	31	86	14	6	141

Tabela 1. Número e tipo morfológico dos microrganismos isolados em Viçosa, MG.

Isolados Estádio do Fruto	Bactérias			Leveduras	Fungos Filamentosos	Total de isolados
	Cocos Gram +	Bastonetes Gram +	Bastonetes Gram -			
Verde	7	25	48	2	2	84
Verde-cana	4	29	40	0	0	73
Maduro	3	23	59	1	5	91
Passa	2	6	7	3	2	20
Total de Isolados	16	83	154	6	9	268

Tabela 2. Número e tipo morfológico dos microrganismos isolados em Serra do Salitre, MG.

CONCLUSÕES

As populações microbianas da superfície de frutos de cafés verdes, cerejas e passas crescidas em meio R2A foram 1-2 log (UFC/g fruto) maiores em Viçosa do que em Serra do Salitre e igual para cafés verdes-canas. Nas duas localidades, as populações microbianas em frutos passas foram maior do que nos demais estádios, evidenciando o processo de deterioração dos frutos. O banco de cultura foi obtido com 141 isolados de Viçosa, e 268 de Serra do Salitre, num total de 409 isolados. Os isolados amostrados em Viçosa foram representados por 86% de bactérias, 10% de leveduras e 4% de fungos filamentosos. Em Serra do Salitre estes microrganismos corresponderam, respectivamente, a 94%, 2,5% e 3,5%. Em ambas as localidades verificou-se a ocorrência de sucessão de populações microbianas nos estádios cereja e passa. A diversidade de tipos morfológicos foi maior em Serra do Salitre.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARVALHO, V.D.; CHAGAS, S.J.R.; SOUZA, S.M.C. Fatores que afetam a qualidade do café. *Informe Agropecuário* 18(187): 5-2, 1997.
- KOCH A.L. Growth measurement. In: GERHARDT, P. ed. *Methodology for general and molecular bacteriology*. Washington, ASM Press, 1994. p.248.
- MCINROY J.A. & KLOPPER J.W. Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. *Plant and Soil* 173: 337-342, 1995.
- REASONER, D.J. & GELDREICH, E.E. A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Applied Environment Microbiology*. 49: 1-7, 1985.
- THOMPSON, S.S.; MILLER, K.B. & LOPEZ, A.S. Cocoa and coffee. In: DOYLE, M.P., BEACHAT, L.R. & MONTVILLE, T.J. (ed.) *Food microbiology: fundamentals and frontiers*. Washington, ASM Press, 1997. p.659.

AVISO

ESTA PUBLICAÇÃO PODE SER ADQUIRIDA NOS
SEGUINTE ENDEREÇOS:

FUNDAÇÃO ARTHUR BERNARDES

Edifício Sede, s/nº. - Campus Universitário da UFV
Viçosa - MG
Cep: 36571-000
Tels: (31) 3891-3204 / 3899-2485
Fax : (31) 3891-3911

EMBRAPA CAFÉ

Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W3 Norte (Final)
Edifício Sede da Embrapa - sala 321
Brasília - DF
Cep: 70770-901
Tel: (61) 448-4378
Fax: (61) 448-4425