

Fungicidas Empregados na Viticultura e sua Ação sobre Atividade de Leveduras Autóctones e Seleccionada

Gildo Almeida da Silva¹, Renata Gava¹, Olavo Roberto Sônego¹ e Lucas da Ressurreição Garrido¹

¹Embrapa Uva e Vinho; Caixa Postal 130 - 95700-000 Bento Gonçalves – RS – E-mail: gildo@cnpuv.embrapa.br.

RESUMO

Foi investigada a ação de fungicidas registrados na cultura de videira, sobre a atividade de leveduras assim como a dose de inibição equivalente do fungicida que apresentasse maior efeito. Uvas da cultivar Cabernet Sauvignon foram tratadas, nas doses recomendadas, com 13 fungicidas. Uvas não tratadas e tratadas com fungicida foram colhidas, respeitando os prazos de carência, e submetidas à microvinificação. O experimento foi conduzido num delineamento inteiramente casualizado com três repetições. A ação dos fungicidas foi avaliada em leveduras autóctones e sobre a linhagem selecionada *Saccharomyces cerevisiae* Embrapa 1vvt/97. Captan, folpet, mancozeb, tebuconazole, azoxystrobin e famoxadone+mancozeb foram os que mais ação inibidora apresentaram sobre as autóctones. Sobre a selecionada, os mais inibidores foram captan, folpet, tetraconazole. Tiofanato metil e famoxadone+mancozeb mostraram-se estimulantes para as leveduras autóctones e selecionada, respectivamente. A levedura selecionada apresentou uma redução exponencial da atividade metabólica da ordem de 0,013 g CO₂/mg captan/L.

Palavras-chave: Inibição, fungicida, fermentação, atividade metabólica.

INTRODUÇÃO

As uvas são a fonte primária de leveduras que possuem estreita relação com o processo de elaboração de vinho. A população de leveduras sobre as bagas varia de acordo com a cultivar, posição geográfica do vinhedo, clima, práticas culturais e estágio de maturação da uva. Uvas maduras podem conter concentrações de leveduras que vão de 10⁴ a 10⁶ células/cm² (Fleet et al., 2002). A sobrevivência das leveduras sobre os cachos de uva depende da camada de cera que reveste as bagas, sendo esta composta de 60 a 80% de ácido oleanólico, de álcoois livres (C₂₀-C₃₄), de ácidos livres (C₁₄-C₃₂) assim como de seus aldeídos e ésteres (Radler, 1965). Tem sido aventado que o ácido oleanólico é um fator de crescimento importante para leveduras (Bréchet et al., 1971). Os exsudatos de açúcar e aminoácidos provenientes da polpa talvez sejam os principais fatores de manutenção das leveduras sobre as bagas. O movimento destas substâncias em direção à parte externa da baga se dá por osmose, devido à chuva ou à formação de gotas de orvalho (Kosuge e Hewitt, 1964). As linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*, isoladas de bagas de uvas provenientes de parreirais da Região de Bento Gonçalves, apresentam características diferenciadas (Silva, 1996; Silva, 1999a; Silva, 1999b; Silva e Ficagna, 2003; Silva e Dalarmi, 2003; Silva e Muratore, 2006).

Microrganismos outros, especialmente os fungos filamentosos, podem afetar de forma significativa a produção e a qualidade das uvas destinadas à elaboração de vinhos. Controlar o desenvolvimento destes microrganismos se torna imperativo. Até o momento, o controle convencional envolve o uso de fungicidas. Estes, além de combater os microrganismos patogênicos, podem alterar a flora e o comportamento fermentativo das leveduras autóctones. Entre os efeitos dos fungicidas sobre as leveduras estão o retardamento do crescimento celular e do processo fermentativo e a parada de fermentação

(Bisson, 1999). Este trabalho teve como objetivo determinar a ação de 13 fungicidas, aplicados em parreirais (cultivar Cabernet Sauvignon), sobre o comportamento fermentativo das leveduras autóctones e sobre a atividade fermentativa da linhagem selecionada *Saccharomyces cerevisiae* Embrapa 1vvt/97, isolada no Vale dos Vinhedos (Bento Gonçalves).

MATERIAL E MÉTODOS

Tratamentos com Fungicidas

Foram utilizados os fungicidas difenoconazole (dif), pyrimethanil (pyr), tebuconazole (teb), tetraconazole (tet), imibenconazole (imi), iprodione (ipr), procymidone (pro), tiofanato metil (tiof), captan (cap), azoxystrobin (azo), famoxadone+mancozeb (fam), mancozeb (man) e folpet (folp). Estes fungicidas foram pulverizados sobre uvas da cultivar Cabernet Sauvignon de um vinhedo, conduzido em latada, da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves (RS). Utilizaram-se as dosagens comerciais recomendadas pelos fabricantes. Os prazos de carência de cada fungicida foram respeitados de acordo com a determinação do fabricante. Os tratamentos foram realizados com três repetições.

Microrganismos

Como levedura selecionada, foi empregada a linhagem *Saccharomyces cerevisiae* Embrapa 1vvt/97. As linhagens autóctones utilizadas nas fermentações foram aquelas naturalmente presentes nas bagas de uva submetidas a cada tratamento com os fungicidas.

Inibição do Processo Fermentativo

A ação dos fungicidas sobre a atividade fermentativa foi efetuada, utilizando-se o mosto de uvas colhidas do vinhedo tratado com os diversos fungicidas, tendo como testemunha, um mosto de uvas sem tratamento. As uvas foram transferidas assepticamente do vinhedo para o laboratório, esmagadas e submetidas à fermentação. A avaliação dos fungicidas sobre a atividade das leveduras autóctones foi feita, efetuando-se uma vinificação sem uso de leveduras selecionadas. A ação dos fungicidas sobre a levedura selecionada foi avaliada, utilizando-se uma suspensão, contendo 10^7 células/mL da linhagem *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97. O crescimento da linhagem, para o preparo do inóculo, foi feito em meio G7₁₁₄ (Silva e Almeida, 2006), a 18°C, em incubadora orbital (New Brunswick, USA) a 150 rpm. A padronização do inóculo foi efetuada por microscopia (Microscópio Universal Zeiss, Alemanha), por meio de câmara de Neubauer melhorada. A relação inóculo/meio foi de 1:10. A fermentação foi conduzida a 18°C e acompanhada diariamente por gravimetria (Longo et al., 1992). Os tratamentos foram realizados com três repetições e os dados obtidos foram submetidos à análise de regressão.

Inibição do Crescimento e da Fermentação em Doses Crescentes de Fungicida

O teste de inibição do crescimento celular foi efetuado em placa de Petri, contendo o meio sólido G7₁₁₄ e com 100 g/L de sacarose. Discos de papel de filtro (Advantec Toyo-5A), com 0,5 cm de diâmetro, foram impregnados com doses crescentes de uma solução do fungicida captan. As concentrações do fungicida foram : 1- 14,8; 2- 11,9; 3- 8,95; 4- 5,95; 5- 3, 6 e 0,0 (testemunha) (10^{-3}) µg de fungicida/disco. Como cultura de base, foi utilizada uma alíquota de 0,1 mL de uma suspensão células, contendo 10^7 células/mL, da linhagem *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97. As condições de cultivo para o preparo de inóculo e a padronização seguiram os mesmos procedimentos acima citados. Depois de inoculados, os discos, com o fungicida nas suas respectivas dosagens, foram transferidos para as placas de Petri (três dosagens por placa). Estas foram incubadas a 18°C por 48 horas. O comprometimento celular do microrganismo foi detectado também por inoculação em meio sólido em placa de Petri sectada. Para esta avaliação, utilizou-se o meio líquido G4₁₁₄ com 100 g de sacarose/L e com 544 mg de captan/L. Uma alíquota de 20 µL sem fungicida foi depositada em dois momentos: no tempo 0 e após 96 horas (duas testemunhas). Depois da adição do fungicida, 20 µL da suspensão de células foram depositadas no momento da adição (tempo- 0) e após 24, 48 e 72 horas. Os aspectos microscópicos das células de *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97, mantidas no meio G7₁₁₄ sem e com fungicida, foram observados com microscópio com ocular de 10x e objetiva de 40x (achroplan) e em campo claro. Para avaliar a inibição sobre a fermentação, foram usadas as concentrações de 2,7; 2,16; 1,63; 1,08; 0,544 e 0,0 (testemunha) g/L de captan com tempo de residência de 21, 30 e 42 dias. A linhagem selecionada foi transferida para o meio G7₁₁₄ líquido, contendo o fungicida. A fermentação foi acompanhada da maneira já descrita. Todos os tratamentos foram

realizados com três repetições.

Determinação da Dose de Inibição Equivalente

A dose de equivalência de inibição foi determinada, tendo captan como fungicida padrão e *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97 como a linhagem modelo. Foram preparadas soluções do fungicida de modo a fornecer uma concentração final de 0, 25, 50, 75, 100 e 125 mg de captan/L. O experimento foi realizado com o meio líquido G7₁₁₄, contendo 100 g/L de sacarose. O crescimento da linhagem, para o preparo do inóculo, se deu em meio G7₁₁₄, a 18°C, em incubadora orbital a 150 rpm. A padronização do inóculo foi efetuada por microscopia, utilizando câmara de Neubauer melhorada. A relação inóculo/meio foi de 1:10. A fermentação foi conduzida a 18°C e acompanhada diariamente por gravimetria (Longo et al., 1992). Os tratamentos foram realizados com três repetições e os dados obtidos foram submetidos à análise de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inibição do Processo Fermentativo

Nem todos os fungicidas avaliados mostraram ação inibidora sobre a microflora fermentativa da uva (Figura 1A). Observa-se que há fungicidas que exibem forte capacidade de inibição do processo fermentativo. Entre estes estão folpet, captan, azoxystrobin, tebuconazole, mancozeb e famoxadone+mancozeb. Com estes fungicidas, após cinco dias de maceração, as linhagens autóctones ainda apresentavam baixa atividade fermentativa. Apenas mancozeb e famoxadone+mancozeb permitiram que as linhagens exibissem alguma reação. Mesmo assim, provocaram forte retardamento no processo fermentativo. Monteil et al. (1986) verificaram que mancozeb possui uma forte inibição sobre leveduras, mas não avaliaram o grau de inibição sobre a fermentação. Outros, como procymidone e pyrimethanil, não se mostraram inibidores (Figura 1A). Convém salientar a ação estimulante do tiofanato metil sobre as linhagens autóctones (Figura 1B). Este resultado sugere ser, o tiofanato metil, um fungicida de ação seletiva. Os demais fungicidas, embora exibam uma lag-phase semelhante à observada na fermentação do tratamento sem fungicida, retardaram a fermentação. Com relação à linhagem selecionada (Figura 2A), observa-se que dois fungicidas, captan e folpet, que mostraram importante ação inibitória da fermentação das linhagens autóctones, também foram fortes inibidores da linhagem selecionada. Além destes, tetraconazole também exibiu efeito inibidor da fermentação. Captan e folpet podem estar envolvidos com a inibição de enzimas chave do processo fermentativo, como piruvato descarboxilase. Se o crescimento celular também for afetado, outros mecanismos de inibição podem estar atuando. Hochstein e Cox (1956) verificaram que, em fungos filamentosos, o captan inibe carboxilases e que a adição de tiamina reduz o efeito inibidor do captan. Esta redução não ocorre com *Sacch. cerevisiae*. Em 10 dias de fermentação, os fungicidas de efeito intermediário de inibição foram difeconazole, mancozeb, tebuconazole e azoxystrobin. O fungicida famoxadone+mancozeb mostrou ação estimulante da fermentação para esta linhagem selecionada (Figura 2B). Os demais fungicidas não esboçaram atividade inibitória (Figura 2A).

Inibição do Crescimento e da Fermentação em Doses Crescentes de Fungicida

Pelo fato de os fungicidas captan e o folpet inibirem a fermentação tanto das leveduras autóctones como da linhagem selecionada, e por serem do mesmo grupo químico (Ftalamidas), foi selecionado o fungicida captan para avaliar sua ação sobre o crescimento celular. Levando em consideração que leveduras podem não fermentar um determinado substrato, mas podem utilizá-lo para crescimento e sabendo-se que um comprometimento apenas do aparato enzimático, responsável pela fermentação, não leva à parada de crescimento celular, em condições aeróbicas, a ação do captan sobre a linhagem selecionada *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97 foi determinada em meio sólido contendo doses crescentes deste fungicida. Observou-se que o crescimento da levedura ficou comprometido nos pontos de maior difusão do fungicida (Figura 3). As concentrações mais inibidoras foram as que estiveram acima de 3×10^{-3} µg de captan/disco. Foi observado também que o efeito inibidor sobre o crescimento em meio sólido independe do tempo de preparo da solução de fungicida, aqui denominado de tempo de residência (21, 30 e 42 dias). Em todos os tempos de residência houve inibição igual à que está mostrada na Figura 3 com tempo de residência de 30 dias. Sobre a fermentação, pode-se observar que todas as concentrações de captan foram

inibitórias. O microrganismo respondeu, de forma tênue, ao tempo de residência (Figuras 4, 5 e 6).

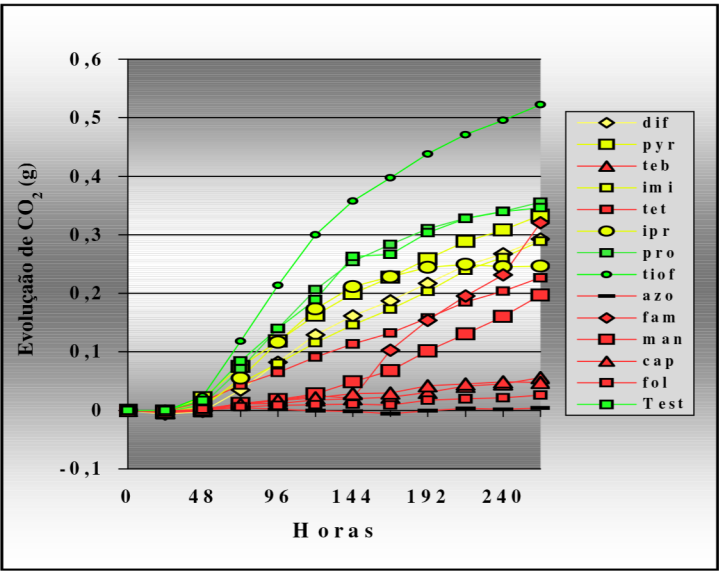


Figura 1A - Ação de fungicidas sobre a atividade fermentativa de leveduras autóctones: difenoconazole (dif), pyrimethanil (pyr), tebuconazole (teb), tetraconazole (tet), imibenconazole (imi), iprodione (ipr), procymidone (pro), tiofanato metil (tiof), captan (cap), azoxystrobin (azo), famoxadone+mancozeb (fam), mancozeb (man), folpet (folp) e Test (Testemunha).

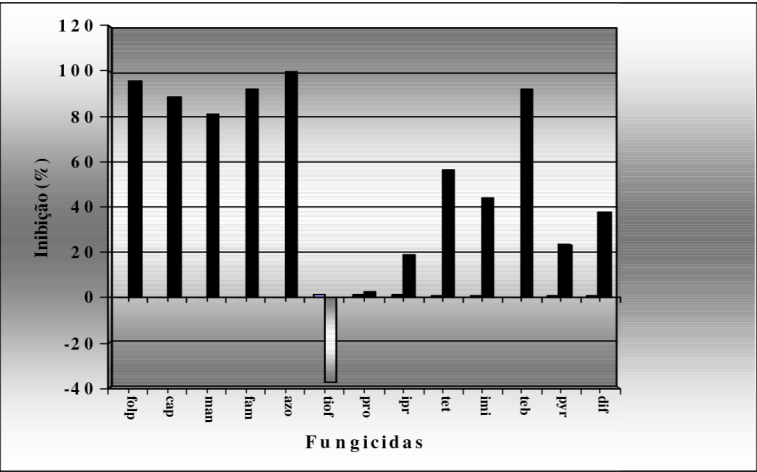


Figura 1B – Inibição da atividade fermentativa de leveduras autóctones: difenoconazole (dif), pyrimethanil (pyr), tebuconazole (teb), tetraconazole (tet), imibenconazole (imi), iprodione (ipr), procymidone (pro), tiofanato metil (tiof), captan (cap), azoxystrobin (azo), famoxadone+mancozeb (fam), mancozeb (man), folpet (folp) e Test (Testemunha).

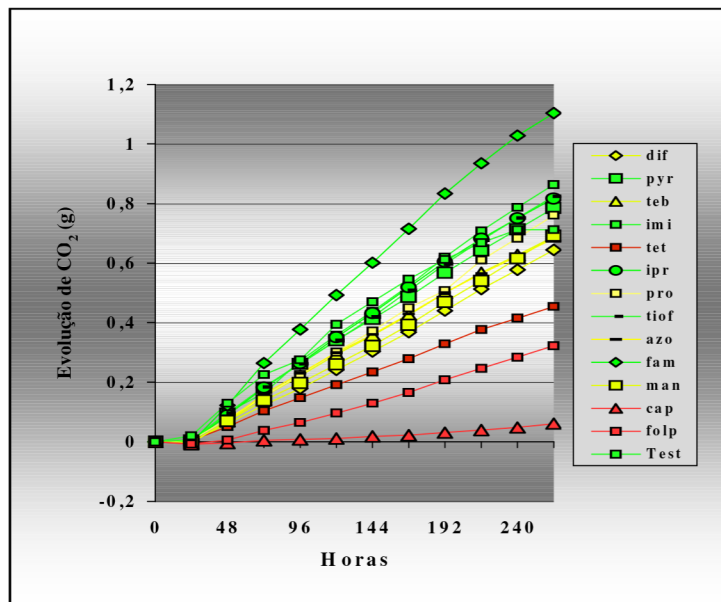


Figura 2A - Ação de fungicidas sobre a atividade fermentativa da linhagem *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97: difenoconazole (dif), pyrimethanil (pyr), tebuconazole (teb), tetraconazole (tet), imibenconazole (imi), iprodione (ipr), procymidone (pro), tiofanato metil (tiof), captan (cap), azoxystrobin (azo), famoxadone+mancozeb (fam), mancozeb (man), folpet (folp) e Test (Testemunha).

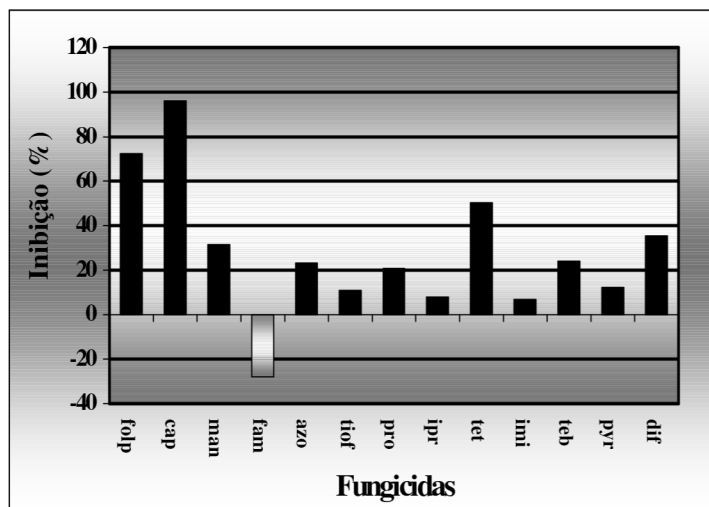


Figura 2B - Inibição da atividade fermentativa da linhagem *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97: difenoconazole (dif), pyrimethanil (pyr), tebuconazole (teb), tetraconazole (tet), imibenconazole (imi), iprodione (ipr), procymidone (pro), tiofanato metil (tiof), captan (cap), azoxystrobin (azo), famoxadone+mancozeb (fam), mancozeb (man), folpet (folp) e Test (Testemunha).

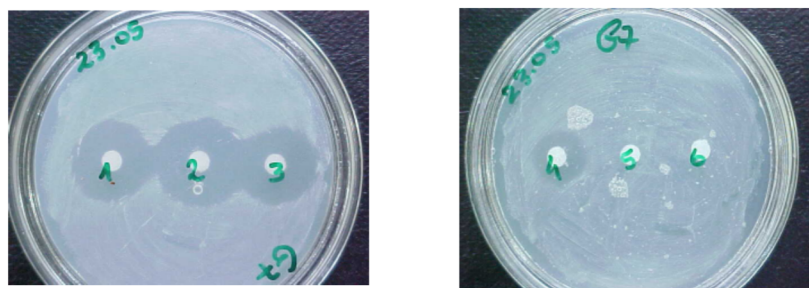


Figura 3 - Inibição do crescimento da linhagem *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97 na presença de 1- 14,8; 2- 11,9; 3- 8,95; 4- 5,9; 5- 3,0; 6- 0,0 (testemunha) µg de captan/disco. (Solução de fungicida com idade de 30 dias).

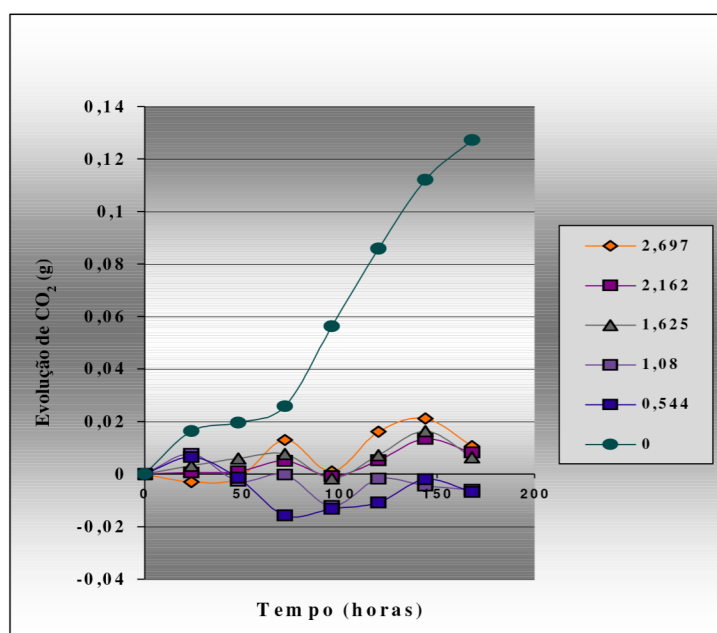


Figura 4 - Inibição da fermentação da linhagem *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97 na presença de 2,7; 2,16; 1,63; 1,08; 0,544; 0,0 (testemunha) g de captan/L com tempo de residência de 21 dias.

Sem a presença de captan, as células permaneceram viáveis por pelo menos 96 horas (Figura 7) em meio líquido e se apresentaram estruturadas (Figura 8). Com o fungicida captan, a redução no número de células foi progressivo (Figura 7) e se tornaram desestruturadas (Figura 9). Isto indica que o mecanismo de inibição do captan sobre a fermentação é diferente daquele que compromete a viabilidade celular. Este trabalho mostrou que microrganismos com reconhecida capacidade fermentativa podem não recuperar sua plena atividade na presença de fungicidas como o captan, mesmo em concentrações subletais. De fato, Hochstein e Cox (1956) demonstraram que captan compromete a atividade das carboxilases e evidências têm sido obtidas sobre a ação inibitória do captan sobre RNA polimerase (Dillwith e Lewis, 1982; Freeman-Wittig e Lewis, 1990; Luo e Lewis, 1992). Estes fatos dão suporte aos resultados aqui obtidos.

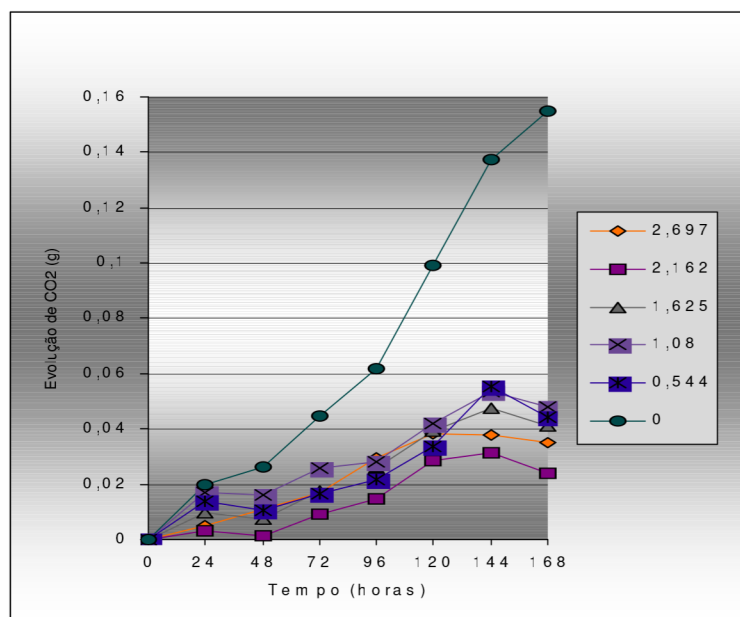


Figura 5 - Inibição da fermentação da linhagem *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97 na presença de 2,7; 2,16; 1,63; 1,08; 0,544; 0,0 (testemunha) g de captan/L com tempo de residência de 30 dias.

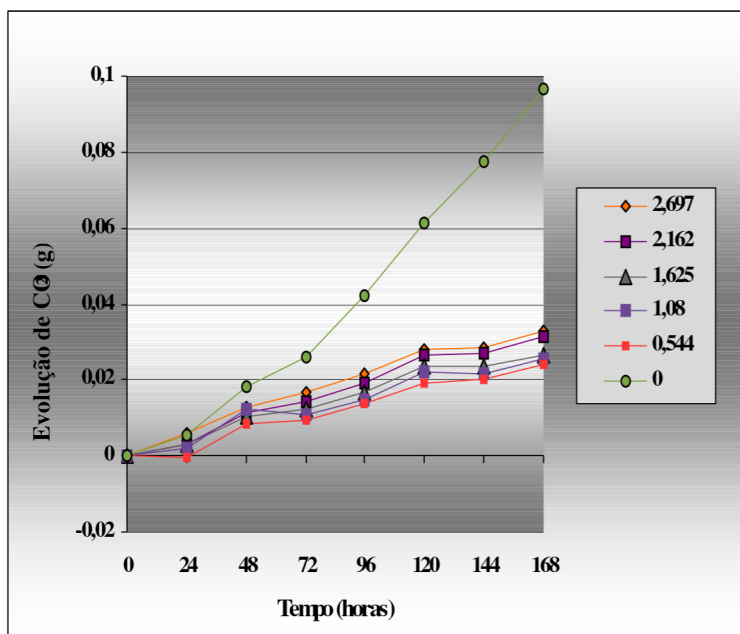


Figura 6 - Inibição da fermentação da linhagem *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97 na presença de 2,7; 2,16; 1,63; 1,08; 0,544; 0,0 (testemunha) g de captan/L com tempo de residência de 42 dias.



Figura 7 - Redução no número de células de *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97 ao longo do tempo (0, 24, 48, 72 horas) devido à ação do fungicida (544 mg/L). No sentido horário, partindo do topo: testemunha sem fungicida no tempo 0; tratamento com fungicida nos tempos 0; 24 h; 48 h e 72 h; testemunha no tempo 96 h.

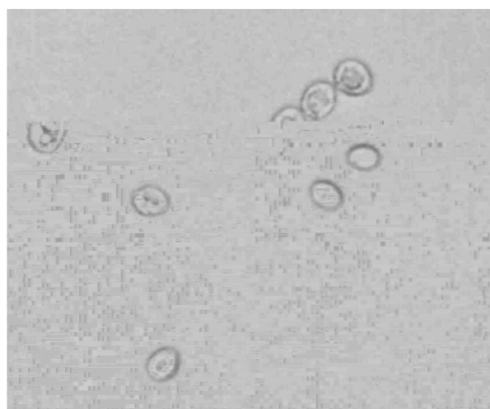


Figura 8 - Células de *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97 mantidas em meio G7₁₁₄ sem fungicida.

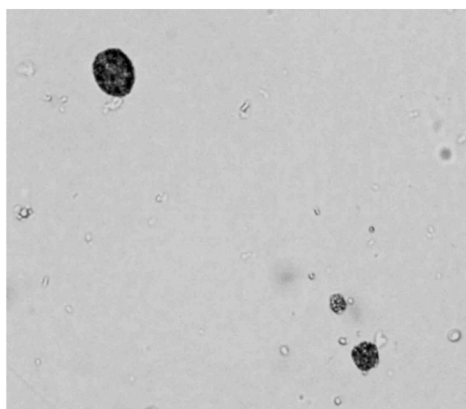


Figura 9 - Células de *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97 mantidas em meio G7₁₁₄ com fungicida.

Determinação da Dose de Inibição Equivalente

A concentração de captan necessária para inibir a atividade da levedura é baixa. Para haver uma discriminação razoável, que possibilitasse uma comparação entre as concentrações empregadas, foi necessário ter como concentração máxima 125 mg de captan/L e foram necessárias 216 horas de fermentação (Figura 10). Acima de 125mg/L, os valores de evolução de CO₂ se equivalem, indicando uma saturação do processo inibitório. Com a variação na concentração de fungicida de 0 a 125 mg/L, foi obtida uma inibição metabólica de comportamento exponencial (Figura 11). A equação obtida foi:

$$\text{CO}_2 = 0,1954e^{[-0,01286(cf)]}$$

$$r^2=0,9752 ,$$

onde cf representa a concentração de captan expressa em mg/L.

A dose de inibição equivalente ao captan está representada na Figura 12 e foi calculada por:

$$EqC = [\ln(0,1954) - \ln(CO_2)] / 0,01286$$

onde EqC representa o equivalente à inibição do metabolismo celular pelo fungicida captan, expresso em mg/L. Efeitos semelhantes foram observados por Castor (1957). O retardamento sobre o crescimento das leveduras e o comprometimento do processo fermentativo têm sido atribuídos ao captan (Graham, 2002). Foi mostrado que 45 a 68 dias entre o último tratamento e a colheita, pode-se obter até 2 mg/L de captan sobre as uvas. Valores mais baixos que este provocam demora no processo fermentativo e retardam o início da fermentação. Além disso, vinhos elaborados com uvas tratadas com este fungicida apresentam, dentro de seis meses, turbidez. Este problema, em especial, pode ser eliminado por filtração. Há situações nas quais os vinhos apresentam-se turvos sem motivo aparente, tornando-os impróprios à comercialização (Ellis, 1999).

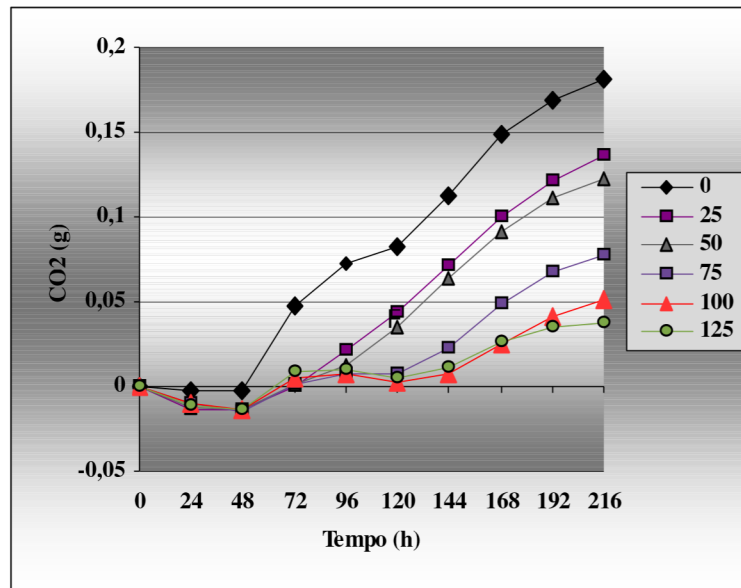


Figura 10 - Ação de diferentes concentrações de captan sobre a atividade fermentativa da linhagem *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97 durante 216 horas, em meio G7₁₁₄.

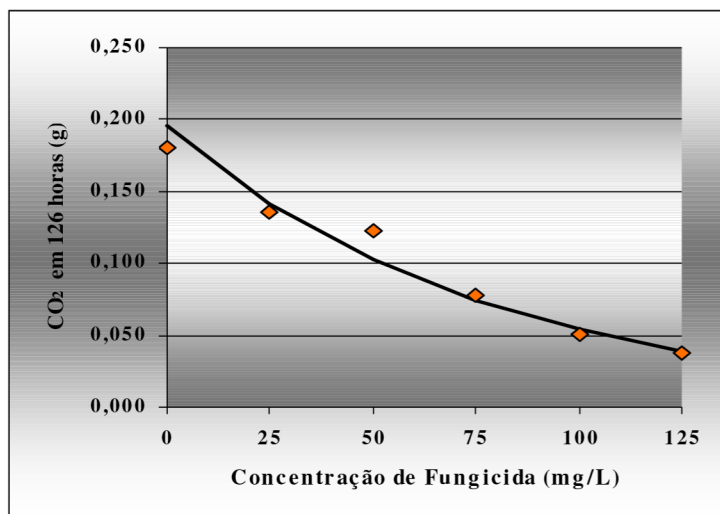


Figura 11 - Redução da atividade metabólica, em meio G7₁₁₄, da linhagem *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97 referente a 216 horas de fermentação em diferentes concentrações de captan.

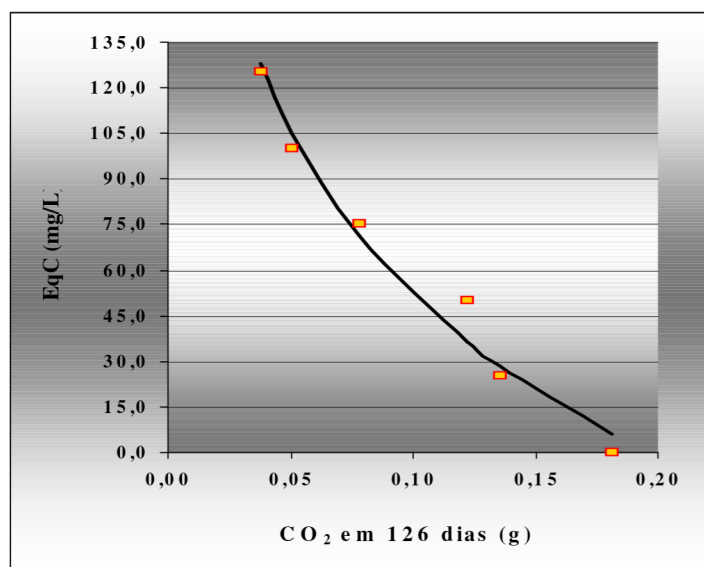


Figura 12 - Concentração equivalente à inibição de captan obtida por atividade metabólica da linhagem *Sacch. cerevisiae* Embrapa 1vvt/97 referente a 216 horas de fermentação em meio G7₁₁₄.

Por todas as alterações inconvenientes que o fungicida captan provoca à fisiologia microbiana, é razoável concluir que os fungicidas de seu grupo, como folpet, não devem ser empregados para resolver problemas fitossanitários de vinhedos na fase de maturação das uvas destinadas à elaboração de vinho. Com relação às células de levedura, estes fungicidas, em doses subletais, reduzem sua atividade de forma severa e irreversível. Os danos econômicos provocados por esta prática são elevados porque paradas e retardamento da fermentação sempre são acompanhadas por ação de outros microrganismos, geralmente bactérias, que poderão comprometer a qualidade do produto final.

CONCLUSÕES

Leveduras respondem diferentemente às ações de fungicidas. Há aqueles que inibem e também os que estimulam o processo fermentativo. O fungicida captan compromete não apenas a atividade fermentativa mas também provoca uma desestruturação celular. A ação do captan sobre o metabolismo celular é tempo dependente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bisson, L. F. (1999), Stuck and sluggish fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50, n. 1, p. 107-119.
- Bréchet, P.; Chauvet, J.; Depuy, P.; Crosson, M.; Rabatu, A. (1971), Acide oléanolique, facteur de croissance anaérobic de la levure de vin. *Ann. Technol. Agric.*, 20, 103-110.
- Dillwith, J. W.; Lewis, R. A. (1982), Mechanism of inhibition of Escherichia coli RNA polymerase by Captan. *Biochem. J.*, 201, n.1, 145-151.
- Fleet, G.H.; Prakitchaiwattana, C; Beh, A.L.; Heard, G. (2002), The yeast ecology of wine grapes. In. *Biodiversity and Biotechnology of Wine Yeasts*, 1-17.
- Freeman-Wittig, M. J.; Lewis, R. A. (1990), Captan binding to avian myeloblastosis virus reverse transcriptase and its effect on RNase H activity. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 94, n. 1, 9-17.
- Hochstein, P. E.; Cox, C. E. (1956), Studies on the Fungicidal Action of N-(Trichloromethylthio)-4-Cyclohexene- 1,2-Dicarboximide (Captan) *American Journal of Botany*, 43, n. 6, 437-441.
- Kosuge e Hewitt (1964), Exudates of grape berries and their effect on germination of conidia of Botrytis cinerea. *Phytopathology*, 54, 167-172.
- Longo, E.; Cansado, J.; Siero, C.; Calo, P.; Velazquez, J. B.; Villa, T. G. (1992), Influence of the curing killer phenotype in *Saccharomyces cerevisiae* wine in *Saccharomyces cerevisiae* wine strains on the fermentative behaviour. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 8, 147-150.
- Luo, G.; Lewis, R. A. (1992), Inhibition of RNA polymerase by Captan at both DNA and substrate binding sites. *Biochem. Pharmacol.*, 1, 2251-2258.
- Monteil, H.; Blazy-Maugen, F.; Michel, G. (1986), Influence des pesticides sur la croissance des levures des raisins et des vins. *Sciences des Aliments*, 6, n. 3, 349-360.
- Radler, F. (1965), The main constituents of the surface waxes of varieties and species of the genus Vitis. *American Journal of Viticulture and Enology*, 16, p. 159-167.
- Silva, G. A. da (1996), The occurrence of killer, sensitive, and neutral yeasts in Brazilian Riesling Italico grape must and the effect of neutral strains on killing behaviour. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 46, n. 2, p. 112 -121.
- Silva, G. A. da (1999a), Comportamento de leveduras isoladas no Vale dos Vinhedos em Bento Gonçalves, RS, com relação à atividade killer. Trabalho apresentado no IX Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia, 07-11 Dez, Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul.
- Silva, G. A. da (1999b), Evidência de uma linhagem de levedura com característica killer, neutra e sensível. Trabalho apresentado no IX Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia, 07-11 Dez., Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul.
- Silva, G. A. da; Almeida, E. A. (2006), Production of yellow-green fluorescent pigment by *Pseudomonas fluorescens*. *Brazilian Archives Biology and Technology*, 49, n.3, 411-419.
- Silva, G. A. da; Dalarmi, L. (2003) Comportamento das leveduras isoladas de uvas Cabernet Sauvignon do Vale dos Vinhedos na safra de 2003. Trabalho apresentado no X Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia, 03-05 Dez, Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul.
- Silva, G. A. da; Ficagna, E. (2003) Características fermentativas de quatro linhagens de leveduras autóctones e uma linhagem comercial. Trabalho apresentado no X Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia, 03-05 Dez, Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul.
- Silva, G. A. da; Muratore, L (2006), The influence of yeast strain on the colour of Cabernet Sauvignon red wines. *Brazilian Archives Biology and Technology*, 49, 165-171.