

IDENTIFICAÇÃO E ATIVIDADE MICOTOXIGÊNICA DE ISOLADOS FUNGICOS RUMINAIS DE OVINOS SANTA INÊS

*Thiago Dias SILVA¹, Rafael Ícaro Matos VIEIRA¹, Isabel Thayse BARBOSA¹, Talyta Priscilla Gonçalves Fernandes da SILVA¹, Regina Maria de Fátima DIAS¹, Daniara Rayane e SILVA¹, Juliana Mendes PEREIRA¹, Flávia Oliveira ABRÃO¹

¹Instituto Federal Goiano – Campus Ceres. *autor correspondente: thiago.zootecnia@outlook.com

RESUMO - As micotoxinas são metabólitos secundários e são produzidas por fungos filamentosos, inclusive pelos fungos ruminais, o que pode influenciar negativamente no desempenho animal. Assim sendo, objetivou-se avaliar a atividade micotoxigênica de isolados fúngicos ruminais provenientes de ovinos Santa Inês. Os vinte e sete isolados fúngicos foram identificados por técnica de microcultivo e a produção de micotoxinas feita pelo teste vapor de amônia. Os vinte e sete isolados fúngicos analisados são pertencentes a seis gêneros fúngicos, sendo um isolado do gênero *Absidia*, dez do gênero *Aspergillus*, quatro do gênero *Aureobasidium*, cinco do gênero *Rhizomurcor*, seis do gênero *Rhizopus* e um gênero *Scopulariopsis*. Quanto a produção de micotoxinas, vinte destes isolados (74,07 %) foram produtores e sete (25,93 %) não foram produtores de micotoxinas nas condições estudadas. Dentre as cepas estudadas, o exemplar do gênero *Absidia* não foi produtor de micotoxina, nove do gênero *Aspergillus* foram produtores, todos os exemplares do gênero *Aureobasidium* também destacaram-se como micotoxigênicos, assim como todos do gênero *Rhizopus* e do gênero *Scopulariopsis*, enquanto que nenhum exemplar do gênero *Rhizomurcor* foi produtor de micotoxinas.

PALAVRAS-CHAVE: micotoxina, fungos, rúmen

ABSTRACT - Mycotoxins are secondary metabolites and are induced by filamentous fungi, including ruminal fungi, which can negatively influence animal performance. Therefore, the objective was to evaluate the mycotoxigenic activity of ruminal fungal isolates from Santa Inês sheep. The twenty-seven fungal isolates were identified by microculture technique and mycotoxin uptake by the ammonia vapor test. The twenty-seven fungal isolates analyzed belong to six fungal genera, one isolate of the genus *Absidia*, ten of the genus *Aspergillus*, four of the genus *Aureobasidium*, five of the genus *Rhizomurcor*, six of the genus *Rhizopus* and one genus *Scopulariopsis*. Regarding the production of mycotoxins, twenty of these isolates (74.07%) were mycotoxin producers and seven (25.93%) were not mycotoxin producers under the conditions studied. Among the strains studied, the specimen of the genus *Absidia* was not a mycotoxin producer, nine of the genus *Aspergillus* were mycotoxin producers, all the specimens of the genus *Aureobasidium* were mycotoxin producers, as well as all of the genus *Rhizopus* and the genus *Scopulariopsis*, while none *Rhizomurcor* was the producer of mycotoxin.

KEYWORDS: mycotoxin, fungi, rumen

INTRODUÇÃO

Ovinos são mamíferos herbívoros que possuem o estômago dividido em quatro compartimentos: rúmen, retículo, omaso e abomaso. O rúmen funciona como um ecossistema, possui uma variedade de microrganismos de diversas espécies de bactérias, arqueas, fungos e protozoários flagelados e ciliados que ajudam o animal a digerir a matéria vegetal, produzindo enzimas que permitem o melhor aproveitamento dos alimentos fibrosos presentes na dieta. Alguns gêneros fúngicos são benéficos para o ambiente ruminal, porém outros produzem metabólitos, tais como as micotoxinas (Bordim et al., 2016).

As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos em condições específicas, sendo as responsáveis pelos efeitos de toxicidade quando ingeridos por seres humanos e animais (Flores-Flores et al., 2018) pois inibem a síntese de proteínas (Nguyen et al., 2018).

Binder (2007) afirma que as micotoxinas contaminam alimentos e rações dos animais quando estes possuem o contato com gêneros fúngicos produtores de micotoxina. Além disso, os animais que se alimentam de produtos contaminados com micotoxinas podem deixar resíduos na carne, leite e ovos, contaminando inclusive os seres humanos quando se alimentam destes alimentos (Capriotti et al., 2012).

Zachariasova et al. (2014) relatam que animais que ingerem micotoxinas podem desenvolver micotoxicoses com diferentes efeitos, dependendo do tipo de micotoxina e da dose ingerida, causando alta morbidade e taxa de mortalidade, afetando diretamente o crescimento, produção e desempenho dos animais de interesse zootécnico, resultando em perdas econômicas. Em seres humanos, a ingestão de micotoxinas podem causar câncer, distúrbios reprodutivos e imunossupressores, irritação dérmica e diferentes lesões nos órgãos e tecidos, em especial no rim (Anfossi et al., 2010; Flores-Flores et al., 2018).

Assim sendo, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a atividade micotoxigênica de isolados fúngicos ruminais provenientes de ovinos Santa Inês arraçoados com dieta de alto grão.

MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados fúngicos avaliados neste experimento foram obtidos em projeto paralelo, sendo oriundos do rúmen de ovelhas arraçoadas com alto grão, sem volumoso. A dieta experimental ofertada era composta de 85% de milho inteiro ou moído e 15% do núcleo ENGORDIN 38® na dieta, associados ou não a adição de isolados fúngicos (controle – sem adição, com adição de fungo 01, com adição de fungo 02 e com adição de mix fúngico – fungo 01 e 02). Vinte e sete isolados foram selecionados previamente em função da sua morfotipologia e encontram-se armazenados em coleção fúngica no laboratório de Microbiologia do Instituto Federal Goiano. Para manipulação foram reativados em meio de cultura padrão (Ágar Sabouraud).

Os fungos selecionados para ensaio foram agrupados por morfotipologia (cor, borda, superfície, fundo, aspecto...), e posteriormente realizou-se microcultivo dos isolados, e, por conseguinte, a sua identificação até gênero, conforme metodologia descrita por Lacaz et al. (2002). As características microscópicas observadas em microscópio óptico foram pigmentação e forma dos esporos, hifas (cenocíticas ou segmentadas), esporângios (forma), dentre outros...

Para avaliação da produção de micotoxinas, adaptou-se o método descrito por Saito & Machida (1999), que faz uso do vapor de amônia para identificação de cepas produtoras e não produtoras. Os fungos foram cultivados em meio Sabouraud, incubados a 37°C por 120 horas, por conseguinte utilizou-se 5 mL de hidróxido de amônio nas tampas das placas. Ao final, os fungos foram incubados novamente por mais 24 horas, e posteriormente as leituras foram realizadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 27 fungos utilizados no ensaio, 20 são produtores de micotoxina (+) e sete não (-). As cepas estudadas são pertencentes a seis gêneros fúngicos, sendo um isolado do gênero *Absidia*, dez do gênero *Aspergillus*, quatro do gênero *Aureobasidium*, cinco do gênero *Rhizomurcor*, seis do gênero *Rhizopus* e um gênero *Scopulariopsis* (Quadro 1).

Quadro 1. Identificação das cepas fúngicas por gênero e por produção de micotoxinas

Cepas Fúngicas Avaliadas	Produção de Micotoxinas	Gênero Fúngico
01	(-)	<i>Rhizomurcor</i>
02	(+)	<i>Rhizopus</i>
03	(+)	<i>Rhizopus</i>
04	(+)	<i>Rhizopus</i>
05	(+)	<i>Rhizopus</i>
06	(+)	<i>Rhizopus</i>
07	(+)	<i>Aspergillus</i>
08	(+)	<i>Aureobasidium</i>
09	(+)	<i>Scopulariopsis</i>
10	(+)	<i>Aspergillus</i>
11	(+)	<i>Aureobasidium</i>
12	(+)	<i>Aspergillus</i>
13	(-)	<i>Absidia</i>
14	(+)	<i>Aspergillus</i>
15	(+)	<i>Aureobasidium</i>
16	(-)	<i>Aspergillus</i>
17	(+)	<i>Aureobasidium</i>
18	(+)	<i>Rhizopus</i>
19	(-)	<i>Rhizomurcor</i>
20	(-)	<i>Rhizomurcor</i>
21	(+)	<i>Aspergillus</i>

22	(+)	<i>Aspergillus</i>
23	(-)	<i>Rhizomurcor</i>
24	(+)	<i>Aspergillus</i>
25	(+)	<i>Aspergillus</i>
26	(+)	<i>Aspergillus</i>
27	(-)	<i>Rhizomurcor</i>

Legenda: (+) microrganismo produtor de micotoxina; (-) microrganismo não produtor de micotoxina.

O gênero *Aspergillus* foi o gênero mais prevalente. Segundo Anfossi et al. (2016) e Flores-Flores et al. (2018), os principais gêneros fúngicos produtores de micotoxina são o *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium* e *Aspergillus*, confirmando parcialmente os achados relatados no presente trabalho. Ainda segundo Anfossi et al. (2016), as condições ambientais influenciam diretamente na produção de micotoxinas, tais como disponibilidade de nutrientes e substratos, atividade da água, umidade relativa, pH e temperatura. Portanto, o crescimento do fungo não implica diretamente na produção de micotoxinas (Freire et al., 2018), é necessário quem mais análises sejam feitas a despeito do perfil micotoxigênico em diferentes condições.

É sabido também que a grande maioria dos animais é sensível à presença de micotoxinas, principalmente em não ruminantes, tais como peixes, aves, gatos, cachorros e suínos quando comparados a ruminantes (Upadhaya et al., 2010), pois estes possuem microrganismos no rúmen, em especial uma fração da população de bactérias, que podem degradar as micotoxinas liberadas no fluido ruminal (Liu Yang, 2010). Também é válido ressaltar que nem todas as micotoxinas podem ser degradadas pela atividade microbiana do rúmen (Upadhaya et al., 2010).

CONCLUSÕES

O gênero *Aspergillus* foi o gênero mais prevalente. Nas condições do experimento, 74,07 % dos isolados fúngicos foram produtores de micotoxina, sendo necessário realizar mais análises para saber se existem condições ótimas em que estes isolados não são produtores de micotoxina.

REFERÊNCIAS

- ANFOSSI, L.; GIOVANNOLI, C.; BAGGIANI, C. **Mycotoxin detection**. Current Opinion in Biotechnology, v. 37, p. 120–126, 2016.
- BINDER, E.M. **Managing the risk of mycotoxins in modern feed production**. Animal Feed Science and Technology, v. 133, n. 1-2, p. 149-166, 2007.
- BORDIM, S.; CEDROLA, F.; D'AGOSTO, M.; DIAS, R.J.P. **Microscópicos e eficientes: Importância dos microrganismos no ambiente ruminal**. Revista Brasileira de Zootecias, v. 2, n. 17, p.28-30, 2016.
- CAPRIOTTI, A.L.; CARUSO, G.; CAVALIERE, C.; FOGLIA, P.; SAMPERI, R.; LAGANA, A. **Multiclass mycotoxin analysis in food, environmental and biological matrices with chromatography/mass spectrometry**. Mass Spectrometry Reviews, v. 31, n. 4, p. 466-503, 2012.
- FLORES-FLORES, M.E.; LIZARRAGA, E.; CERAIN, A.L.; GONZÁLES-PENAS, E. **Presence of mycotoxins in animal milk: A review**. Food Control, v. 53, p. 163-176, 2015.
- FREIRE, L.; SANT'ANA, A.S. **Modified mycotoxins: An updated review on their formation, detection, occurrence, and toxic effects**. Food and Chemical Toxicology, v. 111, p. 189–205, 2018.
- LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C.; VACCARI, E.V.; MELO, N.T. **Tratado de Micologia Médica**. 9 ed. São Paulo: Sarvier, 2002.
- LIU YANG. **Effects of feed types on OTA biodegradation by Korean native goats**. 2010. Master's Thesis, Seoul National University.
- NGUYENA, T.T.T.; KIMB, J.; JEONA, S.J.; LEEB, C.W.; MAGANC, N.; LEEA, H.B. **Mycotoxin production of Alternaria strains isolated from Korean barley grains determined by LC-MS/MS**. International Journal of Food Microbiology, v. 268, p. 44–52, 2018.
- SAITO, M.; MACHIDA, S. **A rapid identification method for aflatoxin-producing strains of Aspergillus flavus and A. parasiticus by ammonia vapor**. Mycoscience, v. 40, n. 2, p. 205-208, 1999.
- UPADHAYA, S.D.; PARK, M.A.; HA, J.K. **Mycotoxins and Their Biotransformation in the Rumen: A Review**. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, v. 23, n. 9, p. 1250-1260, 2010.
- ZACHARIASOVA, M.; DZUMAN, Z.; VEPRIKOVA, Z.; HAJKOVA, K.; JIRU, M.; VACLAVIKOVA, M.; ZACHARIASOVA, A.; POSPICALOVA, M.; FLORIAN, M.; HAJSLOVA, J. **Occurrence of multiple mycotoxins in European feedingstuffs, assessment of dietary intake by farm animals**. Animal Feed Science and Technology, v. 193, p. 124-140, 2014.