

Fungos associados a
frutos e grãos do café



Aspergillus *Penicillium*



Sara Maria Chalfoun

Luís Roberto Batista



AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO

Construindo um novo tempo

Fungos associados a
frutos e grãos do café

Aspergillus
Penicillium

Governador do Estado de Minas Gerais

Aécio Neves da Cunha

Secretário de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Odelmo Leão Carneiro Sobrinho

Presidente da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais

Baldonado Arthur Napoleão

Secretário-Executivo do Programa Cafeicultura/Epamig

Gabriel Ferreira Bartholo

*Governo do Estado de Minas Gerais
Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais*

Fungos associados a
frutos e grãos do café

Aspergillus Penicillium

Sara Maria Chalfoun
Luís Roberto Batista

*Embrapa Informação Tecnológica
Brasília, DF
2003*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Informação Tecnológica

Parque Estação Biológica – PqEB – Av. W3 Norte (final)
Caixa Postal 040315
CEP 70770-901 Brasília, DF
Fone: (61) 448-4236
Fax: (61) 340-2753
www.sct.embrapa.br
vendas@sct.embrapa.br

Supervisão editorial

Ronaldo de O. Encarnação
Embrapa Café

Coordenação editorial

Edson Junqueira Leite
Lucilene Maria de Andrade
Embrapa Informação Tecnológica

Revisão de texto

Corina Barra Soares

Projeto gráfico e capa

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Fotos

Luís Roberto Batista
Epamig

1ª edição

1ª impressão (2003): 1.000 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação – CIP
Embrapa Informação Tecnológica

Chalfoun, Sara Maria.

Fungos associados a frutos e grãos do café: *Aspergillus* e *Penicillium* / Sara Maria Chalfoun, Luís Roberto Batista. Brasília : Embrapa Informação Tecnológica, 2003.
69 p. : il.

Bibliografia
ISBN 85-7383-220-7

1. Café – fungo. 2. Micologia. 3. *Aspergillus*. 4. *Penicillium*. 5. *Eurotium*. I. Batista, Luís Roberto.
II. Título.

CDD 633.7394 (21 ed.)

© Embrapa 2003

Autores

Sara Maria Chalfoun

Engenheira agrônoma, Doutora em Agronomia, Pesquisadora
da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
– Epamig – CTSM/Eco, Centro
Campus da UFLA, Caixa Postal 176
CEP 37200-000 Lavras, MG
E-mail: chalfoun@ufla.br
Fone: (35) 3821-6244

Luís Roberto Batista

Químico, Doutorando em Ciência dos Alimentos
Campus da UFLA, Caixa Postal 176
CEP 37200-000 Lavras, MG
E-mail: luisrb@ufla.br
Fone: (35) 3822-6050

A meus pais, Toufic e Maria, a meus filhos, Igor e Yasmin, a minha irmã, Rosemary, e a meus sobrinhos, Ivana, Jamille e Luidy, pelo apoio incondicional, dedico.

Sara Maria Chalfoun

A meus pais, Ovídio e Eunice, a meus irmãos, Cristina, Ana, Silvana, Edson, Rosiane, Núbia e Júnior, a minha esposa, Cristina, e a meus filhos, André Luís e Emmanuel, pelo constante incentivo, dedico.

Luís Roberto Batista

Agradecimentos

Ao Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café, pelo apoio financeiro.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – Epamig –, pelo apoio logístico à realização das atividades de identificação dos fungos.

Ao Prof. Dr. Ludwig H. Pfenning, pela orientação durante as primeiras identificações e pelo constante incentivo no decorrer do presente trabalho.

Apresentação

A interação entre fungos e frutos de café no Brasil ocorre desde 1727, quando as primeiras lavouras foram cultivadas na Região Amazônica. Com o avanço científico, apoiado principalmente na curiosidade de pesquisadores, algumas espécies de fungos passaram a ser identificadas e controladas de forma a não causar danos a produtores e consumidores. Além dos fungos considerados patogênicos que afetam os frutos de café, como *Phoma* spp. e *Cercospora coffeicola*, cujos danos se expressam no aspecto, na qualidade final e no rendimento do produto, outros fungos podem estar associados aos frutos desde a fase de campo, causando prejuízos em fases posteriores à colheita, durante a secagem, o armazenamento e o transporte, e provocando alterações na composição química do café, resultantes do processo de desenvolvimento dos fungos ou de adição de metabólitos secundários tóxicos (micotoxinas), produzidos em condições específicas. Os fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são de grande importância para a economia agrícola e a saúde pública, tanto para o Brasil quanto para o mundo, especialmente para os países em desenvolvimento.

Uma quantidade incalculável de esporos de fungos está naturalmente espalhada no ar, no solo e nos vegetais, favorecendo a contaminação dos produtos agrícolas em todas as etapas do processo de produção. Embora, de uma maneira geral, o desenvolvimento dos fungos e a produção de micotoxinas não ocorram quando os frutos se encontram ainda na planta, deve-se considerar que o processo de contaminação se verifica exatamente nessa fase. Dessa forma, a identificação desses fungos e a definição de práticas culturais que conduzam a um decréscimo do inóculo no campo é fundamental para a redução do risco de ocorrência dos

eventos que se seguem à contaminação de frutos e grãos, como o desenvolvimento dos fungos e a síntese das micotoxinas.

O sucesso no controle dos danos causados por fungos – garantia principal da qualidade final do produto e da segurança alimentar –, como fonte de micotoxinas na dieta, dependerá de alguns fatores, como a composição química do substrato, o manejo da cultura e de frutos e grãos durante a fase pós-colheita, além do ambiente durante as fases de pré-colheita, preparo, armazenamento e transporte até o mercado consumidor.

Os estudos referentes ao café, como possível fonte de micotoxina (ocratoxina A) na dieta, visam determinar, com a máxima precisão, seu nível de participação, sabendo-se a priori que as características químicas desse produto, a umidade com que é armazenado (11% a 12%) bem como a quantidade em que é consumido o colocam como uma das fontes menos prováveis de micotoxinas na dieta, quando comparado com outros produtos alimentícios. O Brasil, na condição de maior produtor mundial de café e partícipe da preocupação mundial com segurança alimentar, por intermédio do Programa Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento, Café – PNP&D/Café –, tem-se empenhado em esclarecer a questão, e assim atender aos interesses de produtores e consumidores desse produto.

Esta obra visa auxiliar estudantes, técnicos e profissionais da área de Micologia de Alimentos e Produtos Agrícolas a identificar as espécies (em número limitado) dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, alguns dos quais potencialmente produtores de micotoxinas, associados a alimentos e principalmente a frutos e grãos de café.

Gabriel Ferreira Bartholo
Secretário-Executivo do Programa Cafeicultura/Epamig

Sumário

Introdução	13
Morfologia dos Gêneros <i>Aspergillus</i> e <i>Penicillium</i>	15
Cultivo, Identificação e Caracterização do Gênero <i>Aspergillus</i>	19
Cultivo, Identificação e Caracterização do Gênero <i>Penicillium</i>	21
Gênero <i>Aspergillus</i>, Subgênero <i>Circumdati</i>, Seção <i>Circumdati</i>	23
<i>Aspergillus auricomus</i>	25
<i>Aspergillus elegans</i>	26
<i>Aspergillus insulicola</i>	27
<i>Aspergillus lanosus</i>	28
<i>Aspergillus melleus</i>	29
<i>Aspergillus ochraceus</i>	30
<i>Aspergillus ostianus</i>	31
<i>Aspergillus petrakii</i>	32
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	33
<i>Aspergillus sulphureus</i>	34
Gênero <i>Aspergillus</i>, Subgênero <i>Circumdati</i>, Seção <i>Flavi</i>	35
<i>Aspergillus flavus</i>	36
<i>Aspergillus tamarii</i>	37
Gênero <i>Aspergillus</i>, Subgênero <i>Circumdati</i>, Seção <i>Nigri</i>	39
<i>Aspergillus carbonarius</i>	41
<i>Aspergillus foetidus</i>	42
<i>Aspergillus japonicus</i> var. <i>aculeatus</i>	43
<i>Aspergillus niger</i> var. <i>awamori</i>	44
<i>Aspergillus niger</i> var. <i>niger</i>	45

Gênero <i>Aspergillus</i>, Subgênero <i>Circumdati</i>, Seção <i>Versicolores</i>	46
<i>Aspergillus sydowii</i>	47
<i>Aspergillus versicolor</i>	49
Gênero <i>Eurotium</i> Link: Fr., Subgênero <i>Circumdati</i>, Seção <i>Aspergillus</i>	50
<i>Eurotium amstelodami</i>	51
<i>Eurotium chevalieri</i>	53
Gênero <i>Penicillium</i>, Subgênero <i>Monoverticillium</i>, <i>Penicillium glabrum</i>	56
Gênero <i>Penicillium</i>, Subgênero <i>Biverticillium</i>, <i>Penicillium citrinum</i>	57
Gênero <i>Penicillium</i>, Subgênero <i>Biverticillium</i>, <i>Penicillium corylophilum</i>	59
Gênero <i>Penicillium</i>, Subgênero <i>Terverticillium</i>, <i>Penicillium aurantiogriseum</i>	60
Gênero <i>Penicillium</i>, Subgênero <i>Terverticillium</i>, <i>Penicillium brevicompactum</i>	61
Gênero <i>Penicillium</i>, Subgênero <i>Terverticillium</i>, <i>Penicillium chrysogenum</i>	62
Gênero <i>Penicillium</i>, Subgênero <i>Terverticillium</i>, <i>Penicillium expansum</i>	63
Gênero <i>Penicillium</i>, Subgênero <i>Terverticillium</i>, <i>Penicillium solitum</i>	64
Referências	65

Introdução

Os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* representam anamorfos (fases assexuada ou mitótica) de ascomicetos classificados na família Trichocomaceae, Ordem Eurotiales, com 200 e 150 espécies, respectivamente. As espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* são comumente encontradas no solo, em matérias orgânicas em decomposição, grãos estocados, alimentos, rações e outros materiais (Domsch et al., 1980; International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 1996; Samson et al., 2000).

As espécies de *Penicillium* são mais freqüentes em regiões onde predominam temperaturas baixas, enquanto as espécies de *Aspergillus* são mais comuns em regiões de clima quente. Muitas espécies de *Penicillium* são psicrotróficas e capazes de deteriorar alimentos em temperaturas de refrigeração (Pitt & Hocking, 1997), enquanto, no gênero *Aspergillus*, é possível encontrar espécies termotolerantes (Domsch et al., 1980). Os dois gêneros possuem espécies xerofílicas, mas as espécies de *Aspergillus* suportam uma atividade de água menor do que as do gênero *Penicillium*.

As espécies do gênero *Aspergillus* são de grande importância econômica graças a suas propriedades bioquímicas de produzir enzimas que são utilizadas nas indústrias de panificação e cervejeira, em antibióticos e ácidos orgânicos, e, há séculos, vêm sendo empregadas na produção de alimentos fermentados, no Japão e em outros países asiáticos. Algumas espécies, porém, podem produzir metabólitos secundários tóxicos, denominados de “micotoxinas”, que são altamente nocivos para as saúdes humana e animal.

As propriedades bioquímicas de espécies do gênero *Penicillium* foram amplamente estudadas a partir de 1929, com a descoberta da penicilina. Entretanto, o primeiro uso de *Penicillium*

para benefício humano data de tempos remotos, na produção de queijos, como Camembert, Roquefort e Gorgonzola (Alexopoulos et al., 1996).

Assim como ocorre com algumas espécies do gênero *Aspergillus*, o gênero *Penicillium* pode comprometer a segurança de alimentos por conta da produção de micotoxinas, como a ocratoxina A, a patulina e a citrinina.

Este Manual apresenta as características das principais espécies de fungos pertencentes aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* encontradas em associação a grãos de café beneficiados, tomando como base de estudo os levantamentos efetuados na região sul do Estado de Minas Gerais, atualmente a maior região produtora de café do Brasil.

Morfologia dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*

Os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* representam anamorfos (fases assexuada ou mitótica) de ascomicetos da Ordem Eurotiales. Algumas espécies apresentam também a fase sexuada, caracterizada pela produção de cleistotécios, que são minúsculos corpos de frutificação, fechados e de formato arredondado. Entretanto, a fase mitótica é a mais comum atualmente. Ambos os gêneros são caracterizados pela produção de fiálides e conídios em cadeias secas (International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 1996). O conidióforo de *Aspergillus* é simples, sem ramificação e termina numa vesícula, onde ficam inseridas as fiálides.

“Fiálides” são células especializadas em produzir propágulos vegetativos, isto é, conídios. Os conídios são formados por mitose e podem surgir diretamente das vesículas (unisseriados) ou são produzidos em uma segunda camada de células, chamadas de “métulas” (bisseriados), sendo ambas – fiálides e métulas – formadas simultaneamente. Algumas espécies de *Aspergillus* podem produzir escleródios, que consistem numa massa compacta de hifas, de cor e tamanho variados, enquanto outras espécies podem produzir células Hülle, geralmente associadas com cleistotécio, sendo, porém, ainda desconhecida sua função (Klich & Pitt, 1988b).

Algumas espécies de *Aspergillus* podem reproduzir-se sexualmente. Essa fase, chamada de “teleomórfica” ou “reprodução meiótica”, é caracterizada pela formação desordenada de ascósporos, arranjados em ascos, em um ascocarpo, geralmente denominado “cleistotécio” (Klich & Pitt, 1988b).

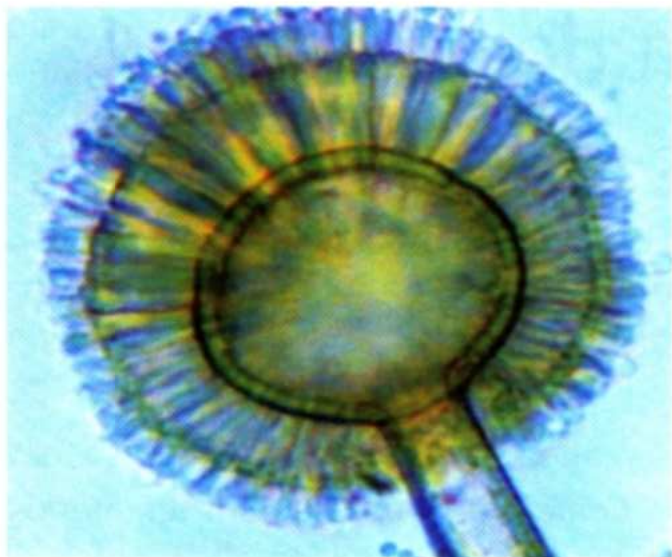


Fig. 1. Tipos de ramificação em *Aspergillus*: bisseriado.



Fig. 2. Tipos de ramificação em *Aspergillus*: monosseriado.

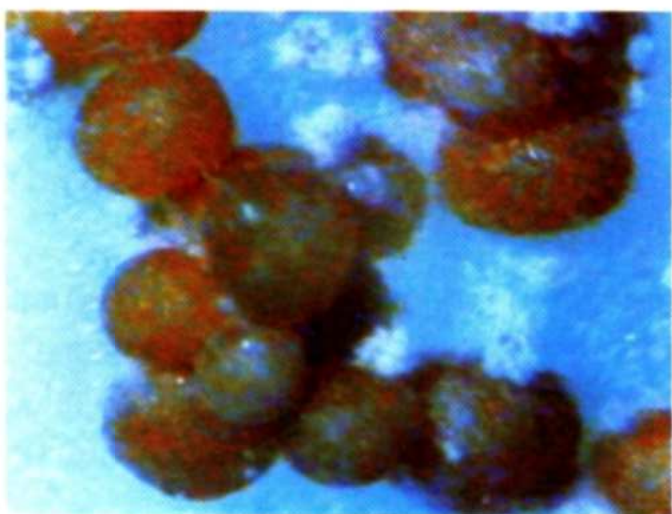


Fig. 3. Escleródios.

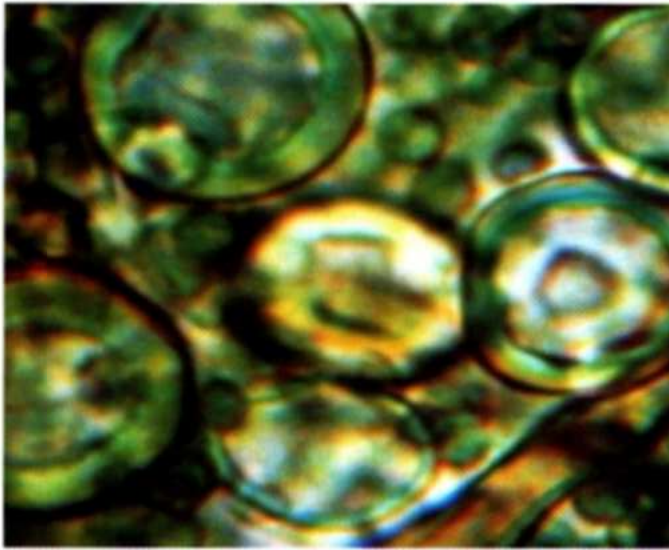
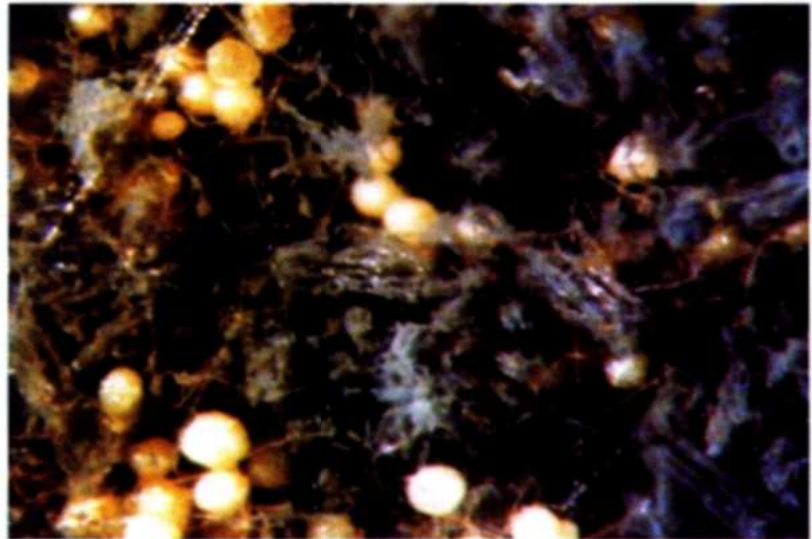


Fig. 4. Células Hülle.

Fig. 5. Ascocarpo do tipo cleistotécio, produzido por *Eurotium chevalieri*.



No gênero *Penicillium*, os conidióforos apresentam graus variados de diferenciação, cujos ramos terminais sustentam um grupo de fiálides.

A classificação moderna do gênero *Penicillium* reconhece quatro subgêneros:

- *Aspergilloides*, no qual as fiálides são formadas diretamente sobre os conidióforos (monoverticilado).
- *Furcatum* e *Biverticillium*, nos quais as fiálides são formadas sobre métulas.
- *Furcatum*, que é irregularmente monoverticilado, e cuja razão entre métulas e fiálides é muito menor que 1.

No subgênero *Biverticillium*, é raro o terverticilado, e a razão entre métulas e fiálides é muito próxima de 1. No subgênero *Penicillium*, as métulas são formadas somente sobre conidióforos ramificados, sendo predominantemente terverticilado.

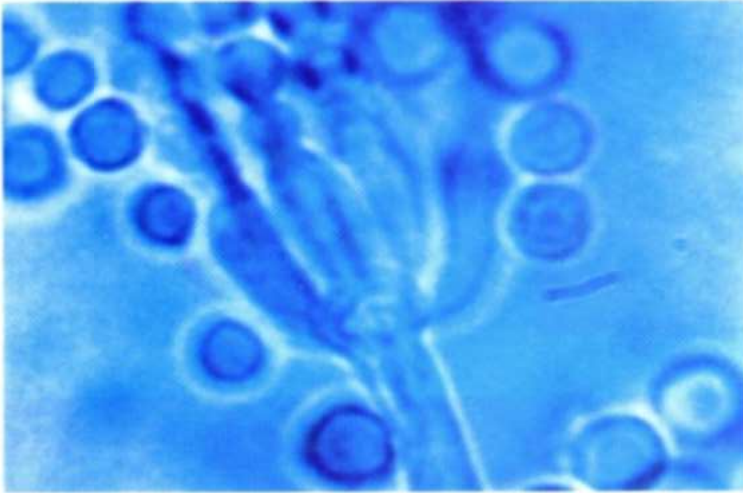


Fig. 6. Tipo de ramificação em *Penicillium*: monoverticilado.

Fig. 7. Tipo de ramificação em *Penicillium*: biverticilado.

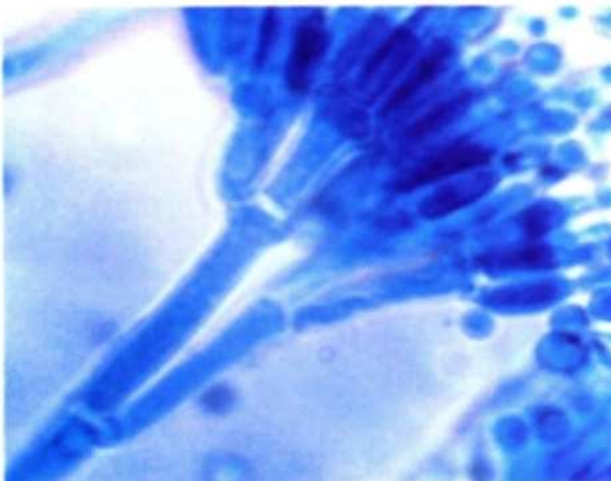
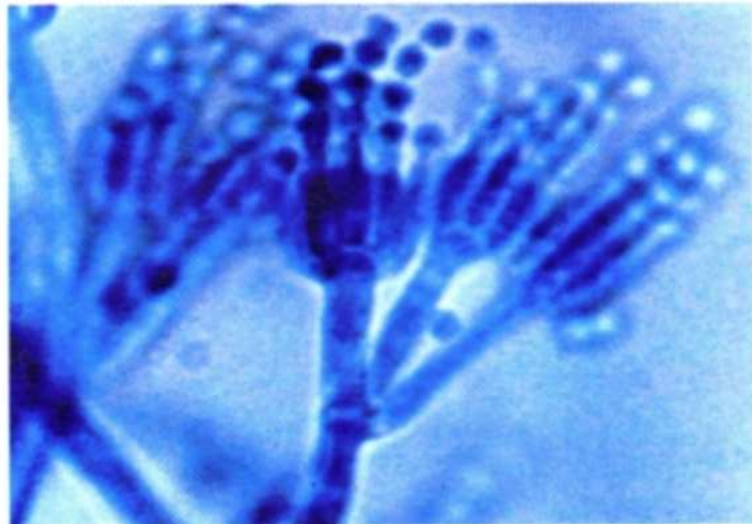


Fig. 8. Tipo de ramificação em *Penicillium*: terverticilado.

Cultivo, identificação e caracterização do gênero *Aspergillus*

A maioria das espécies de *Aspergillus* pode ser identificada quando cultivada em meios de cultura padronizados, como Czapek Yeast Agar (CYA) e Malt Extract Agar (MEA), em temperaturas controladas a 25°C, 37°C e 42°C, por 7 dias. As espécies teleomórficas, em especial as xerofílicas, são identificadas utilizando CYA com 20% de sacarose, ou MEA com 40% de sacarose, de 10 a 14 dias, a 25°C.

Para a identificação das espécies dos fungos do gênero *Aspergillus*, são observadas certas características macroscópicas, como: coloração (massa conidial) e diâmetro das colônias, presença ou ausência e coloração dos escleródios e coloração do reverso das colônias, em todos os meios de cultura.

Para a avaliação das características microscópicas, são feitas lâminas coradas em meio CYA a 25°C, e observadas as seguintes características:

- Arranjo entre métulas e fiálides ligadas à vesícula (bisseriada e monosseriada).
- Comprimento do conidióforo.
- Forma e tamanho dos conídios, das vesículas, das métulas e das fiálides.
- Textura dos conídios e do conidióforo.
- Presença ou ausência de células Hülle.

Para as espécies de *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, o meio *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* Agar (AFPA) pode auxiliar a identificação, pois é indicativo dessas duas espécies, tendo sido formulado por Pitt et al. (1983), apresentando bons resultados após 3 dias de incubação. No entanto, cumpre lembrar que o uso de meios seletivos e indicativos da identificação e da diferenciação das espécies de *Aspergillus* ainda é muito limitado.

Os guias de identificação de espécies comuns de *Aspergillus* baseados em morfologia e nas características das colônias vêm sendo publicados por Pitt & Hocking (1997), Klich & Pitt (1988b), Samson et al. (2000), Christensen (1982, 1981) e Domsch et al. (1980). A monografia mais antiga e mundialmente consultada é de autoria de Raper e Fennell, publicada em 1965.

Outros métodos de identificação de *Aspergillus* utilizados – como técnicas de biologia molecular (Wang et al., 2001; Varga et al., 2000a e 2000b; Accensi et al., 1999), técnicas bioquímicas de produção de enzimas (Yamatoya et al., 1990) e técnicas fisiológicas, como a produção de metabólitos secundários e micotoxinas (Klich & Pitt, 1988a), – podem fornecer uma taxonomia mais estável para as espécies que atualmente são difíceis de ser identificadas (Yokoyama et al., 2001; Varga et al., 2000a e 2000b).

Cultivo, identificação e caracterização do gênero *Penicillium*

Para identificar espécies do gênero *Penicillium*, também são necessários meios de cultura padronizados, como o CYA e o MEA, em temperaturas controladas a 5°C, 25°C e 37°C, por 7 dias.

São observadas as seguintes características microscópicas, em uma lâmina corada feita do meio MEA, a 25°C: número de ramificações (que indicariam se o fungo é monoseriado, bisseriado, tervertissilado), textura da estipe e textura, forma e tamanho dos conídios e das métulas e fiálides.

A utilização do meio Neutral Creatine Sucrose (CSN) também auxilia a identificação das espécies de *Penicillium* – subgênero *Penicillium*, pela verificação da diferença de crescimento e das modificações do pH do meio. Dichloran Rose Bengal Yeast Extract Sucrose Agar (DRYES) é outro meio de cultura que pode detectar *Penicillium verrucosum* produtor de ocratoxina A e *Penicillium viridicatum* produtor de xantomegnina e viomeleina pela constatação de mudança de coloração do meio. Em DRYES, *Penicillium verrucosum* produtor de ocratoxina A é identificado por uma coloração vermelho-amarronzada no verso da colônia, enquanto *Penicillium viridicatum* produz uma coloração amarelada, em ambos os casos, após 7 dias de incubação, a 25°C.

Atualmente, são considerados os mais completos guias de identificação de *Penicillium* aqueles produzidos por John I. Pitt: *A laboratory guide to common Penicillium species* (1988 e 2000) e

Penname, a computer key to common Penicillium species 1989, citado por Samson e Pitt (Pitt, 1989).

Por conta da grande dificuldade em identificar as espécies de fungos pertencentes ao gênero *Penicillium*, outras técnicas têm sido estudadas para diminuir o tempo de diagnóstico e torná-lo mais preciso. Entre essas técnicas, as mais estudadas são aquelas com base na biologia molecular (Dupont et al., 1999). Também têm sido utilizadas outras, como: a quimiotaxonomia – micotoxinas (Malmstom et al., 2000; Svendsen & Frisvad, 1994; Frisvad & Filtenborg, 1989), a identificação direta por imagem digital (Dörge et al., 2000), a composição de ácidos graxos (Silva et al., 1998) e de quinonas (Paterson, 1993) e da parede celular. Todas essas técnicas apresentam bons resultados, porém restritas a um número limitado de espécies.

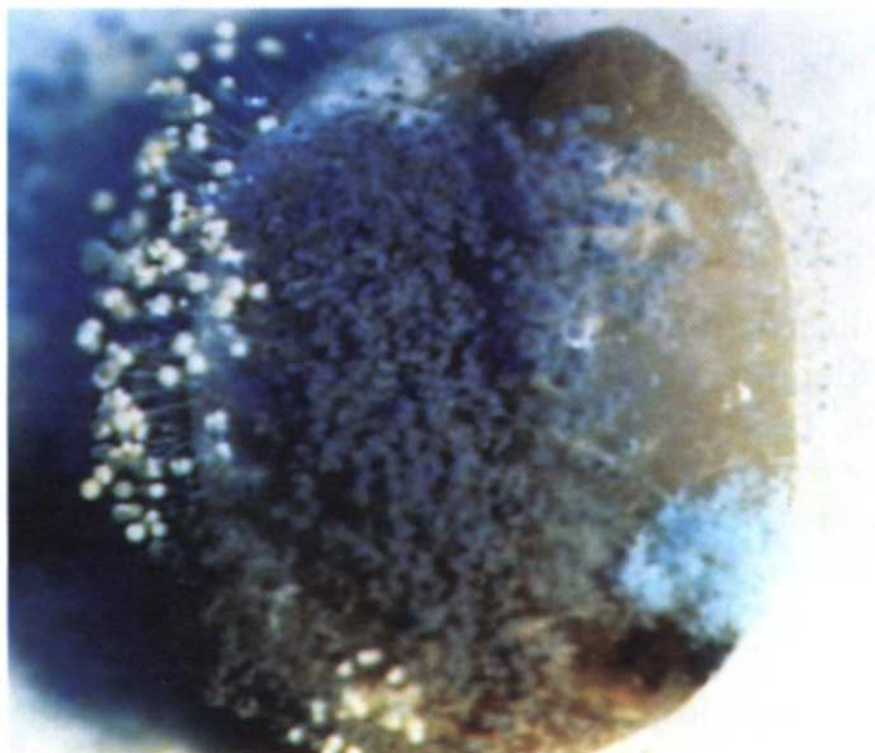


Fig. 9. Grão de café naturalmente contaminado por *Aspergillus*.

Gênero *Aspergillus*, subgênero *Circumdati*, seção *Circumdati*

Os membros da Seção *Circumdati* (Grupo *A. ochraceus*) são amplamente distribuídos na natureza e têm sido isolados de solos de muitas partes do mundo. Tais espécies são comuns em matéria orgânica em decomposição, mas há poucas evidências de que elas desempenhem um papel ativo no processo de decomposição (Raper & Fennell, 1965).

Domsch et al. (1980) descrevem três espécies desse grupo: *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus melleus* e *Aspergillus sclerotiorum*, que foram isoladas de solos cultivados e também de solos de florestas de várias partes do mundo, principalmente das áreas tropicais e subtropicais. O *Aspergillus lanosus* foi primeiramente isolado de solo de florestas localizadas na Índia (Kamal & Bhargava, 1969). Espécies da Seção *Circumdati* também têm sido encontradas associadas a ambientes de secagem, a frutos, grãos (cereais, sementes) e outros alimentos (Pitt & Hocking, 1997).

A. ochraceus foi a principal espécie desta Seção a ser isolada de grãos de café (Batista et al., 2001; Urbano et al., 2001; Silva et al., 2000; Bucheli et al., 1998; Mislivec et al., 1983; Chalfoun & Carvalho, 1989). As espécies de *A. elegans* e *A. sclerotiorum* também foram isoladas de grãos de café por Batista et al. (2001) e Tsubouchi et al. (1984).

O desenvolvimento de fungos da Seção *Circumdati* em produtos agrícolas e alimentos pode ter como consequência a

presença de ocratoxina A. Entretanto, a interação com outros microrganismos, a composição química do substrato e os fatores ambientais irão determinar a intensidade em que será produzida (Mantle & Chow, 2000). A ocratoxina A foi primeiramente isolada do *Aspergillus ochraceus* (van de Merwe et al., 1965), e atualmente tem sido isolada de várias espécies pertencentes a esta Seção.

A presença desses fungos micotoxigênicos em alimentos não implica necessariamente a presença da micotoxina, mas apresenta um risco potencial (Pitt et al., 2000).

As espécies de *A. ochraceus*, *A. sulphureus*, *A. sclerotiorum*, *A. auricomus*, *A. melleus*, *A. petrakii* e *A. ostianus* têm sido relatadas como produtoras de ocratoxina A, seja em meio de cultura sintético seja em semi-sintético (Batista, 2000; Varga, 1996; Ciegler, 1972; Hesseltine et al., 1972).

Christensen (1982) elaborou uma chave sinóptica sobre as espécies da Seção *Circumdati*. Essa chave foi utilizada neste estudo para a identificação das espécies encontradas associadas a grãos de café beneficiado e são apresentadas a seguir.



Fig. 10. Espécies da Seção *Circumdati*.

Aspergillus auricomus (Guéguen) Saito

As colônias sobre CYA a 25°C têm um diâmetro de 4,0 a 5,8 cm aos 7 dias, apresentando coloração amarelo-dourada e reverso de um tom creme a um ocre mais claro, presença de escleródios amarelo-claros a avermelhados, presentes em grande quantidade em colônias após 10 dias, com formação logo nos primeiros dias de incubação. O desenvolvimento em CYA a 37°C, varia de 1,2 a 1,6 cm, tem coloração creme-amarelada e reverso creme-pálido. Em MEA, ocorrem colônias ocre-amareladas, com uma forte tendência a amarelo, com diâmetro acima de 5,0 cm e reverso predominantemente ocre, tendo alguns tons de creme.

Cabeça conidial bisseriada, com vesículas de subglobosas a um pouco alongadas, variando de 27 a 39 µm de diâmetro, conídios globosos a subglobosos, lisos a delicadamente rugosos, medindo de 3,5 a 4,0 µm de diâmetro. Conidióforos longos, finamente rugosos a muito rugosos entre os maiores, com comprimento de 1.000 a 1.200 µm.

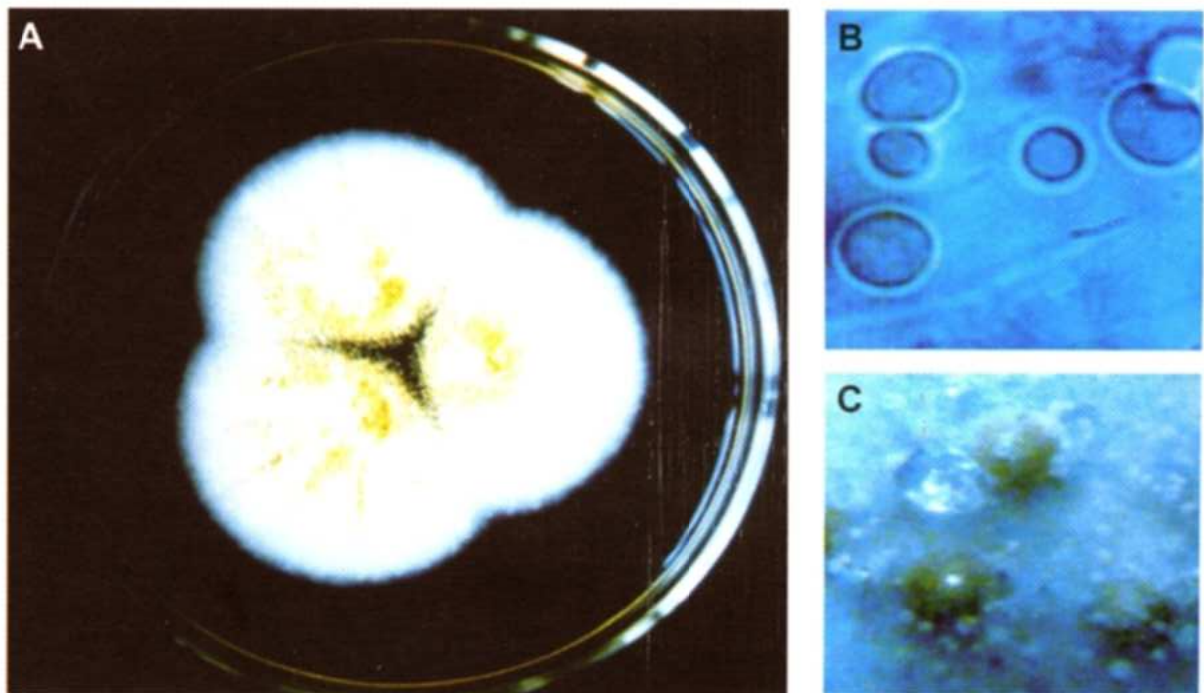


Fig. 11. *A. auricomus*: a) colônia em CYA de coloração amarelo-dourada; b) conídios subglobosos a ovóides, lisos, ampliados 2.000 vezes; c) escleródios amarelo-claros, ampliados 20 vezes.

Aspergillus elegans Gasperini

As colônias sobre CYA a 25°C têm um diâmetro de 4,0 cm, apresentando coloração ocre, micélio em tons creme, colônias com aspecto sulcado e reverso pálido, tendendo a amarelo, e formação de grandes gotas de exsudato; presença de escleródios creme a amarelo-dourado, com formação logo nos primeiros dias de incubação. Não desenvolve em CYA a 37°C. Em MEA, colônias ocre-amareladas, com diâmetro de 5,8 a 6,0 cm, e reverso em tons entre creme e marrom-claro.

Cabeça conidial bisseriada, com métulas medindo em torno de 23 μm e fiálides em torno de 8 μm , vesículas globosas, variando de 37 a 60 μm , conídios inicialmente ovóides. Com a maturidade, os conídios são majoritariamente subglobosos a elipsoidais, de textura lisa a finamente rugosa, medindo, predominantemente, 3,5 a 4,0 μm de diâmetro. Conidióforos em tons marrons, de lisos a finamente rugosos, lisos próximo à vesícula e, em sua maioria, medindo 1.200 a 1.600 μm de comprimento.

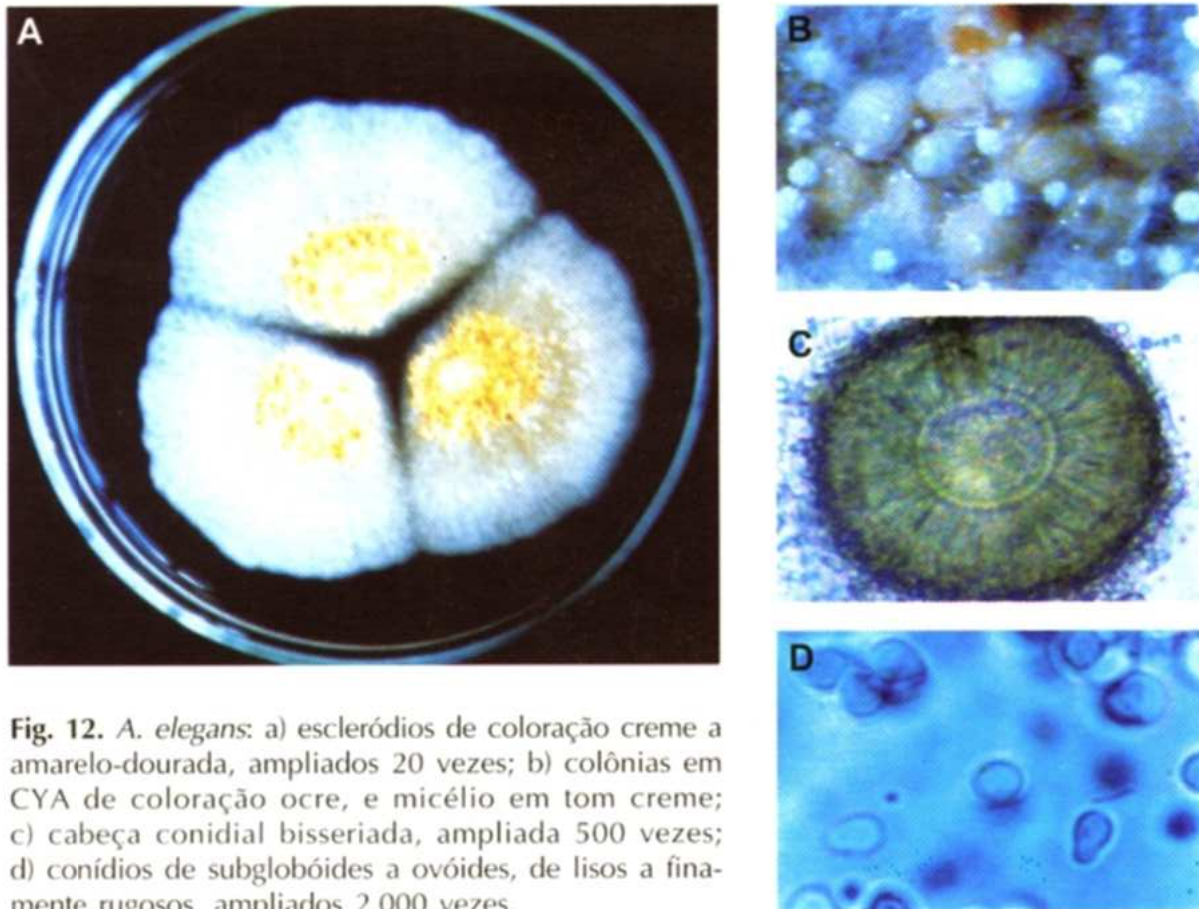


Fig. 12. *A. elegans*: a) escleródios de coloração creme a amarelo-dourada, ampliados 20 vezes; b) colônias em CYA de coloração ocre, e micélio em tom creme; c) cabeça conidial bisseriada, ampliada 500 vezes; d) conídios de subglobóides a ovóides, de lisos a finamente rugosos, ampliados 2.000 vezes.

Aspergillus insulicola Montemayor & Santiago

As colônias sobre CYA a 25°C medem de 6,0 a 6,2 cm de diâmetro, apresentando coloração amarelo-ouro e reverso creme, presença de escleródios amarelos, com formação logo nos primeiros dias de incubação. Desenvolvimento em CYA a 37°C, variando de 1,8 a 2,0 cm, com coloração creme também no reverso. Em MEA, colônias ocre-amareladas, com diâmetro acima de 5,0 cm, cujo reverso tem coloração de incolor a ocre.

Cabeça conidial bisseriada, vesículas globosas variando de 19 a 31µm, conídios subglobosos, finamente rugosos, medindo entre 3,0 e 3,5 µm de diâmetro. Conidióforos curtos, rugosos, sendo os maiores rugosos, com 345 a 410 µm de comprimento.

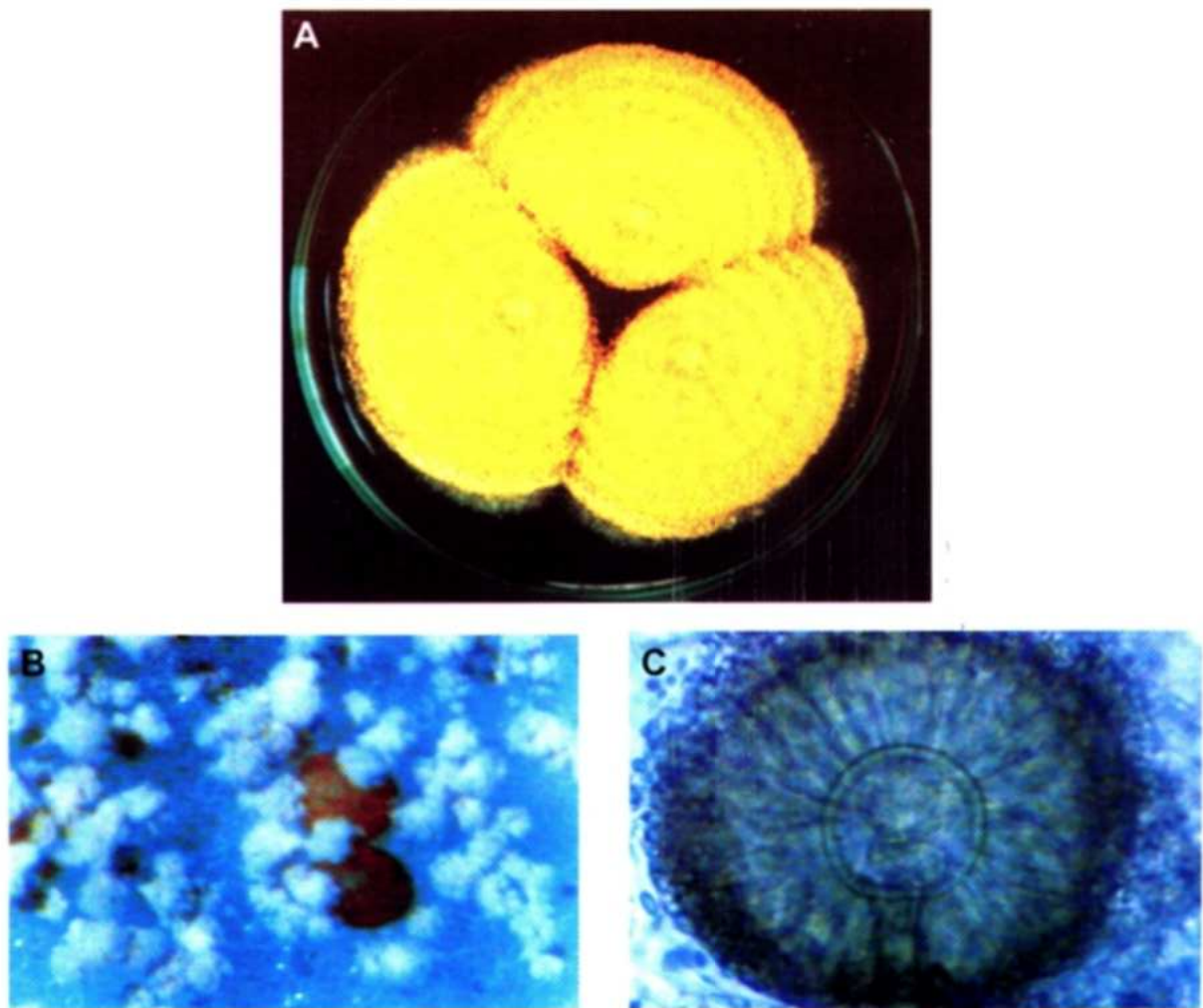


Fig. 13. *A. insulicola*: a) colônias em CYA, de coloração amarelo-ouro; b) escleródios amarelo-dourados, ampliados 20 vezes; c) cabeça conidial bisseriada, ampliada 800 vezes.

Aspergillus lanosus Kamal & Bhargava

As colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro entre 4,4 e 5,0 cm aos 7 dias, apresentando coloração de amarelo-forte a amarelo-cádmio, colônias planas, com aspecto pouco aveludado, e reverso creme; ausência de escleródios.

Desenvolvimento em CYA a 37°C, variando de 2,0 a 2,4 cm, com reverso pálido semelhante a marfim. Em MEA, colônias amareladas, com diâmetro acima de 5,8 cm, e reverso predominantemente amarelo, alguns apresentando tons amarelo-limão no centro.

Cabeça conidial bisseriada, com métulas medindo de 8 a 12 μm e fiálides de 6 a 8 μm , vesículas globosas e pequenas, variando de 27 a 37 μm , conídios lisos e globosos, com um diâmetro de 2,5 a 3,0 μm . Conidióforos lisos, com 600 a 1.005 μm de comprimento.

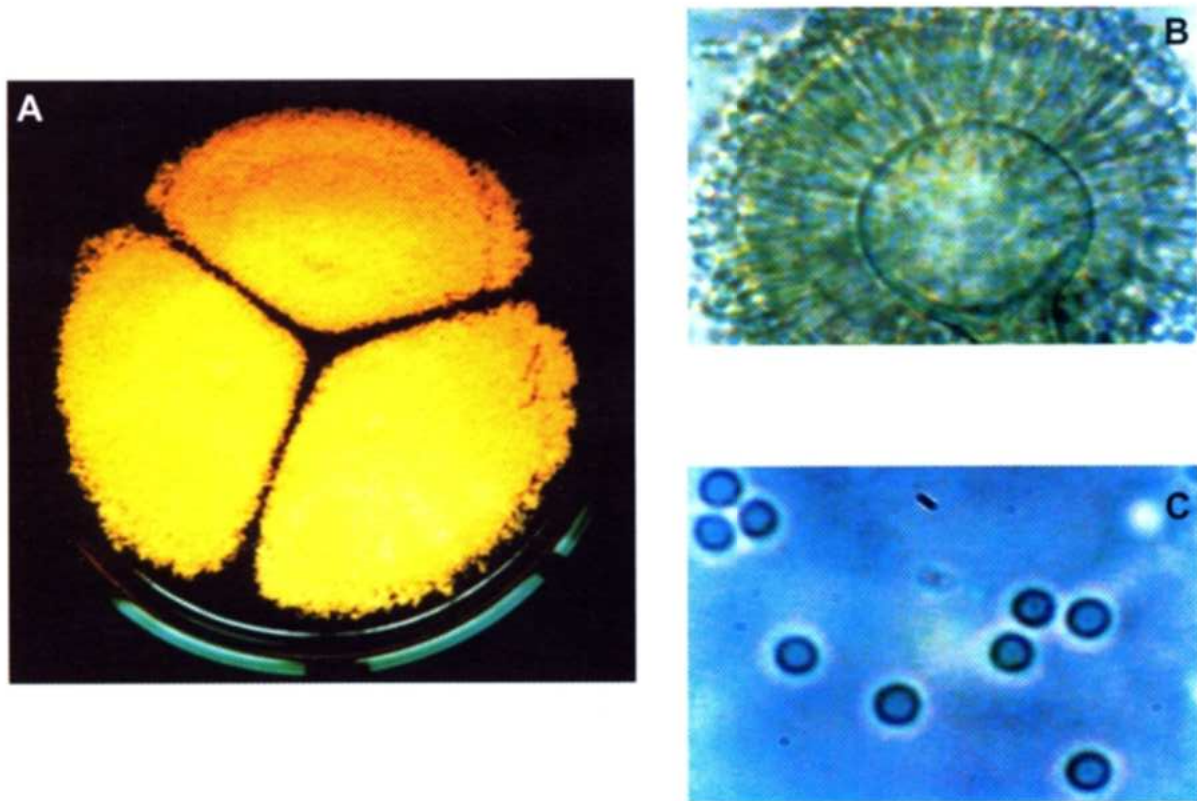


Fig. 14. *A. lanosus*: a) colônias em CYA de coloração amarelo-forte a amarelo-cádmio; b) cabeça conidial bisseriada, ampliada 800 vezes; c) conídios globóides e lisos, ampliados 1.500 vezes.

Aspergillus melleus Yukawa

As colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro superior a 5,0 cm, apresentando coloração amarelo-ocre, reverso pálido, com tons verde-amarelados, presença de escleródios em abundância, de cor amarelo-puro, que ganham tons vermelho-alaranjados com o passar da idade. Desenvolvimento em CYA a 37°C, com diâmetro que varia de 0,60 a 0,85 cm. Em MEA, colônias ocre mais claras, com diâmetro acima de 5,0 cm, reverso predominantemente ocre, alguns apresentando tons verdes.

Cabeça conidial bisseriada, com métulas medindo de 8 a 12 μm e fiálides de 5,0 a 8,0 μm , vesículas globosas e subglobosas variando de 24 a 31 μm , conídios finamente rugosos, globosos a subglobosos, com 3,0 a 4,0 μm de diâmetro. Conidióforos rugosos, medindo de 600 a 1.600 μm .

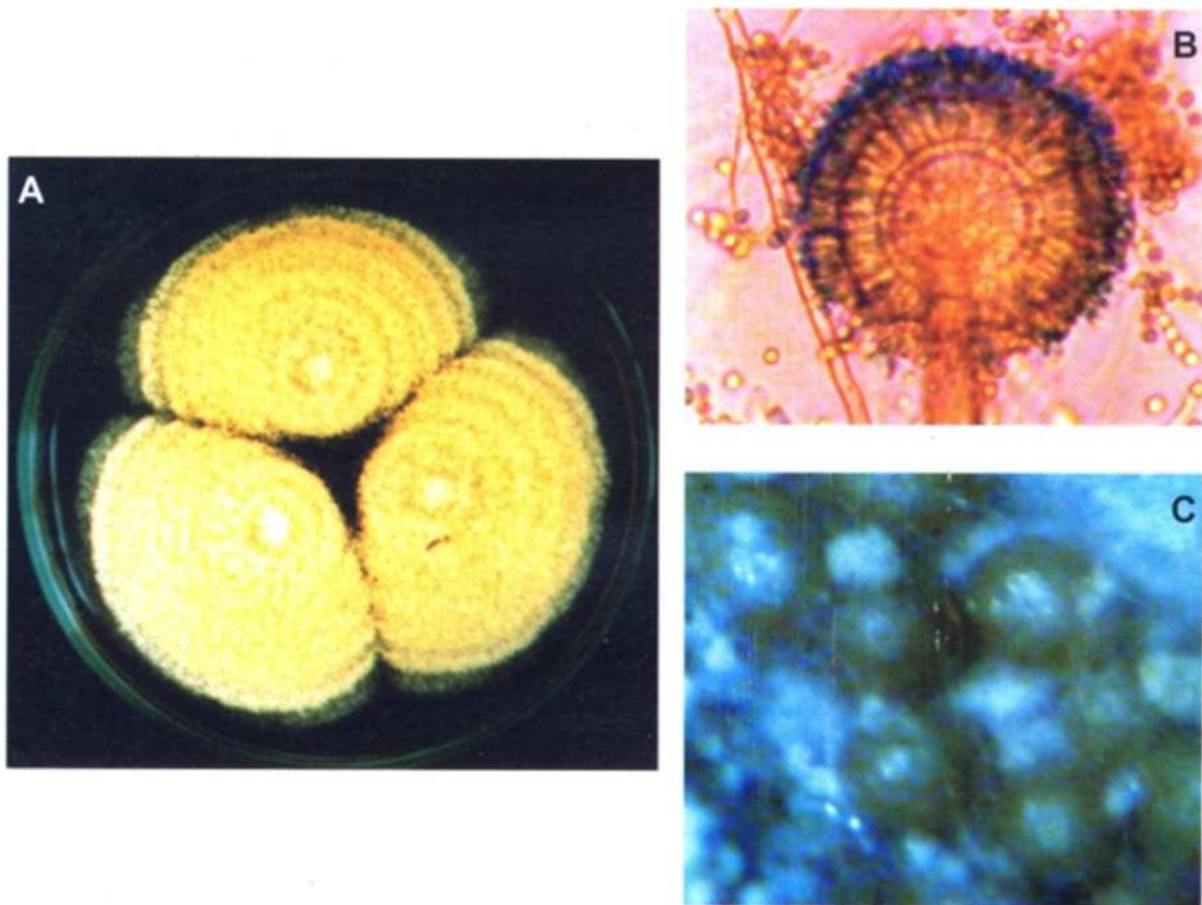


Fig. 15. *A. melleus*: a) colônias em CYA de coloração amarelo-ocre; b) cabeça conidial bisseriada, ampliada 500 vezes; c) escleródios amarelo-puros, ampliados 20 vezes.

Aspergillus ochraceus Wilhelm

As colônias sobre CYA a 25°C apresentam um diâmetro que varia de 4,8 a mais que 5,0 cm, apresentando coloração ocre no centro, micélio de creme a esverdeado quando presente, colônias com aspecto sulcado e reverso pálido, em tons verde-amarelados a marrom-escuros; presença de escleródios cor de vinho a púrpura em quase todos os isolados, em média após 12 dias de incubação. Nenhum dos isolados desenvolveu em CYA a 37°C. Em MEA, colônias ocre mais claras, com diâmetro acima de 5,0 cm. Poucos isolados apresentaram micélio de coloração branca a esverdeada, reverso predominantemente incolor, alguns expressando tons amarelo-esverdeados no centro.

Cabeça conidial bisseriada, com métulas medindo de 10 a 14 μm e fiálides de 8 a 11 μm , vesículas globosas variando de 23 a 70 μm , conídios finamente rugosos, pequenos e globosos, com 2,0 a 3,5 μm de diâmetro. Conidióforos rugosos, de 400 a 1.515 μm .

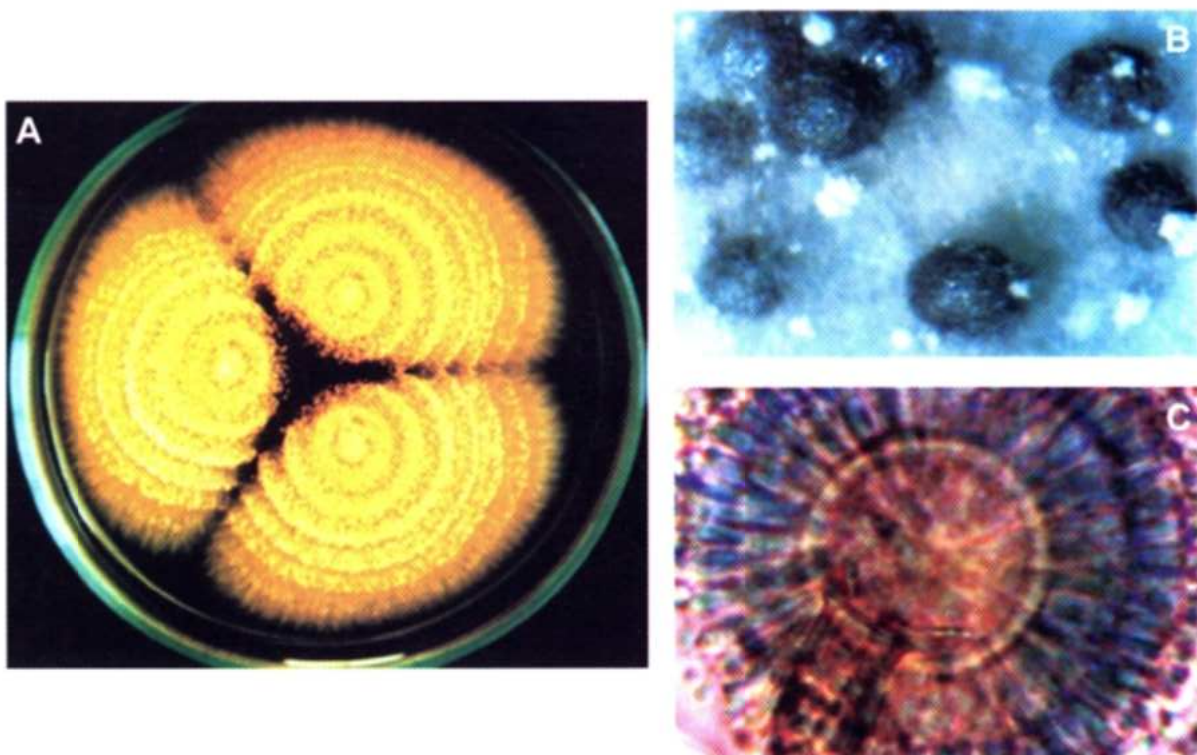


Fig. 16. *A. ochraceus*: a) colônias em CYA de coloração ocre; b) escleródios de cor creme a amarelo-dourada, ampliados 20 vezes; c) cabeça conidial bisseriada, ampliada 500 vezes.

Aspergillus ostianus Wehmer

As colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro que varia de 4,8 a 5,4 cm, apresentando coloração ocre mais forte no centro da colônia e tons amarelados nas bordas, pouco micélio branco, que desaparece com a idade, colônias com aspecto levemente sulcado e reverso creme, exsudato de coloração âmbar em abundância sob a massa de cabeças conidiais, e presença, em pequena quantidade, de escleródios amarelos. Não desenvolveu em CYA a 37°C. Em MEA, as colônias têm coloração ocre-claro, tendendo a amarelado, com diâmetro aproximado de 6,0 cm, e reverso incolor.

Cabeça conidial bisseriada, com métulas medindo em torno de 13 µm e fiálides em torno de 8 µm, vesículas globosas para levemente alongadas, variando de 19 a 33 µm, conídios globosos a subglobosos, de textura finamente rugosa e com um diâmetro de 3,5 a 4,0 µm. Conidióforos lisos a finamente rugosos, com 575 a 840 µm de comprimento.

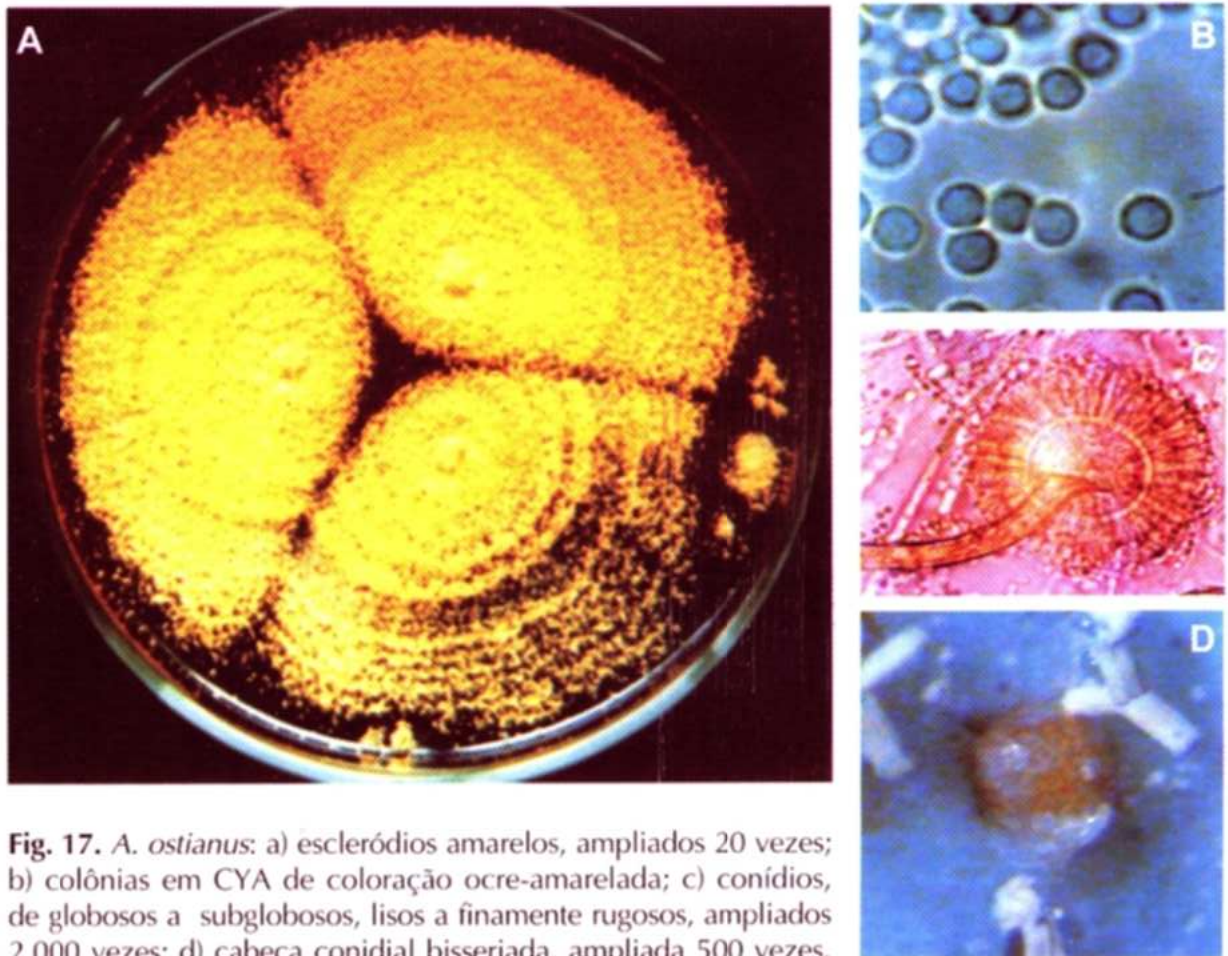


Fig. 17. *A. ostianus*: a) escleródios amarelos, ampliados 20 vezes; b) colônias em CYA de coloração ocre-amarelada; c) conídios, de globosos a subglobosos, lisos a finamente rugosos, ampliados 2.000 vezes; d) cabeça conidial bisseriada, ampliada 500 vezes.

Aspergillus petrakii Vörös

As colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro superior a 5,0 cm aos 7 dias, apresentando coloração ocre-amarelada, colônias planas e reverso pálido, e ausência de escleródios. Em CYA a 37°C, colônias com 1,2 cm de diâmetro, de coloração creme e reverso pálido. Em MEA, colônias ocre, com diâmetro superior a 5,0 cm.

Cabeça conidial bisseriada, com métulas medindo em torno de 9,0 µm de comprimento e fiáldes entre 10 e 11 µm; vesículas globosas variando de 25 a 32 µm, conídios lisos, subglobosos a elipsoidais, de comprimento variado (3,0 x 3,5 / 3,0 x 4,0 / 3,5 x 4,0 / 4,0 x 5,0). Conidióforos lisos, de 450 a 575 µm.

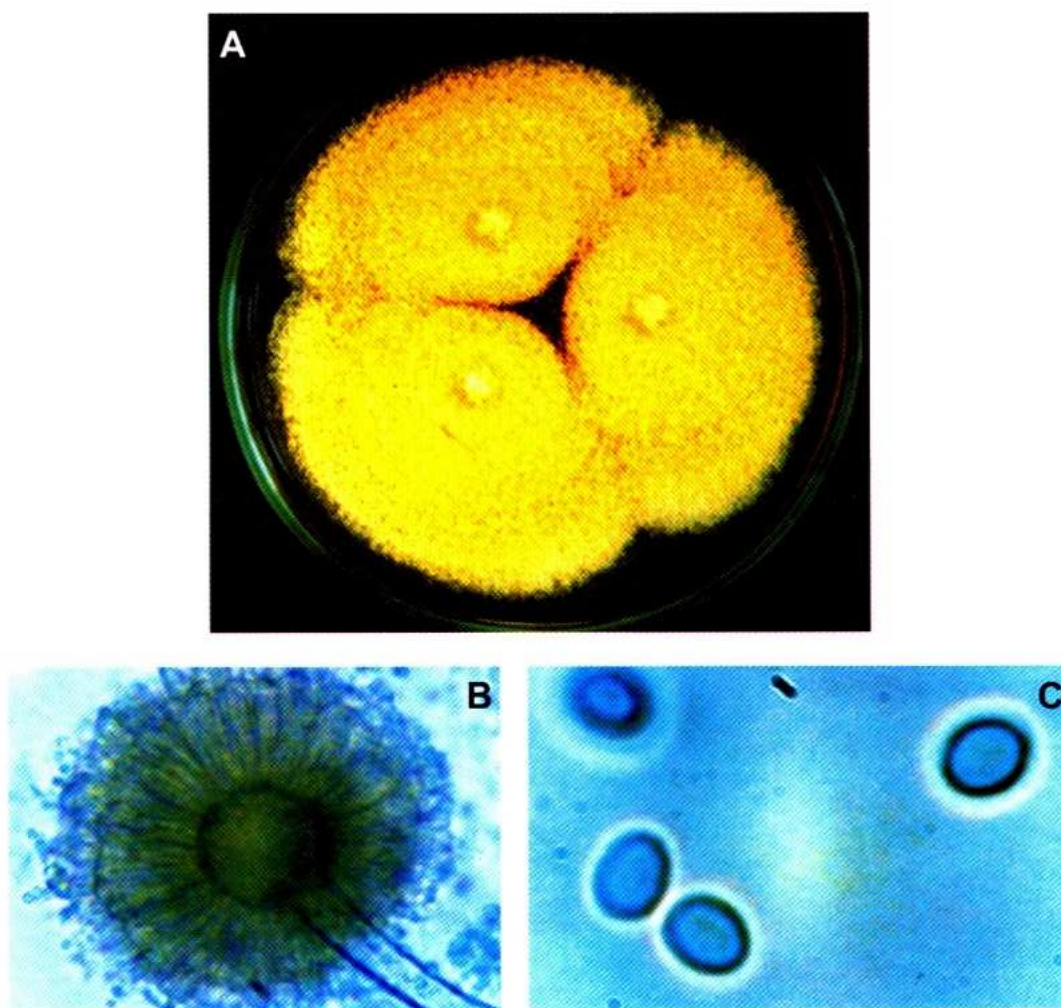


Fig. 18. *A. petrakii*: a) colônias em CYA de coloração ocre-amarelada; b) cabeça conidial bisseriada, ampliada 500 vezes; c) conídios subglobóides a ovóides, lisos, ampliados 2.000 vezes.

Aspergillus sclerotiorum G. A. Huber

As colônias sobre CYA a 25°C atingem um diâmetro de 4,8 a 5,4 cm aos 7 dias, apresentando coloração ocre, colônias com aspecto pouco sulcado e reverso pálido, em tons marrom-claros, presença de escleródios amarelados nos primeiros dias de incubação e, posteriormente, levemente coloridos. Cadeia de conídios aderidos em cadeias duplas, bifurcando nas extremidades, até 10 a 12 dias. Desenvolvimento em CYA a 37°C, de colônias creme, com diâmetro de 0,6 cm, embora um isolado não tenha desenvolvido nessa temperatura. Em MEA, colônias e reverso ocre, com diâmetro superior a 5,0 cm.

Cabeça conidial bisseriada, com métulas medindo de 11 a 13 µm e fiálides de 8 a 9 µm, vesículas globosas variando de 26 a 43 µm, conídios finamente rugosos, globosos a subglobosos, variando de 2,5 a 3,0 µm. Conidióforos rugosos, de 550 a 750 µm de comprimento.

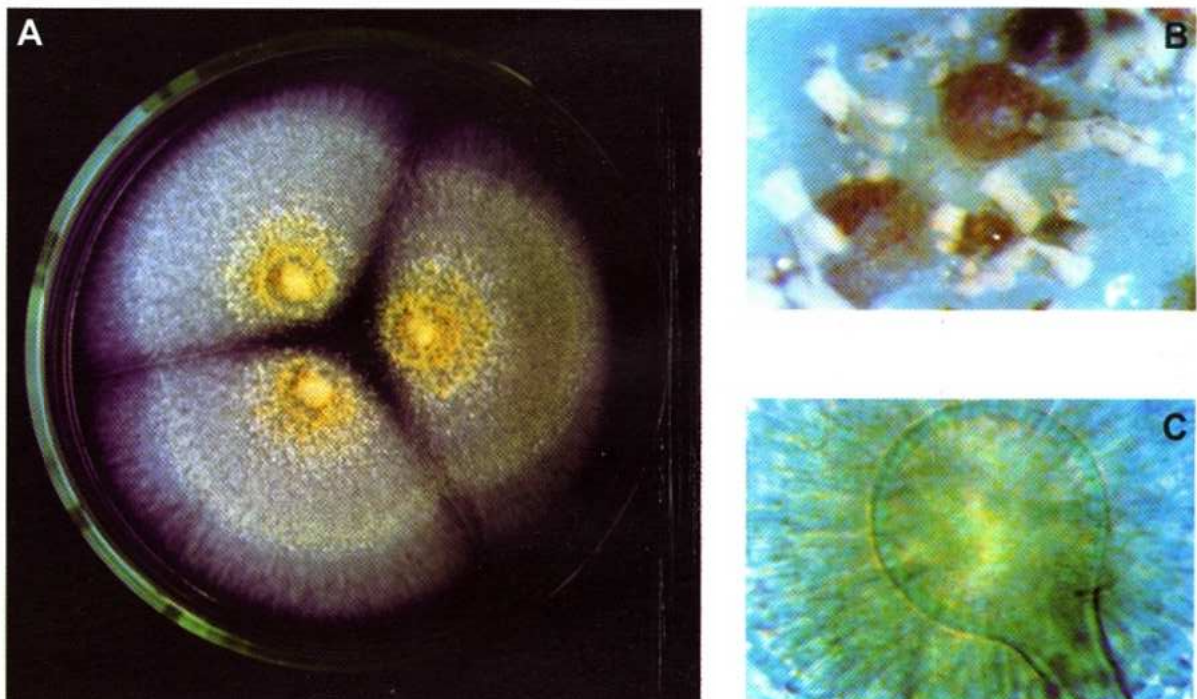


Fig. 19. *A. sclerotiorum*: a) colônias em CYA de coloração ocre, micélio em tom creme; b) escleródios amarelos a levemente coloridos, ampliados 20 vezes; c) cabeça conidial bisseriada, ampliada 500 vezes.

Aspergillus sulphureus (Fres.) Wehmer

As colônias sobre CYA a 25°C têm mais que 5 cm de diâmetro, apresentando coloração ocre-amarelada, micélio em tons creme quando presente, colônias com aspecto sulcado e reverso pálido, tendendo a amarelo, presença de escleródios amarelo-dourados em grande quantidade, com formação logo nos primeiros dias de incubação. Desenvolvimento em CYA a 37°C, variando de 0,55 a 1,00 cm, com coloração e reverso pálidos, próximo a amarelo. Em MEA, colônias ocre-amareladas, com diâmetro acima de 5 cm, reverso predominantemente ocre, tendo alguns tons de amarelo.

Cabeça conidial bisseriada, com métulas medindo de 6 a 10 μm e fiáldes de 7 a 12 μm , vesículas globosas variando de 22 a 34 μm , conídios pequenos, de forma variada (globosos, subglobosos e elipsoidal), lisos a finamente rugosos, medindo, predominantemente, 3 a 4 μm de diâmetro. Conidióforos finamente rugosos, de 275 a 830 μm de comprimento.

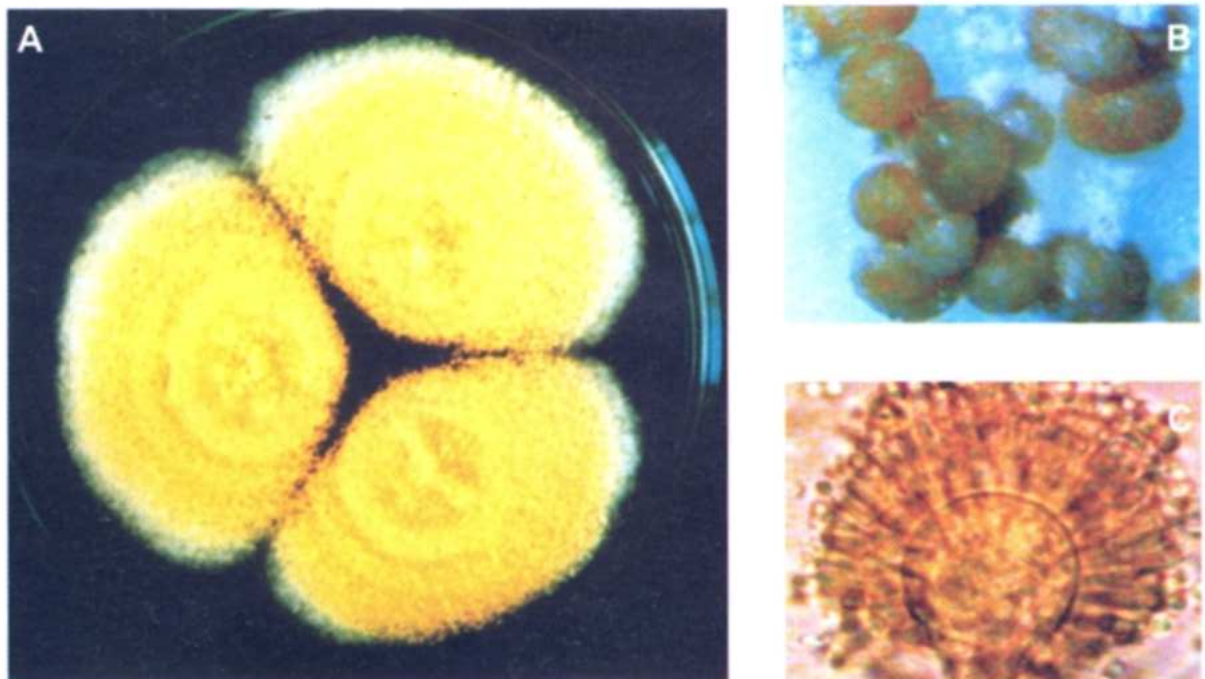


Fig. 20. *A. sulphureus*: a) colônias em CYA de coloração ocre-amarelada; b) escleródios amarelo-dourados, formados nos primeiros dias de incubação, ampliados 20 vezes; c) cabeça conidial bisseriada, ampliada 500 vezes.

Gênero *Aspergillus*, subgênero *Circumdati*, seção *Flavi*

As espécies de fungos pertencentes à Seção *Flavi* são as principais responsáveis pela presença de aflatoxina A em alimentos. Atualmente, as espécies consideradas como produtoras de aflatoxina são: *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*, *A. bombycis* e *A. pseudotamarii* (Peterson et al., 2001). Algumas espécies dessa Seção estão extensamente distribuídas na natureza. São isoladas de solo, particularmente das áreas tropicais e subtropicais, das florestas, de grãos, das sementes estocadas e de vários tipos de alimentos. Também contribuem para o processo de decomposição em níveis de umidade superior aos toleráveis por fungos extremamente xerofílicos (Raper & Fennell, 1965).

A. tamarii e *A. flavus* têm sido isolados de frutos e grãos de café (Mislivec et al., 1983; López Garay et al., 1987; Bucheli et al., 1998; Batista, 2000).

A presença de *A. flavus* em grãos de café alerta sobre uma possível presença de aflatoxinas no produto, considerando que essa espécie pode ser produtora dessas micotoxinas. Haverá risco, por exemplo, cada vez que ocorrer condições nutricionais e ambientais favoráveis ao desenvolvimento do fungo. No entanto, estudos realizados por Scott (1968), Tsubouchi et al. (1984) e Nakajima et al. (1997) mostram resultados que constatarem baixos riscos da presença de aflatoxinas em grãos de café: de dez amostras de grãos de café de origem brasileira analisadas por Nakajima et al. (1997), em nenhuma delas foi detectada a presença de aflatoxinas.

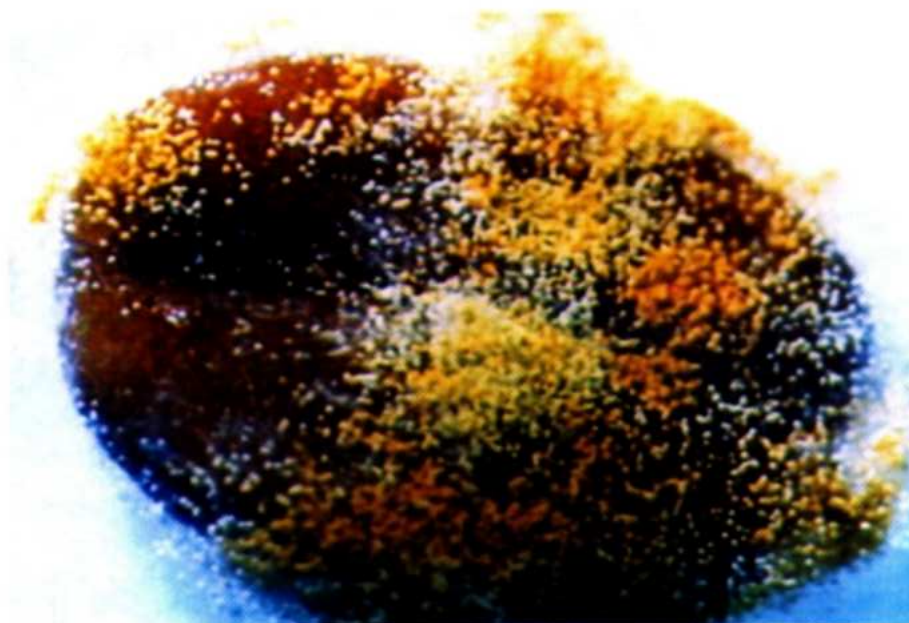


Fig. 21. *A. flavus* em grãos de café artificialmente contaminados, após 5 dias de incubação, a 25°C.

Aspergillus flavus Link

As colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro superior a 5,0 cm, coloração de verde-amarelada a verde-escura, reverso amarelo-pálido e às vezes acinzentado; presença de escleródios pretos, cobertos com um amontoado de hifas, em poucos isolados. Desenvolvimento em CYA a 37°C, variando de 4,6 a 5,0 cm, de coloração esverdeada, reverso variando de amarelo-pálido a cinza-claro. Em MEA, colônias de verde-claras a verde-amareladas, com diâmetro superior a 5,0 cm, ralas, e reverso predominantemente incolor.

Cabeça conidial predominantemente bisseriada, com métulas medindo de 9 a 19 μm e fiálides de 6 a 10 μm ; nos esterigmas monosseriados, as fiálides entre 10 e 12 μm , vesículas globosas, subglobosas e poucas alongadas, variando de 28 a 73 μm , sendo as vesículas menores as mais alongadas, conídios verdes, globosos a subglobosos, a maioria finamente rugosos, com um diâmetro de 3,5 a 6,0. Conidióforos rugosos, com de 700 a 1.695 μm de comprimento – a maioria medindo entre 1.000 e 1.300 μm .

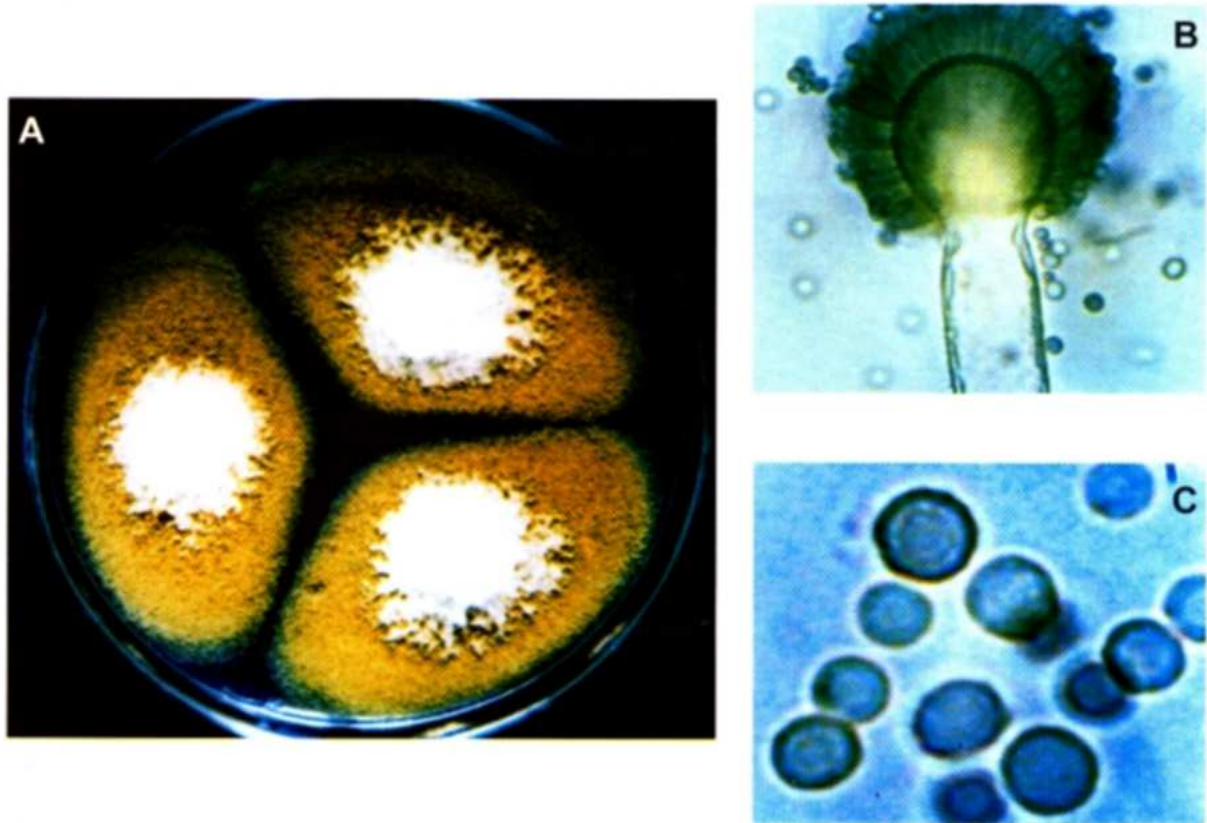


Fig. 22. *A. flavus*: a) colônias em CYA de coloração verde-amarelada; b) cabeça conidial bisseriada, ampliada 500 vezes; c) conídios globosos a subglobóides, finamente rugosos, ampliados 2.000 vezes.

Aspergillus tamaris Kita

As colônias sobre CYA a 25°C, cujo diâmetro varia de 4,8 cm a mais que 5,0 cm, apresentam coloração verde-amarronzada a marrom até 7 dias, mas ganham um tom marrom-escuro após 15 dias de incubação. Há poucos isolados com micélio branco, reverso acinzentado, levemente marrom. Desenvolvimento em CYA a 37°C, variando de 4,2 a 5,0 cm, colônias marrons, com tons verdes e amarelos, e mais compactas, com reverso marrom. Em MEA, as colônias têm coloração marrom, com diâmetro superior a 5,0 cm, reverso ralo e incolor. Esterigmata predominantemente bisseriada e poucas unisseriadas, com métulas medindo de 8 a 14 μm e fiálides de 8 a 11 μm , vesículas globosas, subglobosas e alongadas, variando

de 17 a 39 μm , conídios marrons, distintamente rugosos, globosos e subglobosos, com 5,0 a 7,0 μm de diâmetro. Conidióforos espinhosos e longos, medindo acima de 810 μm .

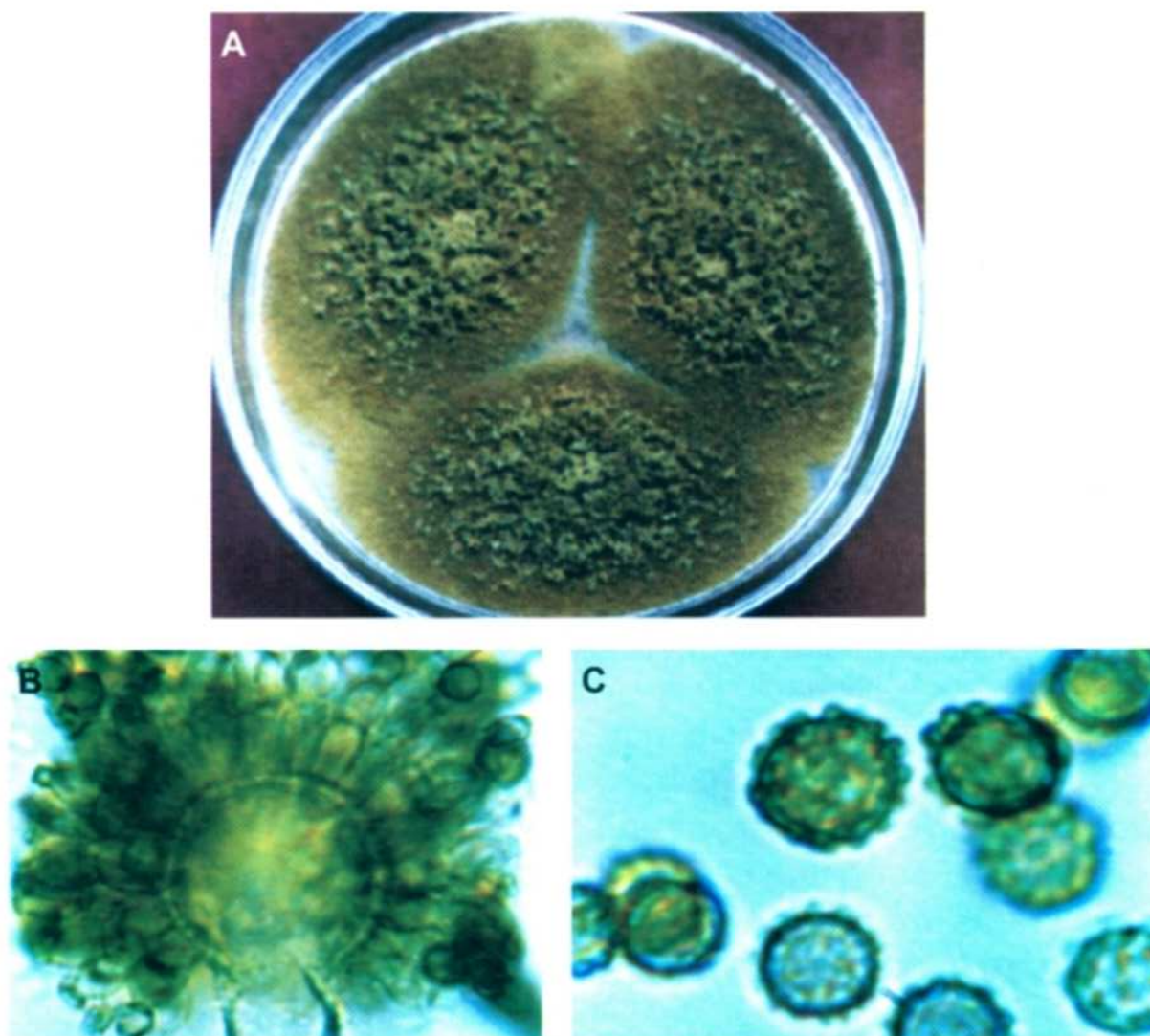


Fig. 23. *A. tamarii*: a) colônias em CYA, de coloração marrom a verde-amarronzada; b) cabeça conidial bisseriada, ampliada 800 vezes; c) conídios marrons, distintamente rugosos, ampliados 2.000 vezes.

Gênero *Aspergillus*, subgênero *Circumdati*, seção *Nigri*

As espécies de *Aspergillus* pertencentes à Seção *Nigri* são fungos cosmopolitas, com grande impacto na sociedade moderna (Varga et al., 2000a; Accenci et al., 1999). Algumas espécies são responsáveis pela deterioração de alimentos, enquanto outras são usadas na indústria de fermentação para a produção de diferentes enzimas hidrolíticas, tais como amilases e lipases, e ácidos orgânicos, como ácido cítrico e ácido glucônico (Varga et al., 2000a). Há isolados de *Aspergillus niger* modificados geneticamente e aceitos como GRAS (Generally Regarded as Safe – Geralmente Reconhecido como Seguro) pelo Food and Drug Administration – FDA –, órgão governamental dos Estados Unidos (Varga et al., 2000a). Entretanto, nos últimos anos, algumas espécies têm sido mencionadas como produtoras de ocratoxina A (Abarca et al., 1994; Nakajima et al., 1997), com destaque especial para o *Aspergillus carbonarius*, como possível fonte de ocratoxina A nos alimentos de países tropicais e subtropicais (Pitt et al., 2000).

Estudos realizados por Batista (2000), Nakajima et al. (1997) e Tsubouchi et al. (1984) indicam a Seção *Nigri* (Grupo *A. niger*) como a predominante nas amostras de grãos de café. De acordo com Batista (2000), 3 isolados de *Aspergillus foetidus*, 18 de *Aspergillus niger* var. *awamori* e 7 de *Aspergillus niger* var. *niger* não produziram ocratoxina A, tendo sido, todos esses fungos, isolados de grãos de café beneficiado. As espécies da Seção *Nigri* já foram associadas a cafés classificados como de qualidade inferior, sendo atribuído ao

Aspergillus niger os efeitos deletérios sobre a qualidade organoléptica do café (Carvalho et al., 1997).

A identificação das espécies da Seção *Nigri* foi baseada em características morfológicas, como as descritas por Klich & Pitt (1988b). A nomenclatura desta Seção também vem sendo revisada, com base no seqüenciamento do gene mitocondrial citocromo c (Yokoyama et al., 2001) e do gene 5.8S rRNA, incluindo os espaços intergênicos ITS1 e ITS2 (Accenci et al., 1999), em outras técnicas da biologia molecular, como RFLP (Restriction fragment length polymorphisms), AFLP (Amplified fragment length polymorphisms) e Micovirus (Varga et al., 2000a; Parenicova et al., 2000), além da morfologia dos conídios, utilizando-se a Microscopia Eletrônica (Varga et al., 2000a).

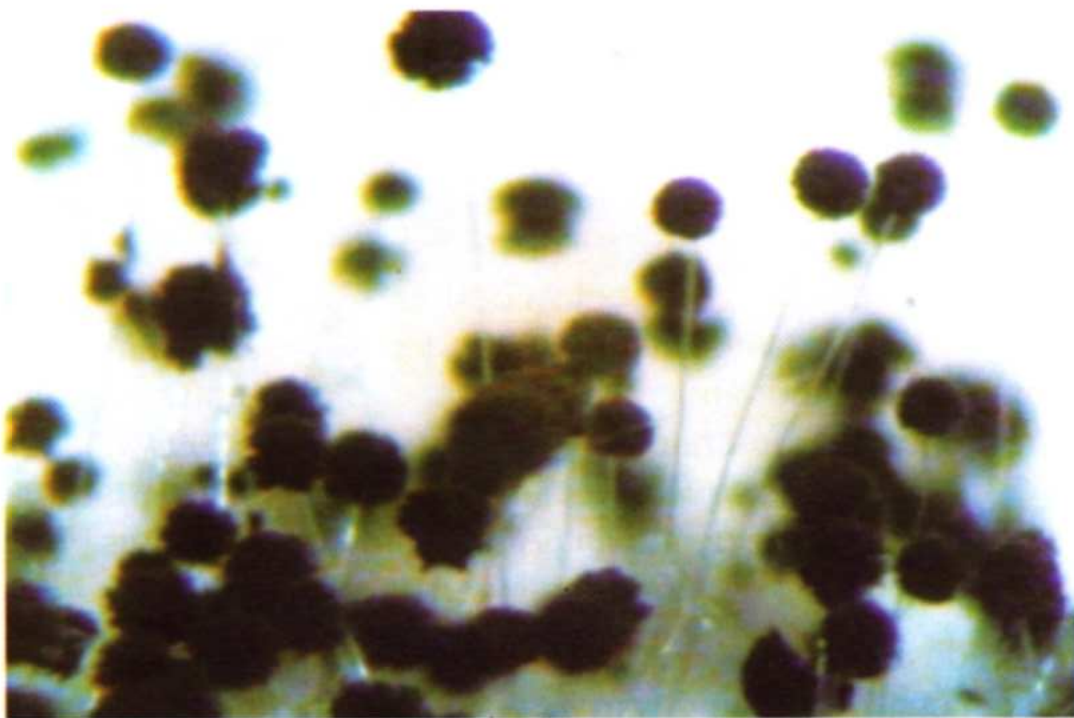


Fig. 24. Conidióforos de *A. niger* sobre um grão de café.

Aspergillus carbonarius (Bainier) Thom

Colônias sobre CYA superior a 6,0 cm de diâmetro, de coloração preta, com reverso pálido e compacto. Desenvolvimento reduzido em CYA a 37°C, em torno de 1,2 a 2,4 cm de diâmetro, presença de micélio branco com reverso compacto, centro da colônia escuro (preto). Em MEA, colônias pretas, com 6,0 cm de diâmetro, presença de escleródios em tons de amarelo-escuro e reverso ralo e incolor.

Cabeça conidial bisseriada, métulas com 20 a 40 μm de comprimento e fiálides de 8 a 10 μm , vesículas globosas variando de 50 a 85 μm de diâmetro, conídios distintamente rugosos, de cor preta e de forma variando entre globosa e barril, medindo em média de 6 a 10 μm de diâmetro. Conidióforos lisos, com paredes grossas, a maioria medindo entre 1.300 e 1.500 μm .

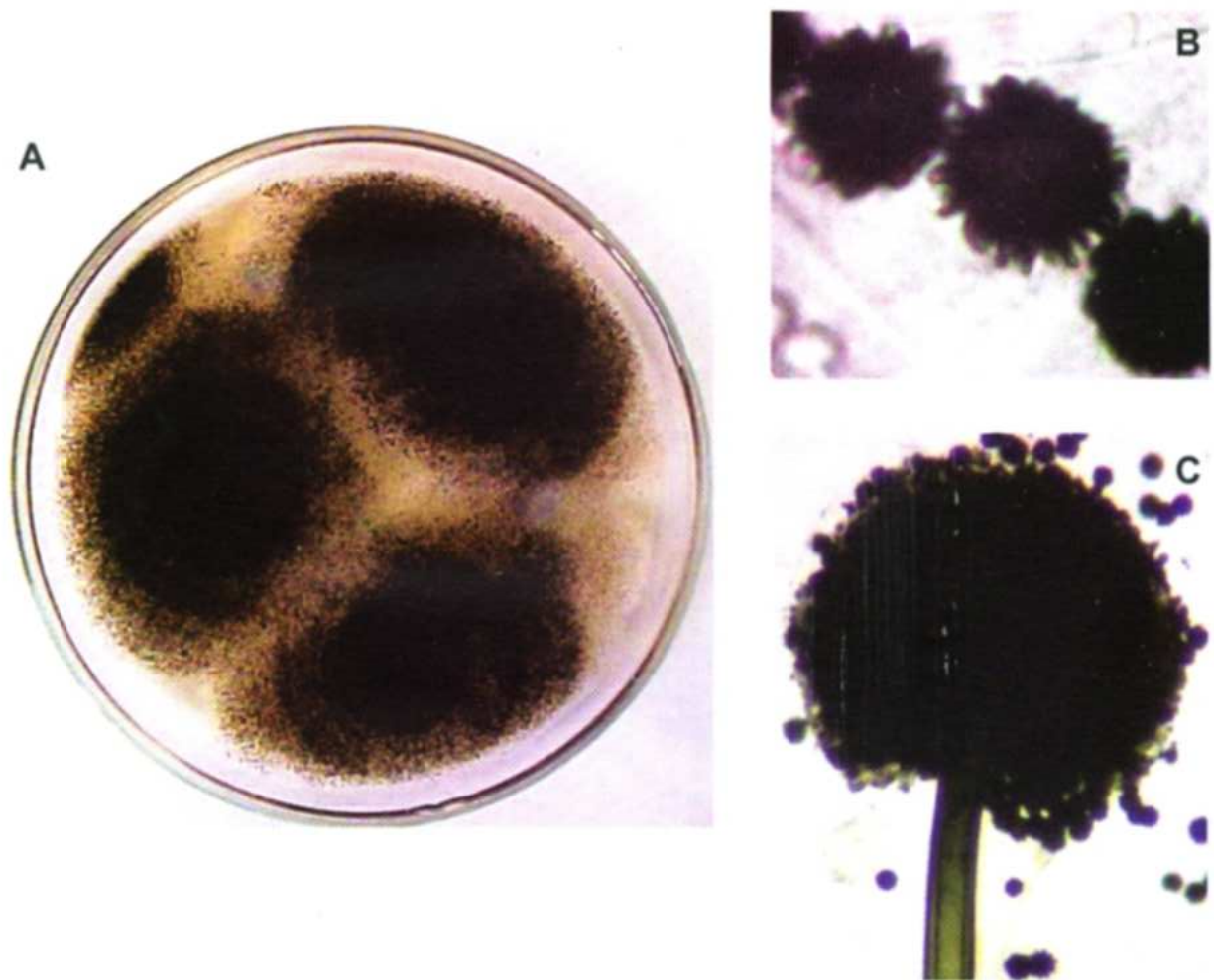


Fig. 25. a) *A. carbonarius* (Bainier) Thom; b) conidióforos ampliados 500 vezes; c) conídios ampliados 3.500 vezes.

Aspergillus foetidus Thom & Raper

Colônias sobre CYA com diâmetro superior a 6,0 cm, de coloração marrom muito escuro, bem próximo do preto, com reverso pálido e levemente compacto. Ótimo desenvolvimento em CYA a 37°C, diâmetro superior a 6,0 cm, presença de micélio branco com reverso compacto, centro da colônia escuro (preto). Em MEA, colônias pretas com 6,0 cm de diâmetro e reverso constantemente ralo e incolor.

Cabeça conidial bisseriada, métulas com 10 a 12 μm de comprimento e fiálides de 8 a 10 μm , vesículas globosas com diâmetro variando de 30 a 60 μm , conídios lisos a finamente rugosos, de cor preta e cuja forma varia de globosa à de barril, cujo diâmetro, em média, varia de 3 a 4 μm . Conidióforos lisos, medindo, na maioria, entre 450 e 700 μm .

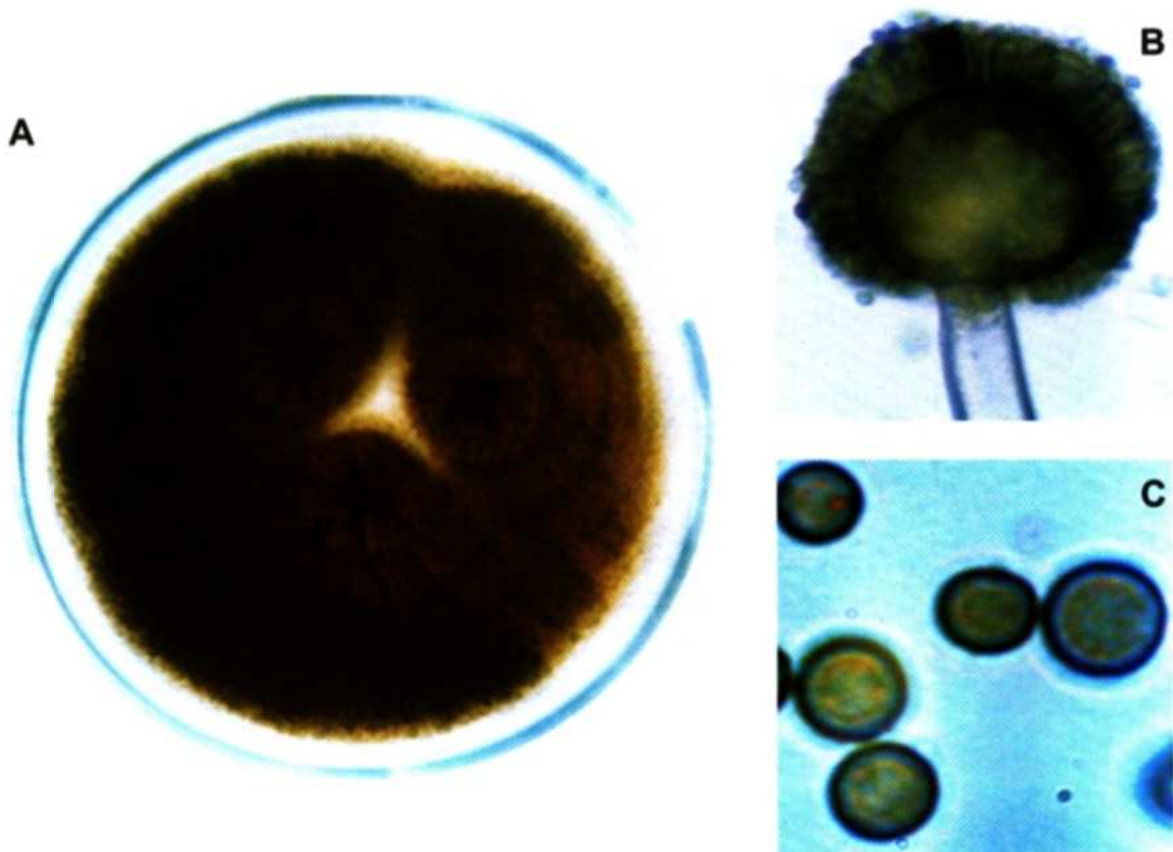


Fig. 26. A. *foetidus*: a) colônias em CYA, de coloração marrom muito escura; b) cabeça conidial bisseriada, ampliada 500 vezes; c) conídios globosos a subglobosos, lisos, ampliados 3.500 vezes.

Aspergillus japonicus Saito var. *aculeatus* (Iizuka) Al-Musallam

As colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro superior a 6,0 cm, coloração marrom muito escura, com tons acinzentados, com reverso pálido, em tons amarelos. Em CYA a 37°C, ocorre desenvolvimento em torno de 2,0 a 3,0 cm. Em MEA, colônias marrom-escuras, próximo a pretas, com 6,0 cm de diâmetro, e reverso constantemente ralo e incolor.

Cabeça conidial unisseriada com fiálides de 6 a 10 μm , vesículas subglobosas cujo diâmetro varia de 30 a 80 μm , de conídios espinhosos (equinulados), de cor preta e de forma globosa a elipsoidais, com um diâmetro, em média, de 3,5 a 5,0 μm . Conidióforos lisos, medindo, a maioria, entre 500 e 1.700 μm .

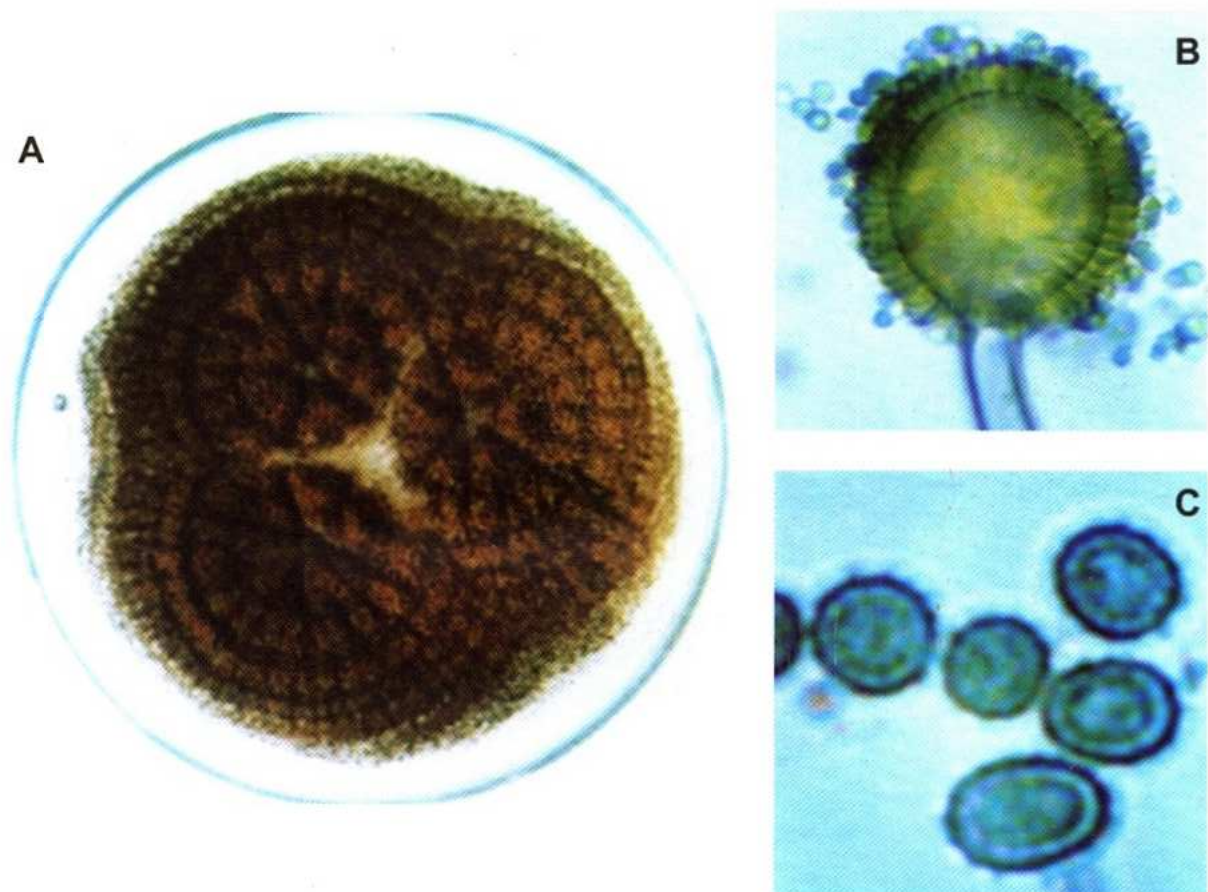


Fig. 27. *A. japonicus* var. *aculeatus*: a) colônias em CYA de coloração marrom-escura; b) cabeça conidial unisseriada, ampliada 500 vezes; c) conídios espinhosos, ampliados 2.500 vezes.

Aspergillus niger van Tieghem var. *awamori* (Nakazawa) Al-Musallam

As colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro superior a 6,0 cm, coloração marrom-escura, tendendo a preta, e micélio branco presente. Ótimo desenvolvimento em CYA a 37°C, acima de 6,0 cm de diâmetro. Forma de desenvolvimento variando de radial a compactado e, em alguns casos, com micélio branco, constatando-se que os isolados que cresceram de forma radial não produziram micélio branco; reverso em CYA, variando de pouco a densamente compacto e coloração pálida. Em MEA, colônias pretas com 6,0 cm de diâmetro e reverso constantemente ralo e incolor.

Cabeça conidial bisseriada, com longas métulas, medindo de 10 a 15 μm e fiálides medindo entre 7 e 8 μm , vesículas globosas com diâmetro variando de 40 a 60 μm , conídios globosos pretos, finamente rugosos, com 4 a 5 μm de diâmetro. Conidióforos lisos, geralmente com 750 a 1.200 μm de comprimento.

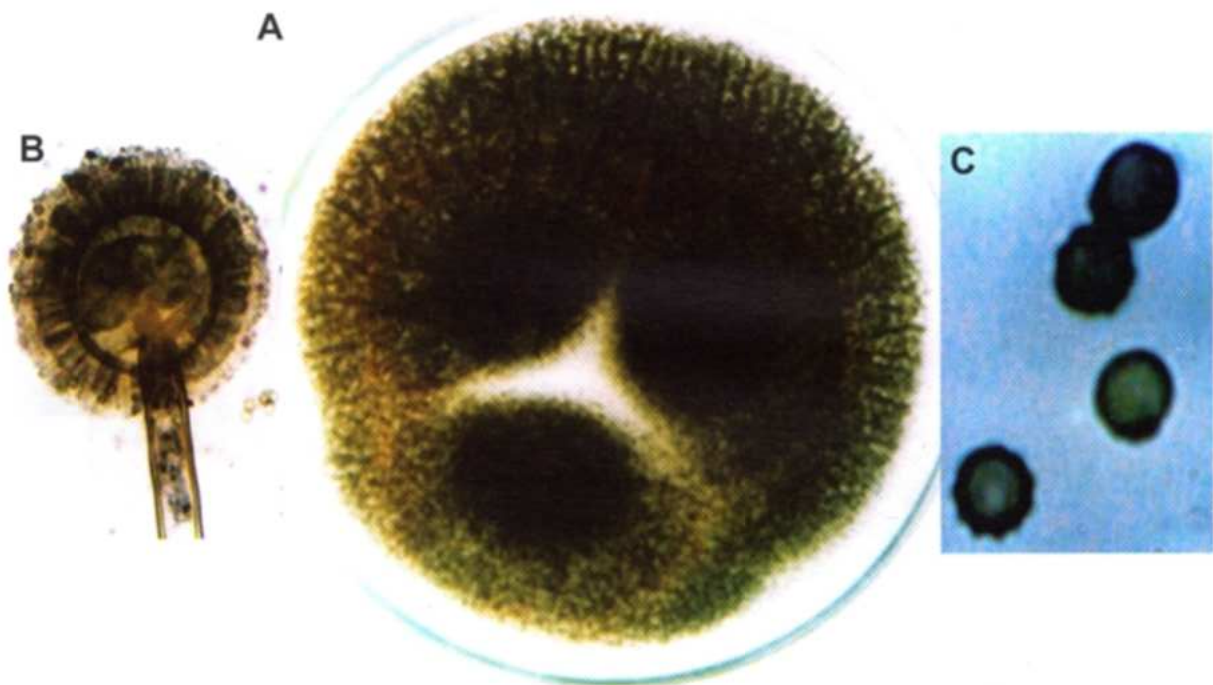


Fig. 28. *A. niger* var. *awamori*: a) colônias em CYA, de cor preta; b) cabeça conidial bisseriada, ampliada 800 vezes; c) conídios globosos a subglobosos, finamente rugosos, ampliados 2.000 vezes.

Aspergillus niger van Tieghem var. *niger*

As colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro superior a 6,0 cm, coloração preta e, às vezes, marrom muito escura. Ótimo desenvolvimento em CYA a 37°C, quando o diâmetro é superior a 6 cm. A forma de desenvolvimento varia de radial a compactada e, em alguns casos, com micélio branco, constatando-se que os isolados que cresceram de forma radial não produziram micélio branco; reverso em CYA, variando de pouco a densamente compacto, com coloração pálida; em MEA, colônias pretas com 6,0 cm de diâmetro e reverso constantemente ralo e incolor.

Cabeça conidial bisseriada, com longas métulas (12 a 14 μm) e fiálides curtas (6 a 7 μm) e arredondadas, vesículas globosas, com diâmetro de 37 a 65 μm , conídios pretos, de formas variadas, de 4 a 5 μm , distintamente rugosos. Conidióforos lisos, de 800 a 1.230 μm .

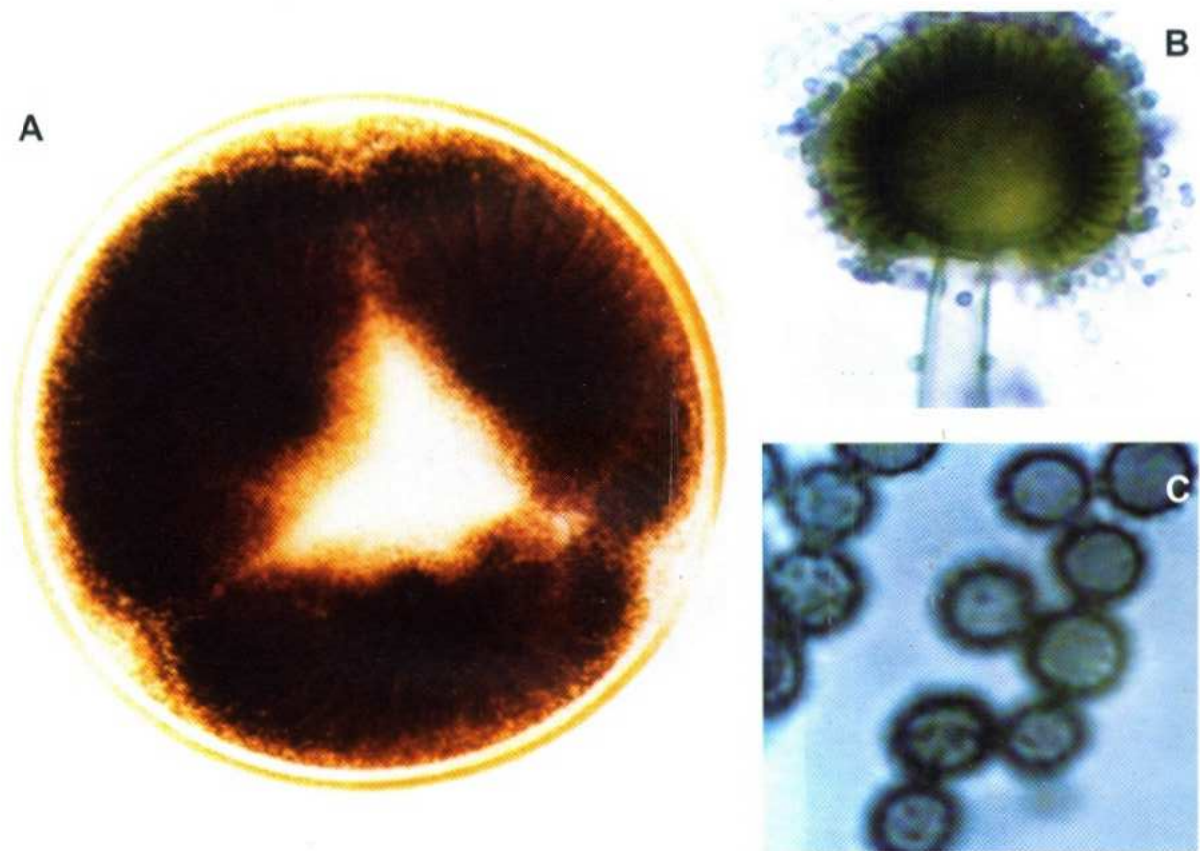


Fig. 29. *A. niger* var. *niger*: a) colônias em CYA, de coloração preta a marrom-escura; b) cabeça conidial bisseriada, ampliada 800 vezes; c) conídios subglobóides e rugosos, ampliados 2.000 vezes.

Gênero *Aspergillus*, subgênero *Circumdati*, seção *Versicolores*

Das espécies de *Aspergillus* pertencentes à Seção *Versicolores*, o *Aspergillus sydowii* e o *Aspergillus versicolor* parecem ser as espécies que estão mundialmente distribuídas na natureza (Raper & Fennell, 1965). Em virtude de seu pobre desenvolvimento e de sua natureza xerofílica, as duas espécies são muito pouco encontradas em estudos de população fúngica (ICMSF, 1996). O ambiente mais comum para as espécies da Seção *Versicolores* é o seguinte: solo e vegetação em decomposição e em grãos armazenados. Outras espécies, além do *Aspergillus sydowii* e do *Aspergillus versicolor*, parecem ter origem tropical e subtropical (Raper & Fennell, 1965).



Fig. 30. Vesícula bisseriada de *A. caespitosus* isolado de grãos de café.

As espécies *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus caespitosus* e *Aspergillus granulosis* são fungos típicos de solo, sendo detectados tanto em solo do deserto como em minas de urânio e na rizosfera de plantas e sementes (Domsch et al., 1980). Isolados de *Aspergillus sydowii* e *Aspergillus versicolor* foram detectados em grãos de café por Abdel-Hafez & El-Maghraby (1992) e Mislivec et al. (1983). Batista et al. (2001) identificaram, além do *Aspergillus versicolor* e do *Aspergillus sydowii*, o *Aspergillus caespitosus* e o *Aspergillus granulosis*, todos em grãos de café armazenados, porém em pequena quantidade.

***Aspergillus sydowii* (Bain. & Sart.) Thom & Church**

As colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro que varia de 3,0 a 3,1cm, coloração verde-azulada, com micélio branco, reverso da colônia vermelho-amarronzado e pigmentação solúvel, amarronzada. Desenvolvimento em CYA a 37°C variando de 1,2 a 1,7 cm, de coloração acinzentada, com micélio branco e exsudato vermelho-escuro. Em MEA, colônias azul-verde-acinzentadas, com diâmetro variando de 3,0 a 3,1 cm e reverso pálido.

Cabeça conidial predominantemente bisseriada, com métulas medindo de 6 a 7 μm e fiálides de 6 a 8 μm , vesículas subglobosas a alongadas, variando de 14 a 17 μm , conídios verdes, globosos a subglobosos e rugosos, com diâmetro entre 3,0 e 3,5 μm . Conidióforos lisos, incolores, com comprimento em torno de 300 μm . Estão presentes células Hülle globosas.



Fig. 31. Células Hülle (ampliadas 8.000 vezes) presentes em colônias de *A. sydowii*.

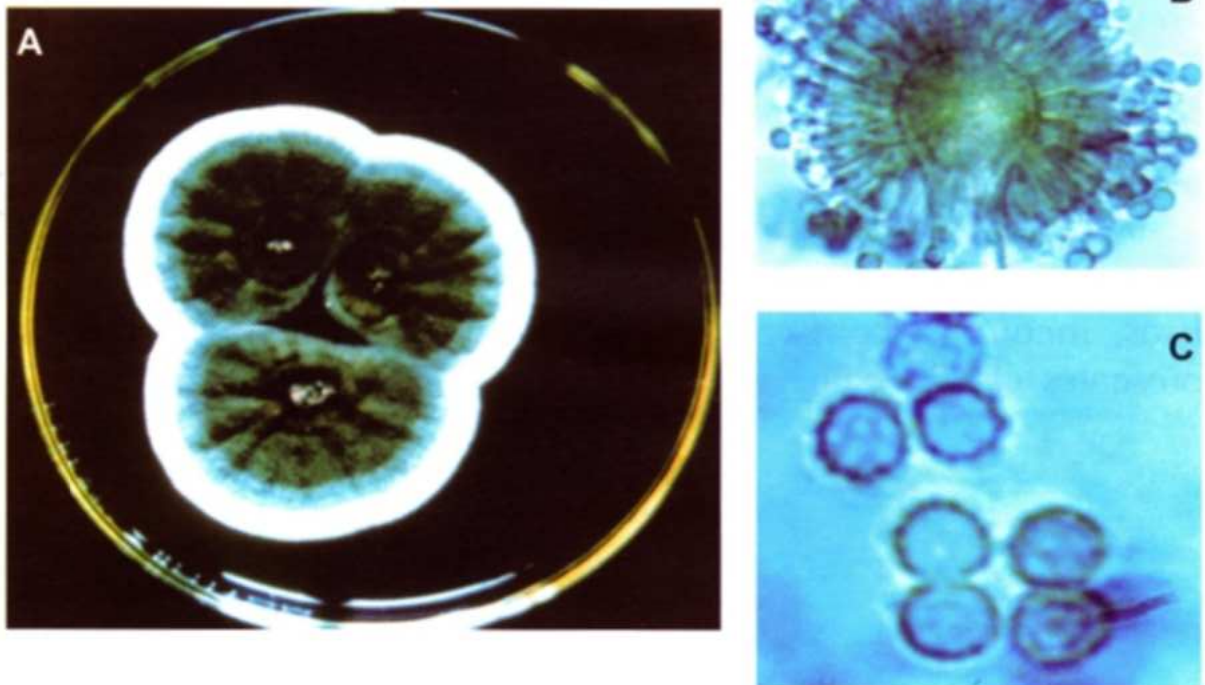


Fig. 32. *A. sydowii*: a) colônias em meio CYA, de coloração verde-azulada; b) cabeça conidial bisseriada, ampliada 1.250 vezes; c) conídios globosos e rugosos, ampliados 2.000 vezes.

***Aspergillus versicolor* (Vuill) Tirab**

O diâmetro das colônias sobre CYA a 25°C varia de 3,3 a 3,5 cm, coloração azulada com micélio branco, e reverso da colônia em tons alaranjados. Não cresceu em CYA a 37°C. Exsudato amarelado. Desenvolvimento e coloração em CYA20S a CYA a 25°C. Em MEA, colônias azul-verde-acinzentadas, com diâmetro entre 2,0 e 3,6 cm e reverso pálido.

Cabeça conidial predominantemente bisseriada, com métulas medindo entre 4 e 5 µm e fiálides de 5 a 7 µm, vesículas subglobosas a alongadas, variando de 12 a 17 µm, conídios verdes, globosos a subglobosos e finamente rugosos, com diâmetro entre 2,0 e 3,0 µm. Conidióforos lisos, incolores, cujo comprimento varia de 275 a 300 µm.

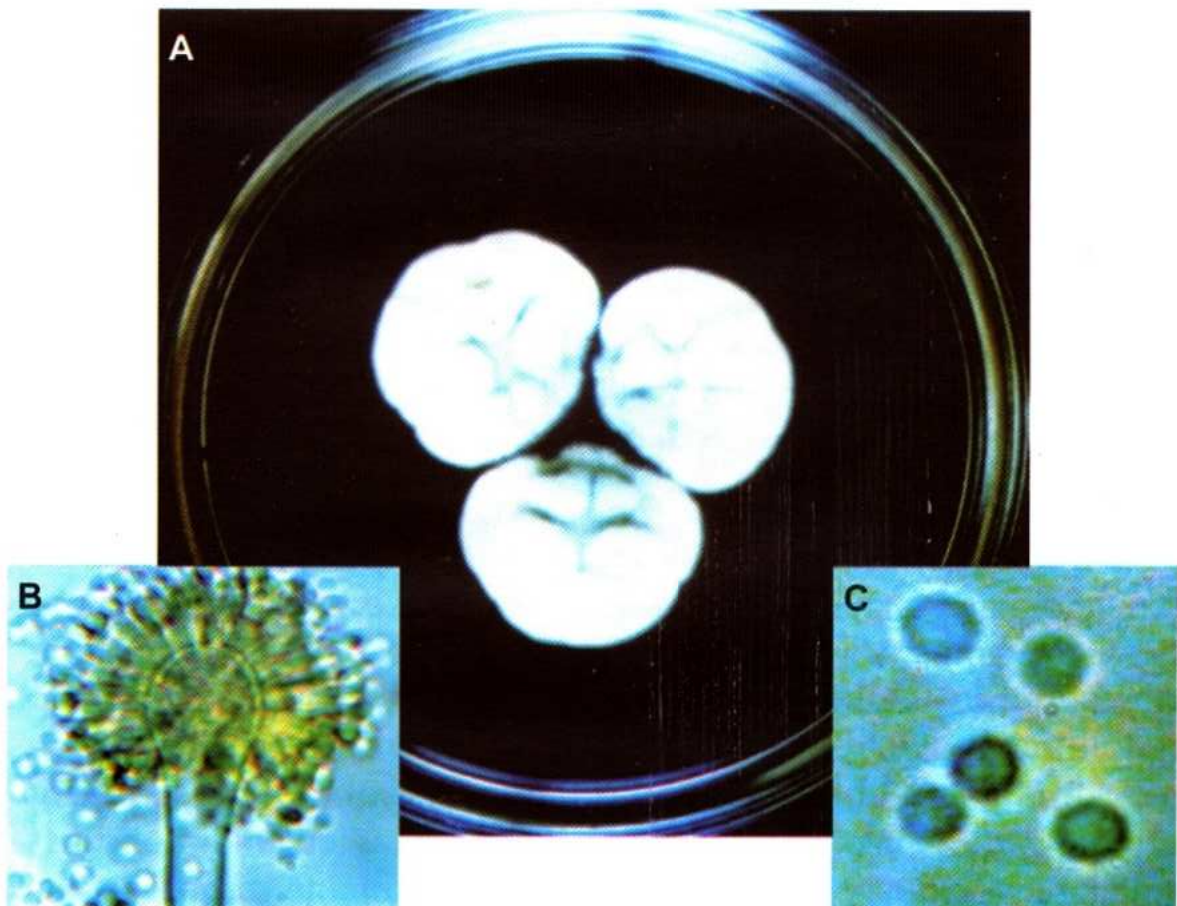


Fig. 33. *A. versicolor*: a) colônias em CYA, de coloração azulada, com micélio branco; b) cabeça conidial bisseriada, ampliada 800 vezes; c) conídios globosos a subglobosos, finamente rugosos, ampliados 2.000 vezes.

Gênero *Eurotium* Link: Fr., subgênero *Circumdati*, seção *Aspergillus* (Teleomorfos)

Eurotium é um gênero dos Ascomicetos (*Aspergillus* que se reproduz sexualmente), caracterizado pela formação de ascos, arranjados em ascósporos do tipo cleistotécio (Klich & Pitt, 1988b). Todas as espécies de *Eurotium* são xerofílicas, sendo os cereais o principal substrato (Pitt & Hocking, 1997).

As espécies *Eurotium amstelodami* e *Eurotium chevalieri* já foram isoladas de grãos de café, por Batista (2000) e Abdel-Hafez & El-Maghraby (1992). A contaminação se deve, em parte, ao fato de os grãos de café serem armazenados com pouca umidade e essas espécies serem xerofílicas.

De acordo com Pitt & Hocking (1997), a estrutura dos ascósporos é a principal característica para diferenciar as espécies de *Eurotium*.

Ascósporos de *Eurotium chevalieri* possuem duas abas longitudinais e textura lisa. Já os ascósporos de *Eurotium amstelodami* possuem também duas abas longitudinais, porém rugosas. A forma dos conídios também auxilia a diferenciar as duas espécies: os isolados de *Eurotium chevalieri* possuem conídios rugosos predominantemente ovais, enquanto os isolados de *Eurotium amstelodami* têm conídios rugosos predominantemente globosos a subglobosos. Quanto ao aspecto das colônias, há formação de hifas amarelas a alaranjadas sob os cleistotécios, produzidas pelos isolados de *Eurotium amstelodami*, fator que também auxilia a identificação dos isolados pertencentes a essa espécie. Os isolados de *Eurotium*

chevalieri produziram hifas amareladas (e não alaranjadas) sobre os cleistotécios, mas em quantidade tão pequena que não chegou a alterar a coloração das colônias.

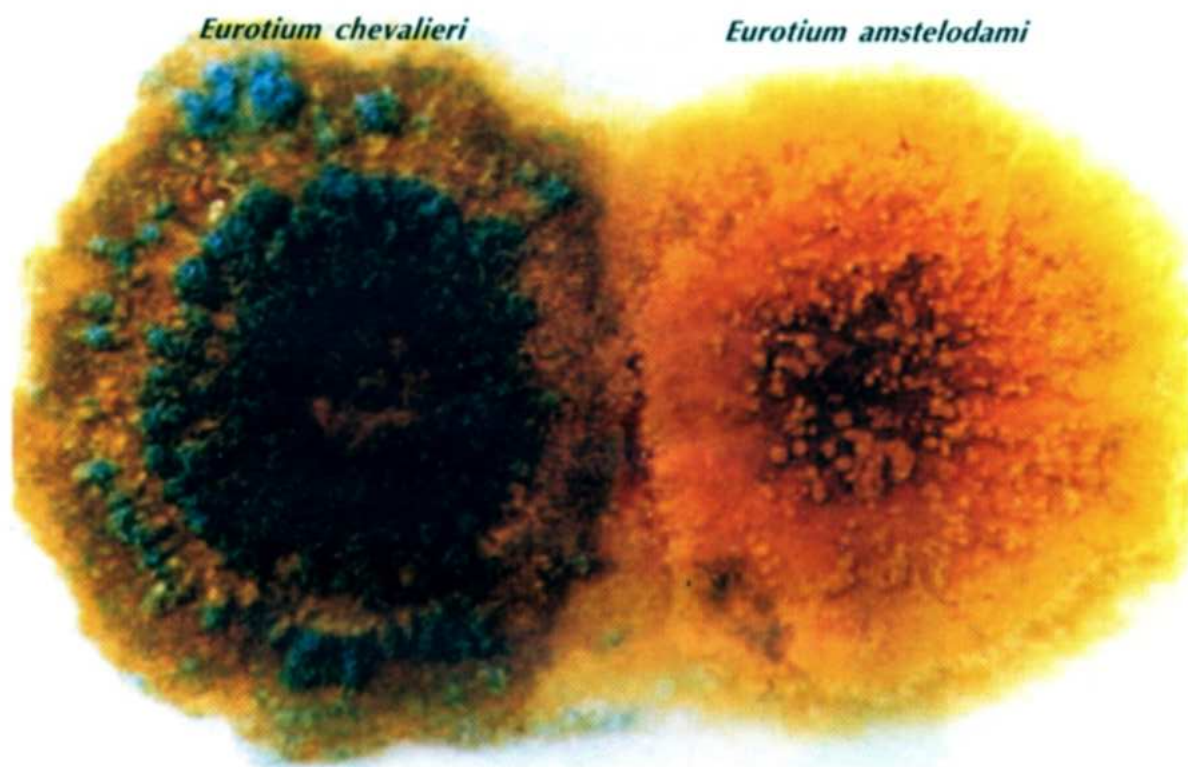


Fig. 34. *E. chevalieri* e *E. amstelodami* em meio DG18, incubados a 25°C, por 10 dias.

***Eurotium amstelodami* Mangin**

As colônias sobre CYA a 25°C variam de 3,5 a 4,0, com cleistotécios amarelos e com pouca produção de conidióforos, apresentando conídios verde-escuro-acinzentados, reverso amarelo, tendendo a alaranjado, e pigmentos solúveis de coloração amarelada. Não desenvolve a 37°C. Em MEA, colônias com diâmetro de 2,5 a 3,4 cm, produção de cleistotécio amarelo, com pouca esporulação verde-acinzentada no centro, pigmentos solúveis amarelados, reverso variando de amarelo-escuro a alaranjado. Em CYA20S, colônia com diâmetro entre 4,6 e 4,8 cm, cleistotécios amarelo-alaranjado em abundância, com hifas amarelas sobre os cleistotécios, com pouca esporulação, de cor verde-escuro-acinzentada e reverso amarelo-alaranjado.

Cabeça conidial unisseriada, com fiálides medindo de 6 a 10 μm , vesículas subglobosas e pouco alongadas, variando de 14 a 35 μm , conídios verdes, globosos a subglobosos, rugosos, com diâmetro de 4,5 a 6,0 μm . Conidióforos lisos, de 215 μm de comprimento, cleistotécios amarelos, de forma variada entre globosos e subglobosos, com diâmetro variando de 65 a 130 μm , ascósporos rugosos, com duas fendas longitudinais medindo 5,0 de comprimento e 3,0 a 3,5 μm de largura.

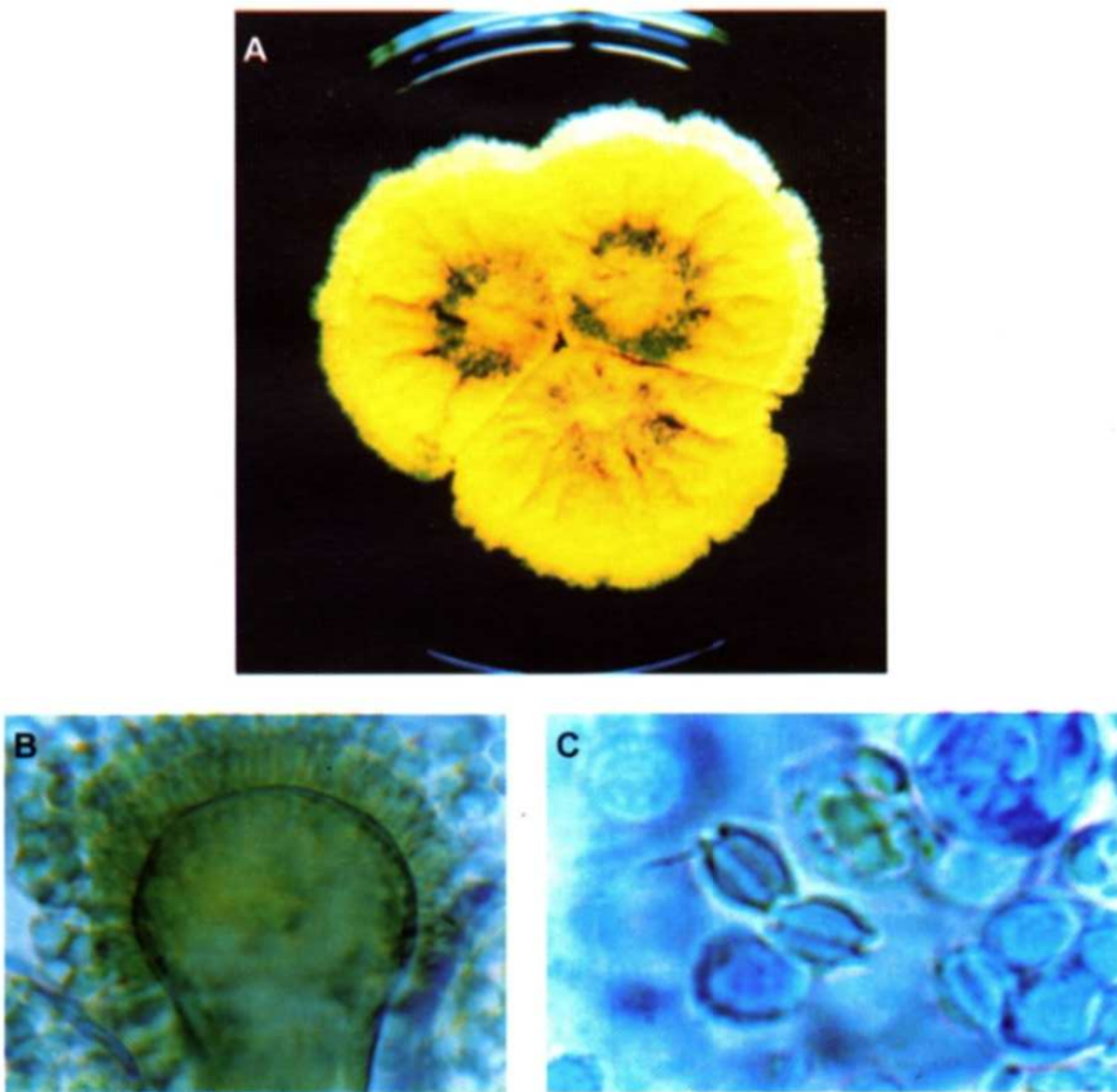


Fig. 35. *E. amstelodami*: a) colônias em CYA20S, com cleistotécios amarelos, com pouca produção de conídios verde-escuro-acinzentados; b) conidial unisseriada, ampliada 800 vezes; c) ascósporos rugosos, com duas fendas longitudinais, ampliados 2.000 vezes.

Eurotium chevalieri Mangin

As colônias sobre CYA a 25°C variam de 2,0 a 2,1 cm, com cleistotécios amarelos, exsudato marrom-avermelhado, poucos conidióforos centralizados, reverso amarelo a alaranjado. Não desenvolveu a 37°C. Em MEA, colônias com diâmetro de 2,3 a 2,7 cm, produção de cleistotécio amarelo, com pouca esporulação verde-acinzentada e pequenas gotas de exsudato marrom-avermelhado, e reverso amarelo-escuro. Em CYA20S, colônia com diâmetro entre 4,5 e 4,8 cm, com cleistotécios amarelos em abundância, por toda a colônia, porém cobertos pelos conidióforos, e massa conidial verde-escura-acinzentada, com reverso amarelo-alaranjado.

Cabeça conidial unisseriada, com fiáides medindo de 7 a 8 μm , vesículas subglobosas e pouco alongadas, variando de 17 a 25 μm , conídios verdes, subglobosos a ovóides, rugosos, com diâmetro de 4,5 a 5,0 μm . Conidióforos lisos, cleistotécios amarelos, de formas variadas, entre globosos e subglobosos, com diâmetro variando de 83 a 125 μm , ascósporos lisos, com duas fendas longitudinais medindo 5,0 de comprimento e 3,0 a 3,5 μm de largura.

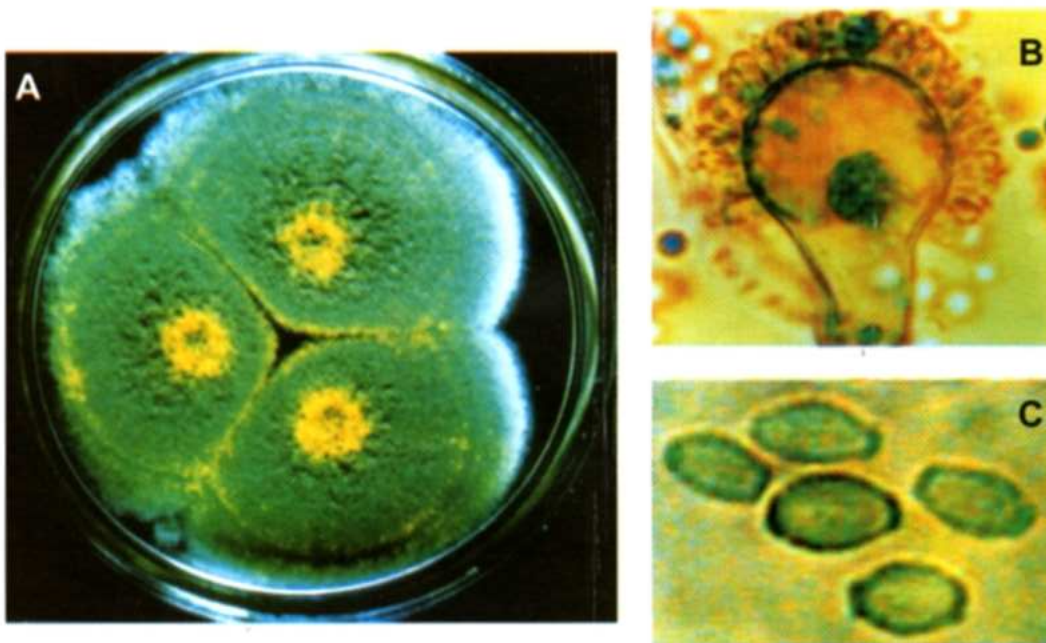


Fig. 36. *E. chevalieri*: a) colônias em CYA20S, com cleistotécios amarelos cobertos por conidióforos com massa de conídios verde-escuro-acinzentados; b) cabeça conidial unisseriada, ampliada 800 vezes; c) conídios subglobosos a ovóides, rugosos, ampliados 2.000 vezes.

Gênero *Penicillium*

Todas as espécies relacionadas neste boletim são classificadas como fungos de solo e são encontradas em todas as parte do planeta, principalmente em regiões de clima quente (Domsch et al., 1980). A presença de espécies de fungos do gênero *Penicillium* em produtos alimentícios pode ocasionar deterioração, alterações bioquímicas e produção de micotoxinas. Em ambientes fechados, algumas espécies são responsáveis por alergia humana. Como esse efeito é quase sempre causado por espécies específicas, a identificação de *Penicillium* é muito importante para garantir a segurança da saúde humana e a preservação dos alimentos (Pitt et al., 2000).

A presença das espécies de *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium citrinum*, *P. expansum* e *P. glabrum* foi detectada em grãos de café, por Batista (2000), Mislivec (1981) e Mislivec et al. (1983). Segundo os dois últimos estudiosos,

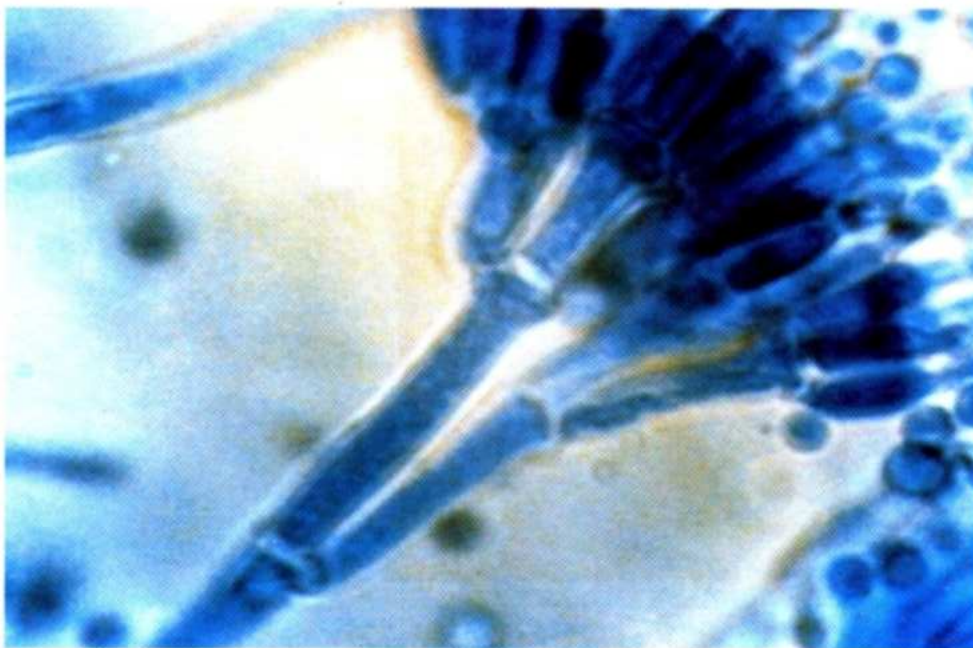


Fig. 37. Padrão de ramificação terverticilado do conidióforo de *P. brevicompactum*.

essas são as principais espécies desse gênero encontradas em grãos de café. *Penicillium aurantiogriseum* é o fungo mais encontrado e amplamente distribuído em cereais maduros ou em processo de secagem e em muitas outras classes de alimentos (Pitt & Hocking, 1997). O *Penicillium brevicompactum* é um fungo cosmopolita, especialmente em solos, vegetação em decomposição, cereais e grãos de café verde, mas não é particularmente freqüente (Gams et al.; 1998; Pitt & Hocking, 1997; Pitt, 1988).

O *Penicillium corylophilum* é comum em grãos de cereais e tem sido amplamente encontrado em outros alimentos, em vegetação em decomposição, no solo e em condições de baixa atividade de água (Pitt & Hocking, 1997; Pitt, 1988). Embora o *Penicillium solitum* não seja um fungo muito comum (Gams, Hoekstra e Aptoot, 1998), foi, recentemente, reconhecido como patógeno em maçã (Pitt, 1988).

O *Penicillium chrysogenum* foi a espécie de *Penicillium* mais comum encontrada em grãos de café analisados por Abdel-Hafez & El-Maghraby (1992). No estudo realizado por esses autores, foram identificados também *Penicillium citrinum* e *Penicillium brevicompactum*.

Para a identificação das espécies do gênero *Penicillium*, foi utilizado "A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species", de Pitt (1988). O nome das espécies identificadas e seus sinônimos estão de acordo com este manual de identificação.

Gênero *Penicillium*, subgênero *Monoverticillium*

Penicillium glabrum (Wehmer) Westling (= *Penicillium frequetans* Westling)

Colônias sobre CYA a 25°C com diâmetro variando entre 4,2 e 4,4 cm, coloração verde-acinzentada, com tons azuis nas bordas, levemente sulcadas, com micélio branco nas bordas das colônias, reverso da colônia em tons amarelos. Não cresceu em CYA a 37°C. Em MEA, colônias verde-acinzentadas, com diâmetro variando de 4,4 a 4,6 cm, colônias planas e reverso em tons predominantemente verde-pálidos. Em meio YES, colônias de coloração bege (cor de pêssego), amarelo no centro, com bordas em tons amarelo-esverdeados, e reverso amarelo-brilhante.

Padrão monoverticilado de ramificação do conidióforo, estipe vesiculata de parede lisa e fiálides ampuliformes, de 9 a 10 μm , conídios esféricos a subesféricos, lisos a finamente rugosos, com diâmetro variando de 3,5 a 3,0 μm .

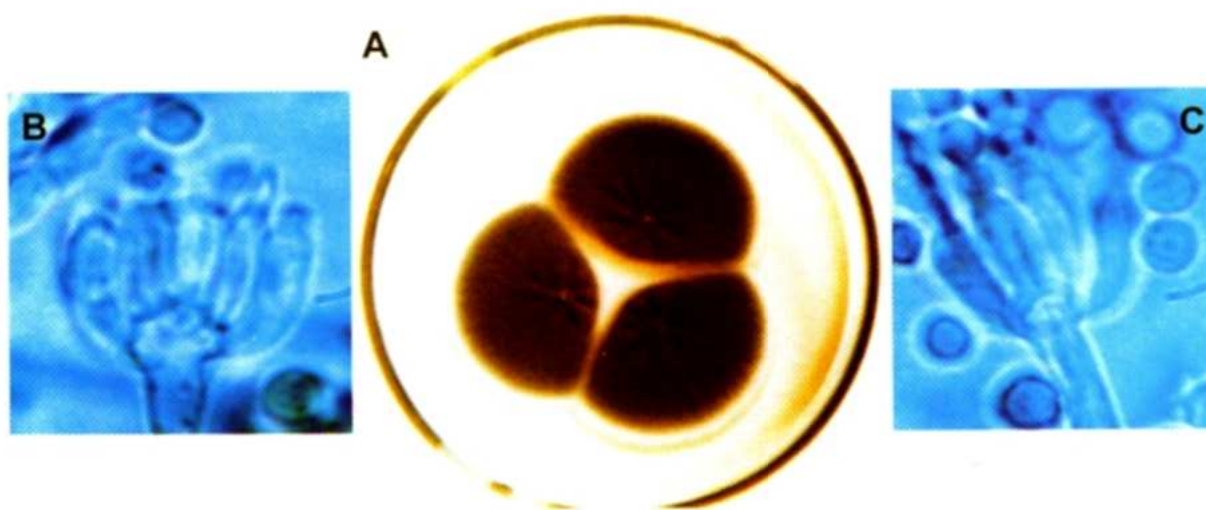


Fig. 44. a) *P. glabrum* (Wehmer) Westling, em meio CYA, de coloração verde-acinzentada, após 7 dias de incubação a 25°C; b) e c) conidióforos, ampliados 1.000 vezes.

Gênero *Penicillium*, subgênero *Biverticillium*

***Penicillium citrinum* Thom (= *Penicillium steckii* Zaleski)**

As colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro entre 2,7 e 3,3 cm, de coloração verde-azul-acinzentada, levemente sulcada, com micélio branco nas bordas das colônias, exsudato amarelo-pálido e pigmentação solúvel em alguns isolados, reverso da colônia em tons amarelos, principalmente no centro. Desenvolvimento em CYA a 37°C muito pobre, de aproximadamente 0,1 a 0,5 cm, formando apenas um ponto de micélio branco, constatando-se que alguns isolados não cresceram. Em MEA, colônias verde-acinzentadas, com diâmetro variando entre 1,9 e 2,4 cm, colônias planas, formando pouca quantidade de micélio nas bordas, e reverso predominantemente em tons verde-pálidos. Em meio YES, a maioria dos isolados apresentou coloração bege (cor de pêssego) nas bordas e, no centro, um tom verde-acinzentado, desenvolvimento variando de 3,0 a 4,4 cm, com colônias sulcadas. Nesse meio, a coloração do reverso variou de amarelo-esverdeada a verde-azulado-brilhante.

Padrão biverticilado de ramificação do conidióforo, estipe de parede lisa com grupos de 3 a 4 métulas, variando de 11 a 15 µm de comprimento, e fiálides ampuliformes de 6 a 10 µm, conídios esféricos a subesféricos, lisos a finamente rugosos, com diâmetro variando de 2,0 a 2,5 µm.

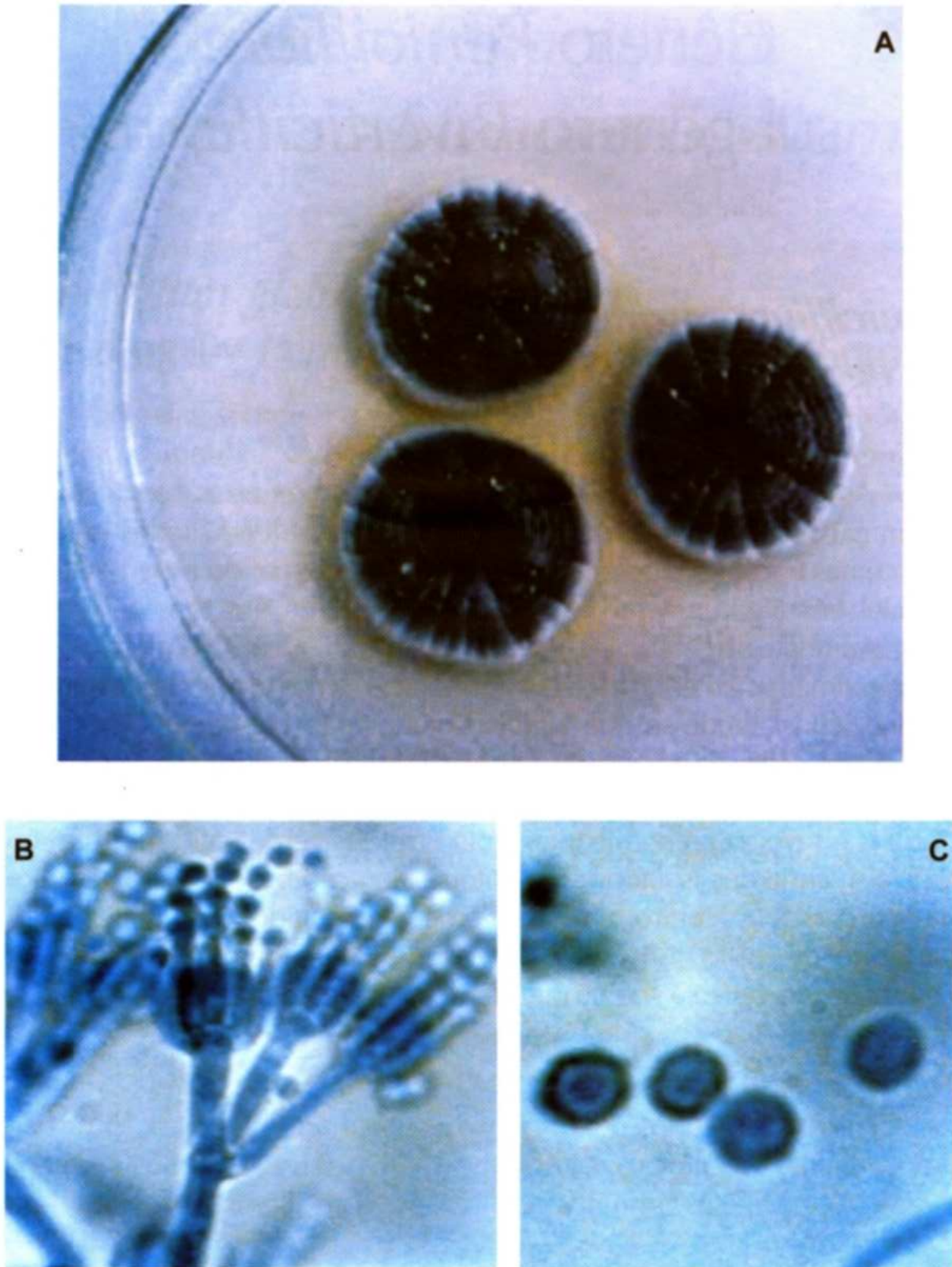


Fig. 45. *P. citrinum*: a) colônias em meio CYA, de coloração verde-acinzentada, após 7 dias de incubação a 25°C; b) padrão de ramificação biverticilado, ampliado 1.000 vezes; c) conídios globosos, ampliados 2.500 vezes.

Penicillium corylophilum Dierckx

Colônias sobre CYA a 25°C com diâmetro variando entre 2,6 e 2,7 cm, coloração verde-acinzentada, com tons azuis nas bordas, levemente sulcada, com micélio branco nas bordas das colônias, e reverso da colônia em tom pálido. Não cresceu em CYA a 37°C. Em MEA, colônias verde-acinzentadas, com tons azulados nas bordas, diâmetro variando entre 3,2 e 3,3 cm, colônias planas e reverso predominantemente em tons verde-pálidos. Em meio YES, colônias de coloração marfim a creme-amarelada, com tons azuis no centro e reverso incolor.

Padrão biverticilado de ramificação do conidióforo, estipe vesiculata de parede lisa, métulas medindo de 13 a 20 µm, ramificações próximas de 22 µm e fiáldes ampuliformes, em torno de 8 µm, conídios esféricos a subsféricos, finamente rugosos, com diâmetro variando de 2,5 a 3,0 µm.

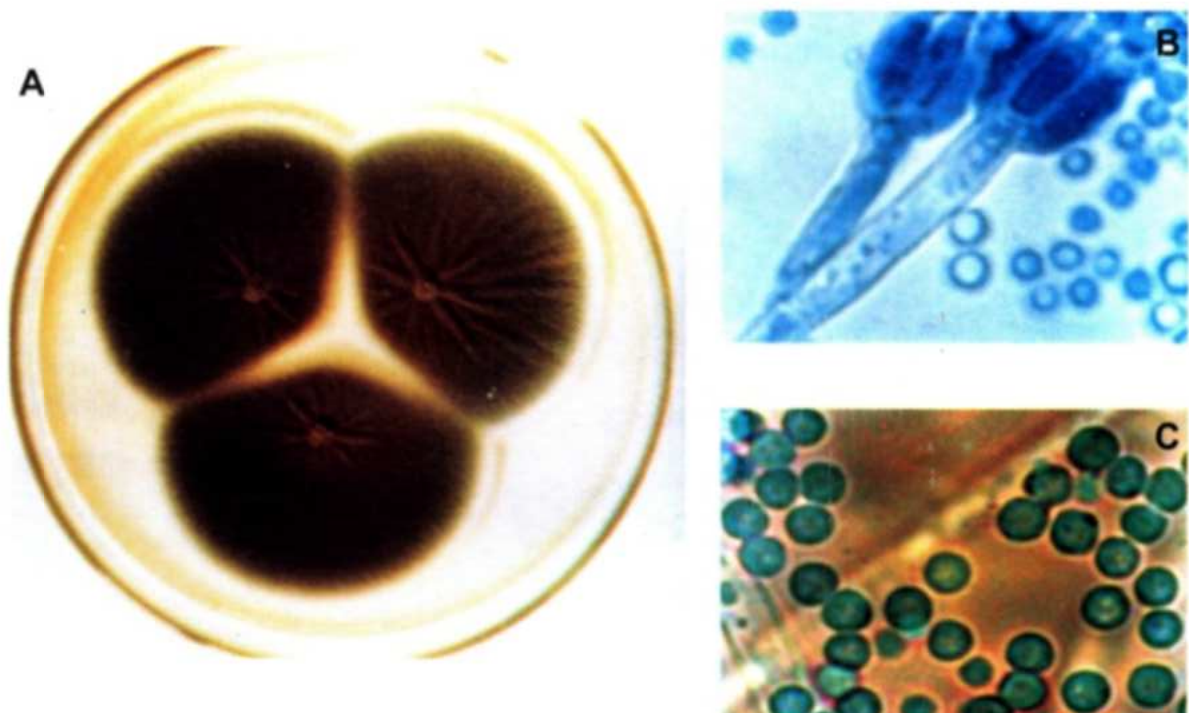


Fig. 46. *P. corylophilum*: a) colônias em meio CYA, de coloração verde-acinzentada; b) padrão de ramificação biverticilado, ampliado 1.000 vezes; c) conídios globosos, ampliados 2.000 vezes.

Gênero *Penicillium*, subgênero *Terverticillium*

Penicillium aurantiogriseum Dierckx (= *Penicillium puberulum* Bainier) (= *Penicillium cyclopium* Westling)

As colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro entre 3,8 e 4,0 cm, coloração azul-acinzentada, com tons verdes no centro, colônias planas, com micélio branco nas bordas das colônias, e reverso da colônia de tom pálido. Não desenvolveu em CYA a 37°C. Em MEA, colônias azul-acinzentadas, com diâmetro em torno de 6,0 cm, colônias planas e reverso predominantemente acinzentado. Em meio YES, colônias de coloração creme-amarronzada no centro e, nas bordas, tons verdes e reverso variando de creme a marrom-claro.

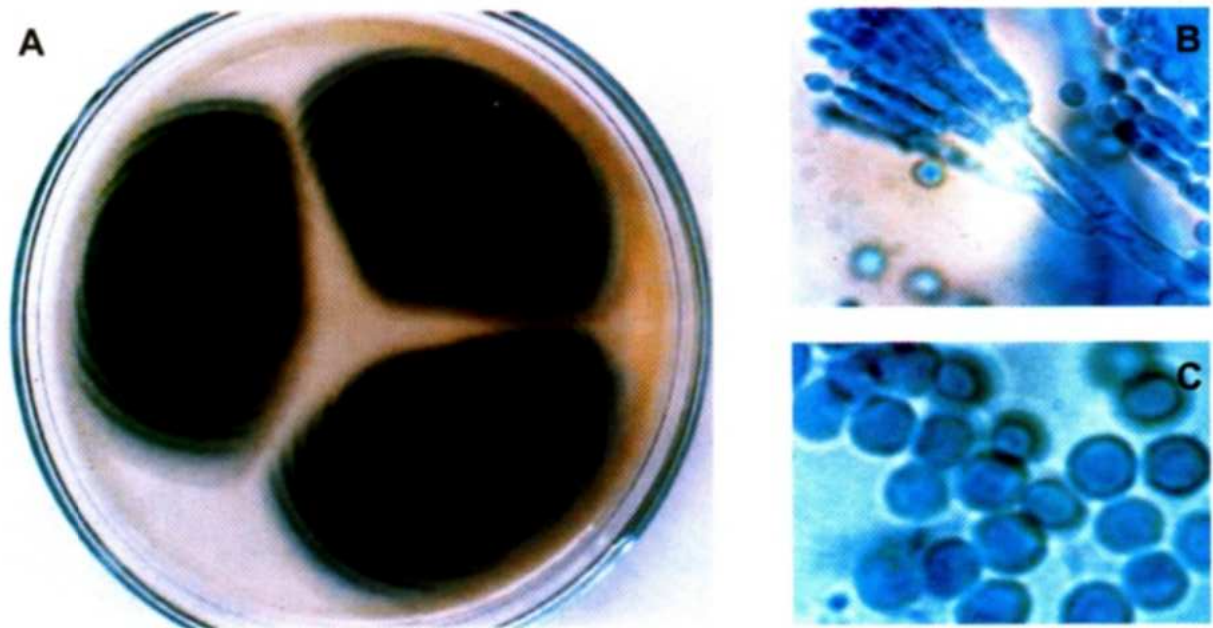


Fig. 47. *P. aurantiogriseum*: a) colônia em meio CYA, de coloração azulada e tons de verde no centro; b) padrão de ramificação terverticilado, finamente rugoso, ampliado 800 vezes; c) conídios globosos a finamente rugosos, ampliados 2.000 vezes.

Padrão terverticilado de ramificação do conidióforo, estipe finamente rugosa a lisa, aparentemente manchada, ramificações em torno de 20 μm , métulas medindo aproximadamente 17 μm , fiálides ampuliformes de 8 a 10 μm , conídios esféricos a subesféricos, lisos a finamente rugosos, com diâmetro variando de 3,0 a 3,5 μm .

***Penicillium brevicompactum* Dierckx (= *Penicillium stoloniferum* Thom)**

As colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro entre 3,8 a 4,1 cm, coloração verde-acinzentada, são aveludadas, colônias sulcadas, com pouco micélio branco nas bordas e reverso da colônia em tom pálido. Não desenvolveu em CYA a 37°C. Em MEA, colônias verde-acinzentadas, com diâmetro em torno de 2,4 cm, colônias planas e reverso predominantemente acinzentado. Em meio YES, colônias de coloração creme-amarronzada no centro e tons verdes nas bordas, e reverso creme.

Padrão terverticilado de ramificação do conidióforo, estipes aparentemente lisas, ramificações finamente rugosas, em torno de 23 μm , métulas medindo 10 μm , fiálides ampuliformes, medindo, a maioria, 7 μm , conídios globosos a subglobosos, lisos a finamente rugosos, com diâmetro variando de 3,0 a 3,5 μm .

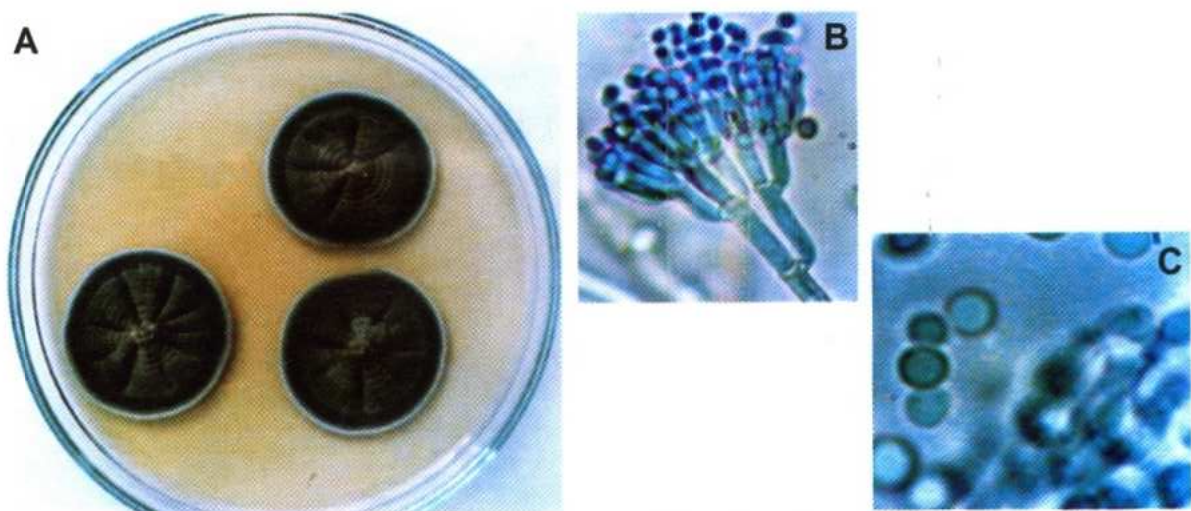


Fig. 48. *P. brevicompactum*: a) colônia em meio CYA, de coloração esverdeada; b) padrão de ramificação terverticilado, ampliado 800 vezes; c) conídios globosos a finamente rugosos, ampliados 2.000 vezes.

Penicillium chrysogenum Thom (= *Penicillium notatum* Westling)

Colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro entre 3,4 e 3,5 cm, coloração verde-acinzentada, com poucos tons azuis, colônias distintamente sulcadas, elevada concentração de exsudatos por toda a colônia, micélio branco nas bordas, reverso pálido, com pigmentação solúvel amarelada. Não cresceu em CYA a 37°C. Em MEA, colônias verde-acinzentadas, com diâmetro variando entre 4,8 e 5,0 cm, colônias planas e reverso com a mesma cor da colônia, porém mais fosco. Em meio YES, colônias creme-amarronzadas no centro e verde-amareladas nas bordas, desenvolvimento em torno de 4,6 cm, colônias sulcadas, com reverso creme.

Padrão predominantemente terverticilado de ramificação do conidióforo, estipe de parede lisa, ramificação medindo 14 a 20 μm de comprimento, métulas variando de 10 a 13 μm de comprimento e fiálides ampuliformes de 7 a 9 μm , conídios globosos a subglobosos, porém a maioria elipsoidal, finamente rugosos, com diâmetro aproximado de 4,0 μm .

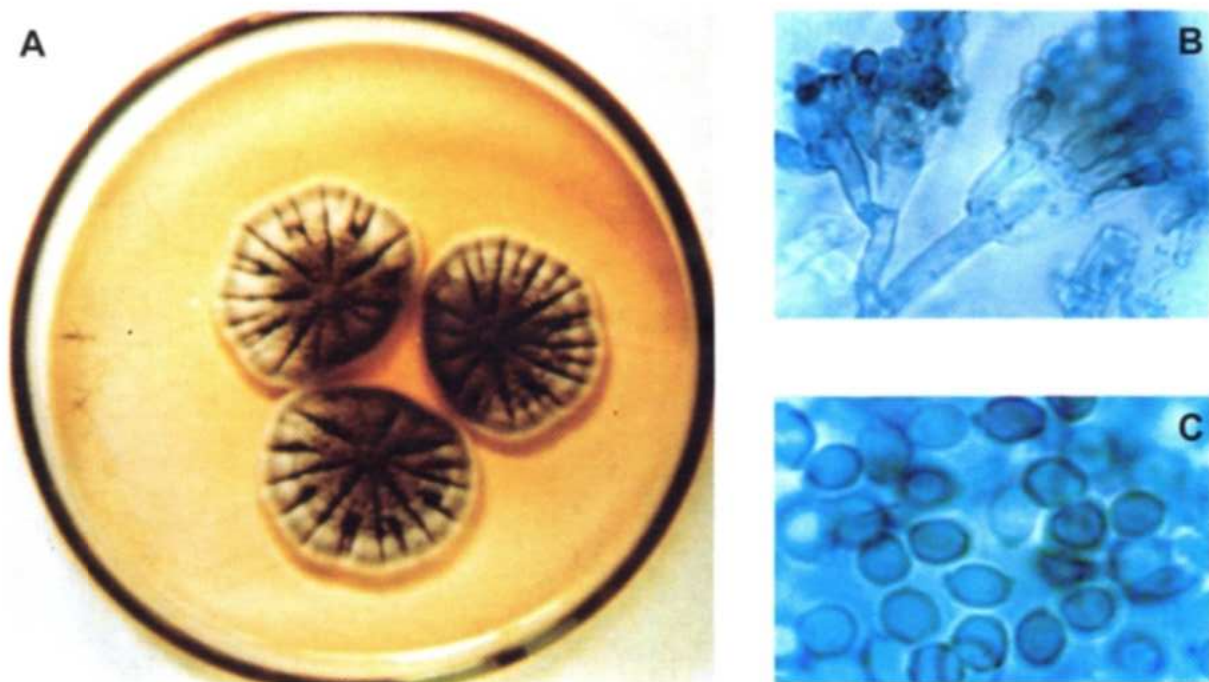


Fig. 49. *P. chrysogenum*: a) colônia em meio CYA, de coloração verde-acinzentada; b) padrão de ramificação terverticilado, ampliado 800 vezes; c) conídios elipsoidais, finamente rugosos, ampliados 2.000 vezes.

Penicillium expansum (Oudem) Seifert & Samson

Colônias sobre CYA a 25°C com diâmetro variando entre 3,2 e 4,0 cm, coloração verde-acinzentada, com tons azuis nas bordas, levemente sulcada, com micélio branco nas bordas das colônias, exsudato claro nas bordas da colônia e reverso pálido. Não cresceu em CYA a 37°C. Em MEA, colônias verde-acinzentadas, com diâmetro variando entre 5,0 e 5,4 cm, colônias planas e reverso acinzentado. Em meio YES, colônias creme-amarronzadas no centro e verde-amareladas nas bordas, desenvolvimento variando de 4,2 a 4,6 cm, colônias sulcadas, com reverso amarelo.

Padrão predominantemente terverticilado de ramificação do conidióforo, estipe de parede lisa, ramificação medindo de 14 a 31 μm de comprimento, métulas variando de 9 a 10 μm de comprimento e fiálides ampuliformes, de 7 a 9 μm , conídios elipsoidais, lisos a finamente rugosos, com diâmetro variando de 3,0 a 3,5 μm .

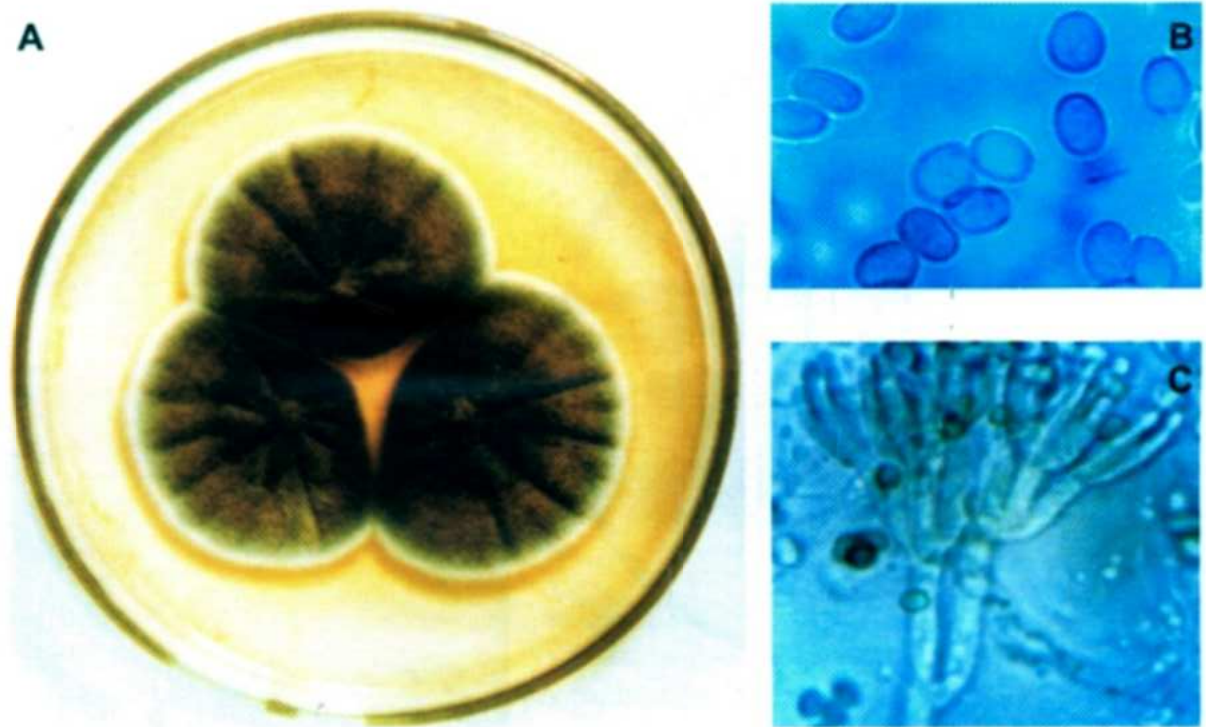


Fig. 50. *P. expansum*: a) colônias em meio CYA, de coloração verde-acinzentada, com tons azuis; b) padrão de ramificação terverticilado, ampliado 1.000 vezes; c) conídios elipsoidais, ampliados 2.500 vezes.

Penicillium solitum Westling (= *Penicillium verrucosum* var. *melanochlorum* Samson et al.)

Sinônimo (*Penicillium verrucosum* var. *melanochlorum* Samson et al.)

Colônias sobre CYA a 25°C têm diâmetro variando entre 1,9 e 2,0 cm, coloração verde-acinzentada, colônias planas, com pouco micélio branco nas bordas das colônias, e reverso da colônia acinzentado. Não cresceu em CYA a 37°C. Em MEA, colônias verde-acinzentadas, com diâmetro entre 2,5 e 2,7 cm, colônias planas e reverso verde-pálido. Em meio YES, colônias de coloração creme-amarronzada no centro e, nas bordas, tons verdes, e reverso marrom.

Padrão terverticilado de ramificação do conidióforo, estipe lisa aparentemente manchada, ramificações em torno de 26 μm , métulas cilíndricas medindo aproximadamente 13 μm , fiálides ampuliformes de 8 a 10 μm , conídios esféricos a subsféricos, lisos a finamente rugosos, com diâmetro variando de 3,0 a 3,5 μm .

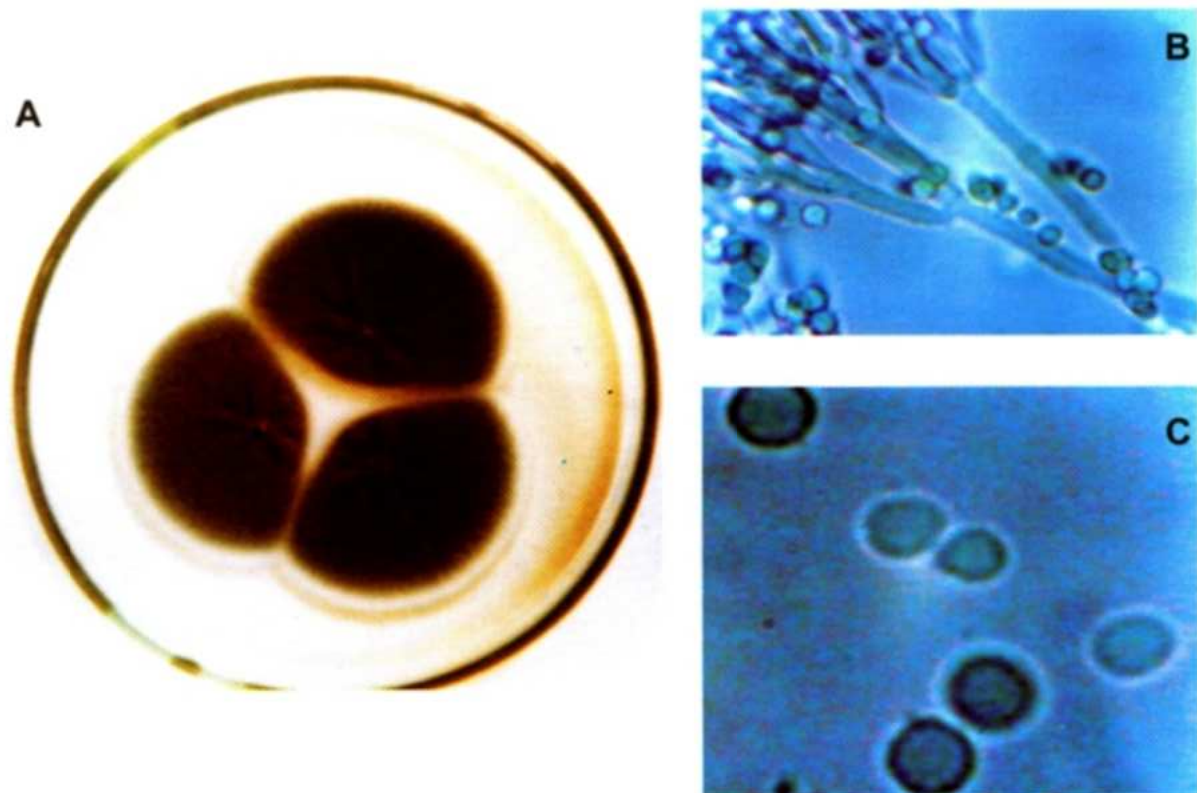


Fig. 51. a) *P. solitum* em meio CYA, de coloração verde-acinzentada, após 7 dias de incubação, a 25°C; b) conidióforos, ampliados 1.000 vezes; c) conídios, ampliados 2.000 vezes.

Referências

- ABARCA, M. L.; BRAGULAT, M. R.; CASTELLÁ, G.; CABAÑES, F. J. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, n. 7, p. 2650-2652, July 1994.
- ABDEL-HAFEZ, A. I. I.; EL-MAGHRABY, O. M. O. Fungal flora and aflatoxin associated with cocoa, roasted coffee and tea powders in Egypt. **Criptogamie, Mycologie**, Paris, v. 3. n. 1, p. 31-45, Mar. 1992.
- ACCENSI, F.; CANO, J.; FIGUERA, L.; ABARCA, M. L.; CABAÑES, F. J. New PCR method to differentiate species in the *Aspergillus niger* aggregate. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 180, n. 2, p. 191-196, Nov. 1999.
- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 1996. p. 869.
- BATISTA, L. R. **Identificação, potencial toxigênico e produção de micotoxinas de fungos associados a grãos de café (Coffea arabica L.)**. 2000. 186 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- BATISTA, L. R.; CHALFOUN, S. M.; PRADO, G. Identificação de espécies toxigênicas de *Aspergillus* associadas aos grãos de café armazenados. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, n. 3, p. 11-16, 2001. Especial-Café.
- BUCHELI, P.; MEYER, I.; PITTET, A.; VUATAZ, G.; VIANI, R. Industrial storage of green robusta under tropical conditions and its impact on raw material quality and ochratoxin A content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 11, p. 4507-4511, Nov. 1998.
- CARVALHO, V. D. de; CHAGAS, S. J. de R.; CHALFOUN, S. M. Fatores que afetam a qualidade do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 18, n. 187, p. 5-20, 1997.
- CHALFOUN, S. M.; CARVALHO, V. D. Microflora associada a frutos e grãos de café de diferentes locais, tipos de colheita e diferentes etapas de preparo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA CAFEEIRA 15., 1989, Maringá. **Resumos...** Rio de Janeiro: MIC/IBC, 1989. p. 17-21.
- CHRISTENSEN, M. The *Aspergillus ochraceus* group: two new species from western soils and a synoptic key. **Mycologia**, New York, v. 74, n. 2, p. 210-225, Mar./Apr. 1982.
- CHRISTENSEN, M. A Synoptic key and evaluation of species in the *Aspergillus flavus* group. **Mycologia**, New York, v. 73, n. 6, p. 1056-1084, Nov./Dec. 1981.

- CIEGLER, A. Bioproduction of ochratoxin A and penicillic acid by members of the *Aspergillus ochraceus* group. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 18, n. 5, p. 631-636, May 1972.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T-H. **Compendium of soil fungi**. London: Academic Press, 1980. v. 1.
- DÖRGE, T.; CARSTENSEN, J. M.; FRISVAD, J. C.; Direct identification of pure *Penicillium* species using image analysis. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 14, n. 2, p. 121-133, July 2000.
- DUPONT, J.; MAGNIN, S.; MARTI, A.; BROUSSE, M. Molecular tools for identification of *Penicillium* starter cultures used in the food industry. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 49, n. 3, p. 109-118, Aug. 1999.
- FRISVAD, J. C.; FILTENBORG, O. Tertericillate *Penicillia*: chemotaxonomy and mycotoxin production. **Mycologia**, New York, v. 86, n. 6, p. 837-861, Nov./Dec. 1989.
- GAMS, W.; HOEKSTRA, E. S.; APTROOT, A. **CBS – Course of mycology**. 4. ed. Wageningen: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1998. 165 p.
- HESELTINE, C. W.; VANDERGRAFT, E. E.; FENNELL, D. I.; SMITH, M. L.; SHOTWELL, O. L. *Aspergilli* as ochratoxin Producers. **Mycologia**, New York, v. 64, n. 3, p. 539-550, May/June 1972.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganisms in foods: characteristics of food pathogens**. London: Blakie Academic and Professional, 1996.
- KAMAL,.; BHARGAVA, K. S. Two new species of *Aspergillus* from soil. **Transaction British of Mycological Society**, Cambridge, v. 52, n. 2, p. 36-340, Apr. 1969.
- KLICH, M. A.; PITT, J. I. Differentiation of *Aspergillus flavus* from *Aspergillus parasiticus* and other closely related species. **Transaction British of Mycological Society**, Cambridge, v. 94, n. 1, p. 99-108, July 1988a.
- KLICH, M. A.; PITT, J. I. A Laboratory guide to common *Aspergillus* species and their Teleomorphs. North Ryde, 1988b.
- LÓPEZ GARAY, C.; BATUTISTA ROMERO, E.; MORENO GONZÁLEZ, E. Microflora of the stored coffee and its influence on quality. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 12., 1987, Montreux. **Proceedings...** Montreux: ASIC, 1987. p. 758-770.
- MALMSTRON, J.; CHRISTOPHERSEN, C.; FRISVAD, J. C. Secondary metabolites characteristic of *Penicillium citrinum*, *Penicillium steckii* and related species. **Phytochemistry**, St. Paul, v. 54, n. 3, p. 301-309, June 2000.

MANTLE, P. G.; CHOW, A. M. Ochratoxin formation in *Aspergillus ochraceus* with particular reference to spoilage of coffee. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 56, n. 1, p. 105-109, May 2000.

MISLIVEC, P. B. Toxic species of *Penicillium* common in food. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 44, n. 9, p. 723-726, Sept. 1981

MISLIVEC, P. B.; BRUCE, V. R.; GIBSON, R. Incidence of toxigenic and other molds in green coffee beans. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 46, n. 11, p. 969-973, Nov. 1983.

NAKAJIMA, M.; TSUBOUCHI, H.; MIYABE, M.; UENO, Y. Survey of Aflatoxin B₁ and Ochratoxin A in commercial green coffee beans by high-performance liquid chromatography linked with immunoaffinity chromatography. **Food and Agricultural Immunology**, Oxon, v. 9, n. 2, p. 77-83, June 1997.

PARENICOVA, L.; SKOUBOE, P.; SAMSON, R. A.; ROSSEN, L. e VISSER, J. Molecular tools for the classification of black *Aspergillus*. In: SAMSON, R. A.; PITT, J. I. (Ed.). **Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification**. Harwood Academic, 2000. p. 413-424.

PATERSON, R. R. M. Effect of growth on taxonomically-useful ubiquinone/lipid profile from *Penicillium*. **Mycological Research**, Cambridge, v. 97, n. 2, p. 173-178, Feb. 1993.

PETERSON, S. W.; ITO, Y.; HORN, B. W. E GOTO, T. *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic and genetic variation in its sibling species, *Aspergillus nomius*. **Mycologia**, New York, v. 93, n. 4, p. 689-703, July/Aug. 2001.

PITT, J. I. A Laboratory guide to common *Penicillium* species. North Ryde, 1988. p. 187.

PITT, J. I. PENNAME: a computer key to common *Penicillium* species. In: SAMSON, R. A.; PITT, J. I. (Ed.). **Modern concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* classification**. New York: Plenum Press, 1989. p. 279-281.

PITT, J. I. Toxigenic fungi: which are important? **Medical Mycology**, Oxford, n. 38, n. 1, p. 41-46, 2000. Supplement.

PITT, J. I.; BASÍLICO, J. C.; ABARCA, M. L.; LÓPEZ, C. Mycotoxins and Toxigenic fungi. **Medical Mycology**, Oxford, n. 38, n. 1, p. 17-22, 2000. Supplement.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. 2. ed. London: Blackie Academic and Professional, 1997. 593 p.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D.; GLENN, D. R. Na improved medium for the detection of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 54, n. 1, p. 109-114, Feb. 1983.

RAPER, K. B.; FENNELL, D. I. **The genus *Aspergillus***. Baltimore: Williams and Wilkins Company, 1965

SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C.; FILTENBORG, O. **Introduction to food-and airborne fungi**. 6. ed. Centraalbureau Voor Schimmelcultures Baarn Delft, 2000. p. 387.

SCOTT, P. B. Note on analysis of aflatoxins in green coffee. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, v. 51, n. 3, p. 609, Mar. 1968.

SILVA, C. F.; SCHWAN, R. F.; DIAS, E. S.; WHEALS, A. E. Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 60, n. 2/3, p. 251-260, Sept. 2000.

SILVA, T. L. da; SOUZA, E. de; PEREIRA, P. T.; FERRÃO, A. M.; ROSEIRO, J. C. Cellular fatty acid profile for the differentiation of *Penicillium* species. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 164, n. 2, p. 303-310, July 1998.

SVENDSEN, A.; FRISVAD, J. C. A chemotaxonomic study of the terverticillate penicillia based on high performance liquid chromatography of secondary metabolites. **Mycological Research**, Cambridge, V. 98, n. 11, p. 1317-1328, Nov. 1994.

TSUBOUCHI, H.; YAMAMOTO, K.; HISADA, K.; SAKABE, Y. A Survey occurrence of mycotoxins and toxigenic fungi in imported green coffee beans. **Proceedings of the Japanese Association of Mycotoxicology**, Tokyo, n. 19, p. 16-21, 1984.

URBANO, G. R.; TANIWAKI, M. H.; LEITÃO, M. F. de F.; VICENTINI, M. C. Occurrence of ochratoxin A producing fungi in raw Brazilian coffee. **Journal Food Protection**, Des Moines, v. 64, n. 8, p. 1226-1230, Aug. 2001.

van der MERVE, K. J.; STEYN, P. S.; FOURE, L.; SCOTT, B.; THERON, J. J. Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh. **Nature**, London, v. 205, n. 4976, p 1112-1113, 1965.

VARGA, J.; KEVEL, E.; RINYU, E.; TÉREN, J.; KOZAKIEWICZ, Z. Ochratoxin Production by *Aspergillus* Species. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62. n. 12, p. 4461-4464, Dec. 1996.

VARGA, J.; KEVEI, F.; HAMARI, Z.; TÓTH, B.; TÉREN, J.; CROFT, J. H.; KOZAKIEWICZ, Z. Genotypic and phenotypic variability among black *Aspergillus*. In: SAMSON, R. A.; PITT, J. I. (Ed.). **Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification**. Harwood Academic, 2000b. p. 397-411.

VARGA, J.; TÓTH, B.; RIGÓ, K.; TÉREN, J.; HOEKSTRA, R. F.; KOZAKIEWICZ, Z. Phylogenetic analysis of *Aspergillus* section *Circumdati* based on sequences of the internal transcribed Spacer regions and the 5.8S rRNA gene. **Fungal Genetic and Biology**, Orlando, v. 30, n. 1, p. 71-80, June 2000a.

WANG, L.; YOKOYAMA, K.; TAKAHASI, H.; KASE, N.; HANYA, Y.; YASHIRO, K.; MIYAJI, M.; NASHIMURA, K. Identification of species in *Aspergillus* section *Flavi* based on sequencing of the mitochondrial cytochrome b gene. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 71, n. 1, p. 75-86, Dec. 2001.

YAMATOYA, T.; SUGIYAMA, J.; KURAISHI, H. Electrophoretic comparison of enzymes as a chemotaxonomic aid among *Aspergillus* taxa (2). *Aspergillus* sect. *Flavi*. In: SAMSON, R. A.; PITT, J. I. (Ed.). **Modern concepts of *Penicillium* and *Aspergillus* classification**. New York: Plenum Press, 1990. p. 395-406.

YOKOYAMA, K.; WANG, L.; MIYAJI, M.; NISHIMURA, K. Identification, classification and phylogeny of the *Aspergillus* section *Nigri* inferred from mitochondrial cytochrome b gene. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 200, n.2, p. 241-246, June 2001.