

QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DA SUPERFÍCIE DE FRUTOS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) EM VIÇOSA, MG DURANTE A SAFRA DE 2000¹

Cássia C. H. SAKIYAMA (UFV, sakiyama@mail.ufv.br); Evandro M. PAULA (UFV, evandro44@hotmail.com); Pollyanna C. PEREIRA (UFV); André HARA (UFV); Daison O. SILVA (UFV)

RESUMO: Amostras de frutos de café arábica cultivar Catuaí Vermelho IAC-99, em diferentes estádios de desenvolvimento, foram coletadas com o objetivo de quantificar e caracterizar morfológicamente a microbiota da superfície. Após o processamento das amostras, determinou-se o número de células viáveis pela contagem de colônias em placas. Uma colônia representativa de cada tipo morfológico foi isolada e estocada. Um banco de culturas foi obtido, com um total de 1042 isolados, sendo 894 bactérias, 86 leveduras e 62 fungos filamentosos. Verificou-se uma sucessão de populações microbianas nos estádios de cereja e passa, com decréscimo da população de bactérias e aumento de fungos filamentosos e, especialmente, leveduras.

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

ABSTRACT: Coffee cherry samples of arabic cultivar Catuaí Vermelho IAC-99 were harvested in different stages of development for morphologically quantify and characterize the surface microbiota. Following the sample processing, the number of viable cells was determined by counting colonies on solid culture media. One representative of each microorganism colony morphology was isolated and stored. A total of 1042 isolates were obtained (864 bacteria, 86 yeast and 62 molds). Microbial population succession was observed from ripe cherry to over ripe cherry maturation phase.

INTRODUÇÃO

A fermentação, ou seja, a decomposição natural da camada mucilaginosa de frutos de café envolve diferentes microrganismos que se originam da superfície do fruto e do solo (Thompson *et al.*, 1997). Frank & Dela Cruz (1964) observaram que a decomposição natural não ocorre se a superfície dos frutos for desinfetada superficialmente ou se a casca permanecer intacta. Os objetivos do presente trabalho foram quantificar e caracterizar morfológicamente a microbiota que coloniza os diferentes estádios de desenvolvimento de frutos de café (*Coffea arabica* L.), cultivar Catuaí Vermelho IAC-99, produzidos durante a safra 2000 em Viçosa, Zona da Mata Norte de Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem: Amostras de frutos de café (*Coffea arabica* L.) cultivar Catuaí Vermelho IAC-99 foram coletados de lavoura localizada no campus da UFV, Viçosa, MG, no período de 1^o de abril a 21 de julho de 2000, em intervalos de 15 dias. Os frutos foram amostrados nos seguintes estádios de desenvolvimento: chumbinho-pequeno, chumbinho-médio, verde, verde-cana, cereja e passa. Em cada estágio de desenvolvimento foram coletados 24 frutos sadios (12 plantas, 2 frutos sadios de cada planta). O procedimento foi repetido utilizando-se outras 12 plantas da mesma lavoura. Os frutos foram coletados de forma mais asséptica possível. As amostras foram transportadas a 0°C e mantidas a 4°C, no Laboratório de Fisiologia de Microrganismos - BIOAGRO/UFV por, no máximo, 24 horas até o processamento.

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 foi realizada pela contagem de colônias em placas (Koch, 1994). Uma série de diluições, em solução estéril de tampão fosfato de potássio 0,02 M, pH 7,0, em água de torneira estéril onde os frutos pré-lavados foram agitados, foi plaqueada em meio sólido R2A (Reasoner & Geldreich, 1985). As placas foram incubadas a 28°C por 96

¹ Apoio financeiro: CNPq, FAPEMIG.

horas. O número de colônias foi determinado utilizando-se contador de colônias Phoenix. As médias das populações microbianas foram expressas em unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de peso fresco do fruto. Todos os dados de populações foram transformados em log (UFC/g fruto).

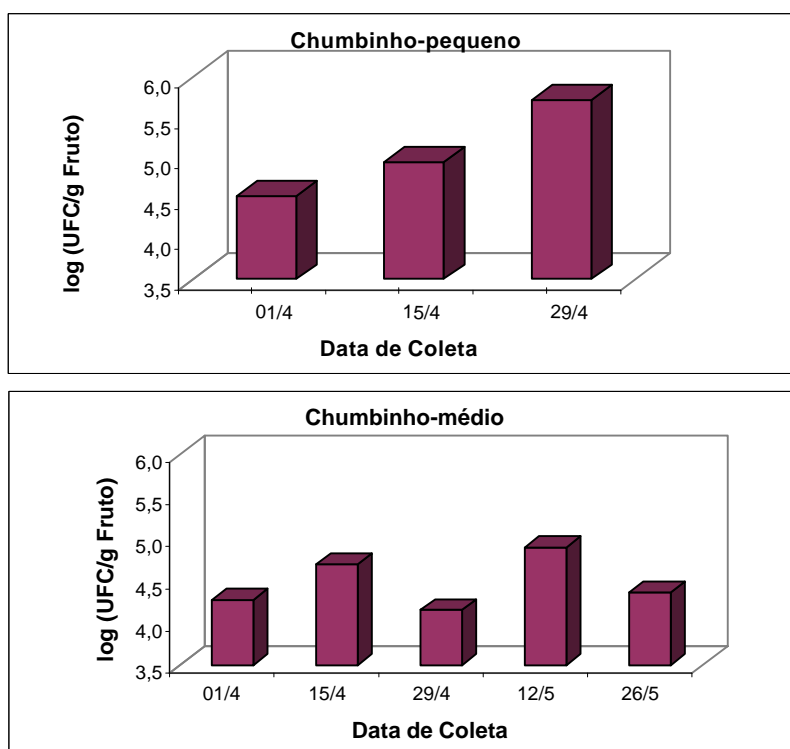
Isolamento de microrganismos: A partir das placas de cada amostragem, uma colônia representativa de cada tipo morfológico foi transferida para nova placa de meio R2A para obtenção de culturas puras. As colônias típicas de fungos filamentosos foram transferidas para ágar-aveia. Após 24 horas de cultivo em R2A, a 28°C, as características morfológicas das culturas isoladas foram determinadas pela coloração de Gram.

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 aeróbicas: As populações microbianas dos diferentes estádios de desenvolvimento dos frutos de café, amostrados no período de 1^o de abril a 21 de julho de 2000, estão representadas na Figura 1. As populações encontradas nas diferentes amostragens de frutos passa foram maiores 2-3 log (UFC/g fruto) do que as populações dos demais estádios de desenvolvimento. Sabe-se, que os frutos passa se encontram em fase de deterioração explicando as populações maiores.

Isolamento de microrganismos: Bactérias, leveduras e fungos filamentosos foram isolados à partir da superfície de frutos de café em todos os estádios de desenvolvimento e em todas as amostragens. Segundo Thompson *et al.* (1997), fungos filamentosos, leveduras e bactérias que participam da fermentação de frutos de café originam-se da superfície do fruto e do solo. Obteve-se um total de 1042 isolados de microrganismos, sendo 86% bactérias, 8% leveduras e 6% fungos filamentosos (Tabela 1). Os bastonetes Gram negativos representaram 53% dos isolados bacterianos. McInroy & Kloeppe (1995), estudando a microbiota indígena de milho doce e algodão também encontraram maior número de bastonetes Gram negativo entre bactérias isoladas. Nos estádios chumbinho-pequeno, chumbinho-médio e verde, verde-cana e cereja, bactérias representaram aproximadamente 90% do total de isolados, enquanto leveduras e fungos filamentosos representaram em torno de 5%. No estágio passa, bactérias representaram 48%, leveduras 39% e fungos filamentosos 13%, evidenciando sucessão de populações microbianas entre os estádios cereja e passa. Na Tabela 1 observa-se também, que o número de isolados de leveduras aumentou à medida que os frutos amadureceram. Agate & Bhat (1966), demonstraram o papel de leveduras pectinolíticas na degradação da camada mucilaginosa de frutos cereja de café arábica e robusta.



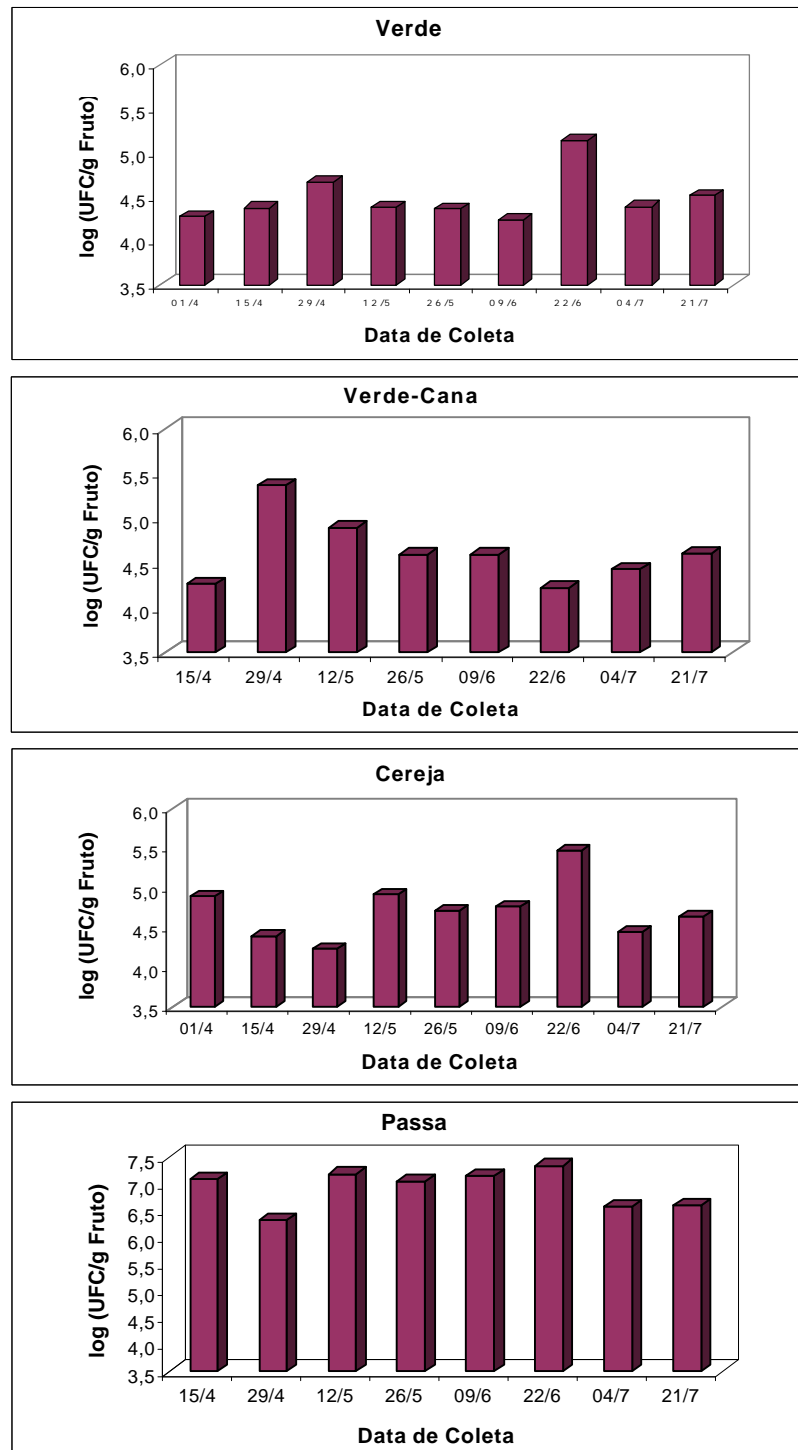


Figura 1. Populações microbianas isoladas em meio R2A a partir de diferentes estádios de desenvolvimento dos frutos de café (*Coffea arabica* L.) em diferentes datas de coleta.

Isolados Estádio do Fruto	Bactérias			Leveduras	Fungos Filamentosos	Total de isolados
	Cocos Gram +	Bastonetes Gram +	Bastonetes Gram -			
Chumbinho-pequeno	1	3	15	2	1	22
Chumbinho-médio	3	34	43	1	9	90
Verde	19	109	146	9	13	296
Verde-cana	9	82	134	12	9	246
Cereja	12	105	129	22	17	285
Passa	5	34	11	40	13	103
Total de Isolados	49	367	478	86	62	1042

Tabela 1. Número e tipo morfológico dos microrganismos isolados no período de 01/04 a 21/07 de 2000.

CONCLUSÕES

As populações microbianas da superfície dos frutos passa foram maiores 2-3 log (UFC/g frutos) do que as populações dos demais estádios de desenvolvimento, nas diferentes épocas de amostragem. Um banco de culturas foi obtido, com total de 1042 isolados, sendo 86% bactérias, 8% leveduras e 6% fungos filamentosos. Os bastonetes Gram negativo representaram 53% dos isolados bacterianos. Do estádio chumbinho-pequeno até o estádio cereja, a proporção de isolados de bactérias, leveduras e fungos filamentosos foi próxima de 89%, 5% e 6%, respectivamente. Entretanto, no estádio passa, bactérias representaram 48%, leveduras 39% e fungos filamentosos 13%, evidenciando uma sucessão de populações microbianas entre os estádios cereja e passa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGATE, A.D. & BHAT, J.V. Role of pectinolytic yeasts in the degradation of the mucilage layer of *Coffea* and *Robusta* cherries. *Appl. Microbiol.* 14: 256-260.
- FRANK, H.A. & DELA CRUZ A.S. Role of incidental microflora in natural decomposition of mucilage layer in Kona coffee cherries. *J. Food Sci.* 29: (6) 850, 1964.
- 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. *Appl. Environ. Microbiol.* 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