

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *MORINDA CITRIFOLIA* L. E PRÓPOLIS EM *FUSARIUM* SPP. ISOLADOS NAS RAÇÕES COMERCIAIS PARA SUÍNOS, AVES E CÃES

Julliet Teixeira de Oliveira (*bolsista PIBIC/UFPI*), Verbena Carvalho Alves (*colaborador-PIBIC/CNPq*), Cristiane Evangelista Lima. (*colaborador-PIBIC/UFPI*), Francisco das Chagas Cardoso Filho (*colaborador Doutorando em Ciência Animal-UFPI*), Maria Christina Sanches Muratori (*Orientador, Depto de Morfofisiologia Veterinária – UFPI*).

INTRODUÇÃO

Os fungos são amplamente distribuídos na natureza por este motivo podem ser usados como parâmetro na avaliação microbiológica das condições higiênicas do alimento. A legislação brasileira não estabelece limites para contagem de fungos em ração (BRASIL, 1991), entretanto, fungos filamentosos e leveduras podem degradar ou produzir micotoxinas em alimentos (ICMSF, 1996). As principais espécies produtoras de fumonisinas do gênero *Fusarium*, são *F. verticillioides* e *F. proliferatum*, estas espécies são responsáveis pelo apodrecimento de milho em grãos ou em áreas da espiga de milho, (WOLOSHUK, 2001). Deste modo, rações formuladas com milho e derivados podem conter *Fusarium* e/ou fumonisina, que pode causar edema pulmonar em suínos, leucoencefalomalacia em equinos, lesão leve em fígado de bovinos e ovinos. O problema relacionado à resistência a fungos tem crescido no decorrer dos anos, devido ao tratamento indiscriminado de antifúngicos, os fungos estão se adaptando aos medicamentos antifúngicos. A *Morinda citrifolia* L., comumente conhecida como “noni”, pertence à família Rubiaceae e seu tamanho varia de pequenos arbustos a árvores de até 10 metros de altura (WANG et al., 2002). A própolis é uma resina composta de óleos voláteis e ácidos aromáticos, ceras, resinas, bálsamos, pólen e elementos essenciais, além de flavonóides, ácidos fenólicos, ésteres, aldeídos fenólicos e cetonas, considerados importantes compostos antimicrobianos (STEPANOVIC et al., 2003). Deste modo, o objetivo deste trabalho é verificar o efeito fungicida *in vitro* de extratos aquoso de própolis e extratos alcoólicos de *Morinda citrifolia* L. sobre espécies do gênero *Fusarium spp.*

METODOLOGIA

Foram sorteados três estabelecimentos comerciais que comercializam rações em Teresina, PI para coleta de amostras. Em cada local foram coletadas cinco amostras de rações de 500 g para suínos, cinco para aves e cinco para cães para análise contagem e isolamento da micobiota presente. As colônias fúngicas pertencentes ao gênero *Fusarium* foram identificadas utilizando as chaves de identificação descritas por Booth (1971). Os extratos alcoólicos, hidroalcoólicos e aquosos do noni foram obtidos de forma sequencial, a partir de 20 g de cada amostra (polpa) previamente trituradas, segundo metodologia de Jardini e Mancini-Filho (2007). Para a obtenção dos extratos alcoólicos, foram pesadas 20 gramas de amostra na qual foi adicionada 100 mL de álcool etílico e submetidas à agitação por uma hora para posterior filtração a vácuo. O resíduo foi recuperado para obtenção do extrato hidroalcoólico e aquoso, seguindo o mesmo procedimento utilizado para obtenção do extrato alcoólico, utilizando-se água, respectivamente, como diluente. O extrato aquoso de própolis foi obtido pela diluição de 50 mL de própolis bruto em 500 mL de água destilada que foi homogeneizado por um a dois minutos, usando-se um aparelho do tipo “mixer”. A sensibilidade das cepas fúngicas de

Fusarium isoladas das rações de suínos, aves e cães foram avaliadas pelo método de difusão em meio sólido, utilizando-se cavidades em placa (LIMA, 2006). Foram confeccionados três poços equidistantes no meio de cultura e na sequência, foram impregnadas nos poços das placas de Petri individuais três diluições diferentes de cada concentração dos extratos de noni (20 µL, 40 µL e 60 µL). No teste com própolis foram inoculados nos poços as concentrações 10 µL, 20 µL, 30 µL, 40 µL e 50 µL do extrato aquoso.

RESULTADOS

As rações para suínos e aves apresentaram contagens semelhantes, com valores superiores aos das de cães ($P < 0,001$) entre as contagens das rações. No Brasil não há padrões legais para contagem de fungos em ração animal, porém, as contagens de fungos estabelecidas (BRASIL, 1991) em outros países devem ser inferiores a 4,00 UFC/g em \log^{10} (GMP, 2008). Com base neste padrão observou-se que na ração para suínos e aves apresentaram respectivamente 11 (73%) e 12 (80%) amostras apresentaram valores superiores a esse limite. As menores contagens fúngicas ocorreram na ração para cães, variando de 1,00 a 2,00 ufc/g em \log^{10} .

Neste estudo, apenas duas espécies de *Fusarium* foram identificadas nas amostras de ração analisadas (Tabela 2), com maior predominância de *F. verticilloides* correspondente a 19 cepas (65,5%). Esta espécie foi prevalente nas rações para suínos com 12 (92,3%) e da ração para aves foi o *F. proliferatum* com nove (56,2%). Não houve contaminação por *Fusarium* nas amostras das rações para cães. Os fungos deste gênero destacam-se como um dos mais importantes em termos de perdas globais devido às micotoxicoses, e também por ser contaminante de cereais e seus subprodutos, portanto, exceto as rações para cães, as rações pesquisadas podem atuar sobre o organismo de suínos e aves prejudicando o seu desempenho zootécnico e sua sanidade pelo desenvolvimento de alterações patológicas graves.

Tabela 2 Espécies do gênero *Fusarium* spp. isoladas em rações comerciais para suínos, aves e cães adquiridas no comércio de Teresina, PI

Espécie Fúngica	Número de isolados			Total N (%)
	Suínos N (%)	Aves N (%)	Cães N (%)	
<i>F. verticilloides</i>	12 (92,3)	7 (43,8)	0 (0,0)	19 (65,5)
<i>F. proliferatum</i>	1 (7,7)	9 (56,2)	0 (0,0)	10 (34,5)
Total	13 (100,0)	16 (100,0)	0 (0,0)	29 (100,0)

Devido ao tratamento indiscriminado de antifúngicos está ocorrendo aumento da resistência dos fungos a diversas substâncias, a própolis tem sido indicada para controlar fungos causadores de podridões pós-colheita. Ozcan (1999) determinou o efeito inibitório de extratos de própolis *Fusarium oxysporum*, entretanto, as cepas de *F. verticilloides* e de *F. proliferatum* isolados nas amostras de rações não foram sensíveis aos extratos de própolis nas diversas concentrações utilizadas, indicando que esta substância não deve ser empregada como fungicida para estas espécies.

JAYARAMAN et al (2008) analisaram o efeito inibitório de noni sobre *Fusarium* e verificaram que houve 50% de inibição deste gênero com extrato metanólico, entretanto, as cepas de *F. verticilloides* e *F. proliferatum* isoladas nas amostras de rações pesquisadas apresentaram resistência com os extratos etanólico, hidroalcoólico e aquoso da *M. citrifolia*.

CONCLUSÃO

Foi possível isolar *F. verticilloides* e *F. proliferatum* nas rações de suínos, aves comercializadas em Teresina, PI. Entretanto os extratos de *própolis* e *M. citrifolia* (noni) não inibiram o crescimento *in vitro* de *Fusarium spp.* em rações de suínos e aves. As rações para cães não apresentaram contaminação por *Fusarium*.

Apoio

Agradecemos o apoio financeiro do PIBIC/UFPI pela concessão de Bolsa de Iniciação Científica e ao NUEPPA /CCA/UFPI.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOOTH C. **The genus *Fusarium*. Common wealth Mycological.** Institute, Kew, Surrey, England, 1971.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Portaria no108 de 04 de setembro de 1991. Aprova os métodos analíticos para controle de alimentos para uso animal: métodos físicos, químicos e microbiológicos. **Diário Oficial da União.** Brasília-DF, seção 1, p. 19813 de 17 de setembro de 1991.

GMP (Good Manufacturing Practices). Certification Scheme Animal Feed. Sector 2008, Appendix 1: *Product standards; Regulations on Product Standards in the Animal Feed Sector.* GMP14, 2008.

ICMSF. INTERNACIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microrganismos de los alimentos:** características de los patógenos microbiano. Zaragoza: Acribia, p. 403-428, 1996.

JARDINI, F. A.; MANCINI FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Rev Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 2007.

JAYARAMAN S. K.; MANOHARAN M. S.; Antibacterial, antifungal and tumor cell suppression potential of *Morinda citrifolia* fruit extracts. **International Journal of Integrative Biology**, 2008.

LIMA I.O., OLIVEIRA R. A. G., LIMA E. O., FARIAS N. M. P., SOUZA E.L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *candida*. **Rev Bras Farmacogn.** 2006.

OZCAN, M. Antifungal properties of propolis. **Grasas y aceites**, 1999

STEPANOVIĆ S.; ANTIĆ N.; DAKIĆ I.; ŠVABIĆ-VLAHOVIĆ M.. In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. **Microbiology Research**, 2003.

WANG, M Y : WEST, B J : JENSEN, C J : NOWICKI, D : SU, C : PALU, A K. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in noni research. **Acta Pharmacologica Sinica**, 2002.

WOLOSHUK, C. P.; Shim, W.; *Appl. Environ. Microbiol*, p.67;1607, 2001.

Palavras-chave: Noni. Sensibilidade. *Fusarium verticilloides*