

REZUMAT

al tezei de doctorat intitulată:

CARACTERIZAREA PRIN TEHNICI MOLECULARE A UNOR FUNGI MICOTOXIGENI IZOLATI DIN FURAJE

Doctorand: Asawir Esamaldeen Ebrahim MOHAMED

Conducător științific: *Prof. Univ. Dr.* Calina Petruta CORNEA

CUVINTE-CHEIE: *Micotoxine, Furaje, Contaminare, Tehnica RFLP-PCR, Sudan*

Furajele sunt esențiale în nutriția animalelor de fermă, dar sunt adesea afectate de contaminarea fungică și producția de micotoxine, toxine periculoase generate de specii de ciuperci precum *Aspergillus*, *Fusarium* și *Penicillium*. Aceste ciuperci pot coloniza furajele în timpul recoltării, transportului și depozitării, favorizând producția de micotoxine în condiții climatice nefavorabile și umiditate ridicată.

Micotoxinele afectează sănătatea animalelor și a păsărilor, provocând diverse efecte adverse de la scăderea performanțelor de creștere până la imunosupresie și mortalitate. Consumul de furaje contaminate poate duce la bioacumularea micotoxinelor în produsele de origine animală, reprezentând un risc semnificativ pentru sănătatea umană.

Monitorizarea și controlul contaminării cu micotoxine sunt cruciale pentru protejarea sănătății publice și a bunăstării animalelor, fiind esențiale în inițiativele internaționale pentru siguranța alimentară și sănătatea globală. În Africa, inclusiv Sudan, condițiile climatice și practicile agricole suboptimale cresc riscurile de contaminare cu micotoxine în furaje, necesitând intervenții urgente pentru gestionarea acestor probleme.

Teza de doctorat intitulată "Caracterizarea prin Tehnici Moleculare a Unor Fungi Micotoxigeni Izolați din Furaje" reprezintă un studiu cuprinzător al fungilor care contaminatează furajele. Lucrarea se concentrează pe analiza a patru tipuri de probe: boabe de sorg, arahide decojite, făină de arahide și tărațe de grâu. Proiectul implică procese de izolare, purificare și cultivare a acestor ciuperci în mediu de cultură, precum și caracterizarea și identificarea lor morfologică și moleculară. În plus, teza propune experimente și soluții pentru inhibarea creșterii acestor ciuperci în condiții de laborator, asigurând astfel un material biologic mai sănătos.

Structura tezei de doctorat include șapte capitole și este divizată în două secțiuni. Prima secțiune constă într-o introducere concisă a problemei tratate și o analiză documentară a stadiului actual al cercetărilor în domeniul tematicii abordate. A doua secțiune cuprinde propriile cercetări efectuate.

Capitolul I se axează pe principalele genuri și specii de fungi micotoxigeni și pe metodele de identificare a acestora. În acest capitol, sunt prezentate particularitățile fungilor micotoxigeni din genurile *Aspergillus* și *Fusarium*, inclusiv caracteristicile lor biologice și ecologice. Se discută, de asemenea, caracteristicile moleculare ale fungilor din genurile *Aspergillus* și *Fusarium*, concentrându-se pe genele implicate în producerea micotoxinelor și pe metodele moderne de identificare moleculară. Capitolul oferă o privire de ansamblu asupra contaminării cu fungi micotoxigeni și/sau micotoxine în Africa, și în mod special în Sudan, evidențiind specificitățile regionale și impactul asupra sănătății publice și securității alimentare în această regiune.

Capitolul II se concentrează pe metodele de tratament pentru reducerea micotoxinelor în furaje, inclusiv abordări fizice, chimice și biologice. Aceste metode sunt esențiale pentru îmbunătățirea siguranței alimentare și performanței animalelor de fermă. În rezumatul lucrării, se subliniază importanța continuării cercetării și dezvoltării în acest domeniu pentru optimizarea eficienței acestor tehnici și adaptarea lor la condițiile specifice de producție.

În Capitolul III, au fost efectuate izolarea, purificarea și cultivarea fungilor contaminanți din diverse tipuri de furaje din Sudan, incluzând sorg, arahide, tărațe de grâu și făină de arahide. Scopul principal a fost identificarea fungilor micotoxigeni și a micotoxinelor asociate. Metodele specifice de izolare și identificare au permis obținerea mai multor tulpini fungice aparținând unor genuri variate, inclusiv *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium* și. Predominanța a fost observată în cazul genului *Aspergillus*, în special în probele de arahide. În total, au fost izolate și identificate 32 de tulpini fungice, majoritatea fiind din genul *Aspergillus* (87,37%), inclusiv 15 tulpini din secția Nigri, 10 din secția Flavi și 2 asociate secției Nidulans. Restul izolatelor au inclus *Penicillium* sp. (1 tulpină), *Fusarium* sp. (2 izolate), *Cladosporium* sp. (1 tulpină) și *Alternaria* sp. (1 tulpină). Rezultatele au relevat că cele mai multe izolate cu potențial micotoxigen, în special din grupurile *Aspergillus* secțiile Flavi și Nigri, au fost obținute din arahide, atât din boabe cât și din făină. Studiul a evidențiat, de asemenea, importanța grupului Flavi prin analize microbiologice detaliate care au confirmat prezența speciei *A. flavus* în probele analizate. Aceste constatări subliniază necesitatea unei monitorizări riguroase și a unor strategii eficiente pentru gestionarea riscurilor asociate cu contaminarea cu micotoxine în furajele destinate hranei animalelor și, implicit, consumului uman în Sudan.

În Capitolul IV, studiul despre fungii filamentoși din furaje a utilizat metode avansate precum extracția ADN-ului, amplificarea cu primeri specie-specfici și ITS-RFLP pentru identificarea speciilor, inclusiv *Aspergillus flavus* și *A. niger*. Rezultatele au subliniat predominanța acestor specii și prezența altora precum *Penicillium*, *Fusarium* și *Alternaria* în eșantioanele de furaje. Evaluările genomice cu RAPD și SCoT au evidențiat o diversitate semnificativă în cadrul genului *Aspergillus*, relevând adaptabilitatea lor în mediul de furaj și contribuind la optimizarea tehnicilor de analiză moleculară.

În Capitolul V, s-a evaluat potențialul micotoxigen al izolatelor fungice din furaje, cu accent pe *Aspergillus* și *Penicillium*. Metodele includ cultivarea pe medii de detectare a micotoxinelor, cum ar fi aflatoxinele, și utilizarea TLC și PCR pentru identificarea genelor implicate în biosinteza acestora. Rezultatele au arătat că toate tulpinile de *Aspergillus flavus* au produs aflatoxine pe diverse medii de cultură, metoda cu lapte de cocos fiind eficientă pentru detectarea lor. Utilizând cromatografia în strat subțire ca metodă de analiză s-a reușit detectarea a trei aflatoxine, AFB1, AFB2 și AFG1 la mai mult tulpini de aspergili, cu AFB1 predominant la *A. flavus* D3-2. Pentru *Penicillium polonicum* A3-4 și *Aspergillus niger*, s-a confirmat producția de ochratoxină și patulină prin TLC și PCR. Genele implicate în biosinteza aflatoxinelor au fost identificate la *A. flavus* D3-2, subliniindu-se potențialul micotoxigen al acestei tulpini. În concluzie, studiul a demonstrat că tulpinile de *Aspergillus flavus* și *Penicillium polonicum* izolate din furaje din Sudan au prezentat potențial micotoxigen, cu producție variabilă de aflatoxine, ochratoxină și patulină. Rezultatele sugerează necesitatea unei monitorizări riguroase și a unor strategii eficiente de control pentru a minimiza riscurile asociate cu contaminarea micotoxinelor în lanțurile alimentare în această regiune.

În capitolul VI s-a investigat utilizarea bacteriilor lactice pentru reducerea contaminării cu micotoxine în furaje. S-a analizat eficacitatea acestora în inhibarea dezvoltării fungilor, inclusiv a genului *Aspergillus*, responsabil pentru producția de aflatoxine. Metodele experimentale au inclus detectarea aflatoxinelor prin cromatografie în strat subțire (TLC). Rezultatele au demonstrat că adăugarea tulpinilor de bacterii lactice în furaje a condus la absența aflatoxinelor produse de *Aspergillus flavus* A3-5, contrastând cu furajele ne-tratate. Această abordare promițătoare poate contribui la reducerea riscurilor pentru sănătatea animală și siguranța alimentară, având potențialul de a minimiza pierderile economice asociate cu contaminarea furajelor.

În Capitolul VII, Concluzii Generale, studiul a evidențiat următoarele aspecte importante:

- Identificarea și izolarea fungilor micotoxigeni din diverse materii prime folosite în hrana animalelor din Sudan, inclusiv sorg, arahide, tărațe de grâu și făină de arahide, subliniind predominanța genului

Aspergillus și a speciilor din secțiile Flavi și Nigri, cunoscute pentru capacitatea lor de a produce aflatoxine.

- Importanța metodologiilor avansate precum ITS-RFLP și secvențierea nucleotidelor în identificarea precisă a speciilor de fungi micotoxigeni, contribuind la o evaluare mai exactă a riscurilor de contaminare.
- Evidențierea variabilității intra- și interspecifice la fungii luați în studiu prin utilizarea metodelor RAPD și SCoT, cu precizarea că metoda SCoT a fost utilizată pentru prima dată pentru caracterizarea fungilor contaminanți ai furajelor;
- Eficacitatea demonstrată a bacteriilor lactice în reducerea contaminării cu aflatoxine în furaje, sugerând că acestea pot reprezenta o soluție viabilă și sustenabilă în industria hranei animalelor.
- Recomandări pentru implementarea unui sistem de monitorizare rigurosă a calității furajelor, inclusiv utilizarea tulpinilor de bacterii lactice în procesele de producție și educarea fermierilor pentru minimizarea riscurilor de contaminare cu micotoxine.

Aceste aspecte subliniază impactul cercetărilor în controlul și prevenirea contaminării cu micotoxine în hrana animalelor, având implicații semnificative pentru sănătatea publică și siguranța alimentară. Implementarea acestor recomandări ar putea contribui la îmbunătățirea practicilor agricole și a reglementărilor, reducând astfel riscurile asociate cu consumul de furaje contaminate în Sudan și în alte regiuni similare.

Experimentele descrise în aceasta teza au fost realizate în cadrul Laboratorului de Biologie Moleculară al Facultății de Biotehnologii din cadrul USAMV București.

Bibliografia acestei teze de doctorat cuprinde 118 de surse de literatură de specialitate, atât naționale, cât și internaționale, constând în cărți, articole, lucrări de diplomă, reviste, teze de doctorat și pagini web acreditate.

Rezultatele cercetărilor desfășurate de-a lungul anilor și pe durata stagiului doctoral au fost publicate în reviste științifice de profil, cotate ISI și BDI, conform Listei de publicații anexată.