

OCORRÊNCIA DO FUNGO *CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES* (FRESEN) DE VRIES COMO AGENTE PROTETOR DA QUALIDADE DO CAFÉ

S. M. Chalfoun, Dra. Pesq. EPAMIG/URESM; C. L. Angélico, Dra. bolsista INCT Café; C. J. Pimenta, Dr. Professor Adjunto UFLA; D.M. S. Botelho, Dra. bolsista CAPES; S. B. Oliveira, MSc. bolsista CNPq, F. C. Costa, MSc. bolsista INCT Café; N. A. Lira, bolsista CNPq.

A qualidade final do café é uma característica dependente de um conjunto de fatores controláveis e incontrolláveis. A ausência de chuvas durante a fase de maturação é um fator considerado positivo para a preservação da qualidade. Tal fato justifica-se em parte, por ser a umidade um dos fatores condicionantes para a ocorrência e desenvolvimento de fungos que colonizam os frutos podendo produzir metabólitos e promover fermentações indesejáveis, comprometendo a qualidade do café ainda na planta. Quando isto ocorre, nenhum investimento realizado na fase pós-colheita irá reverter esta situação acarretando sérios prejuízos pela desqualificação do produto.

O fungo *Cladosporium cladosporioides* (Fresen) de Vries que ocorre naturalmente em algumas áreas, mostrou-se particularmente presente nesta safra devido às condições excepcionais de ausência de chuvas observadas no ano agrícola 2013/2014 que possibilitaram elevada ocorrência natural do fungo em lavouras da região Sul de Minas. Em algumas áreas onde o fungo encontra-se ausente ou excessivamente reduzido pelas práticas culturais, recomenda-se a sua reintrodução por meio da aplicação massal do mesmo, pois apesar da incidência de microrganismos durante todas as etapas do processamento do café ser muitas vezes prejudicial à bebida, a influência benéfica de microrganismos na qualidade do café é estudada por meio de pesquisas com o fungo do gênero *Cladosporium*, considerado um importante agente biológico para a cultura e que está associado a bebidas de boa qualidade (PEREIRA; PFENNING & CASTRO, 2005; CHALFOUN, 2010).

Diante do exposto, o estudo objetivou avaliar a competição *in vitro* entre *C. cladosporioides* (Fresen) de Vries com as espécies fúngicas potencialmente toxigênicas associadas à depreciação e segurança da bebida: *Aspergillus ochraceus* G. Wilh, *Aspergillus niger* Tiegh e *Fusarium verticillioides* (Saccardo) Nirenberg.

Cada colônia fúngica foi repicada em placa de Petri contendo meio de cultura BDA e incubada em BOD por 10 dias a 25°C com fotoperíodo de 12 horas. Após o desenvolvimento de cada colônia, foram adicionados 40mL de água destilada e esterilizada na placa. Em seguida, o micélio foi raspado para a obtenção de uma suspensão que, posteriormente, foi filtrada com o auxílio de uma gaze para obtenção somente dos esporos. Após a filtragem, foi transferida por meio de uma pipeta automática, uma alíquota de 30µL da solução de esporos para Placas de Petri, plásticas de 6cm de diâmetro contendo meio de cultura BDA, sendo a solução espalhada por alça de Drigalsky. Os tratamentos foram: A) 30µL da solução de *A. ochraceus* G. Wilh + 30µL da solução de *C. cladosporioides* (Fresen) de Vries; B) 30µL da solução de *A. niger* Tiegh + 30µL da solução de *C. cladosporioides* (Fresen) de Vries e C) 30µL da solução de *F. verticillioides* (Saccardo) Nirenberg + 30µL da solução de *C. cladosporioides* (Fresen) de Vries. Após a inoculação, as placas foram mantidas em BOD à 25°C com fotoperíodo de 12 horas, sendo observado o comportamento dos esporos por meio de um microscópio estereoscópico trinocular Olympus SZX7TR-ILA acoplado a uma câmera filmadora após 10 dias. Foram constatadas deformações em esporos de *A. ochraceus* G. Wilh quando inoculados juntamente com *C. cladosporioides* (Fresen) de Vries, por isso, foi utilizada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) visando à captação de maiores detalhes, sendo as amostras preparadas e fotografadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME/UFLA), segundo a metodologia proposta por Alves (2004).

Pesquisas realizadas demonstraram que o modo de ação do fungo *Cladosporium* consiste nos processos de antibiose e hiperparasitismo.

A antibiose traduziu-se pela ausência de germinação e desenvolvimento dos isolados de *A. ochraceus* G. Wilh, *A. niger* Tiegh e *F. verticillioides* (Saccardo) Nirenberg em presença de *C. cladosporioides* (Fresen) de Vries após 10 dias de incubação. Observou-se ainda que o *Cladosporium* não apresentou qualquer alteração de desenvolvimento, iniciando o processo de germinação dos conídios, após 17 horas e desenvolvimento completo da estrutura com 3 dias. Sua ação de antibiose é decorrente da produção de um composto químico denominado cladosporol que foi primeiramente isolado por Sakagami et al. (1995), e é responsável pela inibição da síntese de β 1,3 glucano. Estudos com cladosporol purificado demonstraram má formação de hifas de *Phytophthora capsici* (SAKAGAMI et al., 1995) e diminuição na germinação de esporos da ferrugem do feijão, *Uromyces appendiculatus* (NASINI et al., 2004). Moricca et al. (2001), utilizando teste de antagonismo *in vitro*, observou drástica redução na germinação de esporos de *Cronartium flaccidum* e *Peridermium pini* que são duas principais espécies de ferrugens que atacam pinus em toda a Europa por *C. tenuissimum*.

Observou-se ainda utilizando técnicas de MEV que o fungo *Cladosporium* hiperparasitou o fungo *A. ochraceus* G. Wilh, considerado o principal produtor de ocratoxina A (OTA) em café. O contato da hifa de *Cladosporium* com o conídio do fungo *Aspergillus* promoveu alteração na sua estrutura causando murchamento do mesmo. A supressão de patógenos de diversas plantas no mundo todo é em razão da ocorrência de hiperparasitas de ocorrência natural (NASINI et al., 2004), sendo demonstrada formação de apressório e penetração no hospedeiro por meio de força mecânica (MORICCA et al., 2001) ou quebra enzimática (ASSANTE et al., 2004).

Diante dos resultados conclui-se que a ocorrência natural ou por introdução do fungo *C. cladosporioides* contribui para a preservação da qualidade do café devido às ações de hiperparasitismo e antibiose exercidas sobre os fungos prejudiciais.