

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *Morinda citrifolia* L. E PRÓPOLIS EM *Aspergillus* spp. ISOLADOS EM RAÇÕES COMERCIAIS PARA SUÍNOS, AVES E CÃES.

Verbena Carvalho Alves (bolsista do PIBIC/CNPq), Cristiane Evangelista Lima (colaborador, PIBIC/UFPI), Julliet Teixeira de Oliveira (colaborador, PIBIC/UFPI), Rodrigo Maciel Calvet (colaborador, Doutorando em Ciência Animal UFPI), Maria Christina Sanches Muratori (Orientador, Depto de Morfofisiologia Veterinária – UFPI)

Introdução

Os fungos são micro-organismos que se encontram em abundância no solo, nos vegetais e nas águas, por este motivo podem ser usados como parâmetro na avaliação microbiológica das condições higiênicas do alimento. Os fungos do gênero *Aspergillus* são ubíquos no ambiente e os mais encontrados nos alimentos e produtos estocados. Suas espécies: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus nomius* produzem as aflatoxinas, causando significativas perdas econômicas e sérios problemas de saúde humana e animal, além disso, possuem potencial hepatotóxico, carcinogênico e teratogênico (RITTER, 2007). Atualmente estão sendo utilizadas alternativas como o uso de produtos naturais com atividade indutora de resistência e/ou com atividade antimicrobiana direta, um exemplo é o uso de extratos vegetais e microbianos (STANGARLIN et al., 2008). 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 substância resinosa produzida pelas abelhas (*Apis mellifera* L.) composta por 55% de resinas e bálsamos, 30% de ceras, 10% de óleos voláteis 5% de pólen, sendo identificados ainda ácidos aromáticos insaturados, flavonóides e micro-elementos (NETO, 2004). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito fungicida *in vitro* de extratos de própolis e de *Morinda citrifolia* L. no gênero *Aspergillus* spp. isolados em rações comerciais para suínos, aves e cães.

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 microbiota presente. As colônias fúngicas pertencentes ao gênero *Aspergillus* foram identificadas utilizando as chaves de identificação descritas por KLICH e PITT (2002). 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 *Aspergillus* 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 e Discussão

As rações para suínos e aves apresentaram contagens semelhantes, com valores superiores aos das de cães ($P < 0,001$) entre as contagens das rações (Tabela 1). No Brasil não há padrões legais para contagem de fungos em ração animal (BRASIL, 1991), porém, as contagens de fungos estabelecidas 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} . Os *Aspergillus* spp. prevalentes nas rações das diferentes espécies de animais pertenciam as espécies: *A. niger* agregados, *A. uniseriados*, *A. candidus*, *A. ochraceus*, *A. oryzae*, *A. tamarisii* e *A. terreus*. O extrato aquoso da própolis nas concentrações estudadas não apresentou efeito inibitório em nenhuma das oito espécies de *Aspergillus* isoladas nas rações para aves, suínos e cães comercializadas em Teresina, PI. A eficácia do extrato aquoso de noni apresentou atividade antifúngica diferenciada conforme as espécies isoladas. Foram resistentes: *Aspergillus flavus*, *A. niger* agregados, *A. oryzae*, *A. tamarisii*, *A. candidus* e *A. ochraceus*; e foram sensíveis: *A. uniseriados* e *A. terreus* (Tabela 1).

Tabela 1 Sensibilidade a extrato aquoso, alcoólicos e hidroalcoólicos de noni e de própolis das espécies de *Aspergillus* spp. isoladas em rações comerciais para suínos, aves e cães adquiridas no comércio de Teresina, PI

Espécie Fúngica	Eficiência inibitória dos extratos de noni		
	Aquoso	Alcoólicos	Hidroalcoólicos
<i>A. flavus</i>	Resistente	Resistente	Resistente
<i>A. niger</i> agregados	Resistente	Resistente	Resistente
<i>A. uniseriados</i>	Sensível	Sensível	Sensível
<i>A. candidus</i>	Resistente	Resistente	Resistente
<i>A. ochraceus</i>	Resistente	Resistente	Resistente
<i>A. oryzae</i>	Resistente	Resistente	Resistente
<i>A. tamarisii</i>	Resistente	Resistente	Resistente
<i>A. terreus</i>	Sensível	Resistente	Sensível

No extrato alcoólico apenas as cepas de *Aspergillus* uniseriados demonstraram maior eficácia inibitória com halos que variam de 11 a 13 mm. A inibição máxima foi registrada para o *Aspergillus terreus* utilizando o extrato hidroalcoólico a 20% (60 µL) e com o extrato aquoso (20 µL e 60 µL), com halos de inibição de aproximadamente 30 mm (Figura 3). A presença de muitos compostos fenólicos como acubin, L-asperuloside, alizarin, scopoletin e outras antraquinonas do fruto de *M. citrifolia* L. já foi estabelecido como atividade antibacteriana (WANG, 2002). No entanto publicações sobre o efeito antifúngico da *M. citrifolia* L. ainda são muito escassas, o que torna esta pesquisa de grande relevância, uma vez que demonstrou atividade antifúngica para algumas cepas de *Aspergillus*.

Conclusão

Foi possível isolar *Aspergillus niger* agregados, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus tamarii*, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus terreus* e *Aspergillus* uniseriados nas rações de suínos, aves e cães comercializadas em Teresina, PI. Com exceção de *Aspergillus terreus* e *A.* uniseriados, os extratos de noni não tiveram efeito inibitório para as demais espécies de *Aspergillus*. A forma de preparo do extrato de noni pode interferir na sensibilidade de *Aspergillus*. O *A. terreus* e *A.* uniseriados foram sensíveis a extratos aquosos e hidroalcoólicos de noni. O *A.* uniseriados também foi sensível a extrato alcoólico. O extrato de própolis não inibiu o crescimento das cepas *Aspergillus* spp. isoladas em rações de suínos, aves e cães.

Apoio

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

Referências Bibliográficas

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. 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, p. 1-39. 2008.

JARDINI, F. A.; MANCINI FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 1, p. 137-147, jan./mar., 2007.

KLICH, M. A.; PITT, J. I. A laboratory guide to the common *Aspergillus* species and their 4 teleomorphs. **CSIRO** - Division of Food Processing, Australia, 116p, 2002.

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;16:197-201.

NETO, P. V. **Ação antifúngica de plantas medicinais e da própolis frente a leveduras do gênero *candida*, isoladas da cavidade bucal**. 2004. 98f. Dissertação (Mestrado em Clínica Integrada) - Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta grossa, 2004.

RITTER, A. C. **Potencial toxigênico de *Aspergillus flavus* testado em diferentes meios e condições**. 2007. 67 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

STANGARLIN, J.R. et al. Plantas Medicinais e Controle Alternativo de Fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, n. 11, p. 16-21, 2008.

WANG, M. Y; WEST, B. J; JENSEN, C. J; NOWICKI, D; SU, C; PALU, A. K; ANDERSON, G. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in noni research. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 23, n. 12, p. 1127-1141, 2002.

Palavras-chave: noni. sensibilidade. *Aspergillus flavus*.