

**ISOLAMENTO DE FUNGOS FILAMENTOSOS SEÇÃO *NIGRI* PRODUTORES DE
OCRATOXINA A EM UVAS TINTAS**

DAIANI MARIA DA SILVA¹, LUÍS ROBERTO BATISTA², GIULIANO ELIAS PEREIRA³

RESUMO

A colonização dos *Aspergillus* da Seção *Nigri* nas uvas durante o cultivo é a principal fonte de ocratoxina A (OTA) em uvas e seus derivados. Este estudo teve como objetivo avaliar a presença de espécies de *Aspergillus* Seção *Nigri* produtores de ocratoxina A em três variedades de uvas tintas utilizadas para a elaboração de vinho tinto e suco de uva, coletadas na região vitivinícola do Vale Submédio São Francisco em parceria com o setor de Enologia da Embrapa Semi-Árido localizada em Petrolina (PE). Dentre as variedades de uvas analisadas, Petit verdot apresentou maior nível de contaminação por *Aspergillus* Seção *Nigri*. A produção de ocratoxina A foi confirmada nas espécies *Aspergillus carbonarius* e *Aspergillus niger*.

Palavras-chaves: Uvas Tintas, *Aspergillus*, Seção *Nigri*, Ocratoxina A

INTRODUÇÃO

A preocupação com fungos filamentosos na vinha tradicionalmente tem sido associada à deterioração de uvas devido ao crescimento de fungos. A contaminação por diferentes fungos pode ocorrer durante a pré-colheita, colheita e processamento da uva. A presença de fungos filamentosos em uvas e seus derivados pode estar relacionada com a capacidade de produção de micotoxinas. As micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por algumas espécies de fungos. Dois principais gêneros são responsáveis pela produção de micotoxinas em uvas: *Aspergillus* e *Penicillium*. As espécies do gênero *Penicillium* conhecidas como produtoras de ocratoxina A (OTA) são *Penicillium verrucosum* e *Penicillium nordicum*, comum em cereais e em carne respectivamente (Larsen et al., 2001). Na maioria das pesquisas realizadas com uvas, estas espécies não foram isoladas. Entretanto, outras espécies de *Penicillium* produtoras de micotoxinas já foram isoladas a partir de uvas, como *Penicillium expansum*. Embora diversos estudos demonstrem que as espécies produtoras de OTA mais frequentemente detectadas nas uvas de diversos países pertencem à Seção *Nigri*, mais concretamente ao *A. niger* agregado e *A. carbonarius* (Serra et al. 2003). *A. carbonarius* e *A. niger* são os principais produtores desta micotoxina em uvas e são fungos oportunistas que, se desenvolvem, principalmente, nas bagas danificadas durante seu amadurecimento (Bellí et al., 2006). O presente trabalho teve como objetivo avaliar a presença de espécies de *Aspergillus* Seção *Nigri* produtores de ocratoxina A em três variedades de uvas tintas utilizadas para a elaboração de vinho tinto e suco de uva, obtidas na região vitivinícola do Vale Submédio São Francisco.

¹Doutoranda em Microbiologia Agrícola, DBI/UFLA, daiani0905@yahoo.com.br

⁴Professor Adjunto, DCA/UFLA, luisrb@ufpa.br

³Pesquisador da Embrapa Semi-Árido, Petrolina, gpereira@cpatsa.embrapa.br

MATERIAL E MÉTODOS

Dados coletados

As amostras de uvas foram coletadas na região vitivinícola do Vale Submédio São Francisco em parceria com o setor de Enologia da Embrapa Semi-Árido localizada em Petrolina (PE). Foram avaliadas três variedades de uvas tintas utilizadas para elaboração de vinho tinto (Petit verdot) e suco de uva (BRS Cora e Isabel), coletadas na safra de janeiro de 2010. As amostras continham aproximadamente 1 Kg de cacho de cada variedade de forma aleatória na vinha, transportados em caixas de isopor para o laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal de Lavras para a realização das análises microbiológicas.

Métodos

Para o isolamento dos fungos foi utilizada a técnica de plaqueamento direto em meio Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) e as placas foram incubadas por 7 dias a 25° C, após a desinfecção com NaClO a 1% conforme descrito por Samson et al (2004). Após o período de incubação, os isolados foram purificados em meio Malte Agar (MA) a 25° C por 7 dias. Em seguida as culturas puras foram transferidas para placas de Petri contendo (CYA) Czapeck Yeast Agar e incubadas 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). A determinação do potencial toxigênico avaliado pelo teste do Plug Agar por Cromatografia Camada Delgada (Filtenborg & Frisvad, 1980).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as variedades de uvas tintas analisadas Petit verdot apresentou maior nível de contaminação (Tabela 1) pelas espécies de *A. niger* (19), *A. carbonarius* (7), *A. foetidus* (6) e *A. tubingensis* (1). Na variedade Isabel foram identificadas as espécies de *A. niger* (8) e *A. carbonarius* (3), enquanto na variedade BRS Cora as espécies foram *A. niger* (4) e *A. foetidus* (8). No gênero *Aspergillus* as espécies *A. brasiliensis*, *A. ibericus* e *A. foetidus* são ocasionalmente encontradas em uvas, e as mais frequentes são: *A. niger*, *A. tubingensis*, *A. japonicus* e *A. carbonarius* (Oliveri et al., 2008). As espécies produtoras de ocratoxina A confirmadas neste estudo foram *A. carbonarius* (7/10) e *A. niger* (3/27) (Tabela 1) pertencentes à Seção *Nigri*. *A. carbonarius* e *A. niger* vem se destacando como principais fontes de OTA em uvas e seus produtos derivados, embora a ocorrência de espécies de *A. niger* produtoras de OTA seja menor que as das espécies de *A. carbonarius*. Estudos recentes demonstraram que as espécies produtoras de OTA mais frequentemente detectadas nas uvas de diversos países pertencem à Seção *Nigri* mais concretamente ao *A. niger* e *A. carbonarius* (Welke et al. 2009). A maioria dos investigadores tem constatado que as estirpes do *A. niger* Agregado são mais abundantes nas uvas que *A. carbonarius*. E que *A. carbonarius* parece ser muito mais relevante em termos de produção de OTA nas uvas, com uma maior proporção de estirpes produtoras da micotoxina, e em níveis mais elevados que as estirpes do *A. niger* Agregado (Oliveri et al., 2008). Batillani & Pietri (2003), observaram que *A. carbonarius* é uma espécie com capacidade invasiva, sendo capaz de penetrar nas bagas das uvas mesmo sem que haja danos na película. As uvas podem ser susceptíveis à infecção pelo fungo desde os estágios iniciais da maturação. Desta forma, cachos aparentemente sem desenvolvimento do fungo podem conter ocratoxina A (OTA).

XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA
27 de setembro a 01 de outubro de 2010

Tabela 1. Nível de contaminação e espécies de *Aspergillus* Seção *Nigri* produtoras de micotoxina identificadas nas amostras analisadas.

Variedade	Nível de contaminação	Espécies Produtoras de Ocratoxina (OTA)
Petiti verdot	61%	<i>A.niger</i> (2), <i>A.carbonarius</i> (5)
Isabel	27%	<i>A. niger</i> (1) <i>A.carbonarius</i> (2)
BRS Cora	15%	Não houve presença de produtores de OTA

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram a presença de espécies produtoras de ocratoxina A nas variedades de uvas tintas analisadas Petit verdot e Isabel. A maioria das espécies ocratoxigênicas foi isolada da variedade Petit verdot. As espécies produtoras de ocratoxina A foram *A. carbonarius* e *A. niger*.

REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

BATTILANI, P.; GIORNI, P.; PIETRI, A. Epidemiology of toxinproducing fungi and ochratoxin A occurrence in grape. **European Journal of Plant Pathology**, v. 109, p. 715–722. 2003.

BELLÍ, N.; BAU, M; MARÍN, S; ABARCA, M. L; ABARCA, A.J; RAMOS, M. RRAGULAT; M. R. Mycobiota and ochratoxin A producing fungi from Spanish wine grapes. **International Journal of Food Microbiology**, n.111, p. 40–45. 2006.

FILTENBORG, O.; FRISVAD, J. C. A simple screening method for toxigenic moulds in pure cultures. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 13, p.128-130. 1980.

KLICH, M.A. **Identification of Common *Aspergillus* species**. (2002). Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures.

LARSEN, T.O.; SVENDSEN, A.; SMEDSGAARD, J. Biochemical characterization of ochratoxin A - producing strains of the genus *Penicillium*. **Applied Environmental Microbiology**, v. 67, p.3630–3635. 2001.

OLIVERI, C. et al. A polyphasic approach to the identification of nochratoxin A-producing black *Aspergillus* isolates from vineyards in Sicily. **International Journal of Food Microbiology**, v.127, n.1-2, p.147-154. 2008.

SERRA, R., ABRUNHOSA, L., KOZAKIEWICZ, Z., VENANCIO, A. Black *Aspergillus* species as ochratoxin A producers in Portuguese wine grapes. **International Journal of Food Microbiology**, n. 88, p. 63–68. 2003.

WELKE, J. E.; HOELTZ, M.; NOLL, I. B. Aspectos relacionados à presença de fungos toxigênicos em uvas e ocratoxina A em vinhos. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2567-2575. 2009.