

Contaminação fúngica em rações para camarões cultivados

Maria Christina Sanches Muratori¹, Maria Marlúcia Gomes Pereira¹,
Amilton Paulo Raposo Costa¹, Antonio Augusto Nascimento Machado Junior^{2*},
Juanna D'Arc Fonseca dos Santos², João Batista Lopes¹, Felicianna Clara Fonseca Machado²

¹Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil

²Campus "Prof.ª Cinobelina Elvas", Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, PI, Brasil

*Autor correspondente, e-mail: machadojunior2@yahoo.com.br

Resumo

Objetivou-se neste trabalho avaliar a qualidade da ração, fornecida a camarões cultivados, por meio da contagem de fungos. Foram coletadas 144 amostras de ração em quatro propriedades carcinicultoras randomicamente sorteadas e designadas por letras. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 3 x 2 x 4 (períodos do ano, fases de cultivo, condição da embalagem e propriedades), com três repetições, representadas por amostras de 100 g de ração. Alíquotas das diluições 10⁻¹ a 10⁻³ foram semeadas em placas de Petri contendo Dichloran Rose Bengal Cloranfenicol e incubadas por sete dias a 28 °C. Os dados passaram por transformação logarítmica (log₁₀^(x+1)) e foram submetidos à análise de variância. Para comparação das médias, realizou-se o teste Duncan, com p<0,05. Das amostras analisadas, 136 (94,4 %) apresentaram contaminação por fungos. Foi verificada a ocorrência de esporos de fungos, mesmo em amostras obtidas de embalagens íntegras. As contagens no período seco oscilaram entre 1,43 e 2,72 UFC/g e no chuvoso entre 2,10 e 5,95 UFC/g, havendo, neste período, diferença significativa entre propriedades, fases de cultivo e, em duas propriedades, houve diferença quanto à condição das embalagens. Conclui-se que as rações utilizadas apresentam contaminação por esporos de fungos e que as condições climáticas e de manipulação das embalagens favorecem a contaminação da ração.

Palavras-chave: carcinicultura, *Litopenaeus vannamei*, microbiologia, aquicultura

Fungi contamination in feed to cultivated shrimp

Abstract

The objective of this study was to evaluate the quality of the diet, provided to cultivated shrimps, through fungi counts. One hundred forty four feed samples were collected in four shrimp farms in a randomized way and letters were used to designate them. The experimental design was completely randomized in factorial scheme 2 x 3 x 2 (periods of the year, cultivation phases and condition of the packing and properties), with three repetitions of 100 g feed. Brackets of the dilutions 10⁻¹ to 10⁻³ were sowed in Petri plates containing Dichloran Rose Bengal Cloranfenicol and they were incubated by seven days to 28 °C. The results were transformed in log₁₀^(x+1) and they were submitted to the test of Duncan, with p<0,05. Considering all samples analyzed, 136 (94,4 %) presented contamination by molds. It was observed the existence of fungi spores, even in samples taken from intact packing. The countings during the dry period oscillated from 1,43 to 2,72 UFC/g and during the rainy one from 2,10 to 5,95 UFC/g, presenting, in this last period, a significant difference among shrimp farms, cultivation phases and, in the two farms, packing condition has also shown to be different. Therefore, it was possible to conclude that feed used has presented fungi spores and that the climatic conditions and packing ones favor the feed contamination.

Key-words: shrimp culture, *Litopenaeus vannamei*, microbiology, aquaculture

A carcinicultura brasileira tem utilizado principalmente ração comercial para nutrição dos camarões (Waldige & Caseiro, 2004). Esta escolha tem ocorrido pelas vantagens relativas à praticidade e boa adaptação do *Litopenaeus vannamei* ao consumo de ração (Carneiro Sobrinho, 2003). Desse modo, a qualidade da ração fornecida tem sido o fator determinante para o máximo desempenho da carcinicultura (Barbiere Junior & Ostresky Neto, 2001), tornando importante à seleção dos fornecedores e o controle das condições de armazenamento como formas de prevenir a contaminação e deterioração da ração (Amaral et al., 2003).

A contaminação das rações comerciais por fungos tem causado perdas econômicas associadas à redução do seu valor nutricional (Silva et al., 2008), redução da palatabilidade e presença de micotoxinas (Raven et al., 2001; Scussel, 2002). Todos estes fatores podem afetar o desempenho dos camarões, principalmente causando debilidade imunológica e redução no crescimento (Boonyaratpalin, 2001), no entanto, a evidência de fungos na ração não significa necessariamente a presença de micotoxinas (Pereira et al., 2002).

Embora não haja padrões oficiais para contagem de fungos em rações no Brasil, autores têm classificado as rações como "boas" ou "inaceitáveis". Segundo Andrigueto et al. (1990), rações de "boa qualidade" apresentam no máximo 4,00 UFC/g em \log_{10} , as "aceitáveis" apresentam de 4,00 a 6,00 UFC/g e as "inaceitáveis" apresentam contagens acima de 6,00 UFC/g. Já Martins & Martins (2001), consideram de "boa qualidade" as rações com contagens de fungos inferiores a 5,00 UFC/g em \log_{10} . Seguindo o que recomenda a Good Manufacturing Practice (GMP), que regulamenta os padrões para alimentação animal nos Estados Unidos, Cardoso Filho (2011) considera de boa qualidade as rações com índices inferiores a 4,00 UFC/g.

De um modo geral os fungos podem estar presentes em todos os tipos de alimentos, mesmo nos industrializados, e as contagens fúngicas tendem a ficar exacerbadas após a abertura das embalagens (Andrade & Nascimento, 2006), pela maior exposição ao ambiente (Bernardini &

Nascimento, 2005).

A temperatura e a umidade do ambiente favorecem o crescimento de fungos (Pereira et al., 2002). Deste modo, regiões de clima quente e úmido podem favorecer o desenvolvimento fúngico e por esse motivo, as condições de armazenamento das rações nessas regiões devem ser ainda mais rigorosas para evitar a contaminação e o crescimento de microrganismos (Franco, 1996). O litoral do Piauí possui clima alternadamente úmido e seco (Strahler, 1989), caracterizado por apresentar dois períodos distintos do ano: um chuvoso compreendido entre os meses de janeiro e junho, com precipitação média de 828,9 mm³ e um período seco ou de estiagem que ocorre nos meses subseqüentes, com precipitação de 182,2mm³. A temperatura média anual é de 27,6°C, oscilando entre 21,8 °C e 33,2 °C.

Dada a grande importância da carcinicultura no litoral piauiense, à utilização de rações comerciais, à temperatura e umidade favoráveis ao crescimento de fungos, objetivou-se neste trabalho avaliar a qualidade microbiológica das rações para camarão utilizadas em propriedades do litoral do Piauí, através da contagem de fungos, levando-se em consideração os períodos seco e chuvoso, bem como o estado de uso das embalagens.

Foram sorteadas quatro das dezesseis propriedades produtoras de camarão existentes no litoral piauiense, de onde foram coletadas amostras, distribuídas da seguinte forma: três localizadas no Município de Cajueiro da Praia (2° 57' 05" S e 41° 20' 58" W), e uma em Luís Corrêa (2° 52' 59" S e 41° 40' 03" W). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial de 2 x 3 x 2 x 4 (períodos do ano, tipos de ração, condição da embalagem e propriedades), com três repetições. Cada amostra era constituída de 100 g de ração comercial.

Para efeito desta pesquisa, as propriedades foram denominadas "A", "B", "C" e "D". De cada propriedade foram coletadas 18 amostras no período seco e 18 no período chuvoso, para cada uma das três fases de cultivo, perfazendo um total de 144 amostras.

Após a coleta, as amostras foram

aconditionadas em sacos plásticos estéreis individualizados e em seguida foram conduzidas ao laboratório para realização das análises.

A contagem de fungos foi realizada segundo metodologia descrita por Pitt & Hocking (1997) da seguinte forma: foram transferidas assepticamente 25,0 g da amostra para frascos contendo 225,0 mL de água peptonada tamponada (APT), para obtenção da diluição 10^{-1} . A partir desta diluição, foram preparadas as diluições de 10^{-2} e 10^{-3} . Em seguida, alíquotas de 1,0 mL de cada diluição foram semeadas em placa de Petri, contendo Agar Dichloran Rose Bengal Cloranfenicol (DRBC), em triplicata, com a finalidade de determinar a contagem geral dos fungos (King et al., 1979). As placas de DRBC foram incubadas a 28 °C por sete dias e

observadas diariamente, sendo selecionadas para contagem as que apresentaram entre 10 a 100 colônias (Dalcerro et al., 1998).

Os resultados quantitativos foram transformados em $\log_{10}(x+1)$ e em seguida submetidos à análise de variância (Proc GLM) seguida do teste de Duncan para comparação das médias, ao nível de 5 % de probabilidade de erro.

Das amostras de ração analisadas 136 (94,4 %) apresentaram contaminação por fungos (Tabela 1). Apenas em oito (5,6 %) amostras coletadas no período seco, não ocorreu desenvolvimento de colônias fúngicas. Durante o período seco houve contaminação em 64 (88,9 %) amostras.

Tabela 1. Amostras de ração para camarões contaminadas por fungos, coletadas no período seco e chuvoso em fazendas do litoral piauiense.

| Amostras | Período | | Total |
|------------------|------------|-------------|-------------|
| | Seco (%) | Chuvoso (%) | |
| Contaminadas | 64 (88,9) | 72 (100,0) | 136 (94,4) |
| Não contaminadas | 8 (11,1) | 0 (0,0) | 8 (5,6) |
| Total | 72 (100,0) | 72 (100,0) | 144 (100,0) |

O crescimento de fungos observado nas amostras de sacos fechados (Tabelas 2 e 3) demonstra que a ração para camarões possuía uma contaminação pré-existente. É possível que tal contaminação tenha ocorrido nos ingredientes usados na preparação da ração, uma vez que os mesmos são susceptíveis

à contaminação por fungos (Bintivihok, 2003). Devido à contaminação inicial e à riqueza dos nutrientes, a ração para camarões constitui um substrato com potencial bastante favorável ao desenvolvimento de fungos caso haja umidade suficiente, o que pode ocorrer nos períodos de maior umidade relativa.

Tabela 2. Contagem de fungos em rações de diferentes fases de crescimento de camarão cultivados utilizadas nas propriedades piauienses durante o período seco.

| Tipos de ração | Embalagem íntegra | | | | Embalagem aberta | | | |
|----------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | Propriedade (UFC/g) | | | | Propriedade (UFC/g) | | | |
| | A | B | C | D | A | B | C | D |
| Inicial | 1,89 ^a | 2,48 ^a | 1,73 ^a | 1,48 ^a | 1,93 ^a | 2,49 ^a | 1,82 ^a | 2,18 ^a |
| Juvenil | 1,74 ^a | 1,77 ^a | 2,17 ^a | 1,66 ^a | 1,84 ^a | 2,25 ^a | 2,72 ^a | 2,52 ^a |
| Engorda | 1,50 ^a | 2,40 ^a | 1,54 ^a | 1,43 ^a | 2,33 ^a | 2,55 ^a | 1,92 ^a | 2,66 ^a |

^a = letras iguais, resultados semelhantes (P<0,05). UFC/g = unidades formadoras de colônias por grama em \log_{10} .

Durante o período seco as contagens de fungos foram semelhantes em todas as amostras de ração (P>0,05) independentemente do acondicionamento, da fase de crescimento e das propriedades (Tabela 2). Durante o período amostral, a região passou por três meses de estiagem apresentando índice pluviométrico de 0,0 mm³, umidade relativa média de 65 % e temperatura ambiente situada entre 28 e 30 °C

(INMET, 2012). A contaminação das amostras provenientes de sacos de ração lacrados manteve-se constante durante a exposição de uso, provavelmente devido à baixa umidade ambiente do período.

Durante o período chuvoso, todas as amostras apresentaram contaminação por fungos, havendo diferença entre as propriedades para as contagens (P<0,05). A propriedade

“B” apresentou maior contaminação para as amostras da fase de engorda que estavam abertas (Tabela 3). Pode-se observar ainda na fazenda “B”, que as amostras das fases juvenil e

de engorda que estavam abertas apresentaram maiores contagens do que as que estavam em embalagens íntegras.

Tabela 3. Contagem de fungos em rações de diferentes fases de crescimento de camarão cultivado utilizadas nas propriedades piauienses durante o período chuvoso.

| Tipos de ração | Embalagem íntegra | | | | Embalagem aberta | | | |
|----------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | Propriedade (UFC/g) | | | | Propriedade (UFC/g) | | | |
| | A | B | C | D | A | B | C | D |
| Inicial | 2,15 ^c | 2,53 ^c | 4,62 ^b | 2,96 ^c | 3,17 ^c | 2,68 ^c | 5,93 ^a | 3,12 ^c |
| Juvenil | 2,64 ^c | 2,10 ^c | 3,20 ^c | 2,23 ^c | 2,79 ^c | 4,63 ^b | 3,32 ^c | 2,67 ^c |
| Engorda | 2,43 ^c | 3,28 ^c | 2,69 ^c | 2,80 ^c | 2,96 ^c | 5,95 ^a | 3,03 ^c | 2,56 ^c |

^{a, b, c}: letras iguais, resultados semelhantes (P<0,05). UFC/g = unidades formadoras de colônias por grama, em log₁₀.

Esse resultado evidencia que nesta propriedade, o acondicionamento das rações juvenil e engorda em construções rústicas de madeira e palha, após a abertura dos sacos, favoreceu de sobremaneira o crescimento de fungos. Na propriedade “C”, houve diferença entre as amostras obtidas de embalagens íntegras e as de embalagens abertas apenas para fase inicial. A elevada contagem verificada nas amostras obtidas de embalagens íntegras aponta que essa diferença pode ter ocorrido devido à contaminação da matéria-prima utilizada na fabricação da ração destinada à fase inicial ou a uma possível falha no processamento, pois os ambientes onde se processam e empacotam alimentos podem apresentar contaminação microbiana (Gava, 2002). Cabe ressaltar que na propriedade “C” as rações ficavam em galpões de alvenaria cobertas e só eram levadas para perto dos viveiros quando da sua utilização. As propriedades “A” e “D” apresentaram contagens de fungos semelhantes, independentemente do tipo de ração e da condição da embalagem, sendo que a propriedade “A” abrigava as rações em silos de fibras de vidro, enquanto a propriedade “D” utilizava abrigos feitos de madeira e lona para acondicionamento das rações em uso.

A exposição das embalagens abertas às condições climáticas da região, com umidade relativa elevada possibilitou que os fungos pré-existent nas embalagens fechadas e os de contaminação ambiental pudessem atingir as condições necessárias para se desenvolverem. Andrade & Nascimento (2006); Girio et al. (2012) obtiveram resultados semelhantes em rações

comerciais para cães, quando verificaram que a contaminação por fungos intensificava-se após abertura das embalagens. Do mesmo modo, Gabbi et al. (2011), analisando rações para avestruz, eqüinos e peixes, verificaram que as condições de armazenagem influenciam nas características microbiológicas das mesmas.

As condições de armazenamento interferiram na qualidade da ração. Devido à característica higroscópica inerente à ração pode ter ocorrido um aumento da atividade aquosa que favoreceu o desenvolvimento dos esporos dos fungos presentes na ração de sacos abertos, durante o período chuvoso nas propriedades “B” e “C”, conforme sugerido por Pitt & Hocking (1997). Tais achados assemelham-se aos de Bintvihok (2003) que, pesquisando fungos em rações para camarão na Tailândia, constatou uma maior contaminação durante o período chuvoso, em relação ao período seco.

As contagens de fungos obtidas nas amostras de ração para camarão oscilaram entre 1,43 a 2,72 UFC/g no período seco e de 2,10 a 5,95 UFC/g no período chuvoso (Tabelas 2 e 3). Estes valores obtidos caracterizam as rações utilizadas nas propriedades piauienses durante o período seco como de “boa qualidade” podendo chegar até o padrão de “aceitáveis” no período chuvoso conforme a classificação de Andrigueto et al. (1990). Muitos estudos têm investigado a presença de fungos em alimentos destinados ao consumo animal, porém, pesquisas envolvendo rações para camarão ainda são escassas (Bintvihok, 2003).

Vale ressaltar, que embora a presença de fungos filamentosos nas rações não indique

necessariamente contaminação por micotoxinas (Pereira et al., 2002), os fungos servem como indicadores prováveis dessas toxinas. Desse modo, apesar das contagens fúngicas obtidas situarem-se dentro dos padrões de qualidade encontrados na literatura como próprias para o consumo (Andrighetto et al. 1990), não está excluída a possível presença das toxinas nas rações analisadas. Assim, por desconsiderarem o perigo potencial de toxinas, tais padrões podem estar sendo muito permissivos e necessitam de revisão. Por esse motivo, recomenda-se a quantificação de toxinas nas rações para se ter idéia do potencial do risco para a saúde animal e humana.

Com base nos resultados, pode-se concluir que as rações para camarões de diferentes fases de cultivo são substratos favoráveis à contaminação e crescimento de fungos. Além disso, as rações ainda em embalagens íntegras também podem apresentar contaminação por fungos. Após a abertura da embalagem, devem-se adotar medidas de manejo para reduzir a contaminação das rações e o crescimento de fungos durante o período chuvoso.

Referências

- Amaral, R., Rocha, I.P., Lira, G.P. 2003. Alimentação de camarões e consumo de alimentos na carcinicultura: a experiência brasileira. *Revista da ABCC* 2: 35-44.
- Andrade, R.M., Nascimento, J.S. Presença de fungos filamentosos em ração para cães comercializadas na cidade de pelotas – RS. 2006. http://www.ufpel.edu.br/xivcic/arquivos/CB_01570.rtf/ <Acesso em 3 Jun. 2006>
- Andrighetto, J.M., Perty, L., Minardi, I., Gemael, A. 1990. *As bases e os fundamentos da nutrição animal*. Nobel, São Paulo, Brasil. 396 p.
- Barbieri Junior, R.C., Ostresky Neto, A. 2001. *Camarões marinhos (reprodução, maturação e larvicultura)*. Aprenda Fácil, Viçosa, Brasil. 351 p.
- Bernardini, E., Nascimento, J.S. 2005. Fungos anemófilos na praia do Laranjal, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo* 72: 93-97.
- Bintvihok, A. 2003. Aflatoxin contamination in shrimp feed and effects of aflatoxin addition on shrimp production. *Journal of Food Protection* 66: 882-885.
- Boonyaratpalin, M. 2001. Effects of aflatoxin B₁ on growth performance, blood components, immune function and histopathological changes in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). *Aquaculture Research* 32: 388-398.
- Cardoso Filho, F.C. 2011. Monitoramento de fungos toxigênicos e aflatoxinas em rações utilizadas na piscicultura em Teresina, Piauí, Brasil. 33f. (Dissertação de Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.
- Carneiro Sobrinho, R. N. 2003. *Camarão marinho: oportunidades de investimento no Maranhão*. Banco do Nordeste, Fortaleza, Brasil. 134 p.
- Dalcerio, A., Magnoli, C., Luna, M., Ancasi, G., Reynoso, M.M., Chiacchiera, S., Miazzo, R., Palácio, G. 1998. Mycoflora and naturally occurring mycotoxins in poultry feeds in Argentina. *Mycopathology* 141: 37-43.
- Franco, B.D.G.M., Ladgraf, L. 1996. *Microbiologia dos alimentos*. Atheneu, São Paulo, Brasil. 182p.
- Gabbi, A.M., Cypriano, L., Piccinin, I. 2011. Aspectos microbiológicos e físico-químicos de três rações comerciais sob diferentes condições de armazenamento. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 12: 784-793.
- Gava, M.A. 2002. Desempenho de diferentes meios de cultura utilizados na avaliação de fungos presentes em ambientes de produção de alimentos. 50f. (Dissertação de Mestrado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil.
- Girio, T.M.S., Nader Filho, A., Rossi Junior, O.D., Amaral, I.A., Girio, R.J.S. 2012. Qualidade microbiológica de rações para cães comercializadas no varejo em embalagem fechada e a granel. *Ars Veterinaria* 28: 036-040.
- INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Sistema de monitoramento agrometeorológico: Dados de 2005. <http://www.agritempo.gov.br/agroclima/sumario/> <Acesso em 5 Jun. 2012>.
- King, A.D., Hocking, A.D., Pitt, J.I. 1979. Dichloran Rose Bengal medium for enumeration and isolation of food from foods. *Applied Environmental Microbiology* 37: 959-964.
- Martins, H.M., Martins, M.L. 2001. Qualidade micológica de rações para bovinos (Portugal: 1996-1999). *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias* 96: 85-88.
- Pereira, M.M.G., Carvalho, E.P., Prado, G. 2002. Crescimento e produção de aflatoxinas por *aspergillus flavus* e *aspergillus parasiticus*. *B. CEPPA* 20: 141-156.
- Pitt, J.I., Hocking, A. D. 1997. *Fungi and food*

spoilage. Chapman and Hall, Londres, Inglaterra. 593p.

Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E. 2001. *Biologia vegetal*. Guanabara koogan, Rio de Janeiro, Brasil. 906 p.

Silva, C.S., Couto, H.P., Ferreira, R.A., Fonseca, J.B., Gomes, A.V.C., Soares, R.T.R.N. 2008. Valores nutricionais de milhos de diferentes qualidades para frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37: 883-889.

Scussel, V.M. 2002. Fungos em grãos armazenados. In: Lorini, I., Miike, L.H., Scussel, V.M. (ed.) *Armazenagem de grãos*. IBG, Campinas, Brasil. p.675-804.

Strahler, A.N. 1989. *Geografia Física*. Omega, Barcelona, Espanha. 550 p.

Waldige, V., Caseiro, A.A. 2004. Indústria de rações: situação atual e perspectivas. *Panorama da Aqüicultura* 81: 27-32.