

# MUTANTES NÃO PRODUTORES DE AFLATOXINA, EM *Aspergillus parasiticus* SPEARE.

I. R. BARACHO

Departamento de Genética Vegetal  
Universidade Estadual de Campinas

## INTRODUÇÃO

A produção de metabolitos tóxicos, por fungos, vem sendo amplamente investigada, nos últimos anos, constituindo objeto de importantes trabalhos científicos, principalmente depois que se assinou a ação cancerígena de algumas micotoxinas.

Entre as micotoxinas vem recebendo especial atenção um grupo de compostos produzidos, principalmente, pelo *Aspergillus flavus* Link e pelo *Aspergillus parasiticus* Speare, grupo de compostos esse que recebeu o nome genérico de aflatoxina.

A aflatoxina ocorre, como contaminante, em muitos alimentos. A contaminação em alimentos para animais domésticos assume uma proporção que JACQUET & BOUTIBONNES (1967) consideraram inquietante. Esses autores estimaram que, na França, 25% desses alimentos, apresentam uma contaminação de aflatoxina numa taxa de 2 a 4 mgKg.

Esse fato assume interesse também, no que diz respeito à saúde humana, porque a aflatoxina pode passar através do leite e da carne de animais que se alimentavam de produtos contaminados (BOUTIBONNES & JACQUET, 1967).

Em vista do efeito que pode ter a contaminação de alimentos para animais pela aflatoxina, não só diretamente, nos próprios animais, mas indiretamente, no próprio homem, o controle dessa contaminação é sem dúvida de grande importância. Acrescente-se a isso o fato de que *A. flavus* e *A. parasiticus* são *Aspergilli* bastante comuns, tendo uma distribuição cosmopolita e ocorrendo numa ampla variedade de substrato (RAPER & FENNEL, 1965), e que não apenas

essas duas espécies são produtoras de aflatoxina, mas que também outros fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*, apresentam essa característica (KULIK & HOLADAY, 1965).

E' evidente que o contróle de contaminação pela aflatoxina de alimentos para animais, pode ser encarado sob três aspectos principais: a) a assepsia dos alimentos; b) o uso de substâncias antifúngicas; c) a ocupação do nicho.

Tendo em vista o terceiro aspecto considerado, isto é, o contróle da contaminação pela ocupação do nicho, procurou-se, neste trabalho, estudar o caráter não produção de aflatoxina afim de tirar conclusões sôbre a sua estabilidade.

#### MATERIAL E MÉTODOS

No que diz respeito ao *A. flavus*, é sabido que existem, na natureza, linhagens que são toxicogênicas e outras que não o são (JACQUET & BOUTIBONNES, 1967). Este trabalho, porém, não visou o estudo dessas linhagens. Em vêz disso, procurou-se obter, através da irradiação ultra-violeta, mutantes de *A. parasiticus*, não produtores de aflatoxina, os quais talvez pudessem permitir posteriores estudos genéticos.

**Linhagem usada** — Foi utilizada uma linhagem de *A. parasiticus*, altamente produtora de aflatoxina, cedida pelo Departamento de Bioquímica da Universidade de Brasília.

**Meio de cultura** — O meio de cultura usado foi o Sabouraud, com 1% de extrato de levedura.

**Irradiação ultra-violeta** — A linhagem de *A. parasiticus* foi submetida à irradiação ultra-violeta, usando-se para isso uma suspensão de conídios, em solução salina, e irradiando-se de modo a obter 5% de sobrevivência.

**Análise da produção de aflatoxina** — Possíveis mutantes foram isolados e testados quanto a produção de aflatoxinas, a primeira vêz logo após o isolamento, e se fossem não produtores, eram testados uma segunda vêz, depois de várias subculturas.

Os possíveis mutantes depois de isolados e purificados eram inoculados em meio líquido, em Erlenmayer de 500ml. A cultura era mantida em temperatura ambiente e analisada depois que o fungo cobria toda a superfície do meio. A aflatoxina era extraída pelo clorofórmio e o extrato analisado pôr cromatografia de camada fina e revelada pôr fluorescência à luz ultra-violeta.

## RESULTADOS OBTIDOS

Foram analisados 50 possíveis mutantes. Desses, 6 se revelaram não produtores de aflatoxina na 1a. análise, e apenas 2, se revelaram não produtores na 2a. análise. Os resultados poderão ser vistos no quadro I.

QUADRO I

Mutante n.o	Côr dos conídios	1.a análise Aflatoxina *	2.a análise Aflatoxina *
3	verde	—	+
4	amarelo	—	—
18	verde	—	+
26	verde	—	—
31	verde	—	+
47	verde	—	+

\* — O sinal + indica presença de aflatoxina, e o sinal — ausência.

## DISCUSSÃO

Os dados parecem mostrar que, pelo menos no diz respeito ao *A. parasiticus*, há uma grande quantidade de genes envolvidos na produção de aflatoxina, pois a taxa de mutação induzida pela luz ultra-violeta se mostrou extremamente alta. 12% das colônias na 1a. análise se revelaram não produtoras de aflatoxina e 4% mantiveram esse caráter depois de várias subculturas.

O motivo porque das 6 colônias que se revelaram mutantes na 1a. análise, apenas 2 apresentaram essa mutação na segunda análise, mereceria, certamente, um estudo pormenorizado. É possível que, no caso, estejam envolvidos genes supressores. Poder-se-ia pensar também que se tratasse de mutantes sensíveis à temperatura, uma vez que as culturas foram feitas à temperatura ambiente.

De qualquer modo, a taxa de mutação verificada, parece sugerir uma variação bastante frequente do caráter, o que, afora outras razões, não tornaria recomendável, o uso de uma linhagem de *A. parasiticus*, para ocupação do nicho ecológico, visando o controle da contaminação de aflatoxina, em alimentos para animais.

Aliás, no que diz respeito ao contróle da cantaminação de aflatoxina, pela ocupação do nicho ecológico, pelo *A. flavus* ou *A. parasiticus*, deve-se ter em vista, que linhagens dêsses fungos mesmo que não produzam aflatoxina, podem produzir outras substâncias tóxicas. Dentro desse aspécto, seria mais recomendável, o uso do *Aspergillus orizae* (Ahlb) Cohn, que vem sendo usado, há mais de 2.000 anos pelos japoneses, para preparação do Koji e do qual não se conhece linhagens produtoras de aflatoxina.

#### SUMMARY

This paper studies the character production of aflatoxin. A strain of *Aspergillus parasiticus* Speare, that produced large amount of aflatoxin was irradiated by ultraviolet. From a total of 50 colonies studied, 6 mutants were isolated that show no production of aflatoxin but only two of them show this characteristic after several subcultures.

The control of the contamination of aflatoxin by the use of mutants non-producers, which can occupy the niche, is discussed.

#### LITERATURA CITADA

- BOUTIBONNES, P. & J. JACQUET, 1967 — Une moisissure de grande actualité biologique *Aspergillus flavus* Link. *Revue d'Immunologie* 31 (4-5): 293-316.
- JACQUET, J. & P. BOUTIBONNES, 1967 — Recherches sur les mycotoxines, spécialement la flavatoxine. Intérêt pour la microbiologie alimentaire. *Bulletin de L' Académie Nationale de Medicina*, 151 (27-28): 561-565.
- KULIK, M. M. & C. E. HOLADAY, 1965 — Aflatoxin: a metabolic product of several fungi. *Mycopathologia et trycologia applicata* 30 (7): 137-140.
- RAPER, K. B. & D. I. FENNEL, 1965 — *The genus Aspergillus*, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, IX + 686 pág., 130 fgs.

#### AGRADECIMENTO

O autor deseja agradecer ao Prof. J. L. AZEVEDO, pelo apóio e sugestões, e ao Prof. W. E. Kerr, que sugeriu o trabalho.