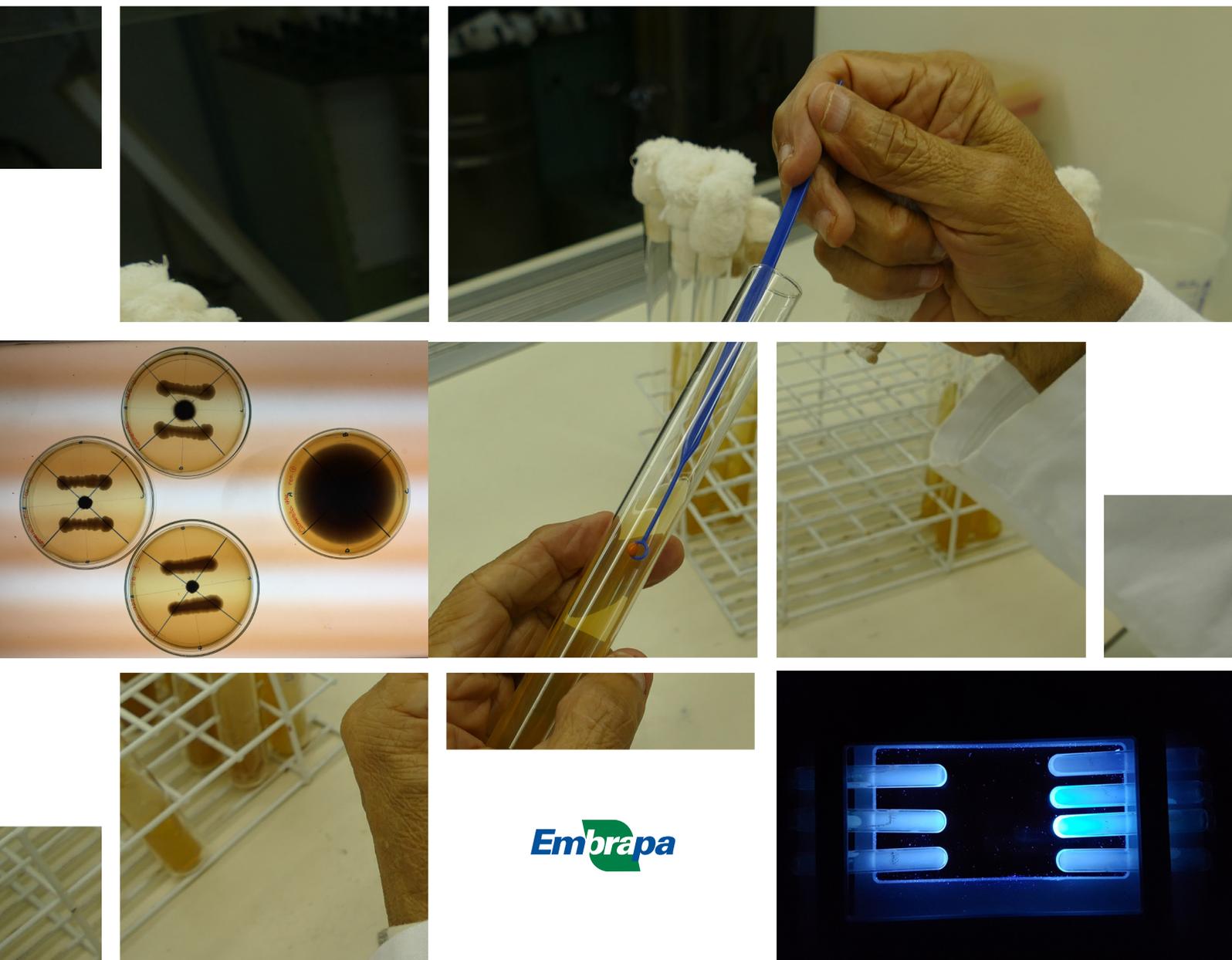


Coleção de microrganismos de interesse agroindustrial:
histórico e realizações



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Uva e Vinho
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

DOCUMENTOS 127

Coleção de microrganismos de interesse agroindustrial: histórico e realizações

*Gildo Almeida da Silva
Bruna Carla Agustini
Loiva Maria Ribeiro de Mello*

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Uva e Vinho
Rua Livramento, 515 - Caixa Postal 130
95701-008 Bento Gonçalves, RS

Fone: (0xx) 54 3455-8000
Fax: (0xx) 54 3451-2792
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Uva e Vinho

Presidente
João Caetano Fioravanço

Secretário-Executivo
Edgardo Aquiles Prado Perez

Membros
Fernando José Hawerth, Jorge Tonietto, Klecius Ellera Gomes, Renata Gava, Silvana Buriol, Rochelle Martins Alvorcem, Thor Vinicius Martins Fajardo

Supervisão editorial
Klecius Ellera Gomes

Revisão de texto
Edgardo Aquiles Prado Perez
Renata Gava

Normalização bibliográfica
Rochelle Martins Alvorcem CRB10/1810

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Cristiane Turchet

Imagem da capa
Viviane Maria Zanella Bello Fialho
Gildo Almeida da Silva

1ª edição
Publicação digitalizada (2022)

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 Uva e Vinho

Coleção de microorganismos de interesse agroindustrial: histórico e realizações.
/ por Gildo Almeida da Silva... [et al.]. - Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2022.
18 p. : il. color. -- (Embrapa Uva e Vinho. Documentos online, 127).

ISSN 1808-4648

1. CMIA. 2. Coleção de microorganismos de interesse agroindustrial. 3. Microorganismos. 4. Coleção. 5. Fermentação. I. Silva, Gildo Almeida da. II. Embrapa Uva e Vinho. III. Série.

CDD 363.192 (21. ed.)

© Embrapa, 2022

Autores

Gildo Almeida da Silva

Biomédico, doutor em Bioquímica, pesquisador da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS.

Bruna Carla Agustini

Farmacêutica, doutora em Ciências Farmacêuticas, analista da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS.

Loiva Maria Ribeiro de Mello

Economista, mestre em Economia e Sociologia Rural, pesquisadora da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS.

Apresentação

A Embrapa Uva e Vinho atua em diversas frentes com o objetivo de promover o crescimento do setor agropecuário. A Coleção de Microrganismos de Interesse Agroindustrial, com potencial de uso em diferentes áreas de produção agrícola ou industrial é um exemplo para a manutenção da biosfera e promoção do crescimento do setor agropecuário de forma sustentável.

Uma coleção de microrganismos se reveste de grande importância porque são fontes valiosas para o uso sustentável da biodiversidade microbiológica e da conservação desses organismos em ambientes controlados. Com as mudanças climáticas e outras adversidades impostas pela natureza ou pelo homem a perda ou a alteração desses organismos no ambiente praticamente não é percebida. Os microrganismos representam a maior biomassa terrestre e 90% dessa biodiversidade ainda se acha inexplorada. Na natureza, atuam na reciclagem de nutrientes, no processo de desintoxicação, no sistema de crescimento de plantas, na solubilização e disponibilização de minerais e no equilíbrio dos ecossistemas. Uma alteração significativa de microrganismos numa determinada área pode causar impactos imprevisíveis.

São versáteis na produção de metabólitos com definida atuação, podendo ser empregados nas mais diversas áreas científicas. Sintetizam moléculas importantes para tratamentos de determinadas doenças e que normalizam a atividade de outros microrganismos no ambiente. Podem atuar como agentes no combate de patógenos de plantas, promover o equilíbrio ambiental e atuar positivamente no crescimento de plantas. Alguns apresentam a capacidade de transformar substratos em produtos de significativo valor comercial, como o envolvimento direto na produção de combustíveis líquidos. Outros estão atrelados ao processo de elaboração de bebidas, como vinho, cerveja e destilados. Estão presentes em alimentos como pão, iogurte entre outros.

Diante do exposto, a Coleção de Microrganismos de Interesse Agroindustrial da Embrapa Uva e Vinho possibilita a criação de oportunidades para pesquisa científica e desenvolvimento tecnológico para o setor da vitivinicultura brasileira.

Adeliano Cargnin
Chefe-Geral da Embrapa Uva e Vinho

Sumário

Coleção de Microrganismos de Interesse Agroindustrial: Histórico e Realizações.....	8
Referências	15

Coleção de Microrganismos de Interesse Agroindustrial: Histórico e Realizações

A história da Coleção de Microrganismos de Interesse Agroindustrial (CMIA) da Embrapa Uva e Vinho, teve seu início na Unidade Estadual de Pesquisa de Âmbito Estadual (UEPAE) da Embrapa, localizada em Bento Gonçalves, em 1980. Esta Unidade possuía uma estrutura simples. Dispunha de uma vinícola, onde se elaboravam vinhos de caráter experimental, um prédio central, que abrigava o pessoal da administração e pesquisadores, algumas poucas edificações e áreas com vinhedos. No início de 1980, já haviam os alicerces do prédio que hoje é o Centro Técnico e mais algumas outras edificações de apoio. As primeiras edificações a ficarem prontas foram a casa de apoio, que se localiza na área das casas de vegetação, e o prédio do almoxarifado.

Foi a casa de apoio o berço da coleção. Até então, a Unidade era completamente desprovida de laboratório. Não possuía condições físicas para se efetuar um isolamento de microrganismo ou outra atividade de pesquisa que exigisse estrutura laboratorial mínima. Mas possuía uma autoclave de esterilização e uma recém-adquirida capela de fluxo laminar destinada aos trabalhos de multiplicação rápida de mudas de videira em ambiente controlado (in vitro). Aproveitando os três “pilares estruturais” que se faziam presentes na época, ou seja, a autoclave, a casa de apoio e a capela de fluxo laminar, foi iniciada a coleção.

O primeiro projeto “Seleção de Leveduras Autóctones para a Elaboração de Vinhos”, iniciado por volta de 1981, fazia parte do Programa Nacional de Pesquisa (PNP) de Vitivinicultura e tinha como objetivo coletar, caracterizar, identificar, selecionar leveduras autóctones (da própria região), presentes na baga da uva, com aptidão enológica adequada para a vinificação e, ainda, com o propósito de preservar as leveduras isoladas. O foco principal sempre foi disponibilizar leveduras autóctones para o setor vinícola uma vez que as linhagens de levedura usadas nas empresas vinícolas eram importadas. Foram isoladas 665 linhagens de leveduras provenientes do mosto de uva das cultivares brancas Riesling Itálico (Série B84) e tinta Cabernet Franc (Série T84) durante a fase tumultuosa da fermentação, considerada a fase inicial do processo de vinificação. Embora as uvas que foram usadas tivessem sua origem na região de Bento Gonçalves (RS), as linhagens destas duas séries são consideradas genéricas uma vez que não foram obtidas de um local específico (Silva; Silva, 1983). Estas duas séries iniciais foram extremamente importantes porque serviram de base para o estabelecimento e para a adaptação de metodologias de avaliação.

As linhagens de leveduras isoladas foram armazenadas em tubos de ensaio, contendo meio sólido inclinado e em geladeira, a temperatura de aproximadamente 8 °C (Figura 1). De seis em seis meses, as leveduras eram repicadas para não perderem a viabilidade, mesmo sabendo que este procedimento poderia acarretar alterações importantes nas propriedades e no desempenho das leveduras. Depois, as leveduras eram mantidas em tubos de ensaio a -20 °C em meio contendo glicerol.

Nessa época, a temática “Coleção” passou a ser contemplada em projetos de pesquisa vinculados aos demais PNPs da Embrapa. Estes programas tinham suporte financeiro robusto, dando um impulso gigantesco à pesquisa agropecuária brasileira.

A primeira investida na inicialização da coleção foi bem sucedida, mas a continuidade do processo de coleta dependia de estruturas laboratoriais. Entre 1982 e 1983, as obras correspondentes aos atuais laboratórios já estavam executadas, os equipamentos planejados para o Laboratório de Microbiologia Aplicada (LMA) já estavam, paulatinamente, sendo adquiridos e instalados (Figura 2).



Foto: Gildo Almeida da Silva



Foto: Gildo Almeida da Silva - BME

Figura 1. Leveduras isoladas mantidas em ágar inclinado.

Figura 2. Equipamentos adquiridos.

Depois dessa fase de estruturação, o foco dos trabalhos na coleção passou a ser a caracterização das linhagens isoladas. As primeiras características avaliadas foram velocidade de fermentação e formação de ácido sulfídrico (H_2S) empregando metodologia desenvolvida por Silva; Silva (1984) (Figura 3). Isso porque é imprescindível que uma levedura que se destina à elaboração de vinhos tenha uma adequada velocidade de fermentação e não forme H_2S . Estas características eram importantes porque a velocidade de fermentação dá um bom indicativo do gênero da levedura responsável pela fermentação e a formação de H_2S é o que menos se quer em uma linhagem que se destina à elaboração de vinho. Estavam simplificados, dessa forma, o sistema de seleção e o processo de identificação, que pelo método clássico (RIJ, 1984) é demorado e oferece resultados muitas vezes dúbios. Mais tarde, foram introduzidos outros critérios de avaliação, como o teste killer, empregando meios adequados e específicos para a detecção de linhagens killer, sensíveis e neutras (Silva, 1996; Silva et al., 2011) (Figura 4). Com as inúmeras linhagens obtidas e com o processo de avaliação em pleno andamento, por longo período de tempo, novas linhagens não foram coletadas. Esforços foram concentrados na caracterização e na identificação taxonômica. As leveduras foram mantidas em ágar inclinado e repicadas a cada seis meses em meio mosto-ágar. Portanto, a preservação de longo prazo não era praticada.

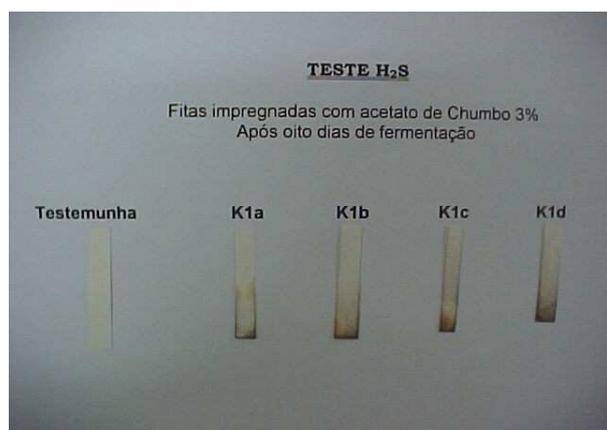


Foto: Gildo Almeida da Silva

Figura 3. Níveis de produção de H_2S de três vinhedos.



Foto: Gildo Almeida da Silva - BME

Figura 4. Linhagens killer e sensível.

Durante as avaliações, destacaram-se quatro linhagens: *Saccharomyces cerevisiae* Embrapa 20B, Embrapa 81B, Embrapa 82B e Embrapa 87B, hoje denominadas apenas como *Saccharomyces cerevisiae* 20B84, 81B84, 81B84 e 87B84. A linhagem 20B84 apresentou uma produção de 8,4 g/L de glicerol. Os teores de glicerol das demais estiveram abaixo desse valor, inclusive em relação ao teor de glicerol da linhagem testemunha. Nas safras de 1984 e 1985, a linhagem *Saccharomyces cerevisiae* 20B84 foi avaliada na vinícola da Embrapa Uva e Vinho, atualmente denominada de Laboratório de Inovação Enológica (LIE). Foram elaborados 20.000 L de vinho branco da cultivar Malvasia de Lipari, 40.000 L de vinhos da cultivar Cabernet Franc e 4.000 L de espumante pelo processo Charmat. A linhagem elevou a pressão do tanque para cinco atm em 21 dias de fermentação. Os resultados tanto na elaboração de vinhos como de espumante foram surpreendentes uma vez que todos apresentaram qualidade superior aos vinhos elaborados com a levedura padrão (Silva; Silva, 1987).

Diante da superioridade de desempenho da levedura, em 1985, a coleção passou a fornecer a linhagem 20B84 para a elaboração de todos os vinhos da Embrapa (Silva; Silva, 1987). Os responsáveis pela coleção tinham como propósito colocar a linhagem para teste em cantinas particulares para divulgar o emprego de linhagens autóctones regionais na elaboração de vinhos. A Cooperativa Vinícola Aurora, uma das maiores vinícolas do Brasil, foi contactada para vinificar 20.000 L de vinho com a levedura 20B84. Depois de efetuar testes de vinificação, a empresa decidiu vinificar toda sua produção de vinho branco com a referida linhagem. Ou seja, foram vinificados na Aurora, naquele ano, cinco milhões de litros de vinho branco. Nesta mesma safra, além da vinícola da Embrapa e da Cantina da Cooperativa Aurora, quatro outras cantinas particulares avaliaram a linhagem perfazendo, um total de 5,53 milhões de litros de vinho, sem computar o volume de vinho elaborado pela Embrapa. As fermentações ocorreram como o esperado, resultando em pontuações elevadas na avaliação sensorial dos vinhos. Uma das vinícolas dessa avaliação era de um pequeno produtor que não possuía acesso às modernas tecnologias de vinificação (Silva; Silva, 1987). O processo de transferência dessa tecnologia foi interrompido em 1986 devido à incorporação dos dois pesquisadores responsáveis no programa de pós-graduação da Embrapa. No entanto, os microrganismos foram mantidos e preservados.

Logo em seguida, em 1986, a levedura foi apresentada pelo Chefe-Geral da Embrapa Uva e Vinho, Dr. Gilmar Barcelos Kuhn, ao Ministro da Agricultura, Dr. Íris Rezende Machado, à sua respectiva comitiva e ao Presidente da Embrapa, Dr. Ormuz Freitas Rivaldo (Figura 5).



Foto: Acervo da Embrapa Uva e Vinho

Figura 5. Apresentação da levedura genérica *Saccharomyces cerevisiae* 20B84 à Comitiva do Ministério da Agricultura e ao Presidente da Embrapa.

Em 1992, foram reiniciados os trabalhos com a ampliação do espectro de caracterização das linhagens existentes. Novas coletas de leveduras autóctones em diversas regiões foram realizadas nos anos de 1996, 1997, 1999 e 2002, com foco na obtenção de linhagens para a elaboração de vinhos típicos regionais. Nesta ocasião, as linhagens foram obtidas de uvas colhidas em áreas específicas como Vale dos Vinhedos, Monte Belo do Sul, Farroupilha, entre outros locais (Figura 6).

Nesta época, foi também iniciada uma outra importante atividade da Coleção que foi a caracterização de linhagens para controle biológico e para aspectos relacionados ao potencial probiótico.

Um fato histórico que aconteceu na década de 1980 ligado à Coleção de Leveduras da Embrapa merece destaque. Um pequeno produtor rural da região de Santo Ângelo (RS) que apenas elaborava vinho de mesa para consumo próprio resolveu procurar a Embrapa no intuito de melhorar a qualidade de seu produto. A esse produtor, que representava a Associação dos Produtores Familiares de Vinho Colonial e também era ligado a Associação das Indústrias Caseiras de Vinho de Catuípe (RS), foi cedida a linhagem *Saccharomyces cerevisiae* 20B84 da Coleção. Foi-lhe transmitido o processo de multiplicação domiciliar do microrganismo de forma segura. Este produtor procedeu à multiplicação da linhagem, usando-a na vinificação. Na safra, distribuiu esta levedura para mais outros vinte pequenos produtores rurais da região. A cada safra, o produtor procurava a Embrapa e demandava a linhagem *Saccharomyces cerevisiae* 20B84. Com a melhoria da qualidade, os produtores passaram a comercializar o produto. Para legalizar o comércio, a referida Associação pleiteou a criação, junto ao Congresso Nacional, do Vinho Colonial. A proposição teve origem em 19 de novembro de 2010 em trabalho desenvolvido pelo Deputado Federal Onyx Lorenzoni ao longo de mais de um ano junto a estes produtores rurais (Lorenzoni, 2012). Conseguiram, afinal, a aprovação e com isso solucionaram o aspecto legal da comercialização do Vinho Colonial. O uso da levedura *Saccharomyces cerevisiae* 20B84 da Coleção suscitou, de certa maneira, o movimento de criação do Vinho Colonial. Num encontro desses produtores rurais no Congresso Nacional, o nome da Embrapa Uva e Vinho foi por diversas vezes elogiado pelo representante da Associação.



Foto: Acervo da Embrapa Uva e Vinho

Figura 6. Coleta de uva em vinhedo para isolamento de leveduras.

A partir de 2009, houve a estruturação das coleções de microrganismos existentes nas diversas Unidades da Embrapa, visando iniciar o processo de catalogação dos microrganismos e garantir a sua manutenção. Foi implantado um sistema informatizado denominado Infomicro.

Na sequência, foi desenvolvido um novo sistema para abrigar todas as coleções da Embrapa denominado de Alelo, com particularidades para atender cada uma das vertentes: vegetal, animal e microrganismo.

Para a vertente microrganismo, o AleloMicro contempla dados referentes a gêneros, espécies, coordenadas geográficas, data de coleta, data de introdução da linhagem na coleção, número do cadastro no SisGen, dentre outros itens.

A coleção de leveduras da Embrapa Uva e Vinho passou a ser denominada “Coleção de Microrganismos de Interesse Agroindustrial (CMIA)”, cujos dados disponíveis, em arquivos e planilhas, de todas as leveduras coletadas anteriormente, foram incorporados ao novo sistema.

Com essa estruturação, a coleção foi ampliada com novas coletas em 2010 e, anualmente, de 2012 a 2019, sendo introduzido o método de preservação em criofreezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Figura 7) e, por volta de 2013, iniciaram-se as alterações na metodologia de identificação de linhagens da Coleção. Partiu-se do método clássico, que envolvia auxanograma e zimograma (Rij, 1984; Kurtzman et al., 1998; Barnett et al., 2000), que além de demorado, conduz a resultados duvidosos em relação as técnicas mais modernas baseadas em biologia molecular de PCR, PCR/RFLP do ITS1-5,8S-ITS2 do rDNA, sequenciamento da região D1/D2 do rDNA e identificação por Maldi-Tof MS (Agustini et al., 2014).



Foto: Gildo Almeida da Silva - BME

Figura 7. Criofreezer ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) para manutenção das culturas de microrganismos.

Além disso, está sendo criada, com sucesso, uma biblioteca suplementar de espectros para os casos nos quais ainda não há os respectivos padrões espectrais na biblioteca do equipamento (Agustini et al., 2018).

A CMIA vem contribuindo com linhagens de levedura aptas e específicas à elaboração de vinhos para todas as principais regiões vitivinícolas do Brasil. Tem colaborado de forma especial com as Indicações Geográficas (IGs), sejam elas Indicação de Procedência (IP) ou Denominação de Origem (DO).

Esta colaboração tem como fundamento a identificação, a caracterização das leveduras existentes nos vinhedos e a disponibilização de uma linhagem com aptidão enológica específica para cada uma das IGs: DO Vale dos Vinhedos (RS); IP Farroupilha (RS); IP Monte Belo do Sul (RS) (Figura 8); IP Pinto Bandeira (RS), IP Campanha Gaúcha (RS) e IP Vales da Uva Goethe Urussanga (SC).

Destaque deve ser dado à IP Monte Belo do Sul com relação ao uso da linhagem selecionada. Esse destaque refere-se ao entendimento que os membros da Associação dos Vitivinicultores de Monte Belo do Sul (APROBELO) possuem sobre a importância que tem o uso de uma linhagem autóctone sobre a tipificação do produto final. Há oito safras, a linhagem *Saccharomyces cerevisiae* 2MBS12, exclusivamente selecionada para a IP Monte Belo do Sul, está sendo disponibilizada e tem sido usada por membros da APROBELO (Figura 8). Um dos membros dessa Associação expressou a seguinte opinião sobre os vinhos elaborados: “Gosto desta levedura nativa da Embrapa pois ela confere um sabor único aos produtos, com aroma de mel, cera de abelha e tostado aos espumantes. Já nos brancos, um sabor de pera e cítricos. A levedura nativa da região traz características locais para os nossos produtos”. Destaca ainda que as leveduras nativas garantem um valor agregado aos produtos, atraindo a atenção dos consumidores.

Outras regiões também têm utilizado suas respectivas linhagens selecionadas para a elaboração de vinho, incluindo regiões que ainda aguardam a obtenção do selo de IG como o Vale do São Francisco (PE/BA) e a Região do Planalto Catarinense (SC). Para cada uma destas regiões, já existe uma linhagem de levedura selecionada.

Uma outra característica de interesse na avaliação das linhagens é com relação à capacidade de elaboração de espumantes, porque uma das condicionantes para o uso de leveduras em processos de elaboração de espumantes refere-se à capacidade das linhagens em resistir à pressão provocada pela retenção do gás carbônico (CO₂) formado durante a fermentação alcoólica (Figura 9). E isto está relacionado diretamente às vocações regionais (IGs).

Durante essa trajetória, foram desenvolvidos meios de cultura para leveduras de composições distintas e de baixo custo para multiplicação, preservação de células e expressão de determinadas características, como o meio G7 (Silva; Almeida, 2006) (Figura 10) e outro a base de mosto de uva (Silva, 1996) (Figuras 10 e 11).

A Coleção, ao longo do tempo, possibilitou a interação com Universidades e Institutos de Pesquisa por meio da disponibilização de linhagens e o treinamento de alunos de graduação e pós-graduação em processos de caracterização e identificação taxonômica de leveduras por biologia molecular. Alguns desses alunos hoje fazem parte do corpo de pesquisa e de ensino de várias Instituições como Embrapa, Universidades e Institutos Federais.

Estão também disponíveis linhagens selecionadas específicas para as Indicações Geográficas de vinhos de diversas regiões do Brasil, além de linhagens genéricas para outras regiões, assim como para a elaboração de vinhos coloniais.

Foto: Acervo da Embrapa Uva e Vinho



Figura 8. Uso da linhagem selecionada *Saccharomyces cerevisiae* 2MBS12-IP de Monte Belo do Sul (RS).

Foto: Gildo Almeida da Silva - BME

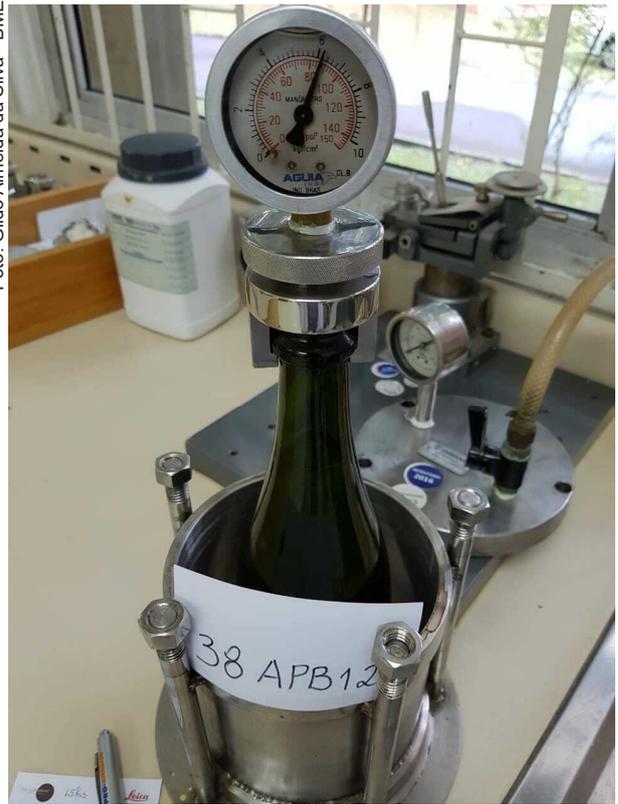


Figura 9. Resistência à pressão da linhagem selecionada *Saccharomyces cerevisiae* 38APB12-IP de Pinto Bandeira (RS).

Foto: Gildo Almeida da Silva - BME



Figura 10. Influência do meio de cultura sobre o metabolismo celular.

Foto: Gildo Almeida da Silva - BME



Figura 11. Meio para avaliar o controle biológico de fungo filamentos.

Além de leveduras, a Coleção passou também a abrigar fungos filamentosos fitopatogênicos usados na pesquisa da própria Embrapa e de outras Instituições.

Tem também recebido exemplares de microrganismos de outras Unidades da Embrapa, como da Embrapa Gado de Leite, que envia linhagens de levedura para identificação, caracterização e manutenção, e da Embrapa Agroindústria de Alimentos, que deposita fungos filamentosos de interesse na produção de enzimas.

As ações desenvolvidas com microrganismos da Coleção geraram publicações cujas metodologias têm sido utilizadas por outros autores em seus trabalhos científicos. Entre os trabalhos publicados que envolveram microrganismos cedidos pela CMIA podem ser citados os seguintes: Sangorrín et al., 2002; Bezerra, 2015; Mehta; Silva, 2015; Gaensly, 2016; Aghadavoudi et al., 2017; Abharian et al., 2018, 2020; Al-Khafaji et al., 2015; Betlej et al., 2020; Pakshir et al., 2020; Aboualigalehdari et al., 2020), além de livro dedicado à identificação de leveduras (Kurtzman et al., 2011).

Por fim, em 2020 foi concedida uma patente (CARTA PATENTE Nº PI 1103674-5) denominada “Método, Kit e Uso de par de oligonucleotídeos para a Detecção de Contaminação de Amostras por Microrganismos” pedida em 2011 (Silva et al., 2013). Esta patente foi desenvolvida com microrganismos não pertencentes à flora nativa brasileira, no entanto os microrganismos da CMIA foram empregados para aferir o método de detecção.

É importante frisar que todo e qualquer microrganismo isolado do território brasileiro é considerado nativo e, por força de lei, deve ser cadastrado, no âmbito federal, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen). Assim, todos os microrganismos da CMIA estão, nesse sistema, devidamente cadastrados sob os números A93F430 (passivo da coleção) e A603BA9 (ativo). O SisGen é textualmente definido pelo Ministério do Meio Ambiente como “um sistema eletrônico criado pelo Decreto nº 8.772, de 11 de maio de 2016, que regulamenta a Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015, como um instrumento para auxiliar o Conselho de Gestão do Patrimônio Genético – CGen – na gestão do patrimônio genético e do conhecimento tradicional associado” (Brasil, 2017).

Referências

- ABHARIAN, P. H.; DEHGHAN, P.; HAS- SANI-ABHARIAN, P.; TOLOUEI, S. Molecular characterization of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans* in the oral cavity of drug abusers using duplex polymerase chain reaction. **Current Medical Mycology**, v. 4, n. 1, p. 12–17, Mar. 2018. DOI 10.18502/cmm.4.1.29.
- ABHARIAN, P. H.; DEHGHAN, P.; HAS- SANI-ABHARIAN, P.; JABALAMELI, Z. Frequency of *Candida* species in the oral cavity of narcotics and stimulants smokers in Isfahan, using Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism method. **Advanced Biomedical Research**, v. 9, n. 30, p. 1–7, Jul. 2020. DOI 10.4103/abr.abr_38_20.
- ABOUALIGALEHDARI, E.; BIRGANI M. T.; FATAHINIA, M.; HOSSEINZADEH, M. Oral colonization by *Candida* species and associated factors among HIV-infected patients in Aahvaz, southwest Iran. **Epidemiology and Health**, v. 42, e2020033, may 2020. DOI 10.4178/epih.e2020033.
- AGHADAVOUDI, F.; CHABAVIZADEH, J.; DEHGHAN, P.; MOAFI, A. The frequency of oral candidiasis in children and adolescents with leukemia in Isfahan Province, Iran. **Journal of Isfahan Medical School**, v. 35, n. 420, p. 151–156, April 2017.
- AGUSTINI, B. C.; SILVA, G. A. da; BONFIM, T. M. B. MALDI-TOF MS supplementary database for species identification employing the yeast diversity encountered on southern Brazil grapes. **Folia Microbiologica**, v. 63, n. 6, p. 1–9, May 2018. DOI 10.1007/s12223-018-0607-2.
- AGUSTINI, B. C.; SILVA, L. P. da; BLOCH JUNIOR, C.; BONFIM, T. M. B.; SILVA, G. A. da. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of environmental yeasts and development of supplementary database. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 12, p. 5645–5654, Jun 2014. DOI 10.1007/s00253-014-5686-7.

- AL-KHAFAJI, K. A. A.; RAHEEM, S. A.; JWAAD, A. M.; RAHEEM, M. A. A. Detection of siderophores production and inorganic phosphate solubilization by local isolates of fluorescent *Pseudomonas*. **Journal of Madenat Alelem College**, v. 7, n. 2, p. 35-44, 2015.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **SisGen**: Manual do Usuário. [S.l.]: Conselho e Gestão do Patrimônio Genético v. 1.0, nov.2017.
- BARNETT, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D.; **Yeasts**: characteristics and identification. 3th. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
- BETLEJ, G.; BATOR, E.; OKLE- JEWICZ, B.; POTOCKI, L.; GÓRKA, A.; SLOWIK-BOROWIEC, M.; CZARNY, W.; DOMKA, W.; KWIATKOWSKA, A. Long-term adaption to high osmotic stress as a tool for improving enological characteristics in industrial wine yeast. **Genes**, v. 11, n. 5, e576, p. 1–15, 2020. DOI 10.3390/genes11050576.
- BEZERRA, F. P. C. A. Biblioteca de perfis moleculares de bactérias aeróbias formadoras de endósporos obtidos por espectrometria de massa MALDI-TOF, com sistema de qualidade. 2015. 124 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Microbiana) — Universidade de Brasília - Instituto de Ciências Biológicas – Programa de Pós-Graduação em Biologia Microbiana, Brasília, DF, 2015. DOI 10.26512/2015.06.D.19659.
- GAENSLY, F. **Seleção de leveduras vínicas autóctones produtoras da enzima β -glicosidase em mosto de uvas *Vitis labrusca* visando o aumento do teor de resveratrol livre**. 2016. 147 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) — Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Curitiba, Pr, 2016.
- KURTZMAN, C.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, T. The yeasts: A taxonomic study. 4th. ed. Amsterdam: Elsevier, 1998.. ISBN 9780123848680. KURTZMAN, C.; FELL, J.; BOEKHOUT, T. **The Yeasts**: A Taxonomic Study. Amsterdam: Elsevier Science, 2011. v. 1.
- LORENZONI, O. **Projeto de Lei n.º 3.183, de 2012**. Dispõe sobre a criação da denominação “Vinho Colonial”, sua produção, fiscalização, controle e comercialização. Brasília, DF, 2012. 1-4 p. Disponível em: <https://www.camara.leg.br/noticias/377727-projeto-regulamenta-classificacao-de-vinho-colonial/>. Acesso em: 15 set. 2021.>.
- MEHTA, A.; SILVA, L. P. MALDI-TOF MS profiling approach: how much can we get from it? **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. 184, Mar. 2015. DOI 10.3389/fpls.2015.00184.
- PAKSHIR, K.; FARAZMAND, F.; GHASEMI, F.; MIRHENDI, H.; ZOMORODIAN, K.; KHARAZI, M.; POUR, R. A.; GOLESTANI, H.; MOTAMEDI, M. Translation elongation factor 1-alpha gene as a marker for diagnosing of candidal onychomycosis. **Current Medical Mycology**, v. 6, n. 1, p. 15-21, 2020. DOI 10.18502/cmm.6.1.2503.
- RIJ, N. J. W. K. van. The yeasts a taxonomic study.3th. ed. Amsterdam: Elsevier, 1984.
- SANGORRÍN, M. P.; ZAJONSKOVSKY, I.; BROOCK, M. van; CABALLERO, A. The use of killer biotyping in an ecological survey of yeast in an old Patagonian winery. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v. 18, p. 115–120, 2002. DOI 10.1023/A:1014417222890.
- SILVA, G. A. da; BERNARDI, . L.; SIL, P. V. da. **Método, kit e uso de par de oligonucleotídeos para detecção de contaminação de amostras por microrganismos**, Carta Patente nº PI 1103674-5. Depósito: 16 jun. 2011. Concessão: 5 fev. 2013. Cl: C12N 15/11; C12Q 1/68.
- SILVA, G. A. da. The occurrence of killer, sensitive, and neutral yeasts in Brazilian Riesling Italic grape must and the effect of neutral strains on killing behaviour. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 46, n. 2, p. 112–121, Sep. 1996. DOI 10.1007/s002530050791.
- SILVA, G. A. da; ALMEIDA, E. A. de. Production of yellow-green fluorescent pigment by *Pseudomonas fluorescens*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 3, p. 411–419, 2006. DOI 10.1590/S1516-89132006000400009.
- SILVA, G. A. da; POLI, J. S.; POLETTO, C. M.; SCHAKER, P. D. C.; SILVA, P. V. Production of functional killer protein in batch cultures upon a shift from aerobic to anaerobic conditions. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n. 3, p. 601–612, May-June 2011. DOI 10.1590/S1516-89132011000300022 .
- SILVA, M. A. A. A. da; SILVA, G. A. da. **Seleção de leveduras para vinificação**. Bento Gonçalves: UEPAE, nov. 1983. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/60777/1/CNPUV-PESQ.AND.-10.pdf>. Acesso em: 15 set. 2021.
- SILVA, M. A. A. A. da; SILVA, G. A. da. Determinação qualitativa da produção de sulfeto de nitrogênio por leveduras vínicas. In: **Síntese**: Tecnologias Geradas pelo sistema EMBRAPA.: Brasília: EMBRAPA-DDT, 1984. p. 243. (Embrapa – DPP. Documentos, 8). Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/98174/sintese-tecnologias-geradas-pelo-sistema-embrapa>. Acesso em: 16 set. 2021.

SILVA, M. A. A. A. da; SILVA, G. A. da. **Leveduras nacionais selecionadas para a elaboração de vinho**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e vinho, 1987. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 14). Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/40802/1/cir14.pdf>. Acesso em: 16 set. 2021.

Embrapa

Uva e Vinho