

## NOTA PRÉVIA

### DIVERSIDADE DE MICRORGANISMOS EM FRUTOS DO CAFEIRO CULTIVADO NA PROXIMIDADE DO LAGO DE FURNAS

Larissa Compri<sup>1</sup>, Ligiane Aparecida Florentino<sup>2</sup>, Rosane Micaela Veiga<sup>3</sup>,  
Adriano Bortolotti da Silva<sup>4</sup>, José Messias Miranda<sup>5</sup>

(Recebido: 01 de outubro de 2015 ; aceito: 11 de janeiro de 2016)

**RESUMO:** Diversas propriedades de café no Sul de Minas possuem suas lavouras às margens do Lago de Furnas. Objetivou-se, neste trabalho, analisar a influência da proximidade do Lago de Furnas, na diversidade de microrganismos e na qualidade sensorial e física do café. Foram utilizados frutos e grãos de café provenientes de Alfenas, localizada às margens do Lago de Furnas, e em Cabo Verde, cujo município não é banhado por este lago. O isolamento dos microrganismos foi realizado pela técnica de plaqueamento direto em meios seletivos. A maior diversidade de microrganismos foi verificada nas amostras do município de Alfenas. Por meio de prova de xícaras, as amostras das duas localidades obtiveram bebida dura.

**Termos de indexação:** Fungos, café, umidade.

### MICROORGANISMS DIVERSITY IN COFFEE GROWN CLOSE TO THE LAKE FURNAS

**ABSTRACT:** Several coffee farms in southern Minas Gerais have their crops to the shores of Lake Furnas. The aim of this study was to analyze the influence of Furnas Lake proximity on diversity of microorganisms and sensory quality coffee and physics. Fruits and coffee beans were collected in Alfenas, located on the shores of Lake Furnas, and Cabo Verde, whose municipality is not bathed in this lake. The isolation of organisms was accomplished by plating technique directly on selective media. The greatest diversity of microorganisms was verified in Alfenas municipality of samples. By cup test samples obtained in both two locations were classified as stiff drink.

**Index terms:** Fungi, coffee, moisture.

A região do Sul de Minas Gerais é responsável por cerca de 30% da produção nacional de café arábica (*Coffea arabica* L.) (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2015). Nessa região, importantes municípios produtores de café, como Alfenas, Boa Esperança, Campo do Meio, Campos Gerais, Carmo do Rio Claro e Três Pontas são banhados pelo lago da usina hidrelétrica de Furnas. Segundo Martins (2010), essa hidrelétrica possui um reservatório de 23 bilhões de metros cúbicos, ocupando uma grande extensão territorial, 1.457 Km<sup>2</sup>. Com isso, verifica-se uma influência direta em relação à economia dos municípios banhados por este lago. Além do aspecto econômico, Limberger e Pitton (2008), relatam que construções de lagos artificiais podem alterar propriedades climáticas, como temperaturas e índice de pluviosidade nos municípios circunvizinhos.

Na cafeicultura, as condições climáticas exercem influência direta na qualidade do

produto final, uma vez que o excesso de umidade e altas temperaturas favorecem a ocorrência de microrganismos deterioradores como bactérias, leveduras e principalmente os fungos filamentosos, os quais são os responsáveis pela perda de qualidade da bebida, por alterarem o sabor e o aroma do café (PERRONE et al., 2007).

Dentre os fungos filamentosos, estudos revelam que os principais gêneros encontrados em frutos e sementes de café são *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (PASIN et al., 2009). Além da deterioração dos grãos do café, algumas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* estão associadas à produção de micotoxinas, como a ocratoxina A (OTA), cuja presença está associada, principalmente, às espécies de *Aspergillus* das Seções *Circumdati* e *Nigri* e que podem causar danos à saúde (CAMPOS et al., 2009; CLOUVEL et al., 2008; COUTO et al., 2013).

Segundo Perrone et al. (2007), a diversidade de fungos em grãos de café depende de fatores

<sup>1,2,3,5</sup>Universidade José do Rosário Vellano/UNIFENAS - Laboratório de Microbiologia Agrícola. Rod. MG 179, Km 0 Campus Universitário - 37.130-000 - Alfenas - MG - larissacompri@hotmail.com, ligiane.florentino@unifenas.br, rosanermv@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade José do Rosário Vellano/UNIFENAS - Laboratório de Biotecnologia Vegetal. Rod. MG 179, Km 0 - Campus Universitário - 37.130-000 - Alfenas - MG - adrianosilva@unifenas.br

como a cultivar do café, região geográfica, clima e método de processamento. Considerando a importância dos municípios situados às margens do Lago de Furnas para a produção de café, objetivou-se, nesse trabalho, analisar a influência da proximidade do Lago de Furnas na diversidade de microrganismos, qualidade sensorial e física de café arábica.

O trabalho foi desenvolvido com amostras de café arábica cultivar Catuaí Vermelho, coletadas em duas propriedades no Sul de Minas Gerais, sendo a primeira no município de Alfenas, localizada à 40 metros do Lago de Furnas e a segunda em Cabo Verde, município não banhado por esse lago. As principais características dessas duas propriedades estão apresentadas na Tabela 1.

Para coleta das amostras nas lavouras, em julho de 2013, em cada propriedade, foram coletadas 15 amostras simples, caminhando em zigue-zague para constituir uma amostra composta. Os frutos permaneceram em terreiro concretado, nas respectivas propriedades, até atingirem o teor de umidade de, aproximadamente, 12%. Posteriormente, uma parte das amostras foi beneficiada e a outra permaneceu com casca e ambas foram conduzidas ao laboratório de Microbiologia Agrícola. Da amostra de café beneficiada foram retirados 300 g de grãos, para a degustação e classificação, de acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

A diversidade de microrganismos presentes nos grãos (café beneficiado) e frutos (não beneficiado) de café foi analisada utilizando-se a técnica de plaqueamento direto, utilizando-se 25 frutos ou grãos por placa de Petri, em condições assépticas e quatro repetições. Além disso, as amostras foram também submetidas à desinfestação com hipoclorito de sódio a 4%, durante 5 minutos, seguido de seis lavagens com água destilada esterilizada.

Após o plaqueamento, as amostras com e sem desinfestação, foram incubadas a 25 °C, durante oito dias. Para o isolamento dos fungos foi utilizado o meio Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol (DRBC), por sete dias, a 25°C. Posteriormente, os isolados foram purificados em meio Malte Agar (MA) e cultivados a 25° C, durante sete dias. Em seguida, as culturas puras foram transferidas para os meios Agar Extract Malt (MEA) e Czapeck Yeast Agar (CYA) e incubadas às temperaturas de 25°C e a 37°C, por sete dias (COUTO et al., 2013). Os isolados foram

identificados morfológicamente e quanto à sua estrutura em microscópio óptico.

Para a avaliação da diversidade de colônias de fungos em frutos e grãos de café nas diferentes altitudes foi usado o índice de diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ ), que considera a riqueza e a equitabilidade das espécies, comumente usada em estudo de ecologia de comunidades.

$$H' = \sum \frac{n_i}{N} \times \ln \frac{N}{n_i}$$

Em que:  $H'$  = índice de Shannon;  $n_i$  = número de indivíduos da espécie ou grupo  $i$ ;  $N$  = número total de indivíduos;  $\ln$  = logaritmo na base natural.

Na Tabela 2 estão apresentados os dados referentes à ocorrência (%) e diversidade, expressa pelo índice de Shannon-Weaver ( $H'$ ), dos principais gêneros de fungos filamentosos encontrados nas amostras de café, além de bactérias, leveduras e fungos filamentosos com hifas septadas e não septadas, para os quais não foram encontradas estruturas de reprodução, impossibilitando assim a sua identificação.

Analisando os grupos de microrganismos da Tabela 2, observa-se que somente os gêneros *Penicillium* e *Rhizopus* não foram encontrados no município de Alfenas. Já em Cabo Verde, não foram observados os gêneros *Absidia*, *Mucor*, *Nigrospora* e fungos filamentosos contendo hifas não septadas.

Em ambos os municípios, a maior ocorrência e diversidade de microrganismos foi observada na parte externa do fruto (amostras não beneficiadas), o que pode ser atribuído à maior concentração de nutrientes, presentes na casca e na mucilagem, os quais são utilizados como substrato para o desenvolvimento dos microrganismos, concordando com Rezende et al. (2013). Nessas mesmas amostras foi possível observar o efeito do hipoclorito de sódio, que foi capaz de causar a inativação total dos microrganismos do município de Cabo Verde. Noonim et al. (2008), observando amostras de café com e sem o processo de desinfestação superficial, verificaram que o hipoclorito reduziu a ocorrência de fungos em até 60%.

Alguns gêneros, como *Aspergillus* e *Absidia*, no município de Alfenas e *Rhizopus*, no município de Cabo verde, não sofreram interferência do hipoclorito. Quando relaciona o beneficiamento com o uso do hipoclorito, verifica-se redução da maioria das populações de todos os grupos de

**TABELA 1** - Características das lavouras de café arábica onde foram coletadas as amostras nos municípios em estudo.

Município	Alfenas	Cabo Verde
Área (ha)	3,8	4,2
Espaçamento (m)	2,8 x 0,8	3,0 x 2,0
Coordenadas Geográficas	S 21°27'0,2"/W 46°03'2,6"	S 21°30'52"/W 46°25'47"
Altitude (m)	798	890
Temperatura (°C)*	26,4	19,5
Pluviosidade (mm)*	17,5	15,0

\*Valores médios referentes aos meses de julho a agosto de 2013 (período de coleta e secagem das amostras, de acordo com as estações meteorológicas de Alfenas - UNIFENAS e do IFSULDEMINAS – *campus* Muzambinho.

**TABELA 2** – Ocorrência e diversidade (H') de microrganismos em amostras de café beneficiados e não beneficiados, cultivados nas duas localidades distintas.

Grupos de microrganismos (%)	Municípios							
	Alfenas				Cabo Verde			
	Beneficiamento				Beneficiamento			
	Não		Sim		Não		Sim	
	Hipoclorito		Hipoclorito		Hipoclorito		Hipoclorito	
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
<i>Aspergillus</i> sp.	8,75	8,75	5,00	1,25	2,50	0,00	2,50	0,00
<i>Penicillium</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	1,25	0,00	0,00	0,00
<i>Fusarium</i> sp.	0,00	1,25	3,75	0,00	3,75	0,00	0,00	1,25
<i>Rhizopus</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	1,25	1,25	0,00	0,00
<i>Absidia</i> sp.	1,25	1,25	1,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Mucor</i> sp.	2,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Nigrospora</i> sp.	1,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Hifas septadas	7,50	3,75	3,75	0,00	2,50	0,00	1,25	0,00
Hifas não septadas	2,50	1,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Bactérias e Leveduras	6,25	1,25	5,00	0,00	8,75	0,00	3,75	2,50
Total (%)	30,00	17,50	18,75	1,25	20,00	1,25	7,50	3,75
H'	1,71	1,43	1,52	0,00	1,54	0,00	1,01	0,63

\*Índice de Shannon-Weaver

microrganismos, em ambos os municípios.

Outro gênero que merece destaque na Tabela 2 é o *Fusarium*, devido à sua ocorrência em amostras desinfestadas com hipoclorito de sódio não beneficiadas no município de Alfenas e beneficiadas no município de Cabo Verde.

A desinfestação superficial foi realizada com a finalidade de observar se os fungos que estavam presentes superficialmente também seriam encontrados no interior do fruto ou grão. Observa-

se que, com relação ao fungo do gênero *Fusarium*, a sua presença permanece após a desinfecção, representando a contaminação interna.

Dentre os gêneros encontrados, destaca-se o gênero *Aspergillus*, com elevada incidência, para o qual foi possível identificar as espécies da Seção *Nigri* e *Fumigati* para o município de Cabo Verde, representando cerca de 12% da população total dos fungos filamentosos presentes nas amostras. Já para o município de Alfenas, representando cerca

de 80% da população total, foram encontradas as seguintes seções: *Circumdati*, *Fumigati* e *Nigri*. Esses resultados concordam com os encontrados por Silva, Batista e Schwan (2008), em que representantes do gênero *Aspergillus* destacou-se dentre os demais gêneros.

A ocorrência de fungos na parte interna dos grãos de café pode ser explicada por diversos fatores, como danos causados por insetos, fungos fitopatogênicos, ácaros, próprio processo de colheita ou condições climáticas adversas, que tornam os grãos mais suscetíveis (PERRONE et al., 2007). Além disso, os maiores valores de temperatura no município de Alfenas (Tabela 1) podem ter contribuído para o aumento da densidade e diversidade de microrganismos.

Torna-se importante ainda considerar o efeito do microclima nas duas propriedades, em que o maior espaçamento de plantio de 3,0 x 2,0 metros, município de Cabo Verde, pode contribuir para a menor ocorrência de microrganismos. Corroborando com os dados de obtidos por Braccini et al. (2008), em que é possível relacionar o menor espaçamento com maior umidade ao ambiente e, conseqüentemente, maior desenvolvimento de microrganismos.

Pela análise sensorial e física dos grãos de café beneficiados, foi observado que as amostras oriundas das duas localidades foram de bebida “dura” e de tipo 7, sendo um café padrão para comercialização.

Apesar da maior ocorrência e diversidade de microrganismos no município de Alfenas, esse não foi fator determinante para proporcionar alteração na qualidade sensorial e física do grão. No entanto, os resultados encontrados nesse estudo apresentam grande relevância prática, indicando a necessidade dos produtores e técnicos dos municípios banhados por cursos d’água serem mais cautelosos, durante as etapas de colheita e pós-colheita, visando minimizar tais riscos para que não ocorram prejuízos na comercialização do produto final, uma vez que são cultivados em condições favoráveis ao crescimento de fungos deterioradores.

A maior diversidade de microrganismos foi verificada nas amostras de frutos do cafeeiro no município de Alfenas. Por meio de prova de xícaras, as amostras das duas localidades obtiveram bebida dura.

#### AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pela bolsa de Iniciação Científica e à Fapemig, pela bolsa de Mestrado.

#### REFERÊNCIAS

BRACCINI, A. L. et al. Produtividade de grãos e qualidade de sementes de café em resposta à densidade populacional. *Ceres*, Viçosa, v. 55, n. 6, p. 289-496, nov./dez. 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 8**, de 11 de junho de 2003. Aprova o regulamento técnico de identidade e de qualidade para a classificação do café beneficiado grão cru. Brasília, 2003. Disponível em: <[http://www.abic.com.br/publique-/media/CONS\\_leg\\_instnormativa08-03.pdf](http://www.abic.com.br/publique-/media/CONS_leg_instnormativa08-03.pdf)>. Acesso em: 5 abr. 2015.

CAMPOS, R. S. et al. Fungos micotoxigênicos e ocratoxina A em cafês com permanência prolongada na planta e no solo, colhidos nas regiões do cerrado mineiro e baiano. *Coffee Science*, Lavras, v. 4, n. 2, p. 136-148, jul./dez. 2009.

CLOUVEL, P. et al. Wine contamination by ochratoxin A in relation to vine environment. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 123, n. 1/2, p. 74-80, Mar. 2008.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira café**. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_01\\_14\\_11\\_57\\_33\\_boletim\\_cafe\\_janeiro\\_2015.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_01_14_11_57_33_boletim_cafe_janeiro_2015.pdf)>. Acesso em: 20 mar. 2015.

COUTO, F. A. et al. Biodiversity of filamentous fungi in coffee beans grown in an organic and conventional system. *Coffee Science*, Lavras, v. 8, n. 2, p. 122-129, abr./jun. 2013.

LIMBERGER, L.; PITTON, S. E. C. Mudanças climáticas globais e alterações climáticas: a participação dos grandes reservatórios de usinas hidrelétricas. *Pleidade*, Foz do Iguaçu, v. 2, n. 2, p. 123-133, jul./dez. 2008.

MARTINS, L. M. Olhares sobre o “Mar de Minas”: percepções dos moradores de Alfenas e Fama relativas ao lago de Furnas (1963-1999). *Ambiente & Sociedade*, Campinas, v. 13, n. 2, p. 347-363, jul./dez. 2010.

NOONIM, P. et al. Isolation, identification, and toxigenic potential of ochratoxin A-producing *Aspergillus* species from coffee beans grown in two regions of Thailand. *International Journal of Food Microbiology*, London, v. 128, n. 2, p. 197-202, Dec. 2008.

PASIN, L. A. A. P. et al. Fungos associados a grãos de cinco cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 1129-1132, dez. 2009.

PERRONE, G. et al. Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 59, p. 53-66, 2007.

REZENDE, E. F. et al. Potencial enzimático e toxigênico de fungos isolados de grãos de café. **Coffee Science**, Lavras, v. 8, n. 1, p. 69-77, jan./mar. 2013.

SILVA, C. F.; BATISTA, R. F.; SCHWAN, R. F. Incidence and distribution of filamentous fungi during fermentation, drying and storage of coffee (*Coffea arabica* L.) beans. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 521-526, jul./set. 2008.