

## AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE MICOTOXINAS POR FUNGOS ANAERÓBIOS FACULTATIVOS DO RÚMEN

**NETO, Ronald Fabino<sup>1\*</sup>; ABRÃO, Flávia Oliveira<sup>2,3</sup>; DIJKSTRA, Douglas<sup>1</sup>; OLIVEIRA, Filipe Herbert<sup>4</sup>; PESSOA, Moisés Sena<sup>5</sup>; DUARTE, Eduardo Robson<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Estudante de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Ceres - GO. \*ronaildo.neto@ifgoiano.edu.br; <sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Escola de Vet. da UFMG, Belo Horizonte - MG, Brasil. e-mail: flavia.abrao@ifgoiano.edu.br; <sup>3</sup>Docente e orientador IF Goiano; <sup>4</sup>Docente da Escola de Veterinária da UFMG. Belo Horizonte -MG, Brasil; <sup>5</sup>Docente do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. ICB - Belo Horizonte -MG, Brasil; <sup>6</sup> Docente do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG. ICA - Montes Claros-MG, Brasil.

**RESUMO:** Poucos são os conhecimentos a despeito da população de fungos aeróbios encontrados no fluido ruminal e das toxinas produzida por esses fungos. Objetiva-se com o presente trabalho isolar a caracterizar fungos toxigênicos do rúmen. Vinte isolados fúngicos, em triplicata, foram inoculados no centro da placa de Petri com meio de cultura ágar dextrose batata. Após um período de incubação de cinco dias em estufa a 37°C, adicionou-se, nas tampas das placas, 2 mL de solução de hidróxido de amônio 25%. Posteriormente as placas foram vedadas e incubadas invertidas em estufa a 37°C por mais 24 horas. Em seguida, as placas foram retiradas da estufa e, foi observada a coloração da base das colônias crescidas em comparação a uma placa controle. Dos fungos testados, o resultado apresentado foi negativo para a produção de micotoxinas. Pode-se observar a manutenção da cor natural da colônia, indicando a não ocorrência de reação entre o hidróxido de amônio e micotoxinas.

**Palavras-chave:** Aflatoxinas. Microbiologia. Nutrição de ruminantes.

### INTRODUÇÃO

Fungos anaeróbios facultativos são aqueles capazes de utilizar o oxigênio ou um componente orgânico como acceptor final de elétrons. Essa característica é atributo valioso, uma vez que permite a esses fungos sobreviver em vários ambientes (ALMEIDA et al., 2014).

Pouca importância tem sido dada a esse grupo de microrganismos no rúmen. Contudo, recentes pesquisas têm analisado como esses organismos interferem no processo fermentativo e qual o papel no metabolismo de ruminantes. Sabe-se que esses fungos chegam no ambiente ruminal a partir da alimentação, com arraçoamento, pastejo extensivo e ingestão de água (DAVIES et al., 1993).

Experimentos realizados no Norte de Minas Gerais têm demonstrado variação na população de leveduras e fungos filamentosos no rúmen de bovinos de corte. Os gêneros *Aspergillus*, *Onychocola*, *Trichophyton* e *Paecilomyces* foram relatados como provenientes da micobiota ruminal de vacas e bezerros de corte. Leveduras foram isoladas de aproximadamente 25% desses animais (ABRÃO, 2009). Recentes estudos mostraram que a média de UFC/ml de fungos micelianos no líquido ruminal de vacas e bezerros criados em pastagens de *Brachiaria* spp durante o período seco foi de  $2,61 \times 10^4$  e  $3,26 \times 10^3$

(UFC.mL<sup>-1</sup>), respectivamente (MAGALHÃES et al., 2010).

Fungos anaeróbios facultativos do rúmen destacam-se pela produção superior de enzimas (ALMEIDA et al., 2014) e pela capacidade de ruptura mecânica da fibra por meio de suas hifas. Contudo, as informações acerca desses microrganismos ainda são limitantes. Portanto, objetiva-se com o presente trabalho isolar a caracterizar a população de fungos toxigênicos presentes no rúmen.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados vinte fungos provenientes do trato gastrointestinal de bovinos de corte criados em sistema extensivo em cultura de *B. decumbens* em período de seca no norte do estado de Minas Gerais. Os organismos utilizados neste estudo foram obtidos a partir do meio Celulose e identificados por biologia molecular, conforme descrito por (ABRÃO et al., 2014).

O método vapor de amônia foi utilizado para identificação de cepas produtoras e não produtoras de micotoxinas conforme descrito por (SAITO & MACHIDA 1999).

Cada isolado fúngico, em triplicata, foi inoculado no centro da placa de Petri com meio de cultura ágar dextrose batata (BDA). Após incubação de cinco dias em estufa a 37°C,

adicionou-se, nas tampas das placas, 2 mL de solução de hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) 25%. Posteriormente as placas foram vedadas e incubadas invertidas em estufa a 37°C por mais 24 horas. Após esse período, as placas foram retiradas da estufa e, foi observada a coloração da base das colônias crescidas em comparação a uma placa controle (sem adição de  $\text{NH}_4\text{OH}$ ) (SAITO & MACHIDA, 1999). Fungos produtores de micotoxinas apresentam alteração na coloração no verso da colônia após a adição da amônia (BAPTISTA et al., 2004)

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fungos obtidos neste ensaio foram identificados e classificados como sendo pertencentes a três espécies: *Aspergillus terreus* (n=16), *Aspergillus fumigatus* (n=2) e *Aspergillus niger* (n=2).

Não foi constatado a produção de micotoxinas para nenhum dos isolados avaliados. Os requisitos nutricionais e fisiológicos relacionados com a produção de micotoxinas são geralmente muito mais específicos do que aqueles relacionados com o crescimento do fungo. Além disso, sabe-se que, dentre muitas espécies nem todos os indivíduos são capazes de produzir toxinas (SORIANO; BURDASPAL, 2007).

É válido ressaltar que micro-organismos como o *A. niger*, *Fusarium solani*, *Penicillium fumiculosum* e *P. rubrum* podem apresentar ação antagônica ao *A. flavus*, produtor de aflatoxinas. O crescimento de *A. flavus* é suprimido em cultura mista com *Rhizopus stolonifer*, *R. oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae* (probiótico) e *Brevibacterium linens*, mas é estimulado por *Acetobacter aceti* (BAPTISTA et al., 2004). Esse relato é relevante uma vez que, uma das espécies isolada neste trabalho (*A. niger*) além de não ter produzido micotoxinas, pode atuar auxiliando no controle de organismos micotoxigênicos como o *A. flavus*, podendo futuramente ser avaliado como um potencial probiótico para ruminantes.

## CONCLUSÃO

Os fungos anaeróbios facultativos *Aspergillus terreus*, *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus niger* obtidos do rúmen de bovinos de corte manejados em pasto de *Brachiaria decumbens* em época de seca não produziram aflatoxinas nas condições deste estudo.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pela bolsa concedida e financiamento da pesquisa. A Universidade Federal de Minas Gerais, pelo incentivo. Ao

Câmpus Ceres do Instituto Federal Goiano pelo apoio financeiro para participação neste evento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRÃO, F.O. **Análises microbiológicas e físico-químicas do fluido ruminal de bovinos de corte criados em pastagens tropicais: período seco.** (Monografia) Montes Claros, MG: ICA/UFMG, 2009. 43.f.
- ABRÃO, F.O.; DUARTE, E.R.; ROSA, C.A.; FREITAS, C.E.S.; VIEIRA, E.A.; HUHGES, A.F.S. Characterization of Fungi from Ruminal Fluid of Beef Cattle with Different Ages and Raised in Tropical pastures. **Current Microbiology**, v. 69, n.2, p. 1-13, 2014.
- ALMEIDA, P.N.M.; FREITAS, C.E.S.; ABRÃO, F.O.; RIBEIRO, I.C.O.; VIEIRA, E.A.; GERASEEV, L.C.; DUARTE, E.R. Atividade celulolítica de fungos isolados do rúmen de bovinos leiteiros alimentados com forragens tropicais. **Revista Caatinga**, v. 27, p. 202-207, 2014.
- BAPTISTA, A.S.; HORII, J.; BAPTISTA, A.S. Fatores físico-químicos e biológicos ligados à produção de micotoxinas. **B Cepa**, v. 22, n.1, p. 1-14, 2004.
- DAVIES, D.R.; THEODOROU, M.K.; LAWRENCE, M.I.G.; TRINCI A.P. Distribution of anaerobic fungi in the digestive tract of cattle and their survival in faeces. **Journal of General Microbiology**, v. 139, p. 1395-1400, 1993.
- MAGALHÃES, D.Q.; ABRÃO, F.O.; FREITAS, C.E.S.; SILVA, K.L.; ALMEIDA, P.N.M.; DUARTE, E. R. Micobiota aeróbia do trato gastrintestinal de vacas e bezerros de corte criados em pastagens tropicais: período seco. **Anais...** In: XX Zootec, Palmas- Tocantins. 2010.
- SAITO, M.; MACHIDA, S.A rapid identification method for aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* by ammonia vapor. **Mycoscience**, v. 40, p. 205-208, 1999.
- SORIANO, J.C.; BURDASPAL, P. **Aflatoxinas del grupo B y G.** En: Soriano J (Ed). Micotoxinas en 478 alimentos. Ediciones Díaz de Santos: Madrid. 2007; p. 396.