



NATHASHA DE AZEVEDO LIRA

**ESTUDO DA MICROBIOTA *TERROIR* EM VINHEDO
DA REGIÃO DE SÃO PAULO**

**LAVRAS – MG
2022**

NATHASHA DE AZEVEDO LIRA

**ESTUDO DA MICROBIOTA *TERROIR* EM VINHEDO
DA REGIÃO DE SÃO PAULO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Microbiologia Agrícola, área de
concentração em Microbiologia Agrícola, para a
obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Luís Roberto Batista
Orientador

Prof^ª. Dr^ª Cristina Ferreira Silva e Batista
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha
Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados
informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Lira, Nathasha de Azevedo.

Estudo da microbiota terroir em vinhedo da região de São Paulo / Nathasha de Azevedo Lira. - 2022.

68 p. : il.

Orientador(a): Luís Roberto Batista.

Coorientador(a): Cristina Ferreira Silva e Batista.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Uva. 2. Solo. 3. Microrganismos. I. Batista, Luís Roberto. II. Batista, Cristina Ferreira Silva e. III. Título.

NATHASHA DE AZEVEDO LIRA

**ESTUDO DA MICROBIOTA *TERROIR* EM VINHEDO
DA REGIÃO DE SÃO PAULO**

**STUDY OF TERROIR MICROBIOTA IN VINEYARD
FROM THE REGION OF SÃO PAULO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Microbiologia Agrícola, área de
concentração em Microbiologia Agrícola, para a
obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 10 de dezembro de 2021.

Dra. Michelle Ferreira Terra Ematne, IFNMG

Dra. Carolina Lima Angélico, CAFÉ BRASIL FERTILIZANTES

Dra. Sara Maria Chalfoun de Souza, UFLA

Dra. Suzana Reis Evangelista, EMBRAPA

Prof. Dr. Luís Roberto Batista
Orientador

Prof^ª. Dr^ª Cristina Ferreira Silva e Batista
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2022**

A Deus, por tanto me ouvir e me guiar.

Aos meus queridos pais, Jandira, por me incentivar mesmo a distância, pelo exemplo e imenso amor e Geraldo que, mesmo não estando mais aqui, sei que está me apoiando.

Aos meus irmãos, Patricia e Geraldo, por admirarem o que faço.

Ao meu amor, Fábio, pelo amor e apoio incondicional.

Minha filha Laura, o amor da minha vida, o presente de Deus.

Minha vida não existe sem vocês.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Luís Roberto Batista, pela orientação, amizade, confiança e também por ter me concedido tantas oportunidades, durante a execução deste trabalho, que muito contribuiu para o meu crescimento pessoal e profissional. Muito obrigada.

À doutora e amiga Fabiana Passamani, pela orientação e pelas infinitas ajudas no laboratório. Sem seu apoio e ajuda em compartilhar seus conhecimentos, por estar sempre disponível desde as primeiras análises, não seria possível a realização deste trabalho.

À professora doutora Cristina Ferreira Silva Batista, pela paciência, atenção, disponibilidade, por todo o conhecimento que adquiri no trabalho com leveduras e por proporcionar o aprendizado na técnica de Maldi-Toff e realizar as atividades em seu laboratório.

Às minhas ajudantes, Ana Cláudia e Laís, por todo apoio. Vocês foram muito importantes para a obtenção dos resultados.

A Taís, pelo auxílio e ajuda na obtenção dos resultados da molecular. Seu apoio foi fundamental.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Biologia, Programa de pós-Graduação em Microbiologia Agrícola pela oportunidade concedida para a realização deste projeto de pesquisa.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”.

À vinícola que permitiu a coleta na sua propriedade.

Às amigas do Laboratório de Micologia e Micotoxinas em Alimentos, em especial Suzana Evangelista, Michele Aragão, Miriam Aguilar, Bruna Cesário, Fernanda Prates, João Pedro, por todo o apoio, não só na realização das análises, mas também nos momentos mais difíceis. Em especial, agradeço à minha amiga Fabiana Passamani, pela força, incentivo e apoio sempre, pelas risadas e momentos de alegria e pelo companheirismo. Vocês são especiais.

Enfim, a todos que estiveram ao meu lado e, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

As uvas são susceptíveis a contaminação por microrganismos presentes no ambiente de cultivo e, a presença desses organismos podem influenciar na qualidade final do produto. Por isso, é de grande importância o estudo da microbiota, a fim de caracterizar de forma mais abrangente os microrganismos associados às vinhas, além de se ter uma visão das características que eles acabam determinando para o produto final, por meio da sua interação com a videira, com a baga e, conseqüentemente o vinho. Nesse sentido o presente trabalho tem como objetivo avaliar a presença dos fungos filamentosos, leveduras e bactérias encontrados nas uvas da variedade Syrah, Sauvignon blanc, Cabernet sauvignon e solo do vinhedo da região Mogiana do Espírito Santo do Pinhal em São Paulo além de correlacionar com as características físico-químicas do solo através de análise de componentes principais (PCA). As análises foram realizadas pela técnica de diluição seriada até total esgotamento em meio de cultivo DRBC para fungos filamentosos, YEPG para leveduras e Ágar nutriente, MRS e GYC para análise de bactérias. Os microrganismos isolados foram identificados morfológicamente e pela técnica de MALDI-TOF. Os resultados obtidos mostram que dentre os microrganismos identificados os que apresentaram a maior população nas uvas foi *Cladosporium cladosporioides* complexo ($5,3 \times 10^3$) e ($4,0 \times 10^3$) na variedade Syrah 1 e 2 respectivamente, além de *Aureobasidium pullulans* ($8,5 \times 10^2$) ($2,8 \times 10^2$). *Pseudomonas oryzae* ($6,5 \times 10^4$) e *Arthrobacter sulfonivorans* ($6,5 \times 10^4$) apresentaram a maior população na variedade Syrah 1, *Micrococcus luteus* ($2,0 \times 10^4$) na Syrah 2. Na variedade Cabernet sauvignon *P. brevicompactum* ($5,5 \times 10^3$), *Staphylococcus warneri* ($1,4 \times 10^3$) e *Sporobolomyces* sp ($6,0 \times 10^2$), na Sauvignon blanc *P. implicatum* ($3,3 \times 10^3$), *Micrococcus luteus* ($1,0 \times 10^3$), *Sporobolomyces* sp ($1,6 \times 10^2$). Nas amostras de solo Syrah 1 e 2 apresentaram predomínio dos grupos *P. brevicompactum* ($1,0 \times 10^4$) e *Fusarium* sp ($1,2 \times 10^3$) respectivamente, bactérias do Morfotipo 4 ($6,5 \times 10^4$) na Syrah 1 e *Enterobacter cloacae* ($1,5 \times 10^5$) na Syrah 2. *Cladosporium cladosporioides* complexo ($7,8 \times 10^3$) e ($4,8 \times 10^3$), *Arthrobacter* sp ($5,4 \times 10^5$) e *Lysinibacillus fusiformis* ($4,4 \times 10^5$) no solo Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc respectivamente. Foi possível obter uma caracterização da diversidade microbiana dentro dos limites da técnica utilizada, ressaltando a importância de obter o conhecimento dessa microbiota, pois a partir dela será possível obter dados que indiquem os fatores que favorecem o desenvolvimento das características desejáveis nas uvas e conseqüentemente na produção dos vinhos da região.

Palavras-chave: Uva. Solo. Diversidade. Microrganismos

ABSTRACT

Grapes are susceptible to contamination by microorganisms present in the cultivation environment and the presence of these organisms can influence the final quality of the product. Therefore, it is of great importance to study the microbiota, in order to more comprehensively characterize the microorganisms associated with vines, in addition to having a view of the characteristics that they end up determining for the final product, through their interaction with the vine, with the berry and, consequently, the wine. In this sense, the present work aims to evaluate the presence of filamentous fungi, yeasts and bacteria found in grapes of the Syrah, Sauvignon blanc, Cabernet sauvignon variety and vineyard soil in the Mogiana region of Espírito Santo do Pinhal in São Paulo, in addition to correlating with the physicochemical characteristics of the soil through principal component analysis (PCA). The analyzes were performed by the serial dilution technique until total exhaustion in DRBC culture medium for filamentous fungi, YEPG for yeast and Nutrient Agar, MRS and GYC for analysis of bacteria. The isolated microorganisms were identified morphologically and by the MALDI-TOF technique. The results obtained show that among the microorganisms identified, those with the highest population in the grapes were *Cladosporium cladosporioides* complex (5.3×10^3) and (4.0×10^3) in the Syrah 1 and 2 variety respectively, in addition to *Aureobasidium pullulans* (8.5×10^2) (2.8×10^2). *Pseudomonas oryzae* (6.5×10^4) and *Arthrobacter sulfonivorans* (6.5×10^4) had the highest population in the variety Syrah 1, *Micrococcus luteus* (2.0×10^4) in Syrah 2. In the variety Cabernet sauvignon *P. brevicompactum* (5.5×10^3), *Staphylococcus warneri* (1.4×10^3) and *Sporobolomyces* sp (6.0×10^2), on Sauvignon blanc *P. implicatum* (3.3×10^3), *Micrococcus luteus* (1.0×10^3), *Sporobolomyces* sp (1.6×10^2). In soil samples Syrah 1 and 2, *P. brevicompactum* (1.0×10^4) and *Fusarium* sp (1.2×10^3), respectively, were predominant, Morphotype 4 bacteria (6.5×10^4) in Syrah 1 and *Enterobacter cloacae* (1.5×10^5) in Syrah 2. *Cladosporium cladosporioides* complex (7.8×10^3) and (4.8×10^3), *Arthrobacter* sp (5.4×10^5) and *Lysinibacillus fusiformis* (4.4×10^5) in Cabernet sauvignon and Sauvignon blanc soil respectively. It was possible to obtain a characterization of the microbial diversity within the limits of the technique used, emphasizing the importance of obtaining the knowledge of this microbiota, because from it will be possible to obtain data that indicate the factors that favor the development of desirable characteristics in the grapes and consequently in the production. of the region's wines.

Keywords: Grape. Ground. Diversity. Microorganisms

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ciclo da videira no hemisfério sul.....	14
Figura 2 - Ciclo invertido da videira na região sudeste.....	14
Figura 3 - Uva variedade Syrah.....	15
Figura 4 - Uva da variedade Pinot Noir.....	16
Figura 5 - Uva variedade Merlot.....	17
Figura 6 - Uva variedade Tempranillo.....	18
Figura 7 - Uva variedade Cabernet Sauvignon.....	18
Figura 8 - Uva variedade Chardonnay.....	19
Figura 9 - Uva variedade Sauvignon Blanc.....	20
Figura 10 - Alterações nos compostos químicos durante o desenvolvimento das bagas..	26
Figura 11 - Transecto diagonal traçado ao longo do vinhedo para coleta das amostras de uvas e solo.....	36
Figura 12 - Amostragem do solo em cada ponto de coleta.....	37
Figura 13 - Dendograma dos isolados de levedura presentes nas amostras de uva.....	45
Figura 14 - Árvore filogenética de máxima verossimilhança inferida a partir do alinhamento das sequências do gene ITS para os fungos (em negrito) isolados de meio DRBC e YEPG. O melhor modelo para a substituição de nucleotídeos selecionado pelo MEGA 6.06 foi o Tamura 3-parameter (T92+G+I). T - sequência tipo; OG – grupo externo.....	46
Figura 15 - Dendograma dos isolados de bactérias totais presentes nas amostras de uva.	48
Figura 16 - Dendograma dos isolados de leveduras das amostras de solo.....	52
Figura 17 - Dendograma dos isolados de bactérias totais nas amostras de solo.....	54
Figura 18 - Análise de Componente Principal da diversidade de fungos filamentosos, leveduras e bactérias isolados das uvas Syrah 1, Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc da região mogiana de São Paulo.....	56
Figura 19 - Análise de Componente Principal da diversidade de fungos filamentosos, leveduras e bactérias isolados do solo e sua correlação com as características físico-químicas do solo das variedades de uva Syrah 1, Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc da região mogiana de São Paulo.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção nacional de uvas (toneladas) em 2018,2019,2020,2021.....	13
Tabela 2 - Produção de uvas para processamento e para consumo <i>in natura</i> , no Brasil, em toneladas, de 2017/2019.....	13
Tabela 3 - Coordenadas geográficas dos pontos de coleta das amostras coletadas das amostras de solo da região serrana de São Paulo.....	36
Tabela 4 - Composição físico química do solo da Syrah 1, Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.....	59
Tabela 5 - Espécies potencialmente toxigênicas isoladas de uva vinífera e solo de vinhedo.....	60

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Diversidade de fungo filamentosos nas amostras de uva das variedades Syrah 1 e Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.....	43
Gráfico 2 - Diversidade de leveduras nas amostras de uva das variedades Syrah 1 e Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.....	44
Gráfico 3 - Diversidade de bactérias totais nas amostras de uva variedade Syrah 1 e Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.....	47
Gráfico 4 - Diversidade de fungos filamentosos nas amostras de solo das variedades Syrah 1 e Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.....	50
Gráfico 5 - Diversidade de leveduras nas amostras de solo das variedades Syrah 1 e Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.....	51
Gráfico 6 - Diversidade de bactérias totais nas amostras de solo das variedades Syrah 1 e Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.....	53

SUMÁRIO

1	CAPITULO 1 INTRODUÇÃO.....	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
2.1	Vitivinicultura no Brasil.....	12
2.2	Uvas viníferas cultivadas na região de São Paulo.....	15
2.2.1	Syrah.....	15
2.2.2	Pinot Noir.....	16
2.2.3	Merlot.....	16
2.2.4	Tempranillo.....	17
2.2.5	Cabernet Sauvignon.....	18
2.2.6	Chardonay.....	19
2.2.7	Sauvignon Blanc.....	19
3	MICROBIOTA <i>TERROIR</i>.....	20
3.1	<i>Terroir</i>	20
3.1.1	Diversidade de microrganismos na uva.....	22
3.1.2	Diversidade de microrganismos no solo.....	23
4	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA UVA.....	24
	REFERÊNCIAS	27
	CAPÍTULO 2: Diversidade de fungos filamentosos, bactérias e leveduras isolados de uva vinífera e solo da região de São Paulo.....	32
1	INTRODUÇÃO.....	34
2	OBJETIVOS.....	35
2.1	Objetivo geral.....	35
2.2	Objetivo específico.....	35
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1	Amostragem.....	35
3.1.1	Coleta das uvas.....	35
3.1.2	Coleta do Solo.....	37
3.2	Isolamento de microrganismos em uva e solo	37
3.3	Identificação fenotípica dos fungos filamentosos.....	38
3.4	Identificação de leveduras e bactérias por espectrometria de massa (Maldi- Tof)	39
3.5	Identificação molecular.....	40
3.6	Preservação de fungos filamentosos, leveduras e bactérias.....	40
3.7	Avaliação do potencial toxigênico dos fungos filamentosos.....	40
3.8	Análise físico-química do solo.....	41
3.9	Análise estatística.....	41
4	RESULTADOS.....	42
4.1	Diversidade de Fungos filamentosos, leveduras e bactérias em uvas.....	42
4.2	Diversidade de Fungos filamentosos, leveduras e bactérias do solo.....	49
4.3	Análise de componentes principais (PCA) das uvas Syrah 1, Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.....	55
4.4	Avaliação do potencial toxigênico para produção de Ocratoxina A, Aflatoxina B1, B2, G1 e G2 e Citrinina.....	60
5	DISCUSSÃO.....	61
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
	REFERÊNCIAS.....	65

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A variedade *Vitis vinifera* L. é uma planta de cultivo economicamente importante cultivada em diferentes partes do mundo com diferentes características climáticas. As regiões de clima temperado são consideradas tradicionais na produção de vinhos, enquanto as de clima sub-tropical e tropical são recentes e vêm se destacando na produção de vinhos de qualidade. No Brasil a região sudeste iniciou o cultivo de uvas viníferas em 2007 e a produção dos primeiros vinhos em 2010, com a implementação do sistema de dupla poda (EPAMIG, 2021), que permitiu a obtenção de uvas no inverno. Apesar de recente, a produção de vinhos com qualidade reconhecida e premiados já vem ocorrendo. Entretanto, estudos sobre a diversidade de microrganismos nesses vinhedos e como a presença desses microrganismos podem influenciar a tipicidade do produto final, ainda são escassas.

O avanço da vitivinicultura no Brasil, esse avanço do setor tem despertado o interesse sobre a diversidade nas uvas de fungos filamentosos, levedura e bactérias, principalmente no aspecto relacionado a presença dos microrganismos que podem levar a perdas econômicas significativas, reduzindo a qualidade do produto final. Alguns fungos filamentosos podem modificar a composição química das uvas, alterando o sabor, odor e cor dos vinhos. (EINLOFT, 2012).

As leveduras apresentam uma densidade populacional que varia entre 10^2 e 10^4 UFC.g⁻¹, em uvas sãs (SETATI et al., 2012) e quando danificadas 10^6 a 10^8 UFC.g⁻¹ devido à maior disponibilidade de nutrientes (BARATA et al., 2008; BARATA et al., 2012), já as bactérias lácticas, ao contrário do que acontece com as leveduras, é fracamente afetada pelo estado de maturação da uva, variando entre as 10^2 e 10^3 UFC.g⁻¹, em uvas sãs e danificadas (BAE et al., 2006; BARATA et al., 2012), possuem papel importante na produção de aromas durante a vinificação.

As bactérias acéticas respondem de maneira contrária as lácticas, uma vez que são fortemente afetadas pelo estado de maturação da uva (BARATA et al., 2012). Em uvas sãs e maduras, é possível encontrar uma população com cerca de 10 UFC.g e quando apresentam injúrias chega a atingir aproximadamente 10^6 UFC.g⁻¹ (BARBE et al., 2001). A presença destes microrganismos deve ser controlada uma vez que transformam o álcool em ácido acético, conferindo sabor de vinagre ao vinho.

Os microrganismos presentes na uva na fase final de maturação desempenham um papel importante, uma vez que eles atuam de diferentes maneiras durante o processo de vinificação, tanto positiva como negativa (BARATA; MALFEITO-FERREIRA; LOUREIRO, 2012).

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar diversidade de microrganismos presentes nas amostras de uva Syrah 1 e 2 cultivadas em ambientes diferentes, Cabernet Sauvignon, Sauvignon Blanc e no solo de cultivo, auxiliando no entendimento de como os microrganismos presentes nesse ambiente poderiam influenciar na qualidade dos vinhos produzidos nessa região.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Vitivinicultura no Brasil

No ano de 2021 o Brasil possuía uma área de plantio de videiras de aproximadamente 74.993 hectares, apresentando um aumento de 0,1% em relação ao ano anterior. A região que apresenta a maior produção está localizada no sul do país, sendo o Rio Grande do Sul o estado que responde por cerca da metade da produção nacional da fruta, representando cerca de 54,63% da produção brasileira (KIST, 2021).

De acordo com o IBGE (2021) em um levantamento sistemático de fevereiro, mostrou que houve um incremento expressivo da produção de 13%, sendo 19% correspondente ao Rio Grande do Sul, 15% para Pernambuco e 9% na Bahia. A produção de uvas no Brasil no ano de 2021, foi de 1.602.235 toneladas, com uma produtividade de 21.708 kg/ha, um aumento de 10,93% em relação ao ano anterior. Os principais estados produtores como Rio Grande do Sul 16%, Pernambuco 13,25% e Bahia 8,16% tiveram um aumento na safra 2021, já Santa Catarina, São Paulo e Paraná apresentaram uma queda 2021 de -8,5% -1,04%, -0,9% respectivamente, sendo Santa Catarina com o maior índice negativo, esse fato foi em decorrência de problemas climáticos (Tabela 1) (KIST, 2021).

Tabela 1 - Produção nacional de uvas (toneladas) em 2018, 2019, 2020 e 2021

Estado\Ano	2018	2019	2020	2021
Rio Grande do Sul	823.695	667.018	735.356	875.441
Pernambuco	426.392	456.080	338.837	390.603
São Paulo	138.055	149.064	148.919	147.359
Santa Catarina	58.261	58.975	60.388	55.255
Paraná	57.039	53.396	57.556	57.000
Bahia	60.524	71.939	45.342	49.373

Fonte: IBGE/PAM 2021 **IBGE/LSPA Fevereiro de 2021.

No último triênio as uvas destinadas ao processamento tiveram uma queda na produção. As uvas destinadas ao processamento de vinho, suco e derivados em âmbito nacional ficou em torno de 698.045 milhões de quilos em 2019, representando 48,28% da produção nacional de uvas, o resto da produção que equivale a 51,72% foi destinado ao consumo *in natura* (Tabela 2).

Tabela 2 - Produção de uvas para processamento e para consumo *in natura*, no Brasil, em toneladas de 2017/2019

Discriminação/Ano	2017	2018	2019
Processamento	818.783	818.287	698.045
Consumo <i>in natura</i>	861.237	773.955	747.660
Total	1.680.020	1.592.242	1.445.705

Fonte: IBGE; Elaboração: Loiva Maria Ribeiro de Mello - Embrapa Uva e Vinho (2019)

Antes de se obter essa alta produtividade, a região sudeste teve dificuldades iniciais para o estabelecimento do plantio das variedades viníferas, principalmente devido à decorrência do ciclo normal de brotamento, amadurecimento e colheita das uvas. No hemisfério sul (Figura 1), a poda ocorre no inverno, durante o repouso da videira (abril - julho) e a colheita ocorre no verão (janeiro - março). No entanto, neste período, no Brasil ocorre a estação de chuvas, o que atrapalha o amadurecimento das uvas utilizadas na fabricação de vinhos. Devido a essas circunstâncias foi necessário alterar o ciclo da videira, ou seja, a uva foi induzida a mudar suas etapas de crescimento, amadurecimento e colheita, por meio da realização de duas podas, uma em agosto e a outra em janeiro. A dupla poda permite a formação de ramos produtivos e a eliminação de alguns cachos. Com isso, a planta muda seu ciclo, começando a brotar em fevereiro, a florescer em março e inicia a formação dos cachos em abril, sendo a colheita

realizada no inverno. Essa mudança na inversão do ciclo da videira faz com que os frutos sejam colhidos no inverno, o que traz benefícios para o fruto.

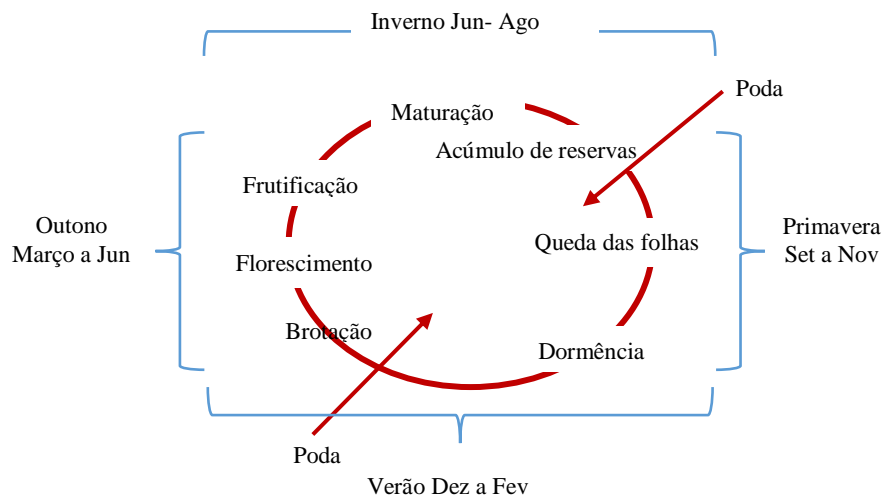
Na região sudeste os dias são secos e quentes e as noites são frias, ou seja, observa-se uma grande amplitude térmica diária, o que favorece o lento amadurecimento da uva, a fixação de aromas e o acúmulo de polifenóis que são essenciais para a estrutura e a longevidade do vinho. Como no período de colheita, não ocorrem chuvas, isso faz com que se consiga uma excelente concentração de açúcar em decorrência de um completo amadurecimento fenólico (MOTA et al., 2010).

Figura 1 - Ciclo da videira no hemisfério sul



Foto: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP

Figura 2 - Ciclo invertido da videira na região Sudeste



Fonte: Da autora (2018)

2.2 Uvas viníferas cultivadas na região de São Paulo

2.2.1 Syrah

A uva Syrah é uma das variedades mais cultivadas e seus vinhos são característicos por seu aroma e buquê. Sua origem é relatada como sendo de Schiraz, na Pérsia, no entanto, outras referências citam que pode ser nativa de Vila Siracusa, na Sicília. Independente de sua origem, a variedade Syrah é cultivada na França e sua existência é relatada desde a época de Cristo. Seu cultivo expandiu-se para outros países, sendo hoje a variedade de uva vinífera mais plantada no mundo. Chegou ao Rio Grande do Sul em 1921, oriunda de vinhedos da Vila Cordélia, em São Paulo, mas não foi adiante por não ter êxito nos vinhedos daquele estado. Posteriormente, começou a ser plantada comercialmente em Santana do Livramento, na Serra Gaúcha, entretanto, as condições ambientais da região não foram propícias ao seu cultivo.

Nas áreas semiáridas do nordeste, em especial na região do Vale do Submédio São Francisco, tem mostrado ótimos resultados (GUERRA et al., 2009), assim como na região Sul de Minas, sendo a variedade que mais bem se adaptou às características climáticas da região, a região da fronteira com São Paulo também se adaptou, pois possuem influência das características climáticas da região mineira, por apresentarem altitudes entre 1.000 m e 1.300 m, as noites frescas entre 10 °C e 12 °C e a ótima insolação durante o dia proporcionam uma amplitude térmica no período de colheita que se assemelham as da região Européia.

Figura 3 - Uva variedade Syrah.



Fonte: Da autora (2016)

2.2.2 Pinot Noir

É uma das uvas mais antigas, com cerca de 20 séculos de existência. A origem da Pinot Noir é a Borgonha, na França onde revela características muito próprias sendo utilizada na elaboração de vinhos renomados. É também difundida na região de Champagne, onde junto com a Chardonnay dão origem a famosos espumantes. Há duas suposições para origem do nome Pinot, sendo a primeira uma referência ao cacho, com formato de pinha e a segunda diz que o nome vem da cidade de Pignols em Puy-de-Dôme, na França. É uma variedade precoce, apresentando ciclo curto e por essa razão é amplamente difundida na Europa setentrional (SILVEIRA, 2015).

A Pinot Noir foi introduzida no Brasil em 1970 na região do Rio Grande do Sul, sendo utilizada para a elaboração de vinhos varietais (única uva) e para espumantes, no entanto sua adaptação foi difícil nessa região, por ser mais susceptível a contaminação pelo fungo *Botrytis cinerea*, o causador da podridão cinzenta da uva, o que acarreta a perda das características, como redução do teor de açúcar do mosto, aumento da acidez volátil tornando-o mais vulnerável à oxidação. Essa susceptibilidade ocorre devido a precipitação pluviométrica elevada e o aumento da úmida relativa do ar, condições que são normais no Sul do Brasil (CAMARGO, 2008).

Figura 4 - Uva da variedade Pinot Noir.



Fonte: Adega do vinho (2012)

2.2.3 Merlot

É uma variedade que pode ser considerada originária do Médoc, na França, onde já era cultivada desde 1850, em seguida difundiu-se para outras regiões da França, tornando-se em seguida uma variedade cosmopolita. É uma cultivar que se adaptou muito bem as condições da região sul do Brasil, sendo cultivada também em Santa Catarina. A cultivar propicia colheitas abundantes que podem atingir 20 °Brix, além de ser bastante susceptível ao fungo

Plasmopara vitícola responsável pelo míldio, doença que infecta folhas, bagas, ramos herbáceos e inflorescências, podendo levar a morte tecidual da videira. No entanto a uva origina vinhos de alta qualidade como varietal além de ser muito usado com outras variedades (corte/Blend) com outras variedades como Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc (CAMARGO, 2008).

Figura 5 - Uva variedade Merlot.



Fonte: Wines.com (2018)

2.2.4 Tempranillo

A variedade Tempranillo possui cachos médios de tamanho compacto, com bagos de coloração negra brilhante e de formato cilíndrico. A uva se adapta bem a climas frios, sendo melhor cultivada em solos argilosos ou rochosos. Sendo versátil, a casta Tempranillo pode ser utilizada na vinificação sozinha (varietal) ou em conjunto com outras variedades (corte/Blend), compondo vinhos tintos de ótima qualidade com Syrah, Garnacha, Cabernet Sauvignon ou Mazuelo (SILVEIRA, 2015).

A uva Tempranillo é uma variedade tinta, originária do Norte da Espanha da região de La Rioja. Cultivada também na Argentina e na Austrália e em menor escala em Portugal, especialmente nas regiões do Alentejo e no Vale do Douro. Essa variedade apresenta ciclo precoce atingindo alto conteúdo de açúcar e apresenta baixa tolerância ao calor. É uma planta produtiva e vigorosa, no entanto é bastante susceptível a algumas doenças fúngicas como o oídio, causado pelo fungo *Uncinula necator*, seu desenvolvimento ocorre principalmente em condições semiáridas, onde o clima é seco e com baixa pluviosidade, acarretando paralisação do crescimento da videira e nos frutos rompimento da baga, possibilitando assim a entrada de outros microrganismos.

No entanto os vinhos elaborados com essa variedade são bem equilibrados e aromáticos, de acidez mediana e cor estável, podendo ser consumidos jovens ou envelhecidos (PROFESSIONAL, 2009).

Figura 6 - Uva variedade Tempranillo.



Fonte: Revista Adega (2014)

2.2.5 Cabernet Sauvignon

A uva Cabernet Sauvignon é originária de Bordeaux, França, e é cultivada no Brasil. As primeiras tentativas de sua difusão comercial no Rio Grande do Sul ocorreram nas décadas de 1930 e 1940. Entretanto, foi a partir do final da década de 1980, com o incremento da produção de vinhos varietais, que ganhou expressão no estado. Tem cachos pequenos e cilíndricos, frutos pequenos, esféricos e de sabor meio amargo. Os aromas da Cabernet Sauvignon são diretos, marcantes e de fácil reconhecimento. São intensas e ricas em aromas e sabores, como frutas vermelhas (cereja, amora, morango), frutas pretas (ameixa, mirtilo), especiarias (pimentas em pó, cravo) e também marcadas por aromas vegetais, de oliva, menta, tabaco, madeira, cedro e anis.

A videira adapta-se bem a qualquer clima, desde que a temperatura não atinja extremos de frio e de calor. O frio intenso a congela, enquanto o calor deve ser equilibrado para que o amadurecimento aconteça no tempo certo. Por ser de ciclo tardio, sua vindima (colheita) acontece depois da maioria das outras uvas, o que confere um sabor mais concentrado aos seus frutos (GUERRA et al., 2009).

Figura 7 - Uva variedade Cabernet Sauvignon



Fonte: Da autora (2016)

2.2.6 Chardonay

A uva Chardonay é uma variedade que tem origem, possivelmente, na Borgonha, tendo sido primeiramente introduzida, em 1930, em São Roque - SP e, em 1948, no Rio Grande do Sul. Somente em 1970 essa variedade foi difundida na Serra Gaúcha, em decorrência de ter ficado retida nas estações experimentais de São Roque e Bento Gonçalves. É uma variedade fácil de cultivar, além de ser produtivas na maioria dos climas e solo. Dependendo do ano de colheita, atinge boa graduação de açúcar, no entanto, apresenta brotação precoce, podendo causar prejuízos em geadas tardias.

Esta variedade tem renome internacional pelo fato de produzir espumantes famosos elaborados na região de Champagne, além de Borgonha que produz vinhos de qualidade unindo a variedade Chardonay com a Pinot Noir. No Brasil tem destaque com a produção de vinho fino varietal e de espumantes (GUERRA et al., 2009).

Figura 8 - Uva variedade Chardonay.



Fonte: Vinhos Maria Maria (2016a)

2.2.7 Sauvignon Blanc

A Sauvignon Blanc é originária de Bordeaux, onde se elaboram alguns dos mais conhecidos vinhos secos e doces, e onde ocorre, em grande parte a junção (corte) com a uva Sémillon. Seu cultivo ocorre principalmente na França, Chile e Califórnia, mas também pode ser encontrada na Espanha. É uma variedade que apresenta cacho de tamanho pequeno, compacto e um pedúnculo muito curto e as bagas são pequenas, em formato arredondado-elíptico e uma pele bem espessa. Tem coloração amarelo pálido, acidez natural e grande leque aromático como abacaxi, maracujá, manga, pólvora e grama recém cortada (REVISTA ADEGA, 2006; VITIVINICULTURA, 2017).

É uma variedade muito sensível a podridão cinzenta do cacho causada pelo fungo *Botrytis cinerea*, a eutipiose causada por *Eutypa lata*, além de outras espécies que também estão associadas e a podridão negra pelo fungo *Guignardia bidwelli* (VITIVINICULTURA, 2017).

Figura 9 - Uva variedade Sauvignon Blanc.



Fonte: Vinhos Maria Maria (2016b)

3 MICROBIOTA *TERROIR*

3.1 *Terroir*

Terroir é uma palavra de origem francesa que não tem tradução em nenhum outro idioma e está relacionada diretamente ao solo e ao microclima particular de uma região, ou seja, a localização geográfica do vinhedo, o qual irá influenciar no surgimento de características peculiares da uva que, conseqüentemente, determinarão a qualidade, a tipicidade e a identidade de um vinho (COELHO-COSTA; CORIOLANO, 2017), além do cultivar e das práticas humanas que irão interagir na região. Vinhos produzidos em uma região, apresentarão características únicas, não podendo ser reproduzidas em outras regiões, mesmo utilizando as mesmas técnicas de vinificação (ANESI et al., 2005).

Uma justificativa da não reprodutibilidade das características pode estar relacionada com a microbiota comensal que coexiste com a videira, uma vez que o papel desses microrganismos era amplamente ignorado (GILBERT et al., 2014) e hoje com as técnicas moleculares é possível conhecer profundamente essa diversidade e tentar entender como ocorre essa interação microrganismo/planta.

Obter o conhecimento da diversidade microbiana e unir com as observações que os viticultores vem fazendo desde os primórdios da cultura, vem elucidando a melhor maneira de melhorar o *terroir* do vinho, a qualidade do solo e conseqüentemente a produtividade das uvas (GILBERT et al., 2014).

Diante de toda diversidade de microrganismos, alguns são encontrados apenas nas uvas, no entanto outros têm a capacidade de sobreviver no vinho. O estágio de maturação da uva e a viabilidade de nutrientes vão determinar a proporção dos microrganismos, além das condições climáticas como temperatura, exposição aos raios ultravioleta (UV), chuvas e ventos, e os

vetores encontrados também influenciam na microbiota da uva (BAE; FLEET; HEARD, 2004; CHIOTTA et al., 2009; BARATA; MALFEITO-FERREIRA; LOUREIRO, 2012).

O solo é um dos fatores mais importantes do *terroir*, pois participa da composição mineral da videira, é uma das principais fontes de macro e micronutrientes. Esta composição reflete o ambiente onde as videiras são cultivadas e, como resultado, os produtos da videira, como sumo, uvas e vinho, serão influenciados por essa composição. O pH e o teor de cálcio presentes no solo são as características que mais afetam a composição das videiras e podem ter efeitos significativos no processo de disponibilidade e absorção de minerais pela planta (LIKAR et al., 2015).

Além de fornecer fontes nutricionais, o solo é o reservatório mais abundante de microrganismos e com isso está associado a microbiota da uva e de outros tecidos vegetais, ou seja, nas etapas iniciais da fermentação, as bactérias, fungos presentes na baga tem um papel significativo em influenciar o sabor, a cor e a qualidade do produto final (GILBERT; LELIE; ZARRAONAINDIA, 2014).

A microbiota tem relevada importância, uma vez que afetam não apenas a composição química do vinho, mas tem um grande impacto na saúde da uva e seu sabor durante o processo fermentativo (GILBERT, LELIE; ZARRAONAINDIA, 2014).

Estudos vem confirmando que a diversidade microbiana, está relacionada a diferentes fatores como Bokulich et al. (2014) ao analisar mostos de uva Chardonnay, Zinfandel e Cabernet Sauvignon, evidenciou que a comunidade microbiana da superfície da uva era diferente entre regiões e havia uma diferença maior dessa comunidade quando relacionada a variedade da uva e o clima local.

Manter a microbiota espontânea é essencial para obter o sabor e aroma típicos dos vinhos derivados de diferentes variedades de uvas (PRETORIUS, 2000). Por esse motivo, o estudo da biodiversidade de cepas indígenas tem uma grande importância para a caracterização e seleção de cepas com fenótipos peculiares (CAPECE et al., 2010; GRIECO et al., 2011; TRISTEZZA et al., 2014).

Segundo Capozzi et al. (2015) a biodiversidade natural de bagas de uva, o ambiente do vinhedo, tem uma correlação específica com cada *terroir*, mostrando uma composição única e que representa uma grande alternativa para a produção de vinho. Relatando que microrganismos autóctones se adaptam melhor ao “ambiente químico” do mosto de uvas proveniente de uma determinada região vitícola e são capazes de conferir características regionais distintas aos vinhos.

3.1.1 Diversidade de microrganismos na uva

A uva é empregada na alimentação humana de várias maneiras, podendo ser consumida como uva *in natura*, uva passa ou ser utilizada na fabricação de vinhos destilados, sucos e diversos doces. De acordo com sua aplicação, será determinado o tipo de uva e em quais condições será colhida, ou seja, quando consumida *in natura*, deve ser colhida quando o teor máximo de açúcar estiver em torno de 20 g/100 g de fruto e a acidez atingir no mínimo 0,41 g/100 g, já a uva destinada à fabricação de vinhos será colhida em função da região produtora, do tipo de vinho a ser elaborado e das condições naturais da safra (MATSUOKA, 2006), de maneira geral as uvas viníferas são colhidas com no máximo 20 °Brix de açúcar e a acidez no mosto variando de 5-10 g/L (GUERRA, 2003). Nas uvas destinadas a vinificação além das condições descritas, os microrganismos presentes irão participar diretamente da formação das características do produto final.

No momento da vinificação, os microrganismos presentes na uva desempenham papel importante, já que podem influenciar na produção e no tempo de armazenamento do vinho, ou seja, a diversidade microbiana está diretamente ligada ao estado de maturação da uva e os nutrientes disponíveis (BOKULICH et al., 2014). As uvas apresentam uma diversidade microbiológica natural, como fungos filamentosos, leveduras e bactérias, e apenas alguns destes microrganismos podem influenciar de forma positiva ou negativa a produção de vinho (BARATA; MALFEITO-FERREIRA; LOUREIRO, 2012).

Durante o processo de vinificação, os microrganismos provenientes das uvas vão atuar de diferentes maneiras, sendo as populações de bactérias lácticas as espécies mais relevantes isoladas do processo de vinificação como: *Lactobacillus plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. hilgardii*, *Lb. brevis*, *Lb. confusus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus damnosus* e *Oenococcus oeni* (RIBÉREAU-GAYON et al, 2006). Outros estudos já relataram a ocorrência de *Weissella paramesenteroides* (BAE et al., 2006), *Weissella uvarum* (NISIOTOU et al., 2014), além de outras espécies desse gênero. As espécies *L. mesenteroides* subespécies *mesenteroides*, *cremoris*, *lactis* e *pseudomesenteroides* são responsáveis diretos da produção do aroma aplicadas em fermentações (KOT et al., 2014).

De acordo com estudos as cepas de *O. oeni* não causam nenhum efeito deteriorativo sobre o sabor e o aroma, além de reduzirem o potencial de deterioração por outras bactérias (SOLIERI et al., 2010).

Além das bactérias o mosto de uva contém várias espécies leveduras, principalmente aquelas pertencentes ao gênero *Saccharomyces*,

Pichia, *Candida*, *Hanseniaspora*, *Metschnikowiae*, *Kluyveromyces* (ROMANO et al., 2003), podendo outras grupos como *Torulaspota*, *Saccharomycodes*, *Dekkera*, *Zygosaccharomyces* e *Schizosaccharomyces*, também serem observadas (FLEET, 2003; FLEET, 2008; ROMANO et al., 2003), no decorrer da fermentação essas leveduras são logo substituídas pela *S. cerevisiae*.

No consórcio microbiológico das uvas há microrganismos patogênicos que causam deterioração, prejudicando a produção de suco e vinho, como os fungos filamentosos *Botrytis cinerea*, *Penicillium sp.* e *Aspergillus sp.*, são conhecidos por sua capacidade de deteriorar as uvas antes da colheita. A presença da micotoxina ocratoxina A, encontrada em vinhos indica contaminação principalmente por *Aspergillus carbonarius* e *Aspergillus niger*, durante o cultivo ambos pertencentes a seção *Nigri*. A presença dessa toxina é um risco para a saúde do homem já que possui potencial carcinogênico (BARATA; MALFEITO-FERREIRA; LOUREIRO, 2012).

Além desses microrganismos, outros isolados também são encontrados em uvas: *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium expansum*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizopus stolonifer* (CAMARGO et al., 2011) *Botrytis spp.*; *Penicillium spp.*; *Rhizopus spp.* (COELHO; HOFFMANN; HIROOKA, 2003) *Plasmopara viticola* (LEITE et al., 2011) *Botrytis cinera*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporoides*, *Alternaria alternata*, *Mucor racemosus*, *Penicillium expansum* (ESTAY, 2006).

3.1.2 Diversidade de microrganismos no solo

O grupo mais amplamente estudado de microrganismos associados as plantas vive ao redor das raízes ou dentro das próprias raízes. Nas plantas existem uma co-associação de bactérias e fungos que tem papéis importantes na formação da qualidade do solo e na promoção da produtividade e saúde da própria planta. Muitos microrganismos que colonizam ativamente esses tecidos têm múltiplas atividades metabólicas que sustentam a saúde das plantas, seja promovendo o crescimento ou suprimindo os patógenos causadores de doenças (GILBERT; LELIE; ZARRAONAINDIA, 2014).

O solo constitui um dos principais habitats para o desenvolvimento de microrganismos envolvidos na decomposição da matéria orgânica, na ciclagem de nutrientes (ANDERSON; CAIRNEY, 2004). Por ser considerado um reservatório natural, essa diversidade do solo é influenciada por condições climáticas, pelos microrganismos existente no ambiente e por suas características naturais. Em estudo realizado por Oliveri et al. (2017) em amostras de solo do

sul da Itália identificaram a presença dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* e *Rhizopus*. Sendo a maior contaminação por *Penicillium* e *Aspergillus*, representados pelas espécies *P. chrysogenum*, *P. expansum*, *P. olsonii* e *P. verrucosum* além dos *A. carbonarius*, *A. niger* agregado respectivamente.

As leveduras podem ser encontradas em concentrações que variam de 10 a 10⁶ UFC/g de solo em área com plantas frutíferas, sendo encontradas, em maior quantidade, leveduras pertencentes aos gêneros *Cryptococcus*, *Rhodotorula* e *Sporobolomyces*, em relação aos gêneros *Candida*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Hanseniaspora*, *Metschnikowia* e *Torulaspota*. Dentre os gêneros mencionados é possível encontrar, no solo, algumas leveduras responsáveis pela alteração do vinho, como *Debaryomyces hansenii*, *Hanseniaspora uvarum* e *Pichia guilliermondii* (BOTHA, 2006; YURKOV; KEMLER; BEGEROW, 2012), pois são capazes de produzir metabolitos, como o ácido acético, que confere um cheiro a vinagre, principalmente em vinhos brancos com um longo período de armazenamento, e em vinhos tintos com um longo período de maceração pré fermentativa (PLATA et al., 2003; MALFEITO-FERREIRA, 2014).

As bactérias, constituem o grupo mais numeroso, senão o mais importante dentre os componentes microbianos do solo. As bactérias acéticas e as lácticas apresentam interesse enológico, no entanto as acéticas são mais encontradas no solo e mesmo assim de forma bem escassa. Deste modo, em solos em contato com a rizosfera, as principais bactérias lácticas encontradas pertencem aos gêneros *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Weissella* e *Leuconostoc*, podendo ser encontradas espécies pertencentes ao consórcio microbiano do vinho, como *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* e *Leuconostoc mesenteroides* (CHEN et al., 2005; FHOULA et al., 2013).

4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA UVA

Os compostos fenólicos estão diretamente ligados a adaptação das plantas, principalmente associados às condições climáticas, que são determinantes para a coloração, aroma e sabor da uva, além de afetar a cor, a estrutura, características sensoriais, gustativas e a adstringência dos vinhos (TEIXEIRA et al., 2013).

A videira (*Vitis* spp) se destaca em função do alto teor de compostos fenólicos presentes nos tecidos dos frutos, folhas e sementes, assim como pela variabilidade de estruturas químicas encontradas. A variedade tinta tem como característica apresentar teores elevados de compostos fenólicos nos tecidos da película dos frutos e sementes, em comparação com as demais variedades brancas e rosadas (MARASCHIN, et al., 2002)

A uva apresenta diversos constituintes que participam da caracterização do produto final, atuando diretamente no processo de vinificação sendo representados por açúcares, ácidos orgânicos, compostos nitrogenados (aminoácidos livres e proteínas), compostos fenólicos (flavonóides e não flavonoides), sais inorgânicos, compostos aromáticos, hormônios (KELLER, 2012; KUHN et al., 2013).

A composição química da uva está distribuída em três fases (Figura 10), a primeira fase tem-se uma diferenciação dos tecidos e estruturas da baga e acúmulo intenso de reservas, onde é marcada pelo acúmulo de compostos voláteis e de minerais, além da formação de alguns compostos aromáticos (KUHN et al., 2013; GONZÁLES-BARREIRO et al., 2015), nessa fase atuam as auxinas, citocininas e giberelinas, o ácido jasmônico e as poliaminas, que apresentam atividade inibitória sobre a maturação (FORTES et al., 2015).

Na segunda fase ocorrem alterações pouco expressiva quanto a estrutura mas grandes alterações na composição química das bagas como frutos com sabor doce, uma textura macia e aromática além de adquirir uma coloração intensa na variedade tinta, nesse momento os níveis de etileno, ácido abscísico e brassinosteroides estão regulados e de outro lado de uma forma mais intensa os eventos que resultam na degradação dos ácidos orgânicos, no acúmulo de açúcares, no amolecimento das bagas, no metabolismo de compostos fenólicos e de aromas, e nas demais transformações bioquímicas (CONDE et al., 2007; FORTES et al., 2015).

Na terceira fase inicia-se o período de maturação, onde ocorre o acúmulo de compostos químicos, como carboidratos simples, concentração reduzida de ácidos orgânicos (principalmente ácido málico), formação de antocianinas que conferem a pigmentação das bagas, e a biossíntese dos compostos aromáticos como terpenos, norisoprenoides além de muitos precursores de aromas (ROBINSON et al., 2014; GONZÁLES-BARREIRO et al., 2015).

Figura 10 - Alterações nos compostos químicos durante o desenvolvimento das bagas.



Fonte: BORGHEZAN, 2017

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, I. C.; CAIRNEY, J. W. G. 2004. Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques. **Environmental Microbiology**, 6 (8), 769-779.
- ANESI, A. *et al.* 2005. Towards a scientific interpretation of the terroir concept: plasticity of the grape berry metabolome. **BMC Plant Biology**, 15, 191-197.
- BAE, S.; FLEET, G.H.; HEARD, G.M. Occurrence and significance of *Bacillus thuringiensis* on wine grapes. 2004. **International Journal of Food Microbiology**, 94, 301-312.
- BAE, S.; FLEET, G.H.; HEARD, G.M. 2006. Lactic acid bacteria associated with wine grapes from several Australian vineyards. **Journal of Applied Microbiology**, 100, 712–727.
- BARATA, A.; GONZÁLEZ, S.; MALFEITO-FERREIRA, M.; QUEROL, A.; LOUREIRO, V. 2008. Sour rot-damaged grapes are sources of wine spoilage yeasts. **FEMS Yeast Research**, 8, 1008–1017.
- BARATA, A.; MALFEITO-FERREIRA, M.; LOUREIRO, V. 2012. The microbial ecology of wine grape berries. **International Journal of Food Microbiology**, 153, 243–259.
- BARBE, J.C., DE REVEL G, JOYEUX, A., BERTRAND, A., LONVAUD-FUNEL, A. 2001. Role of botrytized grape micro-organisms in SO₂ binding phenomena. **Journal of Applied Microbiology**, 90, 34–42.
- BOKULICH, N. A. *et al.* 2014. Microbial biogeography of wine grapes is conditioned by cultivar, vintage, and climate. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 111 (1), E139-148.
- BOTHA, A. 2005. Yeasts in soil. In: _____. **Biodiversity and ecophysiology of yeasts**. Berlin: Springer Science & Business Media, chap. 11, p. 221-240. (The Yeast Handbook).
- CAMARGO R.B.; PEIXOTO A.R.; TERAPO D.; ONO E.O.; CAVALCANTI L.S. 2011. Fungos causadores de podridões pós-colheita em uvas apirênicas do pólo abrícola de Juazeiro-BA e Petrolina-PE. **Revista Caatinga**, 24(1), 15-19.
- CAMARGO, U.A. 2008. Cultivares. In: MELLO, L.M.R. de; MACHADO, C.A.E. (ed). **Cadastro Vitícola do Rio Grande do Sul: 2005 a 2007**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho; Ibravin.
- CAPOZZI, V. *et al.* 2015. Microbial terroir and food innovation: The case of yeast biodiversity in wine. **Microbiological Research**, 181, 75–83.
- CAPECE, A.; ROMANIELLO, R.; SIESTO, G.; PIETRAFESA, R.; MASSARI, C.; POETA, C.; ROMANO, P. 2010. Selection of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains for Nero d'Avola wine and evaluation of selected starter implantation in pilot fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, 144, 187–192.

CHEN, Y.-S., YANAGIDA, F., SHINOHARA, T., 2005. Isolation and identification of lactic acid bacteria from soil using an enrichment procedure. **Letters in Applied Microbiology**. 40, 195–200.

CHIOTTA, M. L.; PONSONE, M. L.; COMBINA, M.; TORRES, A. M.; CHULZE, S. N. 2009. *Aspergillus section nigri* isolated from different wine-grape growing regions in Argentina. **International Journal of food microbiology**, vol. 136, p. 137-141.

COELHO A.R.; HOFFMANN F.L.; HIROOKA E.Y. 2003. Biocontrole de doenças pós-colheita de frutas por leveduras: perspectivas de aplicação e segurança alimentar. **Semana: Ciências Agrárias**, 24 (2), 337-358.

COELHO-COSTA, E. R.; CORIOLANO, L. N. 2017. Indicações geográficas e turismo enogastronômico no Vale dos Vinhedos (RS) e no Vale do Rio São Francisco (PE/BA). **Revista Turismo: estudos e práticas**. 6.

CONDE, C.; FONTES, N.; DIAS, A.C.P.; TAVARES, R.M.; SOUZA, M.J.; AGASSE, A.; DELROT, S.; GERÓS H. 2007. Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. **Food**, 1, 1-22.

EINLOFT, T. C. 2012. **Caracterização micotoxicológica de uvas viníferas produzidas no Rio Grande do Sul, Brasil**. 2012. 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS (EPAMIG). 2021. **Técnica de dupla poda adaptada pela Epamig consolida novo polo de produção de vinhos**. <https://www.agenciaminas.mg.gov.br/news/pdf/111558.pdf>

ESTAY R.A.M. 2006. Estudio de actividad antibacteriana de potenciales biocontroles sobre bacterias acéticas involucradas en La pudrición ácida de La uva. Santiago, Chile. **Monografía**. Universidad de Chile, Santiago.

FHOULA, I.; NAJJARI, A.; TURKI, Y.; JABALLAH, S.; BOUDABOUS, A.; OUZARI, H., 2013. Diversity and antimicrobial properties of lactic acid bacteria isolated from rhizosphere of olive trees and desert truffles of Tunisia. **Biomed International Research**. 2013, 405708.

FLEET, G. H. 2003. Yeast interactions and wine flavor. **International Journal of Food Microbiology**, 86, 11-22.

FLEET, G. H. 2008. Wine yeasts for the future. **FEMS Yeast Research**, v. 8, n. 7, p. 979-995.

FORTES A.M.; TEIXEIRA R.T.; AGUDELO-ROMERO P. Complex interplay of hormonal signals during grape berry ripening. **Molecules**, 20, p. 9326-9343, 2015.

GILBERT, J.A.; LELIE, D.V.; ZARRAONAINDIA I. 2014. Microbial terroir for wine grapes. **PNAS**, 111, 5-6.

GONZÁLEZ-BARREIRO, C.; RIAL-OTERO, R.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMALGÁRDARA, J. 2015. Wine aroma compounds in grapes: A critical review. **Crit. Reviews of Food Science**, 55, 202-218.

- GRIECO, F.; TRISTEZZA, M.; VETRANO, C.; BLEVE, G.; PANICO, E.; GRIECO, F.; MITA, G.; LOGRIECO, A. 2011. Exploitation of autochthonous micro-organism potential to enhance the quality of Apulian wine. **Ann. Microbiol.** 61 (1), 67–73.
- GUERRA, C. C. *et al.* 2009. **Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos**. Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 69 p. (Documento, 48).
- GUERRA, C. C. *et al.* 2003. **Uva para processamento pós colheita**. Brasília, DF: EMBRAPA Informação Tecnológica, 67 p.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2021. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=298009>.
- KELLER, M. 2012. The Science of grapevines. Anatomy and Physiology. 368p. **Elsevier**, Academic Press, Burlington.
- KIST, B. B. *et al.* 2021. **Anuário brasileiro da fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 104p.: il.
- KOT, W. *et al.* 2014. Bacteriophages of *Leuconostoc*, *Oenococcus*, and *Weissella*. **Frontiers in Microbiology**, [s.l.], v. 5, p.1-9, 28 abr. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2014.00186>.
- KUHN, N.; GUAN, L.; DAI, Z.W.; WU, B.; LAUVERGEAT, V.; GOMÈS, E.; LI, S.; GODOY, F.; ARCE-JOHNSON, P.; DELROT, S. 2013. Berry ripening: recently heard through the grapevine. **Journal Experimental Botany**, 65, 4543-4559.
- LEITE, C.D.; BOTELHO, R.V.; FARIA, C.M.D.R.; MAIA, A.J. 2011. Extrato de alho e óleo vegetal no controle do míldio na videira. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 33(2), 429-436.
- LIKAR, M. *et al.* 2015. Importance of soil and vineyard management in the determination of grapevine mineral composition. **Science of the Total Environment**, 505, 724-731.
- MALFEITO-FERREIRA, M., 2014. Wine Spoilage Yeasts and Bacteria, in: Batt, C.A., Tortorello, M.L. (Eds.), **Encyclopedia of Food Microbiology**. Elsevier Ltd, Academic Press, pp. 805–810.
- MARASCHIN, R.P.; ARSEGO, J.L.; CAPEL, L.S.; IANSSEM, C.; CARO, M.S.B.; MARASCHIN, M. 2002. Análise química de vinhos catarinenses – dosagem de fenóis totais e antocianinas. In: **VITICULTURA e Enologia: atualizando conceitos**: EPAMIG, 1, 321-323.
- MATSUOKA, M. 2006. Atributos biológicos de solos cultivados com videiras na região da Serra Gaúcha. 173 p. **Tese** (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- MOTA, R. V. *et al.* 2010. Composição físico-química de uvas para vinho em ciclos de verão e inverno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 4, p. 1127-1137.

- NISIOTOU, A.; DOUROU, D.; FILIPPOUSI, M.E.; BANILAS, G.; TASSOU, C. 2014. *Weissella uvarum* sp. nov., isolated from winegrapes. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 64, 3885–3890.
- OLIVERI, C.; BELLA, P.; TESSITORI, M.; CATARA, V.; ROSA, R. L. 2017. Grape and environmental mycoflora monitoring in old, traditionally cultivated vineyards on Mount Etna, southern Italy. **Journal Science Food Agriculture**, 97, 65–73.
- PLATA, C.; MILLÁN, C.; MAURICIO, J. C.; ORTEGA, J. M. 2003. Formation of ethyl acetate and isoamyl acetate by various species of wine yeasts. **Food Microbiol.**, v. 20, n. 2, p. 217-224.
- PRETORIUS, I. S. 2000. Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. **Yeast**, v. 16, n. 8, p. 675-729.
- PROFESSIONAL FRIENDS OF WINE. **Varietal Profiles**. 2009. Disponível em: http://www.winepros.org/wine101/grape_profiles/varietals.htm.
- REVISTA ADEGA. **Levar o próprio vinho ao restaurante**. São Paulo, n. 14, dez. 2006. Disponível em: <<http://revistaadega.uol.com.br/revista/14#ixzz4k6TgsB9R>>. Acesso em: 10 mar. 2016.
- REVISTA ADEGA. 2012. **Da Borgonha para o mundo**. São Paulo, n. 76, set. 2012. Disponível em: https://revistaadega.uol.com.br/artigo/da-borgonha-para-o-mundo_4229.html. Acesso em: 16 ago. 2018.
- REVISTA ADEGA. 2014. **Tempranillo é a uva mais cultivada na última década**. São Paulo, n. 16, set. 2014. Disponível em: https://revistaadega.uol.com.br/artigo/tempranillo-e-uva-mais-cultivada-no-mundo-na-ultima-decada_9996.html Acesso em: 16 ago. 2018.
- RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU D. 2006. Handbook of Enology: **The chemistry of wine. Stabilization and treatments**. vol. 2, 2nd ed. 451p. John Wiley & Sons, West Sussex.
- ROBINSON, A.L.; BOSS, P.; SOLOMON, P.S.; TRENGOVE, R.D.; HEYMANN, H.; EBELER, S.E. 2014. Origin of grape and wine aroma. Part 1. Chemical components and viticultural impacts. **American Journal of Enology and Viticulture**, 65, 1-2.
- ROMANO, P. *et al.* 2003. Function of yeast species and strains in wine flavour. **International Journal of Food Microbiology**, 86, 169-180.
- SETATI, M.E.; JACOBSON, D.; ANDONG, U.C.; BAUER, F. 2012. The vineyard yeast microbiome, a mixed model microbial map. **Public Library of Sciences**. 7, 1–11.
- SILVEIRA, A.V.; HOFFMANN, A.; GARRIDO, L. R. 2015. **Produção integrada de uva para processamento: implantação do vinhedo, cultivares e manejo da planta**. Brasília, DF: Embrapa, 3, 72p, il.
- SOLIERI, L.; GENOVA F.; DE PAOLA, M.; GIUDICI, P. 2010. Characterization and technological properties of *Oenococcus oeni* strains from wine spontaneous malolactic

fermentations: a framework for selection of new starter cultures. **Journal Of Applied Microbiology**, 108, 285-298.

TEIXEIRA, A.; EIRAS-DIAS, J.; CASTELLARIN, S.D.; GERÓS, H. 2013. Berry phenolics of grapevine under challenging environments. **International Journal of Molecular Science**, 14, 18711-18739.

TRISTEZZA, M.; FANTASTICO, L.; VETRANO, C.; BLEVE, G.; CORALLO, D.; GRIECO, F.; MITA, G.; GRIECO, F. 2014. Molecular and technological characterization of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from natural fermentation of Susumaniello grape must in Apulia, Southern Italy. **Int. J. Microbiol.**, 1–11.
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/897428>, Article ID 897428

VINHOS MARIA MARIA. Disponível em:
<<https://www.facebook.com/vinhosmariamaria/photos/pcb.806528199506343/806527279506435/?type=3&theater>>. Acesso em: 10 mar. 2016.

WINES.COM. **The Merlot Wine Grape**. Disponível em: <http://wines.com/merlot-intro.html>. Acessado em: 16 ago. 2018.

YURKOV, A. M.; KEMLER, M.; BEGEROW, D. 2012. Assessment of yeast diversity in soils under different management regimes. **Fungal Ecology**, 5 (1), 24-35.

CAPÍTULO 2

DIVERSIDADE DE FUNGOS FILAMENTOSOS, BACTÉRIAS E LEVEDURAS ISOLADOS DE UVA VINÍFERA E SOLO DA REGIÃO DE SÃO PAULO

RESUMO

É de grande importância o estudo da microbiota, a fim de caracterizar de forma mais abrangente os microrganismos associados às vinhas, além de se ter uma visão do comportamento que esses microrganismos acabam transferindo para o produto final, por meio da sua interação com a videira, com a baga e, conseqüentemente, o produto final, o vinho. Dessa maneira, este estudo contribuirá para o melhor conhecimento do *terroir* da vinícola ou, até mesmo, encontrar uma levedura do próprio vinhedo que proporcionarão características únicas no vinho produzido. Nesse sentido, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a diversidade de fungos filamentosos, bactérias e leveduras isolados de uva vinífera, correlacionar as características físico-químicas do solo com fungos filamentosos, bactérias e leveduras isolados do solo. O vinhedo está localizado na região Mogiana de São Paulo. Para isso foram coletadas 12 amostras de uva vinífera sendo 3 Syrah 1, 3 Syrah 2, 3 Cabernet sauvignon, 3 Sauvignon blanc e 12 amostras compostas de solo, sendo 3 amostras respectivamente para cada variedade de uva na safra de 2018. Para avaliar a diversidade de microrganismos foi realizada a técnica de diluição seriada, sendo para fungo filamentoso e levedura meio DRBC e DG18, bactérias totais meio Ágar nutriente, bactérias acéticas meio GYEC e Bactérias lácticas meio MRS. Os resultados obtidos mostraram que nas amostras de uva e solo houve predominância dos gêneros *Cladosporium*, e *Fusarium* com as espécies *C. cladosporioides* complexo e *Fusarium* sp. As bactérias predominaram com *Arhrobacter*, seguido de *Pseudomonas*, *Micrococcus* e *Bacillus* respectivamente, como *A. sulfonivorans*, *P. oryzihabitans*, *M. luteus* e *Bacillus* sp. Já nas leveduras houve a maior presença *Aureobasidium pullulans* e Morfotipo 1. As bactérias lácticas e acéticas apresentaram comportamento similar com uma população <10UFC/g.

Palavras-chave: Microbioma. *Terroir*. Uva. Solo.

1 INTRODUÇÃO

A videira abriga microbiota complexa e diversa, como bactérias, fungos filamentosos e leveduras (BARATA et al., 2012; STEFANINI; CAVALIERI, 2018), que modulam substancialmente a saúde, o crescimento e a produtividade da cultura da videira (GILBERT et al., 2014; MÜLLER et al., 2016) além da qualidade do vinho e nas propriedades organolépticas.

Diversos fatores tanto intrínsecos como extrínsecos estão ligados com a ocorrência e o crescimento de microrganismos nos frutos, incluindo as condições climáticas, as variedades da uva, ataque de pássaros e insetos e a ação de agrotóxicos (PITT; HOCKING, 1997).

Os sabores e aromas sutis no vinho são criados por inúmeros microrganismos, especialmente leveduras e bactérias (SWIEGERS; BARTOWSKY; HENSCHKE; PRETORIUS, 2005). *Paenibacillus* sp, *Sporobolomyces roseus* e *Aureobasidium pullulans*, produzem os compostos aromáticos típicos de vinho tinto, ácido 2-metilbutanóico, 3-metil-1-butanol e octanoato de etila (VERGINER; LEITNER; BERG, 2010). As bactérias do ácido láctico são responsáveis pelo início da fermentação malolática (FML) na produção de vinho, o que não apenas reduz a acidez, mas também confere complexidade de sabor (CAPOZZI et al., 2010; MEZZASALMA et al., 2017). Em contraste, as bactérias do ácido acético são consideradas organismos deteriorantes devido à produção de acetaldeído e ácido acético (VALERA et al., 2011).

A presença dos fungos filamentosos pode modificar a composição química das uvas, alterando o sabor, odor e cor dos vinhos. Os principais fungos responsáveis pela deterioração das uvas na época de colheita pertencem aos gêneros *Botrytis*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium* (EINLOFT, 2012).

Neste sentido o presente estudo tem como objetivo avaliar a diversidade de fungos filamentosos, leveduras e bactérias presente nas amostras de uva da variedade Syrah 1 e Syrah 2, Cabernet Sauvignon e Sauvignon blanc e solo de vinhedos localizados na região serrana de São Paulo, a fim de auxiliar na caracterização do *terroir* da região.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo do estudo foi caracterizar a microbiota *terroir* das uvas e solo das variedades Syrah, Sauvignon Blanc, Cabernet Sauvignon, além da composição físico-química do solo de cultivo de um vinhedo localizado na região Mogiana de São Paulo e entender como os microrganismos poderiam influenciar na qualidade dos vinhos.

2.2 Objetivo específico

1. Avaliar a diversidade de fungos filamentosos, leveduras bactérias totais, bactérias lácticas e acéticas em uvas (Syrah, Sauvignon Blanc, Cabernet Sauvignon) e solo de cultivo por técnicas dependentes de cultivo.
2. Comparar a diversidade de fungos filamentosos, bactérias e leveduras entre as variedades de uva Syrah, Sauvignon Blanc e Cabernet Sauvignon da região Mogiana de São Paulo.
3. Indicar potencial influência dos microrganismos na qualidade do vinho.
4. Contribuir com a determinação do *terroir* da região Vinícola na região Mogiana de São Paulo.
5. Avaliar o potencial toxigênico dos microrganismos isolados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostragem

3.1.1 Coleta das uvas

Foram coletadas amostras de uva da variedade Syrah cultivadas em ambientes diferentes nomeadas como Syrah 1 e Syrah 2, além da Cabernet Sauvignon e Sauvignon Blanc e de solo foram coletadas em uma vinícola no município de Espírito Santo do Pinhal, localizadas na região Mogiana de São Paulo no período de julho de 2018. Na tabela 1 apresentam-se as coordenadas geográficas dos pontos de coleta das amostras de uva.

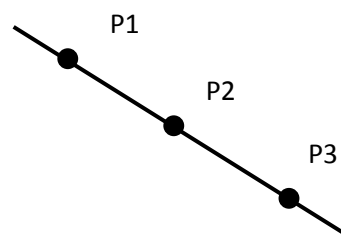
Tabela 3 - Coordenadas geográficas dos pontos de coleta das amostras de uva.

Variedade	Local	Ponto	Coordenadas geográficas		
			Latitude	Longitude	Altitude
Syrah 1	Espírito Santo do Pinhal - SP	1	22°11'7.08" N	46°42'22.068" W	1121
		2	22°11'7.08" N	46°42'20.592" W	1121
		3	22°11'7.224" N	46°42'19.368" W	1118
Syrah 2	Espírito Santo do Pinhal - SP	1	22°11'5.46" N	46°42'18.252" W	1108
		2	22°11'4.416" N	46°42'18.396" W	1106
		3	22°11'3.12" N	46°42'18.684" W	1123
Cabernet Sauvignon	Espírito Santo do Pinhal - SP	1	22°10'42.42" N	46°42'14.436" W	1160
		2	22°10'42.996" N	46°42'14.148" W	1170
		3	22°10'43.644" N	46°42'14.184" W	1171
Sauvignon Blanc	Espírito Santo do Pinhal - SP	1	22°10'48.432" N	46°44'3.228" W	899
		2	22°10'48.72" N	46°44'3.768" W	897
		3	22°10'48.936" N	46°44'4.2" W	896

Fonte: Da autora (2018).

Foram coletadas, aproximadamente, 900 g de amostras de uvas tintas das safras de junho/julho da variedade Syrah 1, Syrah 2, Cabernet Sauvignon e Sauvignon Blanc no estágio final de maturação (época da colheita), no ano de 2018. Para isso, foi traçado um transecto diagonal ao longo do vinhedo, coletando-se três cachos de uvas em cada ponto, em três videiras equidistantes (P1, P2 e P3), desprezando-se as extremidades (Figura 11). As amostras coletadas foram armazenadas em sacos estéreis e transportadas em caixas térmicas para o Laboratório de Micotoxinas e Micologia, no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, onde foram analisadas.

Figura 11 - Transecto diagonal traçado ao longo do vinhedo para coleta das amostras de uvas e solo.

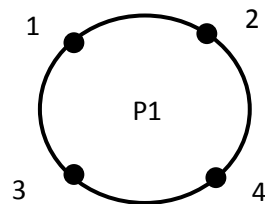


Fonte: Freire (2016)

3.1.2 Coleta do Solo

As amostras de solo foram coletadas nos mesmos pontos em que foram coletadas as uvas (P1, P2 e P3) (Figura 12). Foram retiradas quatro subamostras (p1, p2, p3, p4) na profundidade de 10 cm, em um raio de 20 cm no entorno da planta. As subamostras foram homogeneizadas em sacos plásticos estéreis, formando uma amostra composta de cada ponto. As amostras foram armazenadas em caixas térmicas. Em seguida, foram transportadas para o Laboratório de Micotoxinas e Micologia, no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, onde foram analisadas.

Figura 12 - Amostragem do solo em cada ponto de coleta.



$$P1 = 1 + 2 + 3 + 4$$

Fonte: Freire (2016).

3.2 Isolamento dos microrganismos nas amostras de uva e solo

Para o isolamento de fungos das amostras de uvas foi utilizada a técnica de diluição seriada com espalhamento em superfície nos meios de cultura Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) (10,0 g de glicose; 5,0 g de peptona bacteriológica; 1,0 g de KH_2PO_4 ; 0,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,5 mL de solução 5% de rosa de bengala; 1,0 mL de dicloran; 1.000 mL de água destilada; 15,0 g de ágar; 1 mg de cloranfenicol) e YEPG (Extrato de Levedura 1%; Peptona Bacteriológica 2%; Glicose 2%, Agar 1,5%). Para a obtenção da primeira diluição, foram utilizados 25 g de bagas de uvas, obtidas aleatoriamente, adicionadas a 225 mL de água peptonada a 0,1%. As bagas foram, então, maceradas e mantidas sob agitação em Stomacher (METROTERM), 490 batidas por 2 minutos posteriormente foi realizada as diluições subsequentes. Alíquotas de 0,1 mL das diluições (1:10, 1:100 e 1:1000) foram espalhadas na superfície dos meios de cultura DRBC e YEPG, até total esgotamento (*spread plate*). As placas de DRBC foram incubadas em BOD a 25 °C e as placas de YEPG em BOD a 28 °C, por 5 a 7 dias para análise de fungos. O procedimento foi igualmente repetido para solo.

Após o período de incubação foi realizada a contagem de colônias (UFC/g) e a caracterização por morfotipos. Posteriormente foi empregada a técnica de raiz quadrada para determinar o número de isolados de cada morfotipo. Em seguida, os isolados foram transferidos para o meio de purificação ágar extrato de malte (MA) e incubados em BOD 25 °C, por 7 dias. Após o período de incubação, as colônias puras foram transferidas para os meios de identificação, de acordo com cada gênero. As colônias puras de leveduras foram caracterizadas quanto a sua morfologia, reprodução e preservados para posterior identificação pela técnica de Maldi-Tof.

Para o isolamento de fungo do solo realizou o mesmo procedimento descrito, pesando 25 g de amostra.

Para o isolamento de bactérias procedeu-se a diluição como descrito acima e foram utilizados os meios Ágar Nutriente (ACUMEDIA) (Peptona 5 g, Extrato de carne 3 g, Cloreto de sódio 8 g, Ágar 15 g), MRS (KASVI) e GYC (Extrato de Levedura 10 g; Carbonato de Cálcio 20 g, Etanol 20 mL; Ágar 20 g) onde foi analisado bactérias totais, bactérias lácticas e bactérias acéticas respectivamente. As placas de MRS foram incubadas em BOD 30 °C por 5 dias e Ágar nutriente e GYC em BOD 28 °C por 5 dias. Após o período de incubação foi realizada a contagem de colônias (UFC/g) e a caracterização por morfotipos. Em seguida, os isolados dos meios Ágar nutriente e GYC foram transferidos para o meio de purificação YEPG e incubados em BOD 28 °C por 48 hs e os isolados do MRS foram transferidos para novas placas de MRS e incubados a 30 °C por 48 hs

Após o período de incubação, foi realizada coloração de gram para avaliação da morfologia celular. Em seguida os isolados foram identificados pela técnica de Maldi-Tof.

As amostras de uva foram analisadas no Laboratório de Micotoxinas e Micologia, no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

3.3 Identificação fenotípica dos fungos filamentosos

Os meios de identificação utilizados foram específicos para cada gênero de fungos filamentosos encontrado, sendo utilizado, para as espécies pertencentes ao gênero *Aspergillus*, o Manual de Klich (2002); para o gênero *Penicillium*, o Manual de Pitt (2000) e para os demais gêneros, o Manual de Samson et al. (2000). Os isolados pertencentes ao gênero *Aspergillus* e *Penicillium* foram incubados em meios de cultura Ágar Czapek Levedura (CYA) (SYNTH) (K_2HPO_4 : 1,0 g; concentrado czapec: 10,0 mL; extrato de levedura: 5,0 g, ágar: 15,0 g, água destilada: 1 L; (concentrado czapec: $NaNO_3$: 30,0 g, KCl: 5,0 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 5,0 g,

FeSO₄.7H₂O: 0,1 g, ZnSO₄.7H₂O: 0,1 g, CuSO₄.5H₂O: 0,05 g, água destilada: 100 mL), a 25 °C e a 37 °C e ágar extrato de malte (MEA) (ACUMEDIA) (extrato de malte: 20,0 g, peptona: 1,0 g, glucose: 30,0 g, ágar: 20 g, água destilada: 1 L), a 25 °C. Após sete dias de incubação foram observadas as características macroscópicas e microscópicas dos fungos filamentosos.

Os demais gêneros foram inoculados em MEA (ACUMEDIA) (extrato de malte: 20,0 g, peptona: 1,0 g, glucose: 30,0 g, ágar: 20 g, água destilada: 1 L), a 25 °C. Após sete dias de incubação, foram observadas as características macroscópicas e microscópicas dos fungos filamentosos.

3.4 Identificação de leveduras e bactérias por espectrometria de massa (Maldi-Tof)

Para a análise do Maldi-Tof, as leveduras foram cultivadas no meio YEPG durante 28 °C/24 hs. Pequenas porções da biomassa microbiana foi transferida da placa de Petri para microtubos, aos quais foram adicionados aproximadamente 7 µL de solução de ácido fórmico 25% em água (v/v). As amostras foram homogeneizadas em vórtex por 1 minuto e levadas para o sonicador durante 5 minutos. Imediatamente, 0,7 µL de cada suspensão celular foi transferida para a placa do MALDI onde foi adicionado 1 µL de solução matricial (ácido a-ciano-4-hidroxicinâmico [HCCA] (PEDROZO, 2017).

As bactérias foram cultivadas no meio Agar Nutriente durante 24 h a 37 °C, uma porção da massa foi transferida para microtubos e adicionado aproximadamente 7 µL de uma solução orgânica (33% etanol; 33% acetonitrila; 33% água com 10% de ácido trifluoracético - TFA), em seguida serão homogeneizadas em vórtex por 1 minuto. Posteriormente 0,7 µL de cada suspensão celular foi transferida para a placa do MALDI onde foi adicionado 1 µL de solução matricial (ácido a-ciano-4-hidroxicinâmico [HCCA] (PEDROZO, 2017).

A aquisição do espectro foi realizada em um espectrômetro de massa Microflex (Bruker Daltonics). Cada espectro final foi gerado pela soma de 240 impulsos de laser acumulados por perfil. A lista de picos resultante foi exportada para o pacote de software MALDI Biotyper 3.0 (versão 3.0; Bruker Daltonics GmbH), que é uma base de dados comercial da Bruker Daltonics (Bremen, Alemanha). No banco de dados essa lista de picos de amostra individuais resultante foi comparada com os espectros de referência.

Os isolados identificados foram depositados na Coleção de Cultura de Microrganismos do Departamento de Ciência dos Alimentos (CCDCA) da Universidade Federal de Lavras.

3.5 Identificação molecular

As leveduras foram cultivadas no laboratório de Micologia e Micotoxinas de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, em meio YEPG e enviadas ao Laboratório GoGenetic para sequenciamento, o qual foram utilizados os primers ITS1 e ITS4.

O alinhamento múltiplo das sequências de nucleotídeos foi feito no GUIDANCE SERVER, com o algoritmo MAFFT, e os parâmetros padrões do programa. Em seguida, o alinhamento múltiplo de nucleotídeos foi corrigido manualmente no programa MEGA 6.06 (TAMURA et al., 2013).

Todas as análises filogenéticas foram realizadas no programa MEGA 6.06 utilizando-se o método da máxima verossimilhança. A confiabilidade da topologia das árvores obtidas foi avaliada usando o método de *bootstrap*, com 1000 reamostragens, e o método heurístico *Nearest-Neighbor-Interchange* foi usado na busca pela árvore filogenética mais verossímil.

3.6 Preservação de fungos filamentosos, leveduras e bactérias

Os isolados de fungos filamentosos identificados foram preservados em duplicata em duas temperaturas, -18 °C e -80 °C. Para isso, discos de papel filtro estéreis foram espalhados na colônia pura dos isolados e, em seguida, colocados em eppendorfs estéreis. Os discos de papel filtro de, aproximadamente, 5 mm foram cortados e transferidos para microtubos, autoclavados a 121 °C, sob 1 atm, por 15 minutos.

Os isolados de leveduras e bactérias foram cultivados em eppendorfs contendo 500 µL de caldo YEPG e incubados em BOD a 28 °C por 48 hs para leveduras e 37 °C por 48 hs para bactérias, em seguida foi adicionado 500 µL de uma solução de glicerol 40% e posteriormente armazenados em temperatura igualmente padronizada para fungos filamentosos.

Os isolados foram depositados na Coleção de Cultura de Microrganismos, no Departamento de Ciência dos Alimentos (CCDCA) da Universidade Federal de Lavras.

3.7 Avaliação do potencial toxigênico dos fungos filamentosos

Todos os isolados potencialmente toxigênicos foram testados pela técnica de Cromatografia e Camada Delgada pelo método Plug Agar, conforme descrito por Filtenborg e Frisvad (1980) para avaliar a produção de ocratoxina A, aflatoxina B1, B2, G1 e G2 e citrinina.

Para a detecção da produção de ocratoxina A, os fungos foram inoculados em meio CYA e, para aflatoxina B1, B2, G1 e G2, os fungos foram inoculados em meio Yeast Extract Sucrose Agar (YES), sendo incubados durante 7 dias, a 25 °C. Foram utilizadas placas de cromatografia de camada delgada (CCD) (Merk-Sílica Gel 60, 20x20), solução padrão de ocratoxina A e aflatoxina (Sigma-Aldrich) e a fase móvel composta por tolueno, acetato de etila e ácido fórmico 90%, na proporção 50:40:10. A confirmação quanto à produção de OTA e AFLA foi efetuada sob luz ultravioleta com comprimento de onda de λ 366 nm em cromatovisor CAMAG (UF-BETRACHTER). Os isolados considerados produtores de toxina apresentam fator de retenção (RF) e spot de fluorescência semelhantes aos do padrão da micotoxina, ou seja, roxo para ocratoxina A, verde para aflatoxina G1 e G2 e azul violeta para B1 e B2.

Para a avaliação da produção de citrinina, os isolados foram inoculados em meio de cultura ágar coco (400 g de creme de leite de coco, 12 g de ágar, 400 mL de água destilada), durante 10 dias, a 25 °C, como descrito por Mohamed et al. (2013). A confirmação quanto à produção da toxina foi realizada sob luz ultravioleta com comprimento de onda de λ 366 nm, em cromatovisor CAMAG (UF-BETRACHTER). Os isolados considerados produtores de citrinina apresentarão intensa fluorescência verde-amarelo em torno da colônia.

3.8 Análise físico-química do solo

A análise físico-química do solo foi realizada no Laboratório de Análises de Fertilidade do Solo, no Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras, sendo realizadas as análises de granulometria, pH, fertilidade, matéria orgânica, enxofre, boro, zinco, cobre, manganês, ferro, sódio e potássio, segundo metodologia proposta pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 1999).

3.9 Análise estatística

Para avaliar a influência das características físico químicas do solo na incidência de fungos filamentosos, leveduras e bactérias foi realizado uma análise de Componente Principal - PCA.

4 RESULTADOS

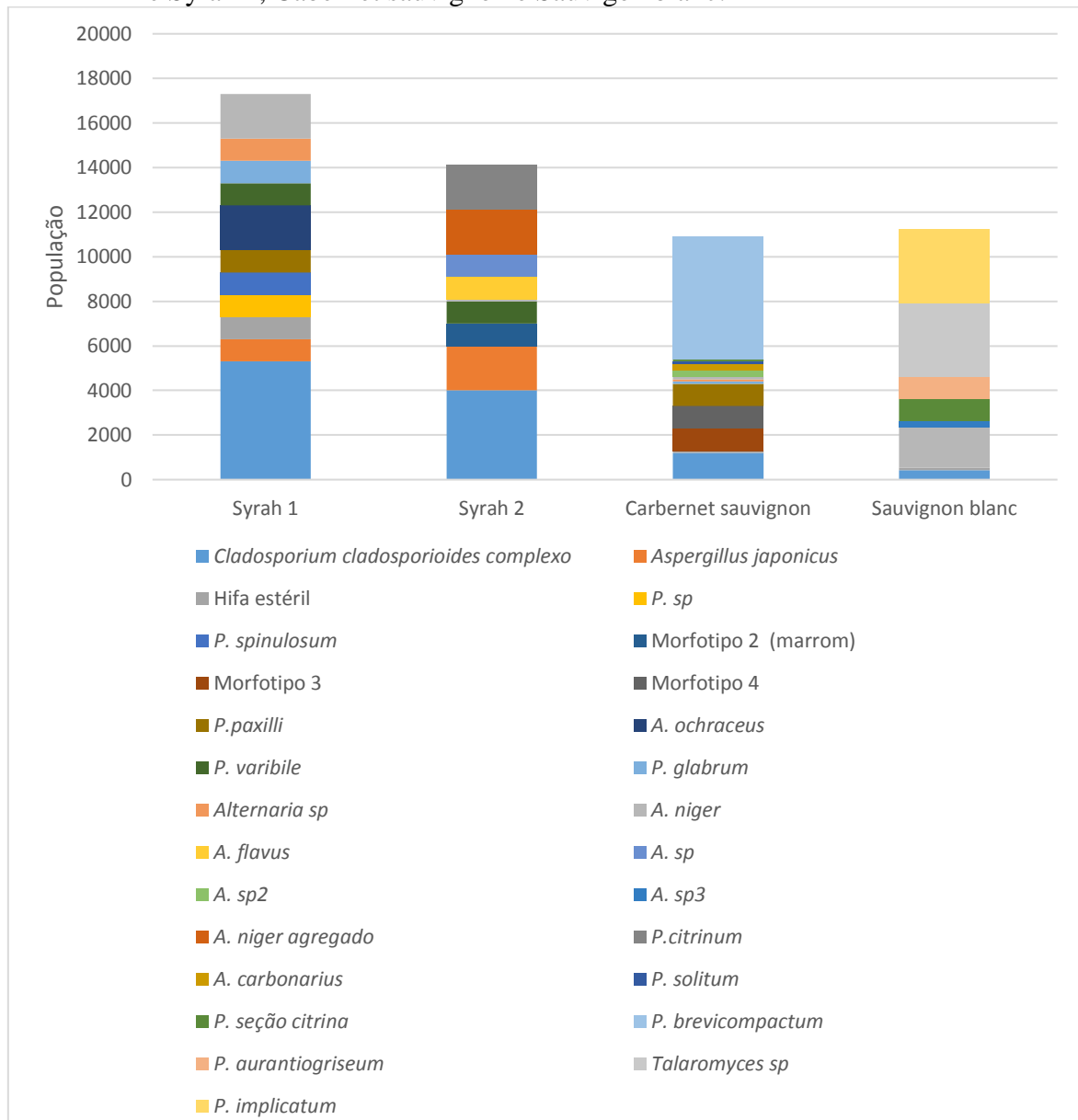
4.1 Diversidade de Fungos filamentosos, leveduras e bactérias em uvas

Na amostra de uva variedade Syrah 1 foram identificados um total de 90 fungos filamentosos o que representa uma população média de $5,3 \times 10^3$ UFC/g, sendo eles: *Cladosporium cladosporioides* complexo ($5,3 \times 10^3$), *Aspergillus japonicus* ($1,0 \times 10^3$), Hifa estéril ($1,0 \times 10^3$), *Penicillium* sp ($1,0 \times 10^3$), *P. paxilli* ($1,0 \times 10^3$), *A. ochraceus* ($2,0 \times 10^3$), *P. variabile* ($1,0 \times 10^3$), *P. glabrum* ($1,0 \times 10^3$), *Alternaria* sp ($1,0 \times 10^3$), *A. niger* ($2,0 \times 10^3$). Na amostra Syrah 2 foram identificados 80 isolados, com uma população média de $4,56 \times 10^3$ UFC/g tendo como representantes *Cladosporium cladosporioides* complexo ($4,0 \times 10^3$), *Aspergillus japonicus* ($2,0 \times 10^3$), Morfotipo 2 ($1,0 \times 10^4$), *P. variabile* ($1,0 \times 10^3$), *A. niger* ($1,0 \times 10^2$), *A. flavus* ($1,0 \times 10^3$), *A. sp* ($1,0 \times 10^3$), *A. niger* agregado ($2,0 \times 10^3$), *P. citrinum* ($2,0 \times 10^3$) (Gráfico 1).

Na variedade Carbernet sauvignon foram identificados 56 isolados que representam uma população média de $2,0 \times 10^3$ UFC/g sendo eles *Cladosporium cladosporioides* complexo ($1,2 \times 10^3$), Hifa estéril ($1,0 \times 10^2$), Morfotipo 3 ($1,0 \times 10^2$), Morfotipo 4 ($1,0 \times 10^3$), *P. paxilli* ($1,2 \times 10^3$), *P. glabrun* ($1,2 \times 10^2$), *Alternaria* sp ($1,0 \times 10^2$), *A. niger* ($1,0 \times 10^2$), *A. sp* 2 ($3,0 \times 10^2$), *A. carbonarius* ($3,0 \times 10^2$), *P. solitum* ($1,0 \times 10^2$), *P. seção citrina* ($1,0 \times 10^2$), *P. brevicompactum* ($5,5 \times 10^3$), na amostra Sauvignon blanc foram identificados 23 isolados com uma população média de $3,4 \times 10^3$ UFC/g tendo como representantes *Cladosporium cladosporioides* complexo ($4,3 \times 10^2$), Hifa estéril ($1,0 \times 10^2$), *A. niger* ($1,8 \times 10^3$), *A. sp*3 ($3,0 \times 10^2$), *P. seção citrina* ($1,0 \times 10^3$), *P. aurantiogriseum* ($1,0 \times 10^3$), *Talaromyces* sp ($3,0 \times 10^3$), *P. implicatum* ($3,3 \times 10^3$) (Gráfico 1).

Dentre os fungos filamentosos identificados os que apresentaram a maior população nas uvas foi *Cladosporium cladosporioides* complexo ($5,3 \times 10^3$) e ($4,0 \times 10^3$) na variedade Syrah 1 e Syrah 2 respectivamente, *P. brevicompactum* ($5,5 \times 10^3$) na Cabernet sauvignon e *P. implicatum* ($3,3 \times 10^3$) na Sauvignon blanc.

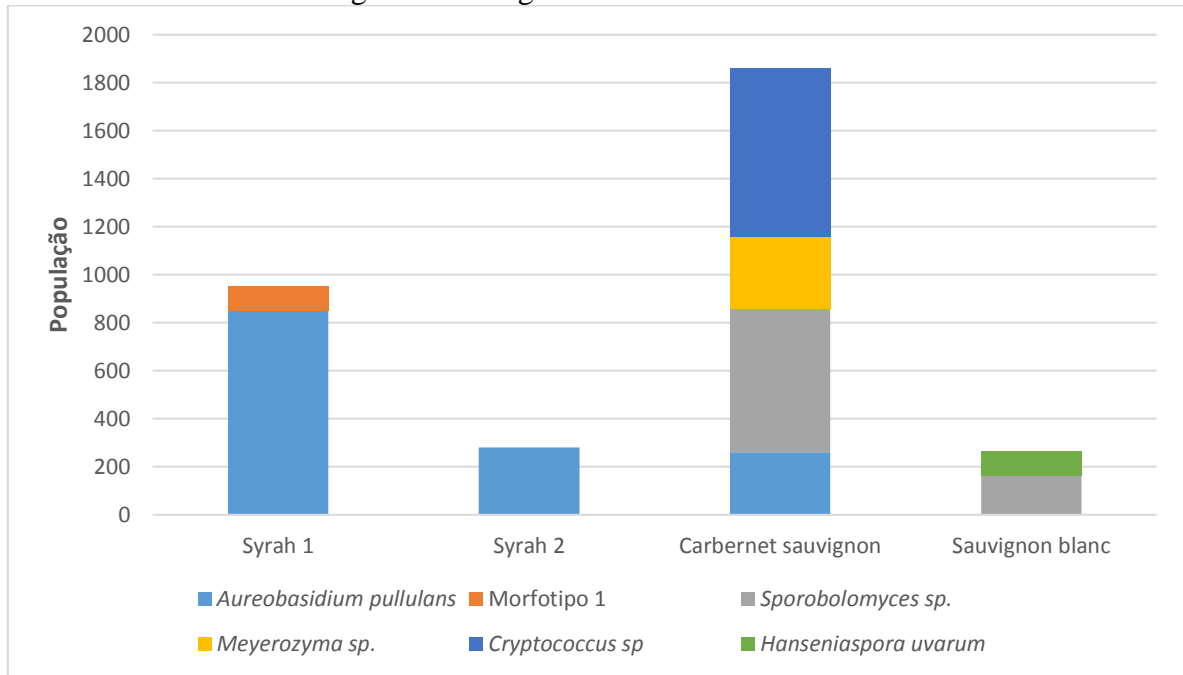
Gráfico 1 - Diversidade de fungo filamentosos nas amostras de uva das variedades Syrah 1 e Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.



Fonte: Da autora (2021).

Na amostra de uva variedade Syrah 1 foram identificadas 36 leveduras apresentando uma população média de $4,5 \times 10^2$ UFC/g, sendo elas *Aureobasidium pullulans* ($8,5 \times 10^2$) e Morfotipo 1 ($1,0 \times 10^2$), na Syrah 2 foram identificadas 31 leveduras com uma população de $2,8 \times 10^2$ sendo representado apenas por *Aureobasidium pullulans*. Na variedade Cabernet sauvignon foram identificadas 38 leveduras apresentando uma população média de ($8,5 \times 10^2$) sendo elas *Aureobasidium pulullans* ($2,6 \times 10^2$), *Sporobolomyces sp* ($6,0 \times 10^2$), *Cryptococcus sp* ($7,0 \times 10^2$) e na variedade Sauvignon blanc foram identificadas 13 leveduras com uma população ($1,3 \times 10^2$) sendo *Sporobolomyces sp* ($1,6 \times 10^2$), *Hanseniaspora uvarum* ($1,0 \times 10^2$) (Gráfico 2).

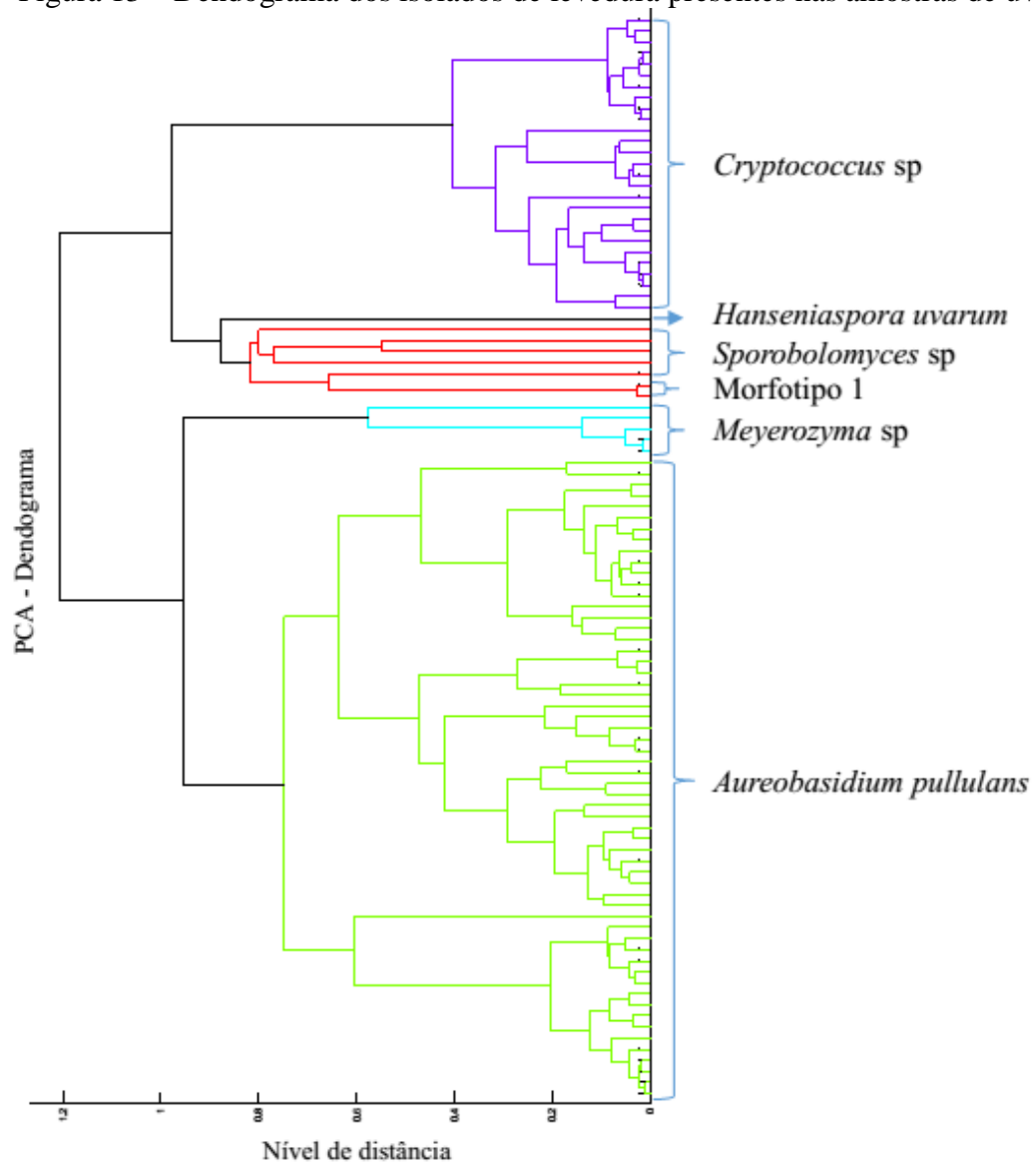
Gráfico 2 – Diversidade de leveduras nas amostras de uva das variedades Syrah 1 e Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.



Fonte: Da autora (2021).

Os resultados da identificação das leveduras através do MALDI-TOF estão apresentados na Figura 13, onde esse agrupamento foi feito pela comparação do perfil proteico de cada isolado com o banco de dados, sendo que apenas 1 grupo não foi identificado o qual foi caracterizado como Morfotipo 1. Dentre os isolados identificados *Aureobasidium pullulans* ($8,5 \times 10^2$) apresentaram a maior população na variedade Syrah 1, *Aureobasidium pullulans* ($2,8 \times 10^2$) na Syrah 2, *Sporobolomyces sp* ($6,0 \times 10^2$) na Cabernet sauvignon e *Sporobolomyces sp* ($1,6 \times 10^2$), na Sauvignon blanc.

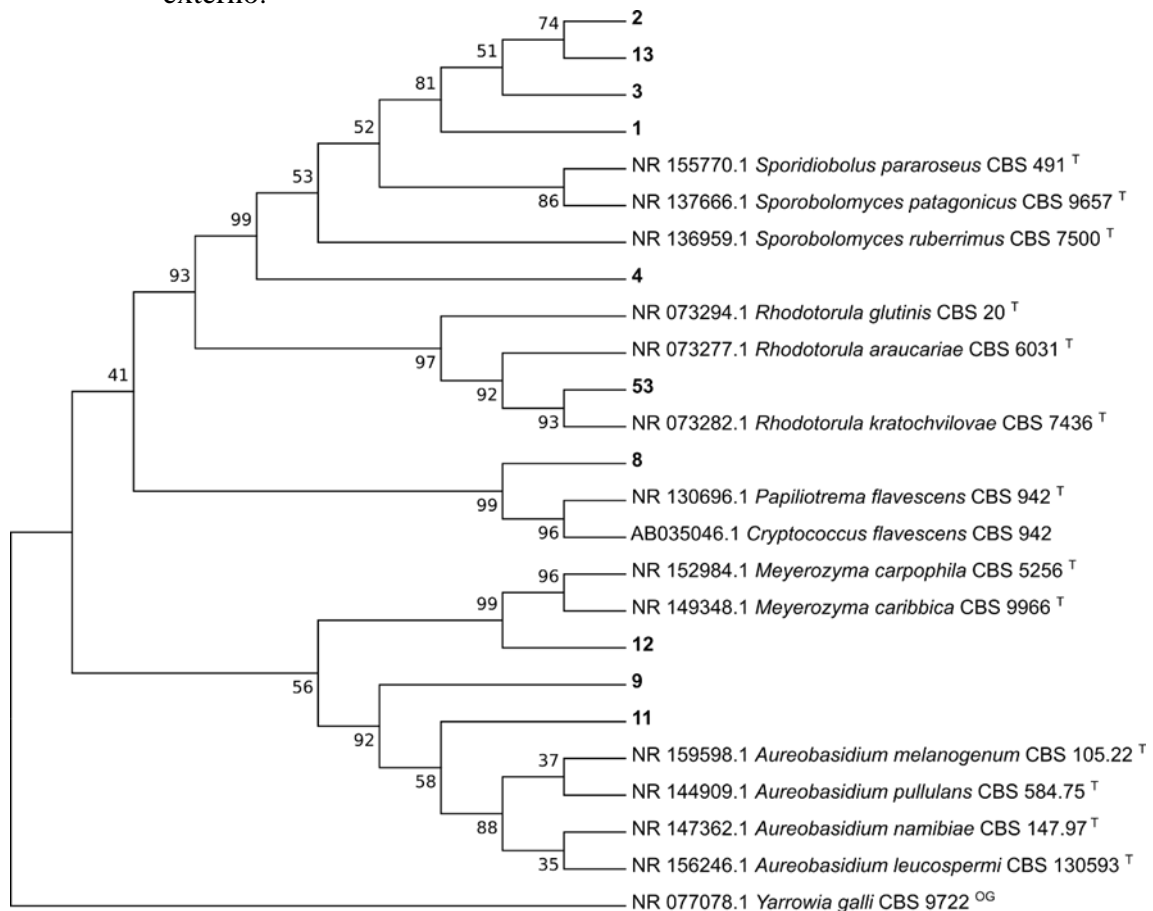
Figura 13 – Dendograma dos isolados de levedura presentes nas amostras de uva.



Fonte: Da autora (2021).

A identificação das leveduras foi confirmada através da identificação molecular de representantes enviados para sequenciamento, o qual foram selecionados previamente com o auxílio do agrupamento do perfil proteico realizado pelo MALDI-TOF. A partir do alinhamento das seqüências do gene foi criada uma árvore filogenética para obter a identificação (Figura 14).

Figura 14 - Árvore filogenética de máxima verossimilhança inferida a partir do alinhamento das sequências do gene ITS para os fungos (em negrito) isolados de meio DRBC e YEPG. O melhor modelo para a substituição de nucleotídeos selecionado pelo MEGA 6.06 foi o Tamura 3-parameter (T92+G+I). T - sequência tipo; OG – grupo externo.

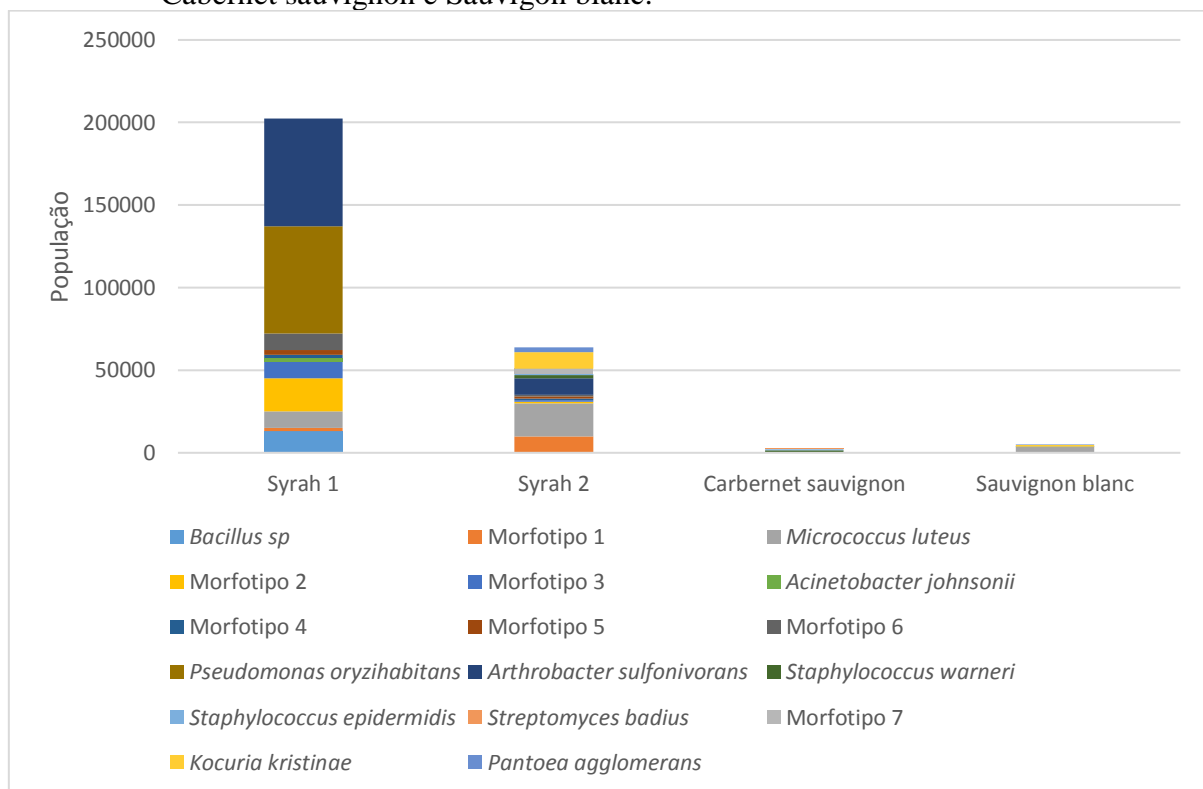


Fonte: Da autora (2021).

Na amostra de uva variedade Syrah 1 foram identificadas um total de 36 bactérias o que representa uma população média de $6,5 \times 10^4$ UFC/g, sendo *Bacillus* sp ($1,3 \times 10^4$), Morfotipo 1 ($2,0 \times 10^3$), *Micrococcus luteus* ($1,0 \times 10^4$), Morfotipo 2 ($2,0 \times 10^4$), Morfotipo 3 ($1,0 \times 10^4$), *Acinetobacter johnsonii* ($2,3 \times 10^3$), Morfotipo 4 ($2,0 \times 10^3$), Morfotipo 5 ($3,0 \times 10^3$), Morfotipo 6 ($1,0 \times 10^4$), *Pseudomonas oryzihabitans* ($6,5 \times 10^4$), *Arthrobacter sulfonivorans* ($6,5 \times 10^4$), na variedade Syrah 2 foram identificados 35 isolados, com uma população média de $1,5 \times 10^4$ UFC/g tendo como representantes Morfotipo 1 ($2,0 \times 10^4$), *Micrococcus luteus* ($2,0 \times 10^4$), Morfotipo 2 ($1,0 \times 10^3$), Morfotipo 3 ($1,0 \times 10^3$), Morfotipo 4 ($1,0 \times 10^3$), Morfotipo 5 ($1,0 \times 10^3$), Morfotipo 6 ($1,0 \times 10^3$), *Arthrobacter sulfonivorans* ($1,0 \times 10^4$), *Staphylococcus warneri* ($2,0 \times 10^3$), *Staphylococcus epidermidis* ($8,6 \times 10^2$), Morfotipo 7 ($3,0 \times 10^3$), *Kocuria kristinae* ($1,0 \times 10^4$), *Pantoea agglomerans* ($3,0 \times 10^3$) (Gráfico 3).

Na variedade Cabernet sauvignon foram identificados 32 isolados que representam uma população média de $2,3 \times 10^3$ UFC/g sendo *Staphylococcus warneri* ($1,4 \times 10^3$), *Staphylococcus epidermidis* ($6,6 \times 10^2$), *Streptomyces badicus* ($3,0 \times 10^2$), na amostra Sauvignon blanc foram identificados 26 isolados com uma população média de $1,6 \times 10^3$ UFC/g tendo como representantes *Micrococcus luteus* ($1,0 \times 10^3$), *Pseudomonas oryzihabitans* ($3,6 \times 10^2$), *Staphylococcus epidermidis* ($1,7 \times 10^2$), *Kocuria kristinae* ($1,0 \times 10^3$), *Pantoea agglomerans* ($1,0 \times 10^2$) (Gráfico 3).

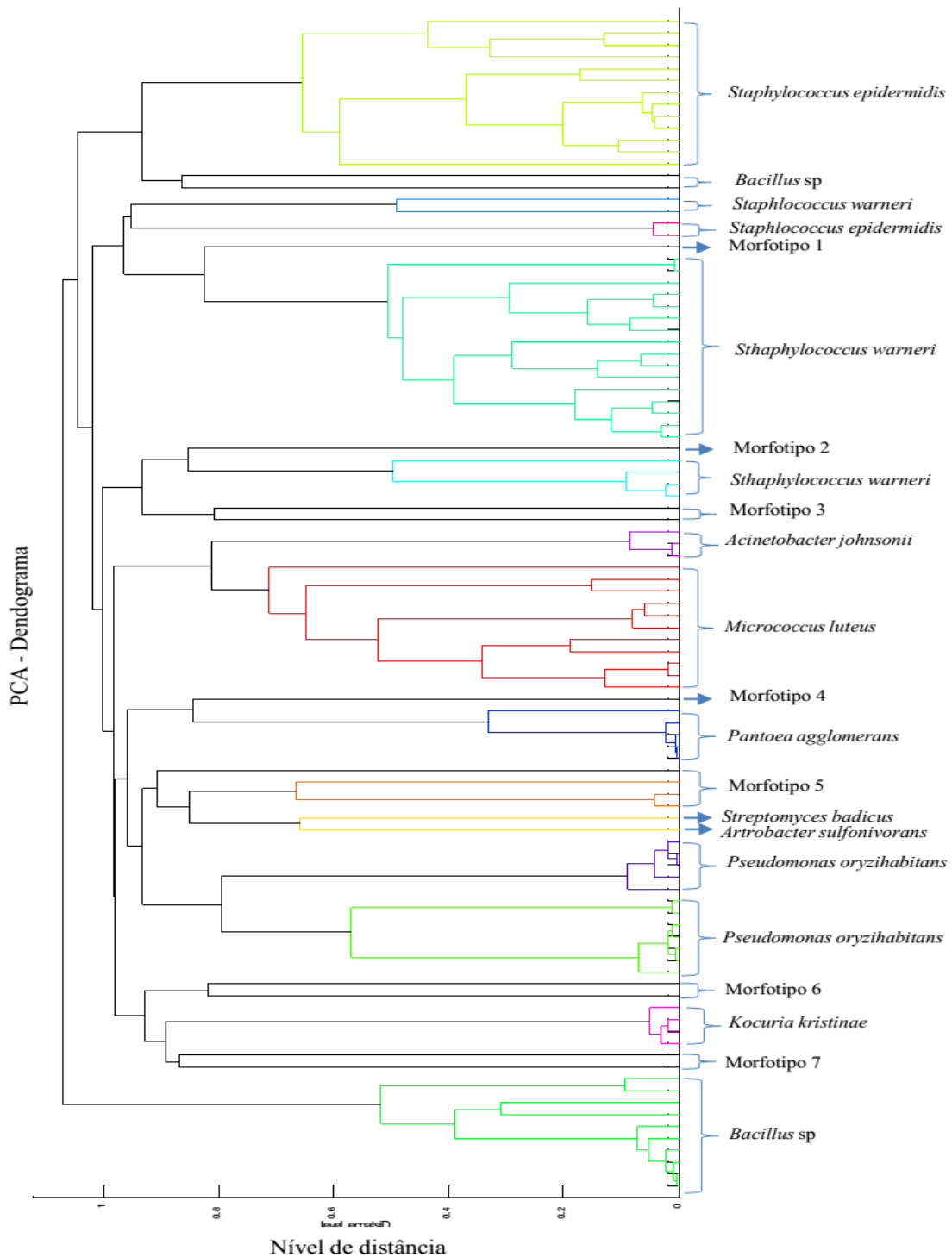
Gráfico 3 - Diversidade de bactérias totais nas amostras de uva variedade Syrah 1 e Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.



Fonte: Da autora (2021).

Os resultados da identificação das bactérias através do MALDI-TOF estão apresentados na Figura 15, onde esse agrupamento foi feito pela comparação do perfil proteico de cada isolado com o banco de dados sendo que 7 grupos não foram identificados o qual foram caracterizados como Morfotipo 1, Morfotipo 2, Morfotipo 3, Morfotipo 4, Morfotipo 5, Morfotipo 6 e Morfotipo 7. Dentre os isolados identificados *Pseudomonas oryzihabitans* ($6,5 \times 10^4$) e *Arthrobacter sulfonivorans* ($6,5 \times 10^4$) apresentaram a maior população na variedade Syrah 1, *Micrococcus luteus* ($2,0 \times 10^4$) na Syrah 2, *Staphylococcus warneri* ($1,4 \times 10^3$) na Cabernet sauvignon e *Micrococcus luteus* ($1,0 \times 10^3$) na Sauvignon blanc.

Figura 15 – Dendograma dos isolados de bactérias totais presentes nas amostras de uva.



Fonte: Da autora (2021).

Foi avaliado a presença de bactérias acéticas e lácticas nas amostras de uva, sendo que as bactérias lácticas apresentaram uma população $<10\text{UFC/g}$ em todas as variedades de uva e as bactérias acéticas tiveram uma resposta semelhante onde na variedade Syrah 1 não houve

crescimento, na Syrah 2 teve a presença de *Citrobacter feunfii* (10 UFC/g est), *Enterobacter cloacae* (20UFC/g), na Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc (<10UFC/g).

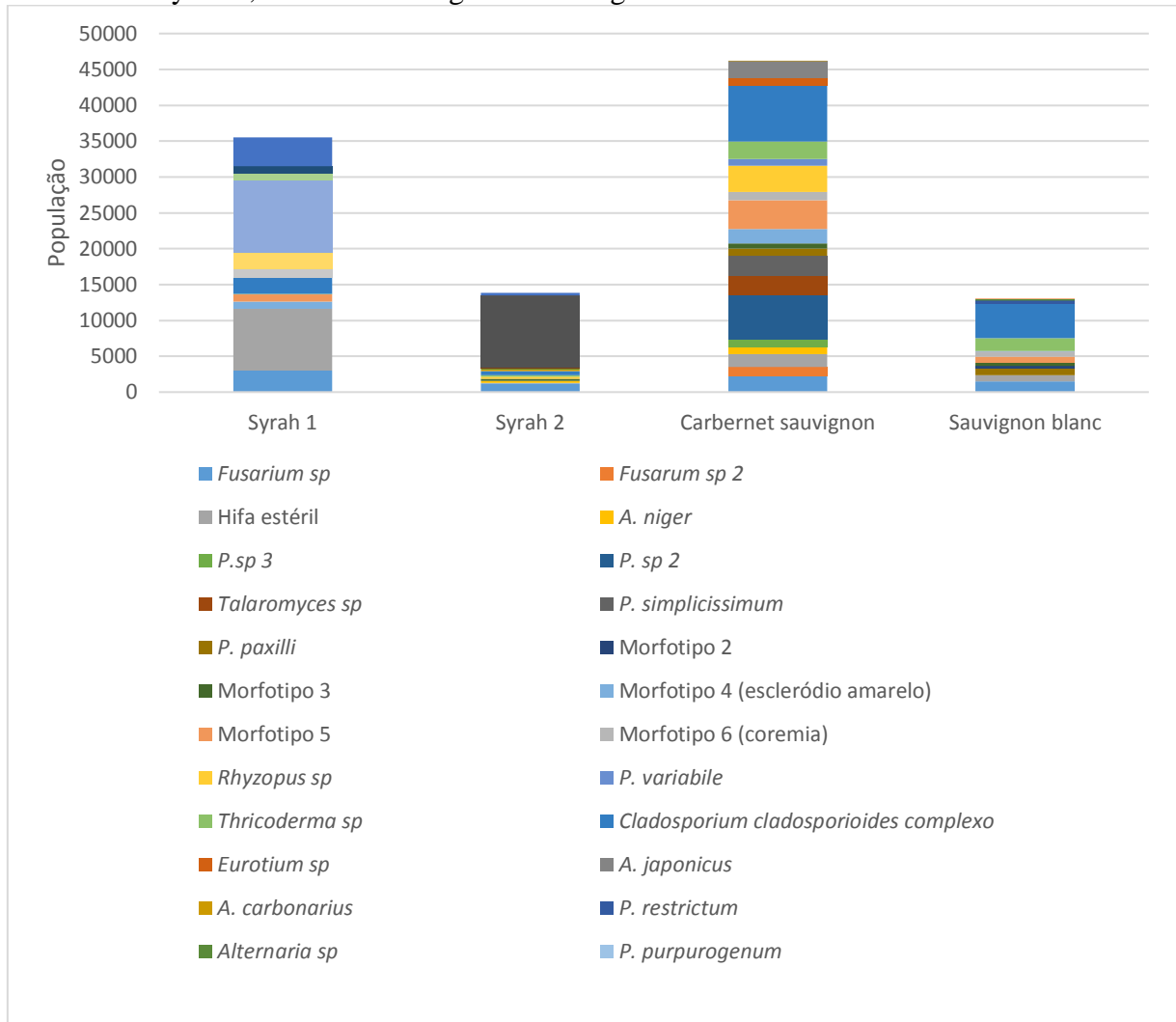
4.2 Diversidade de Fungos filamentosos, leveduras e bactérias do solo

Na amostra de solo da variedade Syrah 1 foram identificados um total de 125 fungos filamentosos o que representa uma população média de $1,0 \times 10^4$ UFC/g, sendo eles: *Fusarium* sp ($3,0 \times 10^3$), Hifa estéril ($8,6 \times 10^3$), *Penicillium* sp ($4,0 \times 10^3$), Morfotipo 4 ($1,0 \times 10^3$), Morfotipo 5 ($1,0 \times 10^3$), *Thricoderma* sp ($1,0 \times 10^2$), *Cladosporium cladosporioides* complexo ($2,2 \times 10^3$), *P. seção citrina* ($1,3 \times 10^3$), *P. implicatum* ($2,3 \times 10^3$), *P. brevicompactum* ($1,0 \times 10^4$), *A. niger* ($1,0 \times 10^3$), *Acremonium* sp ($1,0 \times 10^3$), na amostra Syrah 2 foram identificados 88 isolados, com uma população média de $5,2 \times 10^3$ UFC/g tendo como representantes *Cladosporium cladosporioides* complexo ($5,6 \times 10^2$), *Fusarium* sp ($1,2 \times 10^3$), Hifa estéril ($1,0 \times 10^2$), *A. niger* ($2,5 \times 10^2$), *P. sp* ($4,0 \times 10^2$), Morfotipo 3 ($3,0 \times 10^2$), *Rhizopus* sp ($3,0 \times 10^2$), *Thricoderma* sp ($2,3 \times 10^2$), *A. carbonarius* ($2,2 \times 10^2$), *Alternaria* sp ($1,0 \times 10^2$), *A. sp* ($2,0 \times 10^2$), *A. ochraceus* ($1,0 \times 10^4$) (Gráfico 4).

Na variedade Cabernet sauvignon foram identificados 119 isolados que representam uma população média de $4,6 \times 10^3$ UFC/g sendo eles *Fusarium* sp ($2,2 \times 10^3$), *Fusarium* sp2 ($1,3 \times 10^3$), Hifa estéril ($1,8 \times 10^3$), *A. niger* ($9,9 \times 10^2$), *P. sp3* ($1,0 \times 10^3$), *P. sp2* ($6,2 \times 10^3$), *Talaromyces* sp ($2,7 \times 10^3$), *P. simplicissimum* ($2,8 \times 10^3$), *P. paxilli* ($1,0 \times 10^3$), Morfotipo 3 ($7,5 \times 10^2$), Morfotipo 4 ($2,0 \times 10^3$), Morfotipo 5 ($4,0 \times 10^3$), Morfotipo 6 ($1,2 \times 10^3$), *Rhizopus* sp ($3,6 \times 10^3$), *P. varibile* ($1,0 \times 10^3$), *Thrycoderma* sp ($2,4 \times 10^3$), *Cladosporium cladosporioides* complexo ($7,8 \times 10^3$), *Eurotium* sp ($1,0 \times 10^3$), *A. japonicus* ($2,4 \times 10^3$), *A. carbonarius* ($1,2 \times 10^2$), na amostra Sauvignon blanc foram identificados 94 isolados com uma população média de $1,3 \times 10^4$ UFC/g tendo como representantes *Fuasrium* sp ($1,5 \times 10^3$), Hifa estéril ($8,3 \times 10^2$), *P. paxilli* ($1,0 \times 10^3$), Morfotipo 2 ($3,5 \times 10^2$), Morfotipo 3 ($4,2 \times 10^2$), Morfotipo 3 ($4,2 \times 10^2$), Morfotipo 5 ($8,3 \times 10^2$), Morfotipo 6 ($7,0 \times 10^2$), *P. variabile* ($1,0 \times 10^2$), *Thrycoderma* sp ($1,8 \times 10^3$), *Cladosporium cladosporioides* complexo ($4,8 \times 10^3$), *P. restrictum* ($4,0 \times 10^2$), *Alternaria* sp ($2,0 \times 10^2$), *P. purpurogenum* ($1,0 \times 10^2$), *P. pinophilum* ($1,0 \times 10^2$) (Gráfico 4).

Dentre os fungos filamentosos identificados nas amostras de solo que apresentaram a maior população nas uvas foi *P. brevicompactum* ($1,0 \times 10^4$) na variedade Syrah 1, *Fusarium* sp ($1,2 \times 10^3$) na Syrah 2, *Cladosporium cladosporioides* complexo ($7,8 \times 10^3$) e ($4,8 \times 10^3$) na Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc respectivamente.

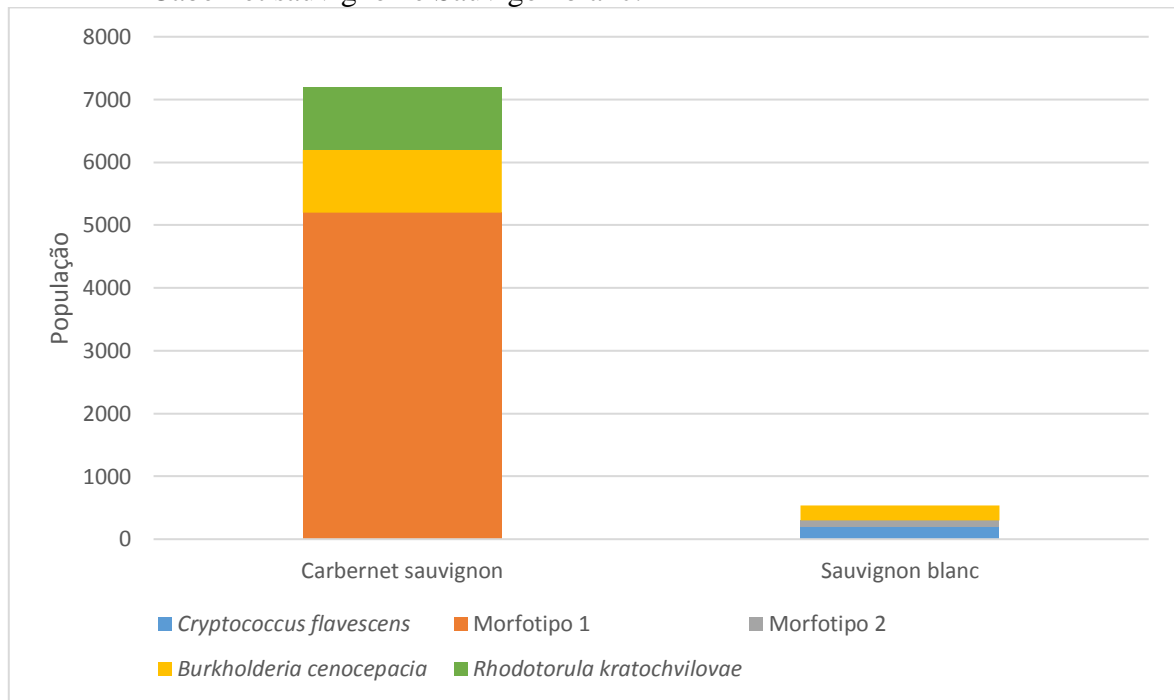
Gráfico 4 - Diversidade de fungos filamentosos nas amostras de solo das variedades Syrah 1 e Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.



Fonte: Da autora (2021).

Na amostra de solo da variedade Syrah 1 e Syrah 2 não houve crescimento de leveduras. Na variedade Cabernet sauvignon foram identificadas 26 leveduras apresentando uma população média de $(2,3 \times 10^3)$ sendo elas *Burkholderia cenocepacia* ($1,0 \times 10^3$), *Burkholderia cenocepacia* ($1,0 \times 10^3$), Morfotipo 1 ($5,2 \times 10^3$) e na variedade Sauvignon blanc foram identificadas 4 leveduras com uma população $(2,3 \times 10^2)$ sendo *Sporobolomyces sp* ($1,6 \times 10^2$), *Hanseniaspora uvarum* ($1,0 \times 10^2$) (Gráfico 5).

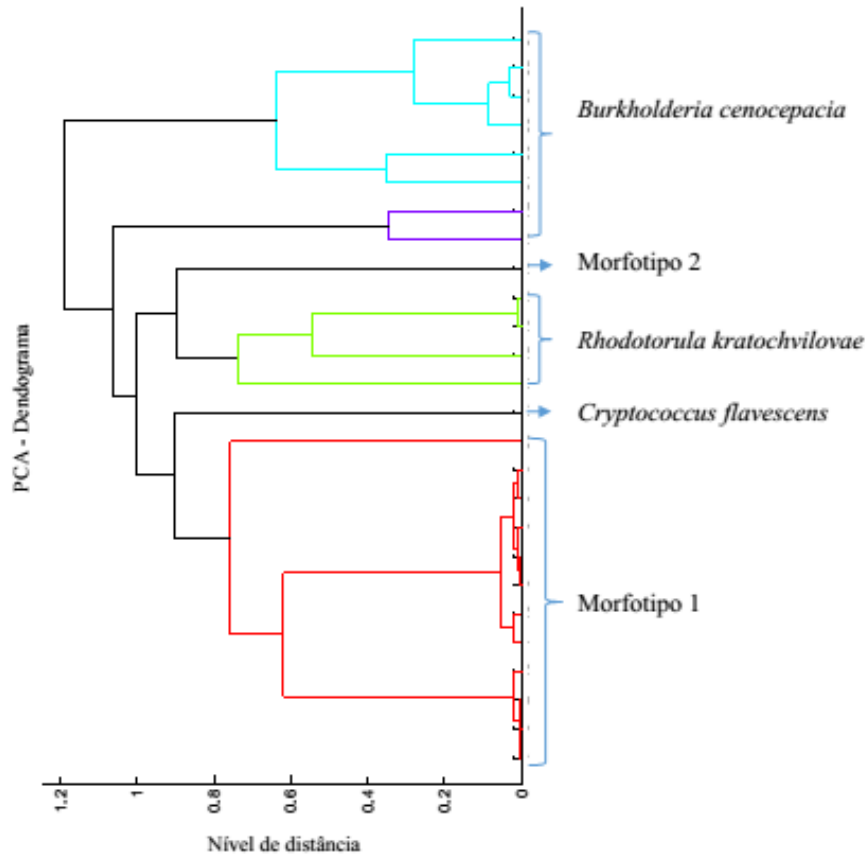
Gráfico 5 – Diversidade de leveduras nas amostras de solo das variedades Syrah 1 e Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.



Fonte: Da autora (2021).

Os resultados da identificação das leveduras isoladas do solo através da técnica de MALDI-TOF estão apresentados na Figura 16, onde esse agrupamento foi feito pela comparação do perfil proteico de cada isolado com o banco de dados, sendo que 2 grupos não foram identificados o qual foi caracterizado como Morfotipo 1 e Morfotipo 2. Dentre os isolados identificados apenas a variedade Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc apresentaram crescimento sendo seus representantes com maior população Morfotipo 1 ($5,2 \times 10^3$) e *Burkholderia cenocepacia* ($2,3 \times 10^2$) respectivamente.

Figura 16 - Dendograma dos isolados de leveduras das amostras de solo.



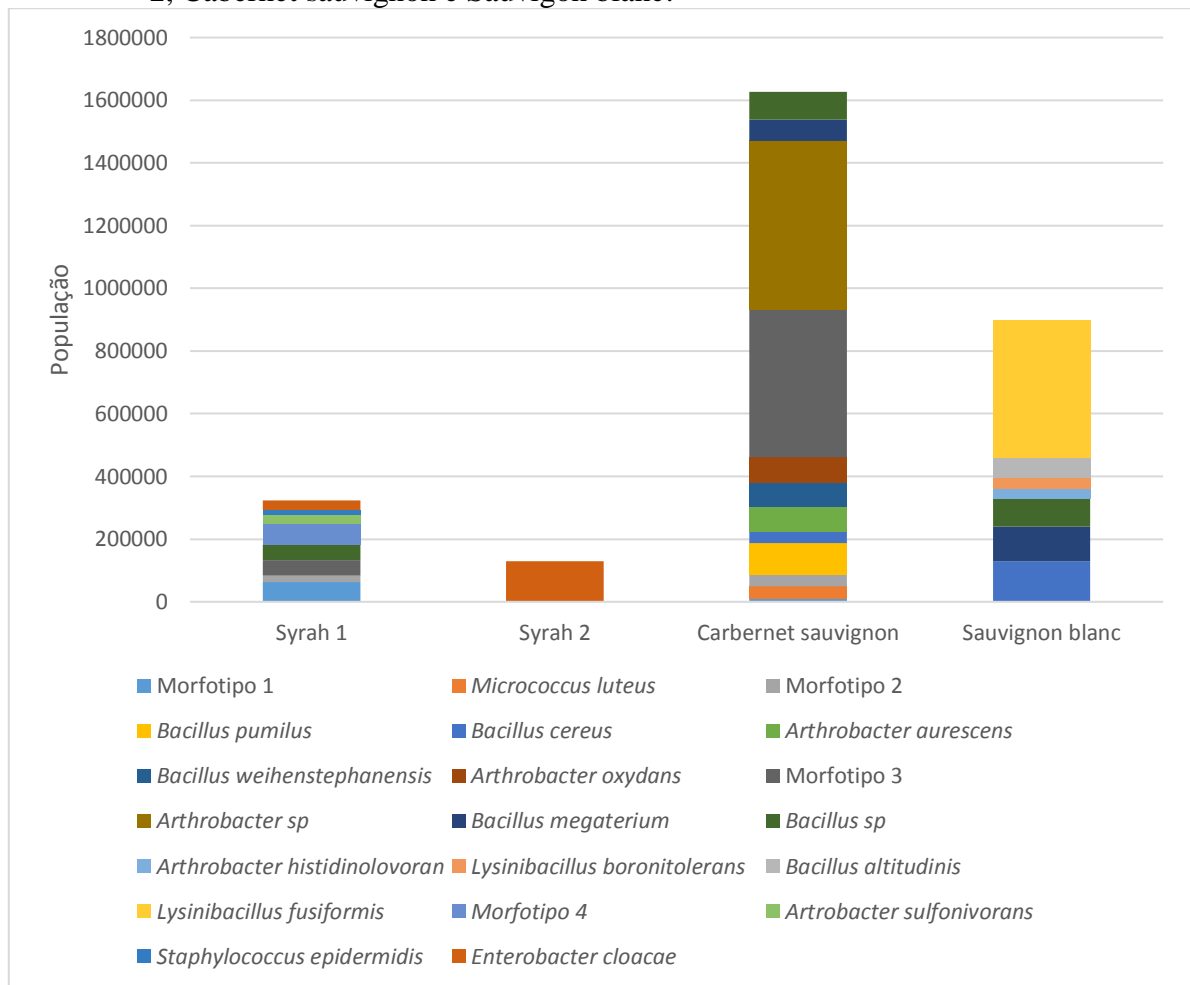
Fonte: Da autora (2021).

Na amostra de solo variedade Syrah 1 foram identificadas um total de 63 bactérias o que representa uma população média de $3,1 \times 10^5$ UFC/g, sendo Morfotipo 1 ($6,3 \times 10^4$), Morfotipo 2 ($2,0 \times 10^4$), Morfotipo 3 ($5,0 \times 10^4$), *Bacillus* sp ($5,0 \times 10^4$), Morfotipo 4 ($6,5 \times 10^4$), *Arthrobacter sulfonivorans* ($3,0 \times 10^4$), *Staphylococcus epidermidis* ($1,5 \times 10^4$), *Enterobacter cloacae* ($3,0 \times 10^4$), na variedade Syrah 2 foram identificados 79 isolados, com uma população média de $1,3 \times 10^5$ UFC/g tendo como representantes uma única espécie classificada como *Enterobacter cloacae* (Gráfico 6).

Na variedade Carbernet sauvignon foram identificados 52 isolados que representam uma população média de $1,6 \times 10^6$ UFC/g sendo Morfotipo 1 ($1,0 \times 10^4$), *Micrococcus luteus* ($4,0 \times 10^4$), Morfotipo 2 ($3,6 \times 10^4$), *Bacillus pumillus* ($1,0 \times 10^5$), *Bacillus cereus* ($3,7 \times 10^4$), *Arthrobacter aurescens* ($7,9 \times 10^4$), *Bacillus weihenstephanensis* ($7,9 \times 10^4$), *Arthrobacter oxidans* ($7,9 \times 10^4$), Morfotipo 3 ($4,7 \times 10^5$), *Arthrobacter* sp ($5,4 \times 10^5$), *Bacillus megaterium* ($6,7 \times 10^4$), *Bacillus* sp ($8,9 \times 10^4$), na amostra Sauvignon blanc foram identificados 43 isolados com uma população média de $8,9 \times 10^5$ UFC/g tendo como representantes *Bacillus cereus*

($1,3 \times 10^5$), *Bacillus megaterium* ($1,1 \times 10^5$), *Bacillus sp* ($9,0 \times 10^4$), *Arthrobacter histidinolovorana* ($3,0 \times 10^4$), *Lysinibacillus boronitolerans* ($3,7 \times 10^4$), *Bacillus altitudinis* ($6,0 \times 10^4$), *Lysinibacillus fusiformis* ($4,4 \times 10^5$) (Gráfico 6).

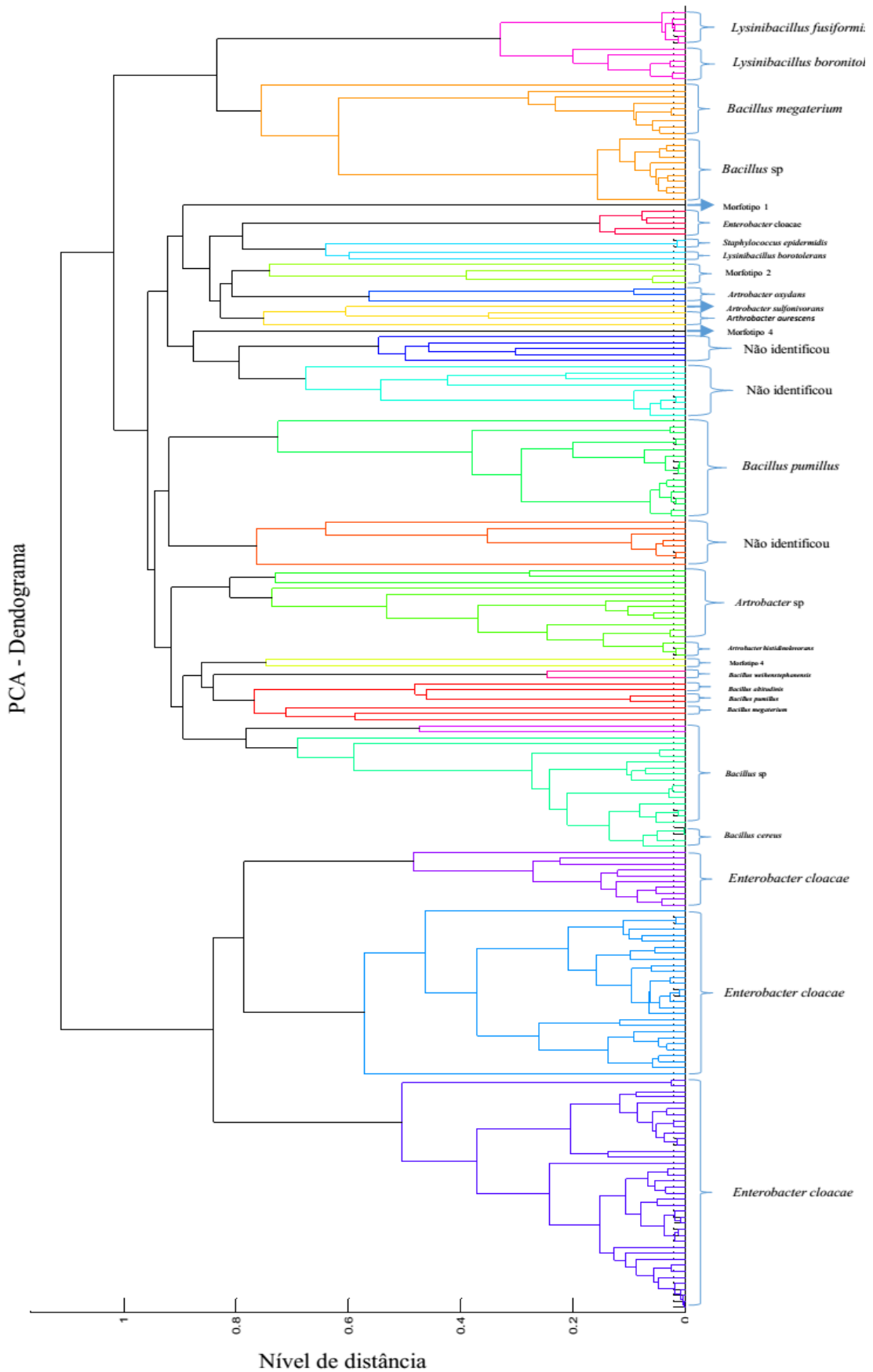
Gráfico 6 - Diversidade de bactérias totais nas amostras de solo das variedades Syrah 1 e Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.



Fonte: Da autora (2021).

Os resultados da identificação das bactérias através do MALDI-TOF estão apresentados na Figura 17, onde esse agrupamento foi feito pela comparação do perfil proteico de cada isolado com o banco de dados sendo que 4 grupos não foram identificados o qual foram caracterizados como Morfotipo 1, Morfotipo 2, Morfotipo 3, Morfotipo 4. Dentre os isolados identificados Morfotipo 4 ($6,5 \times 10^4$) apresentaram a maior população na variedade Syrah 1, *Enterobacter cloacae* ($1,5 \times 10^5$) na Syrah 2, *Arthrobacter sp* ($5,4 \times 10^5$) na Cabernet sauvignon e *Lysinibacillus fusiformis* ($4,4 \times 10^5$) na Sauvignon blanc.

Figura 17 - Dendograma dos isolados de bactérias totais nas amostras de solo.



Fonte: Da autora (2021).

Foi avaliado a presença de bactérias acéticas e lácticas nas amostras de solo das variedades de uva, sendo que as bactérias lácticas apresentaram uma população <10UFC/g em todas as variedades de uva e as bactérias acéticas tiveram uma resposta semelhante com uma população <10UFC/g de solo em todas as amostras.

4.3 Análise de componentes principais (PCA) das uvas Syrah 1, Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc

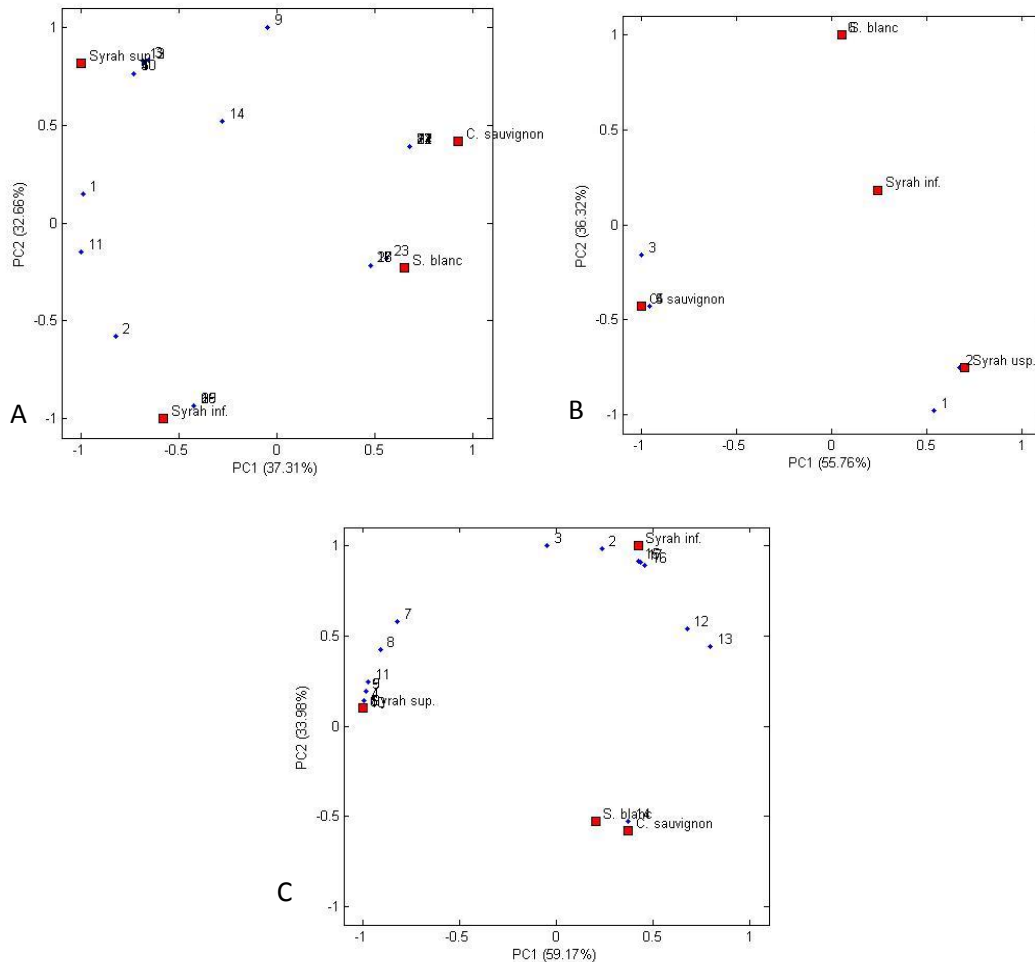
A Análise de Componentes Principais (PCA) teve como objetivo ter um panorama geral dos isolados de fungos filamentosos, leveduras e bactérias e da distribuição desses isolados nas variedades de uva Syrah1, Syrah2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc, além da influência dos componentes físico-químicos do solo das videiras na contaminação por esses microrganismos.

A Figura 18A descreve a ocorrência de fungos filamentosos isolados das uvas das 4 variedades e se houve uma ocorrência expressiva de algum grupo de fungo que fosse específico para uma variedade. Pode-se observar que a Syrah 1 teve uma maior predominância de *A. ochraceus* (10), seguido de Hifa estéril (3) *P. spinulosum* (4), *P. paxilli* (9), *P. glabrum* (12), *Alternaria* sp (13) a Syrah 2 uma maior expressão o complexo *Aspergillus japonicus* (2), *A. niger* agregado (19), e *P. citrinum* (20), seguido do Morfotipo 2 (6), *A. flavus* (15), *A. sp* (16), a Cabernet sauvignon obteve maior ocorrência do *P. brevicompactum* (24), Morfotipo 3 (7), Morfotipo 4 (8) e Sauvignon blanc obteve maior ocorrência *Talaromyces* sp (26) e *P. implicatum* (27). Os demais isolados apresentaram comportamento semelhante não tendo diferença significativa.

Na Figura 18B descreve a expressividade das leveduras encontradas nas variedades de uva sendo a Syrah 1 com *Aureobasidium pullulans* (1), seguido do Morfotipo 1 (2), já a Syrah 2 não apresentou diferença significativa com os demais isolados, a Cabernet sauvignon teve uma melhor expressividade *Cryptococcus* sp (5), seguido de *Sporobolomyces* sp (3) e a Sauvignon blanc com a *Hanseniaspora uvarum* (6).

Em relação a figura 18C descreve a ocorrência de bactéria nas variedades de uva sendo a Syrah 1 teve a *Pseudomonas oryzihabitans* (10), *Arthrobacter sulfonivorans* (11), seguido de Morfotipo 2 (4), Morfotipo 5 (8) e Morfotipo (4), a Syrah 2 teve Morfotipo 1 (2) seguido de *Micrococcus luteus* (3) *Staphylococcus warneri* (12), *Staphylococcus epidermidis* (13), na Cabernet sauvignon foi *Streptomyces badius* (14), já na Sauvignon blanc não teve diferença entre as demais uvas.

Figura 18 - Análise de Componente Principal da diversidade de fungos filamentosos, leveduras e bactérias isolados das uvas Syrah 1, Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc da região mogiana de São Paulo.



A. Fungos filamentosos das uvas; **B.** Leveduras presente nas uvas; **C.** Bactérias totais nas uvas.
Fonte: Da autora (2021).

A Figura 19A descreve a ocorrência de fungos filamentosos isolados do solo das 4 variedades de uva e se houve uma ocorrência expressiva de algum grupo de fungo que fosse específico de cada tipo de solo. Pode-se observar que o solo da Syrah 1 teve uma maior predominância de Hifa estéril (3) *P. sp* (4), *Fusarium sp* (1), da Syrah 2 uma maior expressão o *A. ochraceus* (33) e *A. carbonarius* (22), da Cabernet sauvignon obteve maior ocorrência do *Cladosporium cladosporioides* complexo (19), Morfotipo 5 (14), *Thricoderma sp* (18), *P. variable* (17) e do solo da Sauvignon blanc obteve maior expressividade *P. restrictum* (23) e *Alternaria sp* (24). Os demais isolados apresentaram comportamento semelhante não tendo diferença significativa.

Na Figura 19B descreve a expressividade das leveduras encontradas nas amostras de solo, sendo o solo da uva Syrah 1 e Syrah 2 apresentando comportamento semelhante, já o solo

da variedade Cabernet sauvignon teve uma maior relação do Morfotipo 1 (1) e *Rhodotorula kratochvilovae* (3), e a Sauvignon blanc com a *Burkholderia cenocepacia* (6).

Em relação a figura 19C descreve a ocorrência de bactéria nas amostras de solo sendo assim o solo da Syrah 1 teve o Morfotipo 1 (1), *Staphylococcus epidermidis* (21), a Syrah 2 não apresentou correlação significativa. O solo da variedade Cabernet sauvignon foi Morfotipo 2 (3) e Morfotipo 3 (9) e mantendo a correlação no solo da Sauvignon blanc apresentando uma maior incidência de *Bacillus cereus* (5) e *Bacillus megaterium* (12).

Os componentes físico químicos (Figura 19D) que apresentaram uma maior expressividade no solo da variedade Syrah 1 foram Potássio “K” e Magnésio “Mg” com concentrações elevadas já no solo da Syrah 2 o Enxofre “S” e Ferro “Fe” apresentaram níveis mais baixos que as demais variedades. No solo da variedade Cabernet sauvignon teve o Zinco “Zn”, Fósforo “P” e Cobre “Cu” em níveis mais altos, o que não foi observado nos outros tipos de solo. O solo da variedade Sauvignon blanc apresentou o Manganês “Mn” com maior expressividade, uma vez que sua concentração foi o dobro quando comparado com as demais amostras de solo.

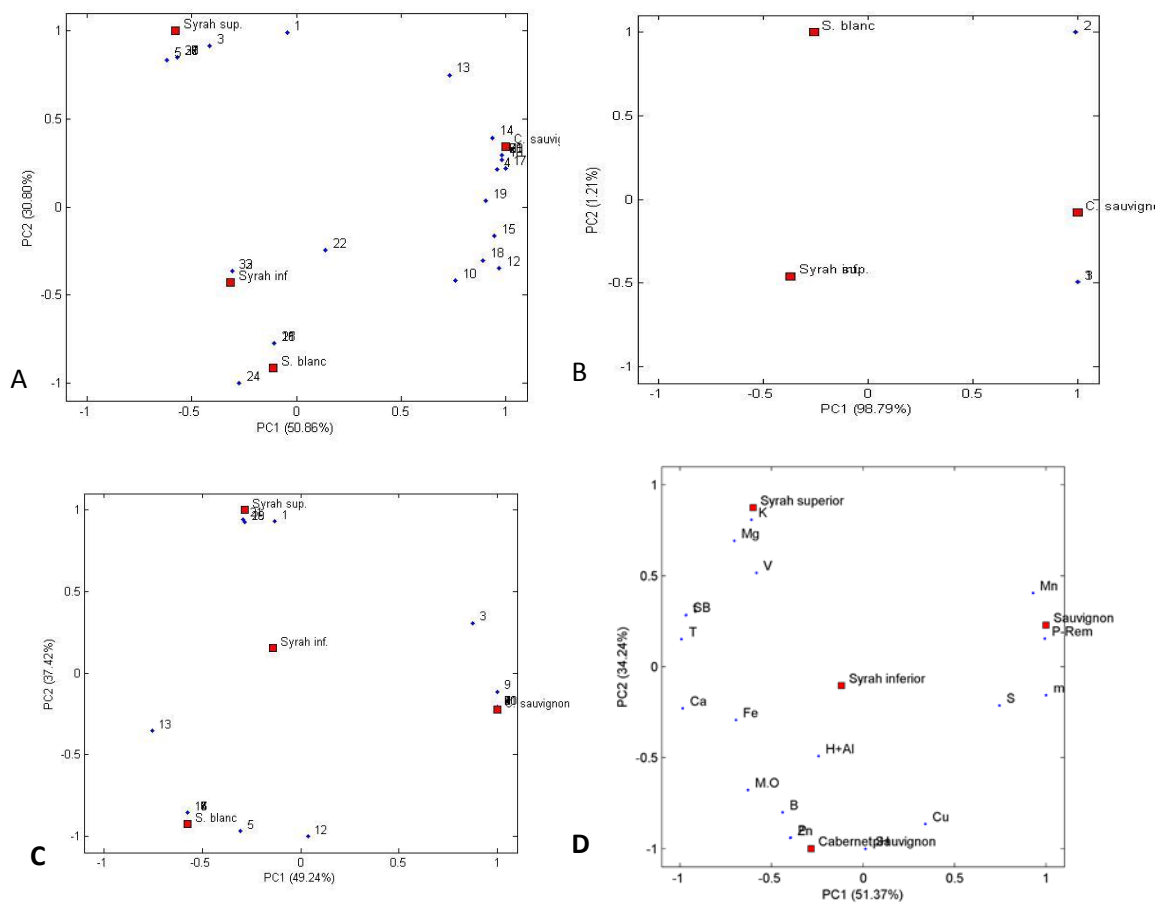
A presença de Hifa estéril (3), *P. sp* (4), *Fusarium sp* (1) em grande incidência na Syrah 1, pode ser justificado pela maior concentração de Potássio e Magnésio, onde apresenta maiores níveis quando comparado com os outros solos. As leveduras apresentaram comportamento semelhante, não ocorrendo expressividade significativa. As bactérias tiveram como representante o Morfotipo 1 (1) com uma alta incidência e *Staphylococcus epidermidis* (21) não sendo encontrado nos demais solos.

A presença de Enxofre e Ferro em concentrações menores no solo da Syrah 2 em conjunto pode ter sido um fator preponderante para o aparecimento da incidência elevada de *A. ochraceus* (33) e *A. carbonarius* (22) o que não é observado nos demais tipos de solo. As bactérias e leveduras apresentaram comportamento semelhante não tendo representante com expressividade significativa.

A maior ocorrência de *Cladosporium cladosporioides* complexo (19), Morfotipo 5 (14), *Thricoderma sp* (18), *P. variable* (17) no solo da Cabernet sauvignon pode estar relacionada com as maiores concentrações de Zinco “Zn”, Fósforo “P” e Cobre “Cu”, sendo que essa maior expressividade não é observada nos demais tipos de solo. Esse comportamento persiste com a presença de bactérias do Morfotipo 2 (3) e Morfotipo 3 (9). As leveduras Morfotipo 1 (1) e *Rhodotorula kratochvilovae* (3) foram unicamente presentes nessa variedade, com expressividade significativa, mostrando que sua presença pode estar ligada as concentrações de Zn, P e Cu.

A presença de níveis elevados de Manganês na variedade Sauvignon blanc pode ser um fator que favoreceu a incidência de *P. restrictum* (23) e *Alternaria* sp (24), uma vez que não foi relatado nos outros tipos de solo. As bactérias *Bacillus cereus* (5) e *Bacillus megaterium* (12) ocorreram com maior incidência, no entanto sua presença pode ter controlado a presença da levedura *Burkholderia cenocepacia* (6) estando presente em menor incidência.

Figura 19 - Análise de Componente Principal da diversidade de fungos filamentosos, leveduras e bactérias isolados do solo e sua correlação com as características físico-químicas do solo das variedades de uva Syrah 1, Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc da região mogiana de São Paulo.



A. Fungos filamentosos do solo das uvas; **B.** Leveduras presente no solo das uvas; **C.** Bactérias totais no solo das uvas; **D.** Físico-química do solo das uvas.

Fonte: Da autora (2021).

Tabela 4 - Composição físico química do solo da Syrah 1, Syrah 2, Cabernet sauvignon e Sauvignon blanc.

	Solo	pH	Macronutrientes							Micronutrientes						M.O.*
			Na	P	K	Mg	Ca	Al	H+Al	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S	
Syrah 1	Media	5,9	-	163,61	541,22	1,81	5,78	0,10	1,70	15,50	43,30	37,30	2,98	0,22	21,70	1,15
Syrah 2	Média	6,1	-	275,87	386,49	1,09	5,39	0,10	2,40	19,90	36,10	43,20	3,98	0,20	12,0	1,35
Cabernet sauvignon	Argiloso	6,5	-	376,93	253,52	1,06	5,86	0,10	2,00	24,50	45,70	22,20	7,91	0,38	39,40	1,35
Sauvignon blanc	Média	6,1	-	150,33	275,73	0,94	4,16	0,10	1,70	14,90	36,00	87,30	6,03	0,18	54,60	1,02

*Matéria orgânica

Fonte: Dados fornecidos pelo Laboratório de Análise de Fertilidade do Solo da UFLA (2020).

4.4 Avaliação do potencial toxigênico para produção de Ocratoxina A, Aflatoxina B1, B2, G1 e G2 e Citrinina

As espécies que foram identificadas e enquadradas como potencialmente toxigênicas foram testadas quanto a produção de Ocratoxina A, aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 pelo método de plug ágar, pertencentes a esse grupo estão os *Aspergillus* e a avaliação da produção de citrinina pelo método Coconut Agar, o qual pertencem a esse grupo os *Penicillium*.

Tabela 5 - Espécies potencialmente toxigênicas isoladas de uva vinífera e solo de vinhedo.

Fungos filamentosos	Syrah		Syrah		Cabernet		Sauvignon	
	1		2		sauvignon		blanc	
	Uva	Solo	Uva	Solo	Uva	Solo	Uva	Solo
<i>Aspergillus niger</i>	2	1	4	21	5	15	2	-
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i> agregado	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp seção citrina	-	32	-	-	2	-	2	-
<i>Aspergillus ochraceus</i>	2	-	-	1	-	-	-	-
<i>Penicillium citrinum</i>	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus carbonarius</i>	-	-	-	16	2	1	-	-
Total por amostra	4	33	7	38	9	16	4	-

Fonte: Da autora (2021).

Dentre os 74 isolados do gênero *Aspergillus* nenhum isolado de *Aspergillus niger*, *A. niger* agregado, *A. ochraceus* foi produtor de OTA. Todos os isolados de *A. carbonarius* foram produtores de OTA. O *A. flavus* isolado de uva da variedade Syrah 2 foi produtor de Aflatoxina B1 e B2. Os isolados pertencentes ao gênero *Penicillium*, sendo eles *P. citrinum* e *P. sp* seção citrina, nenhum foi produtor de citrinina.

5 DISCUSSÃO

A filosfera da videira (*Vitis vinifera*) abriga diversos microrganismos, incluindo leveduras, fungos filamentosos e bactérias que modulam substancialmente a saúde da videira, o crescimento e a produção de uva e vinho (BARATA et al., 2012 ; GILBERT et al., 2014). Os microrganismos associados à videira e transferidos para o mosto têm uma influência profunda na composição, sabor e qualidade do vinho (BARATA et al., 2012). Leveduras fermentativas (principalmente *Saccharomyces cerevisiae*) e bactérias do ácido láctico (LAB, predominantemente *Oenococcus oeni*) no mosto modulam o sabor e o aroma do vinho (SWIEGERS et al., 2005). O gênero *Oenococcus* raramente foi isolado de uvas no vinhedo (GARIJO et al., 2009)

Os microrganismos são distribuídos principalmente por forças físicas, como o ar e o vento (ZHU et al., 2017). A incorporação em nuvens e precipitação em ecossistemas próximos aumenta sua dispersão em longas distâncias (HAMILTON; LENTON, 1998), essas condições podem justificar a presença de diferentes grupos de microrganismos em ambientes tão próximos, fazendo com que o mosto de uvas preparado para iniciar o processo de fermentação tenha características únicas, podendo variar de uma safra para outra.

O gênero *Cladosporium* spp foi o que apresentou a maior incidência e é considerado um dos fungos responsáveis pela podridão do cacho, sendo encontrado com frequência em uvas viníferas (*Vitis vinifera* L.), a presença do grupo de *Aspergillus* (*A. japonicus*, *A. ochraceus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. carbonarius*) e *Penicillium* como (*P. spinulosum*, *P. glabrum*, *P. brevicompactum*, *P. aurantiogriseum*, são grupos de fungos comumente encontrado nas bagas e que são potencialmente danosos levando à podridão ácida, comprometendo a qualidade do vinho (GIOVANNINI; MANFROI, 2013). Além da *Alternaria* sp, algumas espécies pertencentes a esse grupo prejudica o amadurecimento dos frutos pela desfolha precoce (GARRIDO; GAVA, 2014). Wang et al., (2015) também relatou algumas espécies consideradas patógenos vegetais comuns, como *Alternaria alternate*, *Aspergillus niger*, *B. dothidea*, *Cladosporium cladosporioides* e *Cytospora sacculus*, os quais foram encontradas em baixas porcentagens.

Dentre as espécies citadas anteriormente 3 delas são consideradas potencialmente toxigênicas, sendo os isolados que apresentaram a maior incidência foram *A. niger* e *P. sp* seção citrina, no entanto nenhum foi considerado produtor. *A. carbonarius* também

apresentou sua incidência aumentada, sendo que todos os isolados foram considerados produtores. Essa diferença de fungos produtores de toxina é explicada por Batillani et al. (2003) onde a taxa de *A. niger* produtor de toxina varia de 5 a 30% mesmo em substratos que favorecem o crescimento desses fungos como uva e cereais, o contrário é relatado para *A. carbonarius* onde 90% dos fungos são produtores de toxina.

A presença *Aureobasidium pullulans*, foi a que apresentou a maior incidência assim como outras espécies pertencentes ao gênero *Aspergillus* corroborando com estudo realizado por Wang et al. (2015). No mosto das uvas do presente trabalho foi encontrado uma pequena quantidade de *Hanseniaspora uvarum*, tal comportamento é explicado por apresentar menor incidência no mosto inicial e durante a fermentação ocorra um aumento desses grupos, uma vez que a riqueza de espécies diminuiu e leveduras como *Hanseniaspora uvarum*, *Starmerella bacillaris* e *Saccharomyces cerevisiae* ocuparam sucessivamente as amostras de mosto

Bokulich et al. (2014), David et al. (2014) e Taylor et al. (2014) também evidenciaram a baixa ou ausência de *Saccharomyces* como *Hanseniaspora*, *Issatchenkia* ou *Pichia* no mosto.

Em estudo realizado por Barata et al. (2012) os fungos mais comuns *Aureobasidium pullulans* são conhecidos por terem um efeito antagônico no desenvolvimento de fungos como *Botrytis cinerea*, causando podridão cinzenta, e *Aspergillus* spp, produzindo ocratoxina. O que faz ressaltar sua importância uma vez que foi encontrado em maior incidência nesse estudo.

Apesar da predominância de algumas espécies de fungos, a comunidade presente nas amostras era diversificada, caracterizadas por gêneros como *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Ureobasidium*, *Sporobolomyces*, *Cryptococcus*, *Burkholderia*, *Rhodotorula* derivados de ecossistemas de vinhedos. Essa comunidade pode estar mais relacionada a origem geográfica (localização do vinhedo), microclima e propriedades do solo (disponibilidade de nutrientes), do que a variedade da videira, estando de acordo com estudos da microbiota associada à videira (MEZZASALMA et al., 2018; WANG et al., 2015; BOKULICH et al., 2014).

A fermentação acética não é desejável durante o processo de fermentação das uvas, esse processo consiste em transformar o álcool em ácido acético por determinadas bactérias, conferindo o gosto característico de vinagre. Houve uma baixa incidência na proporção de <10UFC/g de uva, comportamento semelhante foi observado com a

presença das bactérias lácticas, mostrando a mesma semelhança em estudo realizado por (PORTILHO et al., 2016).

Os isolados do gênero *Enterobacter* e *Bacillus* estavam presentes em abundância nas uvas e no solo, além de *Acinetobacter*, o que corrobora com Barata et al. (2012) que são frequentemente isolados de uvas, mas geralmente são considerados inócuos contaminantes, pois não tem a capacidade de crescer durante o processo de fermentação do vinho. A presença de *Pseudomonas* e *Bacillus* sp podem atuar como agentes de supressão para doenças biológicas, estimulando o crescimento e a saúde das plantas (COMPANT et al., 2011; WEST et al., 2010).

No solo, os fungos são encontrados em grandes quantidades, variando de 10^4 a 10^6 por grama, participando ativamente dos processos de biodeterioração e biodegradação decompondo a matéria-orgânica por meio da degradação de dejetos e restos mortais e animais e tecidos de plantas, transformando-os em substâncias capazes de enriquecer o solo. Além disso, atuam também na decomposição de xenobióticos, fazem o controle biológico, estabelecem relações simbióticas e promovem a agregação do solo e a mineralização de nutrientes (CARDOSO et al., 2016).

Os microrganismos do solo podem mediar características da planta, como tamanho da folha, sensibilidade à geada, massa da semente, bem como a arquitetura, tamanho e distribuição das raízes e sua absorção de nutrientes, tendo assim uma influência significativa no desempenho da planta (FRIESEN et al., 2011). Além de servir como uma fonte-chave de bactérias associadas à videira com fatores edáficos que influenciam o microbioma da videira nativa, sendo a comunidade microbiana de solos da mesma região vitícola bastante heterogênea (ZARRAONAINDIA et al., 2015).

As características físicas do solo, particularmente o carbono orgânico do solo, mostraram afetar a composição da comunidade fúngica em escalas subvinhas em um único vinhedo no sudoeste da China e destacam a importância das variações em pequena escala nas condições ambientais na composição da comunidade microbiana (LIANG et al., 2019).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O complexo *Cladosporium cladosporioides* e os gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* foram os principais componentes da microbiota da uva e do solo da região estudada, sendo os microrganismos de maior predominância neste estudo, assim como as bactérias do gênero *Bacillus*, *Arthrobacter* e Morfotipo 3 e *Pseudomonas* e as leveduras pertencentes ao gênero *Aureobasidium*, *Cryptococcus*, *Sporobolomyces*, Morfotipo 1, *Burkholderia*, *Rhodotorula*.

A análise físico-química do solo mostrou que a incidência em maior concentração de alguns nutrientes pode favorecer um grupo de espécies. Zinco “Zn”, Fósforo “P” e Cobre “Cu”, foram indicadores da alta incidência de *Cladosporium cladosporioides* complexo, assim como a baixa concentração favoreceu incidência de *A. ochraceus* e *A. carbonarius*. Mesmo comportamento evidenciado pelos gêneros *Cryptococcus*, *Sporobolomyces*, *Streptomyces*.

Das espécies potencialmente produtoras de ocratoxina A isoladas das uvas e do solo, a maioria não foi produtor de OTA, o que diminui o risco da presença desta micotoxina nos vinhos produzidos na região. Com exceção do *A. carbonarius* encontrado em maior incidência no solo da Syrah 2, no entanto não foi encontrado com a mesma incidência na uva.

REFERÊNCIAS

- BARATA, A.; MALFEITO-FERREIRA, M.; LOUREIRO, V. 2012. The microbial ecology of wine grape berries. **International Journal of Food Microbiology**, 153, 243–259.
- BATTILANI, P. *et al.* 2003. Occurrence of ochratoxin A-producing fungi in grapes grown in Italy. **Journal of Food Protection**, 66, 633-636.
- BOKULICH, N. A. *et al.* 2014. Microbial biogeography of wine grapes is conditioned by cultivar, vintage, and climate. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 111 (1), E139-148.
- CAPOZZI, V.; RUSSO, P.; BENEDEUCE, L.; WEIDMANN, S.; GRIECO, F.; GUZZO, J. *et al.* 2010. Technological properties of *Oenococcus oeni* strains isolated from typical southern Italian wines. **Lett. Appl. Microbiol.** 50 (3), 327–334.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ADREOTE, F. D. 2016. **Microbiologia do solo**. 2 ed. Piracicaba: ESALQ.
- COMPANT, S.; MITTER, B.; COLLI-MULL, J. G.; GANGL, H.; SESSITSCH, A. 2011. Endophytes of grapevine flowers, berries, and seeds: identification of cultivable bacteria, comparison with other plant parts, and visualization of niches of colonization. **Microbiology Ecology**, 62, 188-197.
- DAVID, V.; TERRAT, S.; HERZINE, K.; CLAISSE, O.; ROUSSEAU, S.; TOURDOT-MARÉCHAL, R. *et al.* 2014. High-throughput sequencing of amplicons for monitoring yeast biodiversity in must and alcoholic fermentation. **Journal Industrial Microbiology Biotechnology**, 41, 811–821.
- EINLOFT, T. C. 2012. **Caracterização micotoxicológica de uvas viníferas produzidas no Rio Grande do Sul, Brasil**. 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). 1999. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, DF, 370 p.
- FILTENBORG, O.; FRISVAD, J. C. 1980. A simple screening method for toxigenic moulds in pure cultures. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, 13 (2), 128-130.
- FREIRE, L. 2016. Ocorrência de *Aspergillus* e *Penicillium* e a correlação entre espécies ocratoxigênicas e uvas viníferas da região topical do Brasil. 155 p. **Dissertação** (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- FRIESEN, M.L.; PORTER, S.S.; STARK, S.C.; WETTBERG, E. J.VON.; SACHS, J.L.; ROMERO, E.M. 2011. Microbially Mediated Plant Functional Traits. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, 42:1, 23-46.

- GARIJO, P.; LÓPEZ, R.; SANTAMARÍA, P.; OCÓN, E.; OLARTE, C.; SANZ, S.; GUTIÉRREZ, A. R. 2009. Presence of lactic bacteria in the air of a winery during the vinification period. **International Journal of Food Microbiology**, 136, 142-146.
- GARRIDO, L. R.; GAVA, R. 2014. **Manual de doenças fúngicas da videira**. Embrapa Uva e vinho – Bento Gonçalves.
- GILBERT, J. A.; VAN DER LELIE, D.; ZARRAONAINDIA, I. 2014. Microbial terroir for wine grapes. **Proc. Natl. Acad. Science**, 111, 5–6.
- GIOVANINNI, E; MANFROI, V. 2013. **Viticultura e Enologia: elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros**. 2ª ed. Bento Gonçalves: IFRS.
- HAMILTON, W. D.; LENTON, T. 1998. Spora and Gaia: how microbes fly with their clouds. **Ethology Ecology Evolutionary**, 10, 1–16.
- KLICH, M. A. 2002. **Identification of common *Aspergillus* species**. Utrecht: CBS, 116 p.
- LIANG, H.; WANG, X.; YAN, J.; LUO, L. 2019. Characterizing the intra-vineyard variation of soil bacterial and fungal communities. **Frontiers in Microbiology**, 10, p. 1239.
- MEZZASALMA, V.; SANDIONIGI, A.; GUZZETTI, L.; GALIMBERTI, A.; GRANDO, M. S.; TARDAGUILA, J.; LABRA, M. 2018. Geographical and cultivar features differentiate grape microbiota in northern Italy and Spain vineyards. **Frontiers in Microbiology**, 9, p. 946.
- MEZZASALMA, V. A.; SANDIONIGI, I.; BRUNI, A.; BRUNO, G.; LOVICU, M.; CASIRAGHI, M.; LABRA. 2017. Grape microbiome as a reliable and persistent signature of field origin and environmental conditions in Cannonau wine production. **PloS ONE**, 12 (9).
- MOHAMED, S. *et al.* 2013. An extension of the coconut cream agar method to screen *Penicillium citrinum* isolates for citrinin production. **Letters in Applied Microbiology**, 57, 214-219.
- MÜLLER, D.B.; VOGEL, C.; BAI, Y.; VORHOLT, J.A. 2016. The Plant Microbiota: Systems-Level Insights and Perspectives. **Annual Review of Genetics**. 50:1, 211-234.
- PEDROZO, M. C.; CASTRO, R.L.V.; EFRAIM, P. *et al.* 2017. Fermentação do cacau: identificação microbiana por MALDI-TOF MS e avaliação sensorial do chocolate produzido. **LWT**, 77, 362-369.
- PITT, J. I. A. 2000. **Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species**. Australia: Food Science Australia, 187 p.
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. 1997. **Fungi and Food Spoilage**. 2. ed. London: Blackie Academic and Professional, 593p.

- PORTILHO, M. DEL C.; FRANQUÈS, J.; ARAQUE, I.; REGUANT, C.; BORDONS, A. 2016. Bacterial diversity of Grenache and Carignan grape surface from different vineyards at Priorat wine region (Catalonia, Spain). **International Journal of Food Microbiology**, 219, 56-63.
- SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C.; FILTENBORG, O. 2000. **Introduction to food-borne fungi**. 4th ed. Berlin: Centraalbureau Voor Schimmelcultures, 322p.
- STEFANINI I, CAVALIERI D. 2018. Metagenomic Approaches to Investigate the Contribution of the Vineyard Environment to the Quality of Wine Fermentation: Potentials and Difficulties. **Front Microbiol**. May 16; 9:991. doi: 10.3389/fmicb.2018.00991. PMID: 29867889; PMCID: PMC5964215.
- SWIEGERS, J.; BARTOWSKY, E.; HENSCHKE, P.; PRETORIUS, I. 2005. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. **Australian Journal Grape Wine Research**. 11, 139–173.
- TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, G.; FILIPSSKI, A.; KUMAR, S. 2013. MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.06. **Molecular Biology Evol**, 30, 2725-2729.
- TAYLOR, M.W.; TSAI, P.; ANFANG, N.; ROSS, H.A.; GODDARD, M.R. 2014. Pyrosequencing reveals regional differences in fruit-associated fungal communities. *Environmental Microbiology*. 16, 2848–2858.
- VALERA, M.J.; LAICH, F.; GONZÁLEZ, S.S.; TORIJA, M.J.; MATEO, E.; MAS, A. 2011. Diversity of acetic acid bacteria present in healthy grapes from the Canary Islands. **International Journal of Food Microbiology** 151, 105 e 112.
- VERGINER, M.; LEITNER, E.; BERG, G. 2010. Production of volatile metabolites by microorganisms associated with grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58 (14), 8344-8350.
- WANG, C.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, D.; MAS, A.; ESTEVE-ZARZOSO, B. 2015. Fungal diversity in grape must and wine fermentation assessed by massive sequencing, quantitative PCR and DGGE. **Frontiers in Microbiology**, 6, 1156.
- WEST, E.R.; COTHER, E. J.; STEEL, C. C.; ASH, G. J. 2010. The characterization and diversity of endophytes of grapevine. **Canadian Journal of Microbiology**, 56, p. 209-216.
- ZARRAONAINDIA, I.; OWENS, S. M.; WEISENHORN, P.; WEST, K.; HAMPTON-MARCELL, J.; LAX, S.; BOKULICH, N. A.; MILLS, D. A.; MARTIN, G.; TAGHAVI, S.; VAN DER LELIE, V.; GILBERT, J. A. 2015. The soil microbiome influences grapevine-associated microbiota. **Ambio**, 6.

ZHU, Y. G.; GILLINGS, M.; SIMONET, P.; STEKEL, D.; BANWART, S.;
PENUELAS, J. 2017. Microbial mass movements. **Science**, 357, 1099–1100.