

ALEX BURAGAS

COMPORTAMENTO ALIMENTAR DE CODORNAS POEDEIRAS (COTURNIX  
COTURNIX JAPONICA) RECEBENDO RAÇÕES COM DIFERENTES  
MICOTOXINAS

Pirassununga

2005

ALEX BURAGAS

**Comportamento alimentar de codornas poedeiras (*Coturnix coturnix Japonica*) recebendo rações com diferentes micotoxinas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição Animal da Faculdade Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

**Departamento:**

Nutrição e Produção Animal

**Área de Concentração:**

Nutrição Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque

Pirassununga

2005

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1602  
FMVZ

Buragas, Alex  
Comportamento alimentar de codornas poedeiras (*Coturnix coturnix* Japonica) recebendo rações com diferentes micotoxinas / Alex Burgas. – Pirassununga : A. Buragas, 2005.  
63 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2005.

Programa de Pós-graduação: Nutrição Animal.  
Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque.

1. Seleção de dietas. 2. Codornas. 3. Micotixinas. I. Título.

---

ERRATA

---

Página ficha catalográfica	Parágrafo	Linha	Onde se lê	Leia-se
	3	1	63f.	64 f.
7	1	4	63f.	64 f.
8	1	3	63f.	64 f.

---



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"

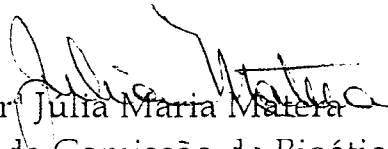
*Comissão Bioética*

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeito da alimentação de codornas em rações com diferentes níveis de aflatoxinas sobre desempenho e características dos ovos", Protocolo nº 188/2002, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aleksandres Spers, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado pela referida Comissão, em sessão de 25/09/2002.

(We certify that the Research "Effect of the quail feeding in rations with different aflatoxins levels on performance and eggs characteristics" protocol number 188/2002, under the responsibility of Prof. Dr. Aleksandres Spers, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in 25/09/2002 meeting.

São Paulo, 26 de setembro de 2002

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Julia Maria Matera  
Presidente da Comissão de Bioética  
FMVZ/USP

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: Buragas, Alex

Título: Comportamento alimentar de codornas poedeiras (*Coturnix coturnix* Japonica) recebendo rações com diferentes micotoxinas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_ Instituição \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

*À minha amada mãe, Maria de Lourdes e ao meu amado pai, Vitor, por me criarem em um ambiente familiar de amor, respeito, compreensão e por sempre me incentivarem a buscar o saber e nunca esmorecer ante as dificuldades.*

*Aos meus irmãos Adriano e Andréa, eternos companheiros que sempre me ensinaram a ser uma pessoa melhor.*

*Dedico este trabalho, com todo o meu amor, respeito e gratidão!*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, da FMVZ/USP, pela confiança, incentivo, amizade e convívio que tivemos ao longo desta jornada, tornando possível o desenvolvimento deste e de muitos outros trabalhos.

Ao Prof. Dr. Aleksandrs Spers pela amizade e incentivo necessário para realização deste trabalho.

Ao Antonio Paulo pelo apoio fundamental em diversos momentos do projeto, além da amizade e apoio em muitos momentos difíceis. Obrigado.

Aos eternos amigos Ygor e Alexandre pelo convívio constante e apoio durante a execução deste e de outros projetos.

A todos os pós-graduandos pelos momentos de diversão, seriedade, companheirismo e amizade.

A todos os professores e funcionários do departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP.

À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro para a realização desta pesquisa.

À CAPES e a pró-reitoria de pós-Graduação da USP pela concessão da bolsa de estudos.



## RESUMO

BURAGAS, A. **Comportamento alimentar de codornas poedeiras (*Coturnix coturnix Japonica*) recebendo rações com diferentes micotoxinas.** [Alimentary behavior of quail layers (*coturnix coturnix japonica*) fed diets with different micotoxins]. 2005. 63 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

Este trabalho teve como objetivos principais: avaliar o comportamento alimentar em rações contendo zearalenona e aflatoxina; verificar a capacidade das aves em distinguir uma ração contendo micotoxina de uma ração isenta de contaminação; observar se as aves eram capazes de selecionar uma determinada ração. Foram utilizadas, 80 codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em pico de postura, num delineamento experimental de quadrado latino (4x4). Os 4 tratamentos utilizados foram: controle (T1); controle + 0,1% adsorvente (T2); 2 mg/kg aflatoxinas + 4 mg/kg zearalenona (T3) e 2mg/kg aflatoxinas + 4 mg/kg zearalenona + 0,1% adsorvente (T4), em 4 posições pré-estabelecidas. Com a finalidade de observar o comportamento das aves os comedouros foram trocados de posição a cada 7 dias. Foi observada redução no consumo de ração ( $p < 0,05$ ) nos tratamentos que continham 2 mg/kg de aflatoxina e zearalenona com e sem adsorvente . As aves mostraram reconhecer a ração contaminada, tendo um maior consumo da ração livre de toxinas.

Palavras-Chave: seleção de dietas; codornas; micotoxinas.

## ABSTRACT

BURAGAS, A. **Alimentary behavior of quail layers (*Coturnix coturnix japonica*) fed diets with different micotoxins.** [Comportamento alimentar de codornas poedeiras (*Coturnix coturnix* Japonica)]. 2005. 63 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

The aim of this experiment was: analyse alimentary behavior in diets with zearalenon and aflatoxin; observe poultry abilities to discern from diets with or without micotoxins; to understand if quail were able to select a diet. 80 quail layers (*Coturnix coturnix japonica*) were used in a latin square design (4x4). The treatments were: control (T1); control + 0.1% adsorbent (T2); 2 mg/kg aflatoxin + 4 mg/kg zearalenon (T3) e 2mg/kg aflatoxin + 4 mg/kg zearalenon + 0.1% adsorbent (T4), in 4 different places. To observe animal behavior diets were changed of position every 7 seven days. There were differences ( $p<0,05$ ) among treatments, with lower intake for diets with 2 mg/kg aflatoxin and zearalenon with or without adsorbent. This study indicates that layers could recognize the contaminated treatments, animal intake for free contamination diets were highest.

Key words: diets selection, quail, micotoxin

## SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT .....	8
1 INTRODUÇÃO .....	11
2 OBJETIVOS .....	13
3 REVISÃO DE LITERATURA .....	14
3.1 SELEÇÃO DE DIETAS .....	14
3.1.1 Teoria da seleção de dieta .....	15
3.1.2 Evidências da seleção de dieta .....	16
3.1.3 Pré-requisitos para seleção de dieta .....	17
3.1.4 O processo de aprendizagem na escolha dos alimentos .....	18
3.1.5 Teoria do desconforto total mínimo .....	20
3.1.6 Limitações à seleção de dietas .....	21
<b>3.2 MICOTOXINAS .....</b>	<b>23</b>
3.2.1 Micotoxinas: danos e prejuízos .....	23
3.2.2 Aflatoxinas .....	27
3.2.3 Toxinas de Fusarium .....	36
3.2.4 Medidas de controle .....	39
3.2.5 Adsorventes .....	41
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	44

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
6 CONCLUSÕES .....	55
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	56

## 1 INTRODUÇÃO

O sistema de livre escolha de alimentação consiste em deixar que o animal decida qual alimento quer ingerir, frente a várias opções. Os animais têm um instinto para escolherem determinados tipos de alimentos e aprendem, através de sugestões a se alimentarem com outros tipos e ter aversão àqueles que fazem mal a sua saúde. Os mamíferos confiam primeiramente no tato para identificar os alimentos; as aves usam a visão e rapidamente aprendem a associar as propriedades do alimento com as conseqüências metabólicas ao ingerir tal alimento (FORBES, 1995). Segundo este autor, os animais sabem diferenciar entre dois ou mais tipos de alimentos, de acordo com suas exigências nutricionais, selecionando qual é o tipo mais adequado para ingerir.

Após a descoberta das aflatoxinas, o conhecimento da ciência sobre as micotoxinas e seus danos sobre a saúde humana e animal cresceram significativamente. As aflatoxinas começaram a ser descritas no início dos anos 60, quando Stevens et al. (1960), descreveram o aparecimento de uma nova doença em perus jovens. A morte das aves ocorria geralmente em uma semana, sendo os sintomas a perda de apetite, diminuição da mobilidade, asas e pernas apresentando sinais de fraqueza. Por ocasião da necrópsia, sempre se revelavam lesões necróticas no fígado e congestionamento nos rins.

As aflatoxinas são definidas como um grupo de metabólitos tóxicos produzidos durante o estágio de esporulação dos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. O grupo de aflatoxinas compreende as toxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub>, sendo estas últimas encontradas no leite e derivadas de B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, as demais

são encontradas principalmente em milho, amendoim, sementes de algodão e castanhas diversas (CHU, 1991; DIENER et al., 1983; LAZZARI, 1997). Também foram encontradas no fígado de ovinos, suínos e aves de corte (SCUSSEL, 1998).

As aflatoxinas são carcinogênicas, teratogênicas, mutagênicas e hepatotóxicas, sendo causadoras de grandes danos à saúde humana e elevados prejuízos financeiros no rendimento de animais, como bovinos, ovinos, suínos, aves e coelhos (LAZZARI, 1997; OSWEILER, 1990; REED, 1988). A aflatoxina B<sub>1</sub> é considerada uma das mais potentes substâncias carcinogênicas de ocorrência natural conhecidas pelo homem, e são identificadas como fatores associados ao câncer hepático em humanos, após a ingestão de alimentos contaminados (BOSCH, 1991; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CÂNCER, 1987; LAZZARI, 1997).

Baseando-se nos estudos de preferências alimentares dos animais e na teoria de seleção de dietas de Forbes (1995), foi feito experimento com codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com os objetivos de: avaliar o comportamento alimentar frente a rações contendo zearalenona e aflatoxina ; verificar se as aves são capazes de distinguir uma ração contendo micotoxina de uma ração isenta de contaminação; e observar se as aves apresentam alguma preferência por determinada ração.

## **2 OBJETIVOS**

Os objetivos gerais do presente estudo, são os de determinar o comportamento alimentar dos animais frente à livre escolha de dietas oferecidas simultaneamente contendo micotoxina de uma ração isenta de contaminação, além de uma provável preferência das aves por determinada ração.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

Iniciaremos este capítulo revisando os principais aspectos relacionados a seleção de dieta e escolha de alimentos por parte dos animais.

#### 3.1 SELEÇÃO DE DIETAS

Nos modernos sistemas de criação, os animais normalmente recebem os alimentos misturados ou em quantidades pré-determinadas. Esta não é a situação na qual a maioria das espécies está adaptada e pode ser considerada antinatural.

Os ancestrais de nossos animais domésticos sempre tiveram oportunidade de selecionar uma ampla variedade de alimentos e obviamente, eram capazes de balancear uma mistura que garantisse seu desenvolvimento e reprodução. É possível que ingerindo uma grande quantidade de alimentos pudessem obter nutrientes suficientes para a sobrevivência, mas talvez fosse insuficiente em algumas situações como, por exemplo, quando fontes tóxicas de alimentos eram parte significativa do alimento disponível. Isso explica o fato de algumas espécies terem se especializado em consumir apenas um tipo de alimento (seleção de dieta inata). Entretanto, a maioria das espécies consome uma variedade de alimentos e devem aprender suas propriedades (FORBES, 1995).

Segundo Forbes (1995), muitas são as oportunidades para aplicação de seleção de dieta, seja no campo científico ou profissional. A percepção de que é



necessário que os animais estejam aptos a perceberem os diferentes valores nutricionais dos alimentos por suas características sensoriais e a necessidade de aprenderem a relacionar tais características com as conseqüências metabólicas da ingestão dos mesmos torna possível vislumbrar que um apetite específico para cada nutriente pode ser desenvolvido. No momento, há mais certeza de que este argumento pode ser usado em uma situação de escolha de alimentos para melhorar o balanço entre as exigências do animal e o que o mesmo ingere. A compreensão de como a seleção da dieta e a ingestão de alimentos são controladas, são preocupações importantes nos campos da nutrição, fisiologia e psicologia.

### **3.1.1 Teoria da seleção de dieta**

Os princípios de seleção de dieta foram descritos por Emmans (1991). Quando são consideradas duas propriedades nutricionais de dois alimentos como as proporções destes alimentos necessárias para atender as exigências nutricionais do animal, pode-se imaginar uma linha reta. Nos extremos desta linha, podem estar dois nutrientes, como por exemplo, energia e proteína. Se houver dois alimentos que se situam no meio de tal linha, qualquer mistura destes dois alimentos poderá satisfazer o animal de suas exigências protéico-energéticas. Porém, se houver a combinação de dois alimentos que estejam perto do pólo energético (ricos em energia) não haverá combinação possível destes dois que possam satisfazer o animal de sua exigência protéica. Se houver oferecimento de dois alimentos, um rico

em proteína e outro em energia o animal poderá escolher proporções destes dois a fim de atender as suas exigências.

Conforme vão se acrescentando nutrientes, este modelo geométrico ganha dimensões. Assim, quando são levadas em conta as exigências animais para minerais a figura se torna um triângulo, quando se adicionam a energia e proteína, exigências para cálcio e fósforo a figura torna-se um tetraedro (quatro vértices), e assim sucessivamente.

### **3.1.2 Evidências da seleção de dieta**

Evidências consideráveis foram sendo acumuladas por diversos estudos feitos com animais de laboratório que puderam escolher sua dieta em função de acesso a alguns alimentos diferentes. Tais experimentos vem sendo mais recentemente repetidos com animais de produção.

Já no início do século, Kempster (1916) observou que poedeiras que tinham acesso a escolha de alimentos puderam balancear sua própria ração; estes animais produziram mais ovos que aqueles que eram submetidos ao manejo nutricional tradicional (uma única ração) . Poedeiras jovens, frangos de corte e perus jovens também mostraram habilidade de balancearem suas próprias dietas a partir de acesso a certos alimentos que, quando oferecidos isoladamente, não atendiam as exigências nutricionais dos animais em questão, segundo Forbes e Shariatmadari (1994), frangos de corte conseguiram selecionar sua dieta a partir do acesso a nove

diferentes gêneros alimentares, que proviam os animais de proporções similares dos nutrientes as que eram recomendadas, segundo Rose e Kyriazakis (1991).

Estudo realizado com suínos por Kyriazakis, Emmans e Whittemore (1990) mostra que quando eram oferecidos dois alimentos aos animais, um com nível alto de proteína e outro com baixo, eles eram capazes de consumir uma mistura dos dois que garantisse o nível de proteína adequado para sua exigência. Já quando os dois alimentos possuíam níveis baixos de proteína havia a ingestão do que possuía a maior quantidade. Quando havia o oferecimento de dois alimentos com altos níveis de proteína, os animais se alimentaram preferencialmente pelo alimento que possuía o menor nível, talvez pela sobrecarga metabólica da excreção de compostos nitrogenados.

### **3.1.3 Pré-requisitos para seleção de dieta**

Segundo Forbes (1995), há a necessidade de diferenciação sensorial dos alimentos por parte do animal. Assim um nutriente que seja exigido em quantidades pequenas e que seja incolor ou insípido devera ser colorido ou flavorizado para sinalizar ao animal.

O treinamento ou condicionamento também é um aspecto necessário no processo de aprendizagem de escolha de alimentos. Dar tempo e oportunidades para que o animais escolham sua dieta é condição para que aprendam a associar sentidos e experiências alimentares (FORBES, 1995).

### 3.1.4 O processo de aprendizagem na escolha dos alimentos

Há fortes evidências de que os animais podem aprender a associar o gosto, o cheiro e a cor dos alimentos com as sensações que sentem quando provam tais alimentos. Esta é uma habilidade poderosa que permite aos animais selecionarem dentre uma variedade de alimentos a combinação que melhor atende as suas exigências nutricionais. Segundo Holder (1990), o gosto e o cheiro são os dois sentidos mais importantes no momento da refeição. A visão e a audição são importantes para as aves, enquanto que para os mamíferos não tem grande participação no processo de escolha. Esta conclusão pode ser extraída de alguns trabalhos, como o realizado por Wilcoxon, Draoin e Kral (1971), na qual foram oferecidas a codornas e ratos uma solução com substâncias tóxicas de sabor azedo e colorida de azul e a outra, adicionada de flavorizante azedo. Os ratos evitaram a solução azeda enquanto que as codornas evitaram a solução azul, fato que demonstra que cada um associou a presença da toxina com uma sensação. Outros trabalhos ratificam estas conclusões com aves, para as quais a cor é um forte estímulo para desencadear aversões aprendidas (MARTIN; BELLINGHAM; STORLIEM. 1977) e preferências (KUTLU; FORBES, 1993), bem como com ovinos, que utilizam mais o olfato que a visão, pois identificam forragens mesmo com olhos vendados (ARNOLD, 1966).

O sabor também é um estímulo muito forte para associação com as propriedades nutritivas dos alimentos e na sua identificação (SCOTT, 1992). Como existem alimentos com sabor atraente aos animais, porém potencialmente tóxicos,

os animais acabam, por tentativa e erro, relacionando ao longo de suas vidas aqueles que se mostram mais nutritivos (STEPHENS; KREBS, 1986).

Neste contexto, insere-se o conceito palatabilidade, que deve ser explicada como uma característica fixa nos alimentos. Engloba seu sabor, cor, textura e possivelmente até o ambiente em que o alimento normalmente é consumido, segundo Forbes (2001). É mais inerente ao animal que ao alimento, já que depende da experiência que este animal possui (FORBES, 1995). A tal palatabilidade, porém, não deve ser atribuído todo o processo de escolha dos alimentos. Um exemplo de que a palatabilidade não determinou o processo de escolha de alimentos foi o trabalho realizado por Blair e Fitzsimons (1970) com leitões. Aos animais foi oferecido alimento com Bitrex, a substância de gosto mais amargo ao paladar do ser humano. Em um primeiro momento, os animais pararam de comer; porém, ao ficarem com fome e percebendo que o alimento tinha apenas um gosto ruim, mas era saudável, alimentaram-se normalmente três dias depois da adição do Bitrex. Logo, um alimento ruim ao paladar tornou-se palatável em alguns dias. Gherardi e Black (1991) confirmaram este estudo afirmando que a adição de substâncias químicas desagradáveis em um alimento não influencia a palatabilidade do mesmo isoladamente, mas tem efeitos marcantes na ingestão quando há possibilidade de escolha.

Há algumas atribuições inadequadas a palatabilidade. Algumas vezes, o animal prefere um determinado alimento pelo fato de este não satisfazê-lo nutricionalmente e não pela baixa palatabilidade do mesmo. Para diferenciar o que é efeito metabólico e o que é efeito da palatabilidade foi proposto por Greenhalgh e Reid (1967) um experimento no qual ofereceram palha e feno as ovelhas. Quantidades iguais do mesmo alimento que estava sendo administrado pela boca

eram administradas via fístula ruminal. Quando a palha era oferecida oralmente e feno ruminalmente, a ingestão foi mais baixa, bem como a digestibilidade, quando comparada ao tratamento inverso. Isto demonstra uma forte influência da palatabilidade sobre ingestão voluntária.

A textura do alimento também exerce forte influência no reconhecimento do alimento pelo animal. Compreendendo-se o papel dos sentidos no processo de aprendizagem dos alimentos, conclui-se que há uma complexa interação entre visão, olfato, paladar e textura chamada contraste dinâmico, que ajuda o animal a lembrar o quanto de alimento deve ser ingerido para satisfação do organismo (WITHERLY, 1993).

### **3.1.5 Teoria do desconforto total mínimo**

Uma teoria vem sendo estudada por diversos pesquisadores que afirmaram que os animais se alimentam para minimizar seu desconforto, comendo mais ou menos de determinado nutriente. Esta teoria vem tomando consistência com o fato de que diversos sinais negativos de retroalimentação chegam ao sistema nervoso central e são integrados pelo mesmo de maneira aditiva (FORBES, 2001).

Algumas considerações foram sendo incorporadas em um modelo de ingestão de alimentos, descrito por Forbes, (1995) e por Forbes e Provenza (2000), que se baseia nas seguintes premissas:

- a. As exigências nutricionais são determinadas pelo potencial genético dos animais;

- b. A deficiência ou excesso de um ou mais componentes dos alimentos gerarão desconforto relacionado a magnitude do desvio da exigência de tal nutriente;
- c. A integração de todos os desconfortos gerados por todos os alimentos forma um sinal de desconforto total;
- d. A ingestão e/ou seleção de alimentos muda de acordo com a necessidade de o animal minimizar seu desconforto e
- e. Os animais aprendem a associar as propriedades organolépticas dos alimentos com o desconforto gerado após a ingestão dos mesmos.

Para se utilizar tal modelo é necessário que seja decidido quais nutrientes serão levados em consideração. Forbes (2001) considera em exemplo a produção energética advinda da digestão dos alimentos, seu conteúdo fibroso e o tempo gasto para sua ingestão, considerando um grupo de ovelhas a pasto. Neste exemplo, há a compreensão de que os animais necessitavam de uma quantidade de alimento superior aquele limite que causaria desconforto nos mesmos. O modelo propõe a determinação da quantidade de alimento que não causaria desconforto e nem prejudicaria as exigências nutricionais dos animais.

### **3.1.6 Limitações à seleção de dietas**

Algumas substâncias podem agir como fator limitante da seleção de dieta, como descreveu Forbes (1995). As toxinas são substâncias que causam sinais de

desconforto ou aversão seja por sua própria toxicidade seja por sabor amargo como, por exemplo, o tanino. Dietas que possuíam em sua composição a canola eram rejeitadas pelos animais até mesmo quando os glicosinolatos presentes (substâncias tóxicas) estavam presentes em menor quantidade devido ao desenvolvimento de genótipos da planta com menor concentração do composto (FORBES, 1995).

Launchbaugh, Provenza e Burritt (1993) flavorizaram arroz e trigo com canela e ofereceram a cordeiros. Quando um dos alimentos foi associado ao cloreto de lítio, a aversão ocorreu para ambos flavorizantes, parecendo estar associado tanto ao olfato como paladar. Além de aprender a reconhecer alimentos que os façam se sentir desconfortáveis, os animais também associam os alimentos a sensações prazerosas. Frangos preferiram, como observado por kutlu e Forbes (1993), alimentos coloridos associados ao ácido ascórbico quando a exigência desta vitamina foi aumentada devido a um estresse térmico.

A experiência prévia com um alimento pode marcar a memória de maneira bastante intensa. Ovelhas que receberam 10g diárias de um certo suplemento consumiram-no prontamente após três anos da parada desta suplementação (GREEN et al., 1984). Também se observou que as cabras que já haviam estado em regiões secas de vegetação arbustiva pastaram mais rápida e eficientemente que as soltas pela primeira vez neste ambiente (ORTEGA-REYS; PROVENZA, 1993).

Assim, essas associações aprendidas formam a base da habilidade pra fazer escolhas apropriadas quando há chance de escolha de alimento, o que é muito importante para se determinar o quanto de um alimento isolado será ingerido.



## 3.2 MICOTOXINAS

A seguir, neste capítulo serão apresentados itens ligados as micotoxinas (Ocorrência na natureza, integração com danos à saúde e prejuízos econômicos, e ainda medidas de controle)

### 3.2.1 Micotoxinas: danos e prejuízos

As micotoxinas são metabólitos tóxicos secundários, produzidos por fungos que contaminam as culturas no campo, no transporte e durante o armazenamento nos silos. Podem se desenvolver naturalmente nos produtos alimentícios que são destinados diretamente para o consumo animal ou humano, sendo capazes de originar uma ampla variedade de efeitos tóxicos em animais vertebrados, afetando sua saúde incluindo o homem (COULOMBE, 1991; FITZPATRICK, 1990; OPAS, 1983; PRADO et al., 1995).

O termo micotoxina tem origem em uma palavra grega “mykes” (fungo) e uma palavra do latim “toxicum” (toxina). A expressão grego-latina “mykes-toxicum” tem o significado de toxina produzida por fungo, ou micotoxina. O termo micotoxina é usado para designar um grupo de compostos, altamente tóxicos, produzidos por determinados fungos, que causam doenças ou a morte, quando ingeridos pelo homem ou animais, através de alimentos contaminados (LAZZARI, 1997; SABINO; RODRIGUES-AMAYA, 1993; SHURTLEFF, 1992).

As micotoxinas apresentam, de uma maneira geral, grande estabilidade química, permitindo a sua persistência no alimento mesmo após a remoção dos fungos pelos processos normais de industrialização e embalagem, ou seja, mesmo que o alimento sofra o processamento, por exemplo leite transformando-se em queijo, a micotoxina ainda estará presente nesse queijo produzido (CHU, 1991).

A doença ou síndrome que resulta da ingestão de alimentos contaminados por micotoxinas, denomina-se micotoxicose, podendo esta causar ao organismo humano ou animal diversos danos no crescimento, prejudicando o metabolismo do organismo, causando o desenvolvimento de tumores, podendo inclusive ocasionar a morte em alguns casos (FITZPATRICK, 1990; SCUSSEL, 1998). As micotoxicoses são caracterizadas por síndromes difusas, mas com predominância de lesões em determinados órgãos, como fígado, rins e sistema nervoso central, dependendo do tipo de toxina. Há também, a possibilidade de ocorrência simultânea de duas ou mais micotoxinas, podendo ocasionar a potencialização de seus efeitos tóxicos sobre o organismo susceptível (KUBENA et al., 1995; POZZI, 2000).

O relato mais antigo de micotoxicose registrado está ligado às toxinas do Ergot, que são metabólitos produzidos por diversas espécies de fungos do gênero *Claviceps*, que infectam cereais e várias gramíneas, cuja primeira menção é datada de 600 a.C., que referia-se a uma perigosa excrescência encontrada em espigas. Mas somente por volta de 1850 reconheceu-se o risco em potencial do fungo, associando-se a ingestão de centeio infectado e pão produzido com farinha de centeio contaminado com as toxinas produzidas pelo fungo *Claviceps purpurea*, doença que produzia os sintomas de necrose e gangrena dos membros, sintomas esses acompanhados de alucinações, cegueira, aborto, hemorragia e morte (OPAS, 1983; SCUSSEL, 1998).

Na atualidade, cerca de 300 micotoxinas já foram isoladas, mas as toxinas mais comumente encontradas em alimentos e que comprovadamente têm propriedades tóxicas acentuadas, estando mais largamente distribuídas nos alimentos, causando danos ao consumidor, que devem ser estudadas são: aflatoxinas, zearalenonas, ocratoxinas, tricotecenos, fumonisinas, patulina, T-2, Deoxinivalenol (DON, que é a vomitoxina), (SCUSSEL, 1998).

O Brasil ocupa posição de destaque na avicultura, situando-se como segundo produtor mundial de carne de frangos (MOREIRA, 2000; SANTÚRIO, 1996). Com os resultados de mais de 2500 análises de micotoxinas realizadas no laboratório da Universidade Federal de Santa Maria, no período de 1987 a 1994, concluiu-se que 25% do milho produzido no Brasil está contaminado e, desta porcentagem, aproximadamente 15% apresentam níveis de contaminação superiores a 20 µg/kg, de acordo com Santúrio (1996). Existe uma contaminação de grãos muito alta, principalmente por aflatoxinas, sendo estas o maior problema na América Latina, devido às condições ambientais serem propícias ao desenvolvimento de fungos do gênero *Aspergillus*. Como o milho está presente em cerca de 60 % da ração para avicultura isto se torna um sério problema, já que ao se pensar em alimentos para animais em confinamento, pensa-se primeiramente no milho (SANTÚRIO, 1996).

Estudos realizados com o milho que chega à principal região produtora de ovos do estado de São Paulo, durante os meses de junho e julho de 1999, mostraram que 5% deste está contaminado por aflatoxina B<sub>1</sub> (ABREU, 2001).

Santurio (1996), relata que a F.A.O. calcula que aproximadamente 25% dos grãos do mundo estão contaminados por micotoxinas. Estima-se que os estados do sul do Brasil tenham uma produção de 35 a 40% dos grãos com aflatoxinas. Sabendo-se que os estados do sul produzem cerca de 60% do milho do país, têm-se

aproximadamente 7 milhões de toneladas de grãos com aflatoxinas e, desse total 15% possuem níveis de contaminação acima de 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , significando cerca de 30% da produção nacional. Isso representa um total de 1 milhão e 50 mil toneladas de milho com níveis de contaminação acima de 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , cujo efeito sobre aves e suínos é bastante expressivo (SANTÚRIO, 1996).

Prejuízos em frangos de corte são grandes nas áreas onde se observam problemas com grãos contaminados por micotoxinas, mas normalmente não se verifica acentuada mortalidade de aves. As consequências das aflatoxinas são traduzidas por esses animais na sua produção de carne e ovos. O último registro de mortalidade em larga escala de aves ocorreu em 1970, quando galinhas poedeiras da Carolina do Norte ingeriram ração contendo aproximadamente 50  $\text{mg}/\text{kg}$  de aflatoxinas (SANTÚRIO, 1996).

Calcula-se que houve um prejuízo de aproximadamente 100 milhões de dólares causados por aflatoxinas, no início da década de 70, nos Estados Unidos. Na América Latina, infelizmente, não existem dados seguros sobre os prejuízos causados por aflatoxinas em frangos e poedeiras, mas certamente são bastante expressivos, já que o clima é favorável ao desenvolvimento de fungos do gênero *Aspergillus* (NICHOLS, 1983).

Pequenas quantidades de aflatoxinas para frangos alojados em galpões comerciais, aproximadamente 14  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , já provocam perdas significativas no desempenho. Experimentalmente são usados níveis de aflatoxinas centenas de vezes maiores, já que em uma pesquisa experimental trabalha-se com um número bem menor de aves, diminuindo-se os teores de amônia no ar e a disputa por espaço físico e alimento (DOERR et al., 1983; JONES et al., 1982).

Animais alojados em boxes experimentais, em condições de estresse apresentam diferenças significativas de peso, a partir dos níveis de contaminação de 75 µg/kg de aflatoxinas, enquanto que as aves sob iguais condições mas sem serem submetidas ao estresse somente a partir dos níveis de 2700 µg/kg de aflatoxinas, é que são percebidas diferenças de peso. Portanto, para causar problemas nos animais, as aflatoxinas e outras micotoxinas, dependem da qualidade de vida do animal (níveis alimentares e de estresse) ou seja, quanto maior o estresse, menores quantidades de micotoxinas são necessárias para causar problemas orgânicos (DOERR et al., 1983).

### **3.2.2 Aflatoxinas**

As aflatoxinas são produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, espécies *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (MOSS, 1998). Os principais alimentos que têm susceptibilidade ao desenvolvimento destes fungos são amendoim, milho e trigo, que comumente podem ser utilizados na formulação de rações para a avicultura (LEESON et al., 1995).

Após a descoberta das aflatoxinas, o conhecimento da ciência sobre as micotoxinas e seus danos sobre a saúde humana e animal cresceram significativamente. Os estudos sobre as aflatoxinas tiveram início na Inglaterra, no início dos anos 60, quando Stevens et al. (1960), descreveram o aparecimento de uma nova doença em perus jovens, de proporções alarmantes. O quadro clínico era caracterizado por evolução aguda e sintomatologia hepatotóxica, com a morte das

aves ocorrendo geralmente em uma semana (ASPLIN; CARNAGHAN, 1961). Podia-se perceber nas aves a perda de apetite, diminuição da mobilidade, asas e pernas apresentando sinais de fraqueza. Por ocasião da necrópsia, sempre se revelavam lesões necróticas no fígado e congestão nos rins. Essa doença chegou a ser chamada de “doença X dos perus” porque inicialmente a sua causa era desconhecida, e a mesma foi responsabilizada pela morte de mais de 100.000 perus jovens, 20.000 patos e centenas de outras aves de criação domésticas (ASPLIN; CARNAGHAN, 1961; SMITH, 1960).

Suspeitou-se que seria uma doença de origem nutricional, pois quando ocorria a mudança da ração as mortes cessavam (SMITH, 1960). Após intensas pesquisas realizadas em diversos países, foi demonstrado, posteriormente, que o fator responsável pelos surtos estava presente em produtos derivados de amendoim, constatando-se que a doença fora provocada por torta de amendoim proveniente do Brasil, sendo isolado o fungo *Aspergillus flavus* e a substância isolada desse produto foi chamada de aflatoxina (MOLIN; VALENTINI, 1999; TDRI, 1984). Na atualidade, as aflatoxinas são definidas como um grupo de metabólitos tóxicos produzidos durante o estágio de esporulação dos fungos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus nomius* (MOSS, 1998).

O grupo de aflatoxinas compreende as toxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub>, sendo as duas últimas encontradas primeiramente no leite, e derivadas de B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, as demais são encontradas principalmente em milho, amendoim, sementes de algodão e castanhas diversas (CHU, 1991; DIENER et al., 1983; LAZZARI, 1997). Além do milho, amendoim e sementes de algodão, citados anteriormente, existem relatos de aflatoxinas encontradas em centeio, sorgo, trigo, cevada, nozes pecans, nozes, ervilha, semente de girassol, aveia, arroz, painço, castanha do Pará, pistache, avelã,

soja, leite e produtos lácteos, ovos, algumas frutas secas e chás. Também foram encontradas no fígado de ovinos, suínos e aves de corte (SCUSSEL, 1998).

Butler e Barnes (1963) demonstraram que as aflatoxinas eram poderosos agentes hepatocarcinogênicos para animais de experimentação, causando um grande impacto devido as implicações na saúde humana, aumentando ainda mais o interesse da comunidade científica sobre essas toxinas. Além de hepatocarcinogênicas e hepatotóxicas, as aflatoxinas também são teratogênicas e mutagênicas, causando grandes danos à saúde humana e elevados prejuízos financeiros no rendimento de animais, como bovinos, ovinos, suínos, aves e coelhos (LAZZARI, 1997; OSWEILER, 1990; REED) .

Na atualidade, a aflatoxina B<sub>1</sub> é considerada uma das mais potentes substâncias carcinogênicas de ocorrência natural conhecidas pelo homem, e está identificada como fator associado ao câncer hepático em humanos, após a ingestão de alimentos contaminados (BOSCH; PEERS, 1991; IARC, 1987; LAZZARI, 1997).

Os fungos *Aspergillus* e suas toxinas, ocorrem em praticamente todos os países do mundo, com predominância nas regiões de clima tropical e sub-tropical, incluindo o Brasil onde as condições climáticas são favoráveis. A ocorrência pode apresentar sazonalidade, sendo mais freqüente nos meses em que a temperatura e a umidade são elevadas, pois estas condições favorecem o desenvolvimento desses fungos, com a conseqüente produção de aflatoxinas (COULOMBE, 1991). Particularmente o clima do estado de São Paulo é propício ao desenvolvimento de aflatoxinas, onde foram encontrados níveis médios de 78 µg/kg e 240 µg/kg em amostras de milho e rações (LAZZARI, 1997; SABINO et al., 1988; SABINO et al., 1989a).

As condições ideais para o desenvolvimento da maioria das espécies de *Aspergillus* estão na faixa de 0,80 a 0,85 de atividade de água e com temperatura ambiente em torno de 30 °C (OPAS, 1983). Segundo Prado et al. (1995) e Lazzari (1997), com a umidade relativa do ar ao redor de 80% e a temperatura ambiente próxima dos 27 °C, já se têm condições ideais para o desenvolvimento dos fungos do gênero *Aspergillus*.

A produção de aflatoxinas no milho é constatada quando a umidade do grão atinge de 17,5 a 18,5 %. O amendoim é o melhor substrato para o desenvolvimento de *Aspergillus flavus* e produção de aflatoxinas, verificando-se sua incidência com o grão apresentando 8 a 9 % de umidade (LAZZARI, 1997; PRADO et al., 1995).

Os produtos vegetais são contaminados através do contato com os esporos do fungo presentes no ambiente, principalmente no solo durante os processos de colheita e secagem. Qualquer órgão de reserva como frutos ou sementes pode ser atacado por fungos do gênero *Aspergillus*, sendo que a utilização de práticas agrícolas incorretas, que prolongam o contato dos produtos com o solo, a presença de ferimentos, injúrias mecânicas, ataque de carunchos e gorgulhos, armazenamento inadequado, em locais úmidos e sem ventilação, são apontadas como as principais causas que favorecem a contaminação e o desenvolvimento de fungos toxigênicos (CHU, 1991). Além disso, o fungo *A. flavus* é um fungo de solo, tendo este como sua principal fonte de inóculo primário, podendo sobreviver na forma de esclerócios (AGARWAL; SINCLAIR, 1997; MOLIN; VALENTINI, 1999).

Freqüentemente têm-se observado a ocorrência natural de aflatoxinas nos alimentos destinados para consumo humano e animal, como amendoim e derivados, milho, feijão e rações. Geralmente, a microbiota fúngica que predomina nesses produtos, inclui os fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, que



englobam as principais espécies de fungos toxigênicos em alimentos (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Através de resultados obtidos em trabalhos de pesquisa pode-se observar um alto percentual de amostras positivas, principalmente em rações prontas, descrevendo-se valores de 10,4 a 56,9% para esses produtos. As concentrações médias de aflatoxinas no milho e em rações, tiveram bastante variabilidade, mas foram relatados níveis de até 7.800 µg/kg, de acordo com Sabino (1980), sendo portanto, potencialmente capazes de causar efeitos negativos na produtividade da maioria das espécies exploradas na avicultura.

Deve-se levar em consideração ainda, que a concentração das aflatoxinas tem a tendência de aumentar ao longo da cadeia de produção e comercialização das rações. Em trabalho de pesquisa, Jones et al. (1982), fizeram análises da matéria-prima, da ração produzida na fábrica e, posteriormente, da mesma ração armazenada nos aviários, encontrando médias de contaminação de 1,2; 6,0 e 8,8 µg/kg de aflatoxinas, respectivamente. Neste mesmo experimento, os autores observaram elevada correlação entre o tempo de permanência da ração nos aviários com a frequência e o nível de aflatoxinas encontrados. Também observaram que as ótimas condições encontradas para a produção de aflatoxinas nas rações contidas nos aviários, ocorriam com umidade relativa do ar na faixa de 70 a 89% e temperatura ambiente entre 19 e 27 °C.

A ocorrência de micotoxicoses nos animais de criação, e dentre elas as aflatoxicoses, é um reflexo do sistema produtivo adotado atualmente pelos produtores. Quanto mais avançado for, em maior quantidade se fará a utilização de alimentos concentrados, formulados à base de grãos, o que amplia a possibilidade de intoxicação por micotoxinas (HYGINO DA CRUZ, 1996; MOREIRA, 2000).

As aflatoxinas têm uma ampla distribuição entre os produtos agrícolas, representando portanto um sério risco à saúde humana e animal. Dependendo da sua concentração podem produzir nos animais efeitos agudos apresentando sintomatologia clínica e/ou alterações patológicas características, efeitos crônicos, onde a identificação dos sintomas é mais difícil, porque não apresenta um quadro sintomatológico típico, mas evidentes reflexos negativos na saúde animal, com significativas perdas econômicas. Porém os efeitos mais comumente observados em intoxicações por aflatoxinas são a diminuição da velocidade do crescimento e eficiência alimentar, causados pela redução do metabolismo protéico e absorção de gorduras. Esta influência negativa sobre a produtividade animal é devido à interferência que as aflatoxinas têm sobre diversos sistemas enzimáticos (amilase, pancrease, tripsina, lipase, RNase, DNase), interferindo na digestão de amidos, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Bastante significativo do ponto de vista econômico, porém menos evidente, são as perdas por intoxicações crônicas, tendo como causa baixos níveis de toxinas na ração. Mesmo a níveis baixos as aflatoxinas interferem na resposta imune, o que torna os animais mais susceptíveis às doenças infecciosas e parasitárias, ocasionando também falhas na resposta às vacinações. Efeitos patológicos adversos são observados nos animais intoxicados, pois as aflatoxinas causam lesões em diversos sistemas orgânicos. Os sais biliares que têm a função de atuar como redutores da tensão superficial, possibilitando a atividade das lipases no intestino, têm sua produção pelo fígado reduzida pela ação das aflatoxinas. Verificando-se devido a isso, uma importante redução na absorção de gorduras e como consequência uma redução no processo de absorção de vitaminas lipossolúveis. Ocorre uma redução na função de detoxificação de toxinas e drogas, exercida pelo fígado. Provoca uma considerável redução na produção de proteínas

plasmáticas, influenciando sobre a produção de hemoglobinas, sobre o mecanismo de coagulação sanguínea e sobre a síntese de importantes sistemas enzimáticos que, associado ao aumento da fragilidade capilar, provoca hemorragias generalizadas. Como principais sinais clínicos verificados em animais intoxicados por aflatoxinas tem-se anorexia, redução do ganho de peso, da produção de ovos e leite, hemorragias, má qualidade de carcaças, embriotoxicidade e teratogenia (HYGINO DA CRUZ, 1996; MOREIRA, 2000).

A sensibilidade as aflatoxinas varia bastante entre as espécies animais e, mesmo dentro de uma mesma espécie varia conforme a dose administrada e de acordo com a idade, sexo, raça, entre vários fatores (SCUSSEL, 1998; TDRI, 1984). A aflatoxicose aguda caracteriza-se pelos sintomas de diminuição do crescimento, desordem na atividade gastrointestinal e morte, que ocorre com o aparecimento dos sintomas neurológicos de convulsão e paralisia, ocorrendo também hemorragias múltiplas (SCUSSEL, 1998). O fígado é o principal órgão afetado, com lesões decorrentes da necrose hemorrágica, congestão centrolobular, proliferação das células dos ductos biliares e infiltração gordurosa dos hepatócitos (ESPADA et al., 1992). Na Tabela 3 são relacionados os valores da dose letal média ( $DL_{50}$ ), após a inoculação de uma única dose de Aflatoxina  $B_1$ , em diferentes espécies animais.

Espécies animais que não sofram os efeitos das aflatoxinas ainda não são conhecidas. De uma maneira geral os animais jovens apresentam maior susceptibilidade que os adultos, machos são normalmente mais sensíveis, porém fêmeas jovens grávidas tornam-se mais susceptíveis e transferem a toxina para o feto. Com relação às espécies exploradas na avicultura comercial, a susceptibilidade é maior em patos, seguidos de perus, gansos, faisões e frangos (MÜLLER et al., 1970; SCUSSEL, 1998).

A aflatoxicose aguda tem como característica o fato de observar-se lesões agudas no fígado, durante a biópsia. Patos e perus apresentam necrose periportal e macacos apresentam necrose que abrange várias áreas do fígado com metamorfose gordurosa celular, proliferação do epitélio do ducto biliar e severa hemorragia (SCUSSEL, 1998).

Na aflatoxicose crônica, o sinal clínico mais evidente é a diminuição da taxa de crescimento dos animais jovens (LEESON et al., 1995). A doença origina-se à partir da ingestão de alimentos contaminados com baixos níveis de aflatoxinas por um longo período de tempo, podendo a exposição ao agente contaminante ser contínua ou intermitente. O fígado torna-se hiperplásico e extremamente cirrótico, seguido de fibrose progressiva e tumor, apresentando como característica microscópica a presença de células do parênquima aumentadas, envolvidas por uma espessa massa de ductos biliares. Observa-se o efeito carcinogênico, havendo formação comprovada de tumores de fígado em diversos animais (SCUSSEL, 1998). É difícil diagnosticar em condições de campo os sintomas de intoxicação da aflatoxicose crônica, embora seja a principal maneira de intoxicação dos animais, provocando perdas significativas de produtividade (PIER, 1992).

Um dos mais importantes efeitos da aflatoxicose crônica nos animais é o câncer de fígado, que têm sido demonstrado em diversos trabalhos, especialmente em relação a aflatoxina B<sub>1</sub>. Nos animais que sofrem de aflatoxicose crônica, a aflatoxina B<sub>1</sub> induz a formação de carcinoma hepatocelular (CHC), mesmo que a toxina tenha sido ingerida em quantidades bastante baixas, motivo pelo qual é considerada um dos mais potentes hepatocarcinógenos naturais. Mesmo sendo o fígado o alvo primário, tem-se observado o desenvolvimento de tumores em outros

órgãos, como intestino e pâncreas, em animais que foram alimentados com rações contendo aflatoxinas (OLIVEIRA, 1994; TDRI, 1984).

Para que ocorra a indução de tumores, a quantidade necessária de aflatoxina B<sub>1</sub> ingerida pelos animais varia amplamente entre as espécies, da mesma maneira como ocorre com relação a aflatoxicose aguda. Aves e peixes são bastante sensíveis e a dose efetiva para que ocorra a indução de carcinoma hepatocelular situa-se entre 10 e 30 µg/kg de aflatoxina B<sub>1</sub> na dieta. Entre os roedores a sensibilidade é bastante variável, os ratos respondem a níveis de 15 a 1.000 µg/kg de aflatoxina B<sub>1</sub> na dieta, mas algumas cepas de camundongos não mostraram respostas em doses de até 150.000 µg/kg. As fêmeas têm menor sensibilidade que os machos, na maioria das espécies estudadas (OLIVEIRA, 1994). A Tabela 4 mostra a ampla variação de valores da dose média para a produção de tumores (DT<sub>50</sub>), reunidos por Wogan, (1992).

As aflatoxinas também exercem efeitos sobre o sistema imunitário. Entre os efeitos de imunossupressão, demonstrados em aves domésticas e outros animais de experimentação, destacam-se a aplasia do timo e da bursa de Fabricius, redução do número e da atividade de células T, diminuição da resposta de anticorpos, supressão da atividade fagocitária e redução de componentes humorais, como complemento (C4), interferon e imunoglobulinas IgG e IgA (PESTKA; BONDY, 1990; PIER, 1992). Todas estas alterações contribuem para a ocorrência de infecções concomitantes, sobretudo por agentes virais e bacterianos, associados à exposição dos animais as rações contaminadas com aflatoxinas.

### 3.2.3 Toxinas de *Fusarium*

Animais afetados por toxinas de *Fusarium* (zearalenona, vomitoxina ou DON, toxina T-2 e fumonisinas) podem ser intoxicados por várias toxinas como a zearalenona, fumonisinas, tricotecenos (vomitoxina e T-2, entre outras), dependendo da temperatura a que for submetido esse fungo. Os tricotecenos são um grupo de mais de cem micotoxinas produzidas por *Fusarium*, possuindo esse nome devido a possuírem estrutura química composta de um anel com esqueleto tetracíclico 12, 13-epoxitricotecenos (LAZZARI, 1997; SANTIN et al., 2001).

O fungo *Fusarium* estabelece-se nas espigas de milho, trigo, triticale e cevada antes da colheita, continuando a desenvolver-se no período de armazenamento. O milho deixado no campo pode contaminar-se, dependendo das condições climáticas. Normalmente pode-se isolar a zearalenona do milho e trigo contaminado por *Fusarium*. A zearalenona é um ácido com propriedades estrogênicas e suas consequências são percebidas, principalmente em suínos, por meio da observação de indução de estro e vulvovaginites. São produzidas por várias espécies de *Fusarium*: *F. roseum*, *F. tricinctum*, *F. roseum* “*Culmorum*”, *F. roseum* “*Gibbosum*”, *F. roseum* “*Graminearum*” e *F. roseum moniliforme*. Todos os fungos citados acima produzem zearalenona e tricotecenos (vomitoxina e T-2), podendo ser encontrada mais de uma micotoxina, quando ocorrer uma contaminação natural (LAZZARI, 1997; SANTIN et al., 2001; SCUSSEL, 1998).

Quanto aos fatores que favorecem a produção de *Fusarium* e suas respectivas toxinas, diferentemente dos outros tipos de fungos, a produção da toxina

não ocorre na sua temperatura ótima de crescimento, nem nas temperaturas próximas. O *Fusarium* cresce na faixa entre 0 e 40 °C, sendo que a temperatura ótima é de 20 a 25 °C. Porém, a toxina é produzida quando ocorrem baixas temperaturas. Para que ocorra a produção de zearalenona, é necessário que a temperatura seja de 12 °C, mas para produzir a toxina T-2, é necessária a temperatura de 8 °C.; verificando-se portanto, que o *Fusarium* produzirá a toxina quando ocorrer efeito de choque térmico (LAZZARI, 1997; SCUSSEL, 1998).

Em alimentos cujo teor de umidade estiver acima de 22 a 23 % o fungo se desenvolve, infectando os grãos ou a porção superior da espiga de milho, ainda no campo, antes da colheita, podendo as toxinas citadas anteriormente se desenvolverem e serem encontradas em um mesmo lote de milho. Este fungo desenvolve-se com produção de toxina em clima temperado, principalmente nas estações frias e úmidas (LAZZARI, 1997; SCUSSEL, 1998).

Os alimentos em que ocorrem maior incidência de zearalenona são o milho, este implicado com maior frequência em casos de hiperestrogenismo, sorgo, trigo, cevada maltada, café cru, rações e outros cereais. Os quatro primeiros, anteriormente citados, são os que mais causam danos. Pode ocorrer, também, contaminação da cerveja e outros produtos fermentados produzidos à partir de milho e sorgo (SCUSSEL, 1998).

Descobriu-se em culturas de *Giberella zae*, o estágio sexual do *Fusarium roseum* "*graminearum*" que havia sido isolado do milho embolorado implicado na etiologia de uma síndrome hiperestrogênica em suínos. Sendo que os sintomas de intoxicação mais característicos são inflamações e deformações do útero (podendo apresentar encolhimento dos ovários), mamas e vulva (causando prolapso vaginal e retal) em fêmeas púberes, atrofia testicular, inflamação e aumento das mamas em

machos jovens; em animais adultos, promoveram a infertilidade, ninhadas com menor número e redução no tamanho dos filhotes (LAZZARI, 1997; SCUSSEL, 1998).

Segundo Larbier e Leclercq (1992), as aves são bastante tolerantes à zearalenona, sendo que níveis de 800 ppm não afetaram o crescimento de frangos de corte e perus. Todavia, em pintinhos de linhagem de postura, esses níveis provocaram o desenvolvimento ovariano precoce, mas em poedeiras adultas, 800 ppm de zearalenona na ração não alteraram a postura, peso e fertilidade e tampouco a capacidade reprodutiva dos machos, embora em ambos os sexos foi observada uma queda nos níveis de colesterol à partir de 50 ppm na dieta.

Os perus são aparentemente mais sensíveis que as outras aves, podendo isto ser explicado pelo fato de metabolizarem 100% da zearalenona em  $\alpha$ -zearalenol, enquanto que galinhas têm a tendência de produzir quantidades iguais de  $\alpha$  e  $\beta$ -zearalenol. O  $\alpha$ -zearalenol é, aproximadamente, três vezes mais estrogênico que o  $\beta$ -zearalenol (SMITH; HENDERSON, 1991).

Os animais susceptíveis a esta toxina são os suínos, gado de leite, carneiros, galinhas (cuja toxina provoca perda de peso e produção de ovos com cascas mais finas), perus (ocorre redução no peso), camundongos, porquinhos da Índia e macacos. Os órgãos genitais e o processo reprodutivo em suínos, ratos e faisões, são afetados por intoxicação por zearalenona nos níveis de 2.000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , que são encontrados naturalmente em campos de milho. Mas, galinhas e bovinos toleram níveis relativamente mais altos desta toxina (SCUSSEL, 1998).



### 3.2.4 Medidas de controle

Certamente, o melhor método para se controlar a contaminação de micotoxinas em alimentos é prevenir o crescimento de fungos. É importante que seja feito o uso de práticas, como o plantio de variedades resistentes à contaminação, além da proteção dos grãos ao ataque de insetos, como carunchos e gorgulhos. Também é essencial que sejam feitos todos os procedimentos para a diminuição da umidade dos grãos colhidos e a armazenagem dentro dos padrões ideais. Como método preventivo têm sido utilizados inibidores de crescimento fúngico em grãos armazenados (SANTURIO, 1995).

Os métodos para detoxificação de micotoxinas em alimentos são utilizados quando as medidas preventivas falham. Tais métodos podem ser feitos através da remoção física de grãos ardidos, remoção de micotoxinas por solventes polares, degradação de toxinas por substâncias químicas ou microrganismos, podendo estes métodos serem efetivos ou não, mas certamente de custo elevado e, na maioria das vezes economicamente inviáveis (SANTURIO, 1995).

Várias substâncias químicas têm sido testadas e utilizadas como inibidores de fungos, sendo o principal grupo destes anti-fúngicos classificado como ácidos orgânicos. Neste grupo estão incluídas substâncias de estrutura simples como o ácido propiônico, acético, sórbico e benzóico e seus sais de cálcio, sódio e potássio. O ácido propiônico e seus derivados, os propionatos, são eficientes inibidores fúngicos, sendo utilizados em rações animais (DIXON; HAMILTON, 1981; PASTER, 1979).

Outro método utilizado para controle de contaminação por micotoxinas é o uso de materiais inertes na dieta a fim de reduzir a absorção das aflatoxinas pelo trato gastrointestinal dos animais. As substâncias adicionadas à ração são argilas de origem vulcânica, como aluminossilicatos e as bentonitas, sendo que o composto aluminossilicato de sódio e cálcio (ASSCA) tem uma alta afinidade *in vitro* por aflatoxina B<sub>1</sub> (SANTURIO, 1995).

A maior parte dos microrganismos cresce dentro de um enorme gradiente de pH. Certos ácidos fracos com baixos valores de pKa, são potentes inibidores do transporte de aminoácidos por parte da célula fúngica. O ácido fraco é difundido através da membrana da célula provocando sua ionização, através da transferência de prótons e acidificando o conteúdo celular. A quantidade de ligações dos prótons dos ácidos na célula determina o grau de eficiência da célula fúngica. Esses ácidos através da interferência na permeabilidade da membrana celular do fungo, desarranjam o transporte do substrato da membrana. Os ácidos orgânicos insaturados, como o ácido ascórbico, também são capazes de inibir o transporte de elétrons nas mitocôndrias da célula fúngica. O ácido fórmico pode inibir de imediato certos íons de amônia e aminoácidos, além de bloquear a fosforilação oxidativa e inibir o transporte de elétrons através da membrana. O uso de ácidos orgânicos inibe o desenvolvimento dos fungos, principalmente quando os grãos estiverem sendo estocados por um período superior a 20 dias, sendo que a concentração destes ácidos a ser colocada nos silos vai depender diretamente do teor de umidade dos grãos armazenados (SANTURIO, 1997).

### 3.2.5 Adsorventes

O método ideal para detoxificação é aquele que além de reduzir as concentrações da toxina a níveis seguros, não gera produtos de degradação tóxicos aos animais e nem reduza o valor nutritivo dos alimentos tratados. Poderiam ser usados adsorventes inertes na dieta, com o objetivo de se reduzir a absorção de aflatoxinas pelo trato intestinal dos animais. Os compostos de aluminossilicato de sódio e cálcio (ASSCA) na concentração de 0,5% na ração têm apresentado um resultado significativo na diminuição dos efeitos adversos de aflatoxinas em galinhas, perus e suínos. Diversos experimentos demonstraram também que a bentonita sódica é um ótimo adsorvente para aflatoxinas em frangos de corte, da mesma maneira que as ASSCA (SANTURIO, 1997).

Quase todas as argilas somente têm cargas negativas, por isso são polares. Entre as argilas deste tipo se encontram as montmorilonitas: esmectitas, bentonitas além das zeolitas. Tendo a aflatoxina uma forte carga positiva, esta pode ser adsorvida pela argila polar. A capacidade de intercâmbio catiônico é dada em miliequivalentes (meq.). A classificação básica das argilas pode ser dividida em caolinitas 0 a 20 meq; as ilitas e cloritas de 20 a 60 meq; e as bentonitas e zeolitas de 60 a 120 ou mais meq. Quanto maior a capacidade de intercâmbio catiônico mais substituições isomórficas (cargas negativas). Isto indica que com as argilas de mais de 60 meq. a expansão interlaminar é maior porque se reduz a área de superfície de adsorção devido ao grande deslocamento dos cátions interlaminares que faz com que a adsorção e/ou absorção ocorra dentro dos espaços interlaminares e não na superfície da argila (bentonitas e zeolitas). As argilas com pH ácido fazem com que a

maior parte da adsorção se efetue no intestino grosso. Enquanto que com as argilas com pH alcalino, no intestino delgado, onde se efetua a maior parte da adsorção das micotoxinas, de forma que se capture a micotoxina antes que chegue à corrente sanguínea. A acidez do intestino delgado e do estômago faz com que haja mais cargas positivas (+) que são induzidas pelo pH (TAMARES, 2000).

A química das argilas mostra que elas são totalmente diferentes e que não há duas iguais. De uma mina para outra mudam suas características, por isso é necessário assegurar-se de que o produto é proveniente sempre da mesma mina e que as características do produto correspondam ao mesmo.

Ao se determinar que tipo de argila vai ser utilizada, tem-se que verificar os trabalhos *in vitro* e *in vivo*, pois são fundamentais e necessários, mas também deve-se ver a química da argila para saber se é uma argila polar somente capaz de adsorver aflatoxina ou uma argila dipolar capaz de adsorver um amplo espectro de micotoxinas, se é expansível ou não, sua origem, estrutura e capacidade de intercâmbio catiônico (TAMARES, 2000).

Existem adsorventes que são o resultado de uma formulação composta de glicomananas esterificadas extraídas da parede celular de culturas de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) cepa 1026. Estudos relataram a capacidade destes de reduzir significativamente as perdas da produção (ganho de peso, peso corporal, eficiência alimentar) e do sistema imunitário (produção de enzimas e proteínas séricas, produção de anticorpos) que ocorrem devido ao uso de rações contaminadas com aflatoxinas, quando usados como aditivos com suplementação de 0,05 ou 0,10% (LYONS; JACQUES, 1997). Segundo Shane (1999), as glicomananas esterificadas são capazes de ligar-se de maneira eficiente a diversas micotoxinas, como aflatoxina, fumonisina e zearalenona, sendo que a ligação com

toxina T-2, ocratoxina e citrinina é moderada. A inclusão de 0,05 a 0,10% em ração para aves contaminada com 20 a 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de aflatoxina, é capaz de restaurar o ganho de peso, viabilidade, produção de ovos e eclodibilidade.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado nas instalações do setor de Avicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, situado no campus da Universidade de São Paulo, em Pirassununga (SP).

Foram utilizadas 80 codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), adquiridas da Granja Piloto, no município de Sales de Oliveira – SP, com 8 semanas de idade, já vacinadas e de linhagem comercial especializada para produção de ovos.

As aves foram alojadas em um mesmo galpão, composto de 4 gaiolas metálicas comerciais com as medidas internas de 1,00 x 0,35m x 0,16m. Em cada gaiola foram alojadas 20 codornas. As gaiolas possuíam comedouros individuais lineares de ambos os lados, de chapa galvanizada e bebedouros nipple, sendo 4 por gaiola, totalizando 16 nipples. Os comedouros foram trocados de posição a cada 7 dias para observar o comportamento das aves frente a livre escolha de rações com e sem toxinas presente nos tratamentos.

As aves foram inicialmente pesadas, e depois colocadas nas gaiolas e distribuídas em número de 20 por gaiola com 4 repetições, representando cada gaiola uma repetição. O experimento teve início depois que as aves atingiram o pico de produção, ou seja, quando estavam com 15 semanas de idade. As codornas foram submetidas a um programa de luz, recebendo inicialmente 14 horas de luz ao dia, aumentando-se meia hora por semana, até atingir 17 horas de luz, tempo que foi mantido até o final do experimento.

Durante o período em que aguardavam o início do experimento, todas as aves receberam ração convencional à base de milho e soja, sem contaminação por aflatoxinas, e formulada de acordo com as orientações de Garcia (2001), para corresponder às exigências de aves em postura comercial. A tabela 1 apresenta a composição percentual e os níveis nutricionais calculados da ração empregada no experimento.

Tabela 1 - Composição percentual calculada da ração basal utilizada no preparo das dietas experimentais

Ingrediente	Percentual
Milho Moído	52,500
Farelo de Soja	29,500
Calcário Calcítico	6,000
Poli-macro <sup>®</sup> codornas em produção*	12,000
Total	100,000

#### Níveis nutricionais calculados

Energia Metabolizável, Kcal/kg	2.800
Proteína Bruta, %	20,000
Cálcio, %	3,500
Fósforo Total, %	0,600
Metionina + Cistina	0,700
Lisina, %	1,100

\* Níveis de garantia por kg do núcleo Poli-macro<sup>®</sup> codornas em produção: EM, 2840 Kcal; umidade máxima, 12,50%; proteína bruta mínima, 34%; extrato etéreo mínimo, 2,50%; fibra bruta máxima, 5,00%; matéria mineral máxima, 27%; cálcio máximo, 9,00%; fósforo mínimo, 2,90%.

\* Enriquecimento por kg do produto: Vitamina A, 83.340,00 UI; vitamina D3, 25.000,00 UI; vitamina E, 225,00 mg; vitamina K, 12,50 mg; vitamina B1, 16,70mg; vitamina B2, 60,00 mg; vitamina B6, 25,00 mg; vitamina B12, 125,00 mcg; niacina, 250,00 mg; pantotenato de cálcio, 110,00 mg; ácido fólico, 8,34 mg; cloreto de colina, 5,93 g; metionina, 8,50 g; lisina, 2,40 g; sódio, 10,20 g; ferro, 667,00 mg; cobre, 60,00 mg; manganês, 600 mg, zinco, 500,00 mg; iodo, 12,50 mg; selênio, 2,00 mg; antioxidante, 840,00 mg.



As soluções de aflatoxinas a serem utilizadas para contaminação das rações, foram compradas, já preparadas, pelo Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), esta micotoxina foi produzida por fermentação em arroz, utilizando-se a cepa NRRL 2999 – *Aspergillus parasiticus*. A concentração total de aflatoxinas foi de 945 mg/kg de arroz moído.

Para a contaminação por zearalenona foi utilizado milho naturalmente contaminado com a concentração aproximada de 4 mg/kg.

O experimento teve a duração de 56 dias, e antes de seu início se aguardou por cerca de 8 semanas até as aves saírem de seu pico de produção.

A cada lote de 15 kg da ração completa, foram adicionadas as toxinas, nas devidas proporções, de forma a se obter as concentrações desejadas. As toxinas foram adicionadas inicialmente ao milho na proporção de 1:10, até chegar a 10% da quantidade a ser preparada, ou seja, 1,5 kg, a partir daí a pré-mistura contendo as toxinas foi misturada com os outros ingredientes da ração. As rações contaminadas foram preparadas em ordem crescente de contaminação, sendo que após o final do preparo, foi feita a descontaminação do misturador, com solução de hidróxido de sódio a 10%, para posterior minuciosa lavagem com detergente alcalino e secagem em ambiente coberto e arejado por 24 horas.

Para a comprovação dos níveis de toxinas nas rações prontas, realizou-se análise em 1 amostra da ração preparada. Essa amostra foi obtida pela soma de 6 sub-amostras de 300g cada, referentes a cada preparo de ração e misturadas em saco plástico, retirando-se 1 kg para fazer análise. Este procedimento foi realizado para todos os tratamentos. Foi utilizado o método descrito por Soares E Rodriguez-Amaya (1989) sendo a quantificação efetuada através de cromatografia em camada

delgada (CCD) com comparação visual das amostras com padrões de concentração conhecida.

Para a contaminação com a zearalenona, as rações foram preparadas utilizando-se como substrato o milho naturalmente contaminado, com 3.500 µg/kg desta toxina. Foi pesquisada a presença de outras toxinas como aflatoxinas e T-2, mas foram encontrados apenas traços.

O adsorvente, comercial utilizado foi o Mycosorb da marca Altec (glicomanas esterificadas), onde foi adicionado na dosagem de 0,1%, primeiramente no milho na proporção de 1:10 e posteriormente no misturador com os outros ingredientes, analogamente como efetuado com as toxinas.

Os quatro tratamentos utilizados no experimento foram: Tratamento 1 (controle), ração basal com 0,0mg/kg de aflatoxinas + 0,0% de glicomanos esterificados; tratamento 2 ração basal com 0,0mg/kg de aflatoxinas +0,1%de glicomanos esterificados; tratamento 3, ração formulada com milho naturalmente contaminada com aproximadamente 2 mg de zearalenona + 2mg de aflatoxina sintética e 0% de glicomanos esterificados; tratamento 4, ração formulada com milho naturalmente contaminada com aproximadamente 4 mg de zearalenona + 2mg de aflatoxina sintética e 0,1% de glicomanos esterificados).

Os quatro tratamentos foram aplicados em cada uma das 4 gaiolas em posições pré-estabelecidas, conforme tabela abaixo.

Tabela 2 - Posições dos comedouros segundo o delineamento proposto do quadrado latino

P1	P2	P3	P4
0	25	50	100
100	0	25	50
25	50	100	0
50	100	0	25

Legenda: P1 = 0; ração basal controle  
 P2 = 25; ração basal com 0,1% de adsorvente (glicomanas esterificadas)  
 P3 = 50; ração formulada com milho naturalmente contaminado com zearalenona, com aproximadamente 4 mg/kg + 2,0 mg/kg de toxina sintética de aflatoxinas.  
 P4 = 100; ração formulada com milho naturalmente contaminado com zearalenona, com aproximadamente 4 mg/kg + 2,0 mg/kg de toxina sintética de aflatoxinas + 0,1% de adsorvente (glicomanas esterificadas). (LEGENDA FONTE MENOR E ESPAÇAMENTO SIMPLES???)

Onde, P1; P2; P3; P4 representam a posição pré-estabelecida de cada comedouro contendo as referidas dietas.

As análises de comprovação das toxinas nas rações, foram feitas no Laboratório de Análises de Micotoxinas da Fundação Universidade do Rio Grande (RS), sendo que as amostras seguiram via correio devidamente embaladas e acondicionadas.

As amostras foram quantificadas através da comparação com padrões de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> e zearalenona respectivamente nas concentrações 22 µg/mL, 2,1µg/mL, 5,36 µg/mL, 4,60 µg/mL e 54,5 µg/mL. Estes foram cromatografados nas placas em volumes crescentes até cobrirem a faixa de linearidade de fluorescência, sob luz UV longa (354 nm).

O limite de detecção do método de análise em rações é de 0,88 µg/kg para aflatoxinas, para zearalenona o limite é de 40 µg/kg; a porcentagem de recuperação para aflatoxina B<sub>1</sub> é de 92% e para zearalenona de 94%.

Os resultados foram analisados através do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 1985), sendo anteriormente verificada a

normalidade dos resíduos pelo Teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE) e as variâncias comparadas pelo Teste de Hartley (OTT, 1983). Os dados foram submetidos à análise de variância que separou como causas de variação efeito de presenças de micotoxinas, presença de adsorvente e interação. Foram ainda adicionados do fator medidas repetidas no tempo, referentes às diversas semanas de colheita. As probabilidades das interações com o tempo foram determinadas pelo teste de Greenhouse-Geisse, utilizado-se o comando REPEATED gerado pelo procedimento GLM (PROC GLM do SAS). Os efeitos de tratamento foram separados, através do uso de polinômios ortogonais, em efeito de micotoxinas dentro adsorvente e, bem como efeito de adsorvente dentro de micotoxinas

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados o consumo de ração (g/ave/dia) e o comportamento alimentar frente ao oferecimento à livre escolha de rações contendo ou não zearalenona e aflatoxina; tentou-se verificar se as aves seriam capazes de distinguir uma ração contendo micotoxina de uma ração isenta de contaminação além de uma provável preferência das aves por determinada ração. Para tanto foi efetuada a avaliação no período de 1 a 56 dias do experimento.

Os resultados do experimento com codornas em função das rações com os tratamentos representados pelos diferentes níveis de aflatoxina B<sub>1</sub> e zearalenona (µg/kg) com e sem adsorvente (A0, A25, A50 e A100), das posições (P1, P2, P3 e P4). A Tabela apresenta o consumo médio de ração (g) em função dos níveis de aflatoxina B<sub>1</sub> e zearalenona (µg/kg) e dos parâmetros acima descritos, podendo-se verificar diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) entre os diferentes tratamentos. Através da análise estatística, com nível de significância ( $P < 0,01$ ), obteve-se valores estimados de consumo médio de ração (g) nos tratamentos A0 = 7,85; A25 = 7,89; A50 = 7,17; A100 = 7,22, podendo-se observar na tabela, no tratamento contendo micotoxinas foi observado um decréscimo no volume de ração consumida pelos animais, para os níveis estudados. Em experimento semelhante realizado, ABREU et al. (2000), estudaram os níveis 0; 25; 50; 100µg.kg<sup>-1</sup> de aflatoxina B<sub>1</sub>, diferindo apenas por ter sido realizado com posições aleatórias, e estes obtiveram através da análise de regressão polinomial uma equação do terceiro grau, com os dados de consumo de ração apresentando bastante variação, obtendo-se as médias: A0 =

5,22 g; A25 = 4,56 g; A50 = 7,25 g; A100 = 7,06 g, onde segundo os autores, foi verificada tendência para maior consumo entre os tratamentos A50 e A100.

Os resultados médios para os parâmetros de consumo do experimento com codornas japonesas em postura nos período de 8 semanas estão apresentados no quadro.

Tratamentos		Semanas								
Mico	ads	1	2	3	4	5	6	7	8	Média
Consumo/ave /semana										
0	0	7,75	7,78	7,55	8,08	7,33	7,54	8,23	8,57	7,85
0	0,1	7,74	7,82	7,86	7,76	6,98	7,58	8,29	9,07	7,89
2000	0	7,49	6,74	7,05	7,59	6,54	7,88	6,63	7,48	7,17
2000	0,1	7,47	6,30	7,02	7,77	6,73	7,73	7,59	7,12	7,22
Efeitos principais										
0	0	7,74	7,80	7,71	7,92	7,16	7,56	8,26	8,82	7,87
0	0,1	7,61	7,06	7,44	7,77	6,86	7,65	7,94	8,09	7,55
2000	0	7,48	6,52	7,03	7,68	6,64	7,81	7,11	7,30	7,20
2000	0,1	7,61	7,26	7,30	7,84	6,94	7,71	7,42	8,03	7,51
Estatística										
Média		7,61	7,16	7,37	7,80	6,90	7,68	7,68	8,06	7,53
E.P.M		0,044	0,187	0,158	0,097	0,150	0,123	0,212	0,257	0,065
Probabilidades										
Micotoxina		0,0012	0,0001	0,0380	0,2300	0,0969	0,3621	0,0013	0,0009	0,0002
Adsorvente		0,8910	0,2628	0,6326	0,7214	0,7800	0,8340	0,0877	0,8468	0,7737
Interação		0,9220	0,1977	0,5575	0,2125	0,3769	0,7273	0,1248	0,2368	0,9781
M0(0x0,1)		0,9779	0,8961	0,4542	0,2573	0,4115	0,9212	0,8849	0,3278	0,8539
M2000(0x0,1)		0,8681	0,0979	0,9377	0,5137	0,6629	0,6934	0,0289	0,4730	0,8236
A0(0x2000)		0,0130	0,0010	0,24453	0,0929	0,0787	0,3745	0,0014	0,0479	0,0028
A0,1(0x2000)		0,0100	0,0001	0,0602	0,9712	0,5441	0,6837	0,0992	0,0019	0,0030

Houve diferença estatisticamente significativa para consumo de ração para o grupo alimentado com 2000 µg/kg de aflatoxinas e zearalenona com e sem adsorvente, observando dados de consumo da ordem de A0 7,85, A25 7,89, A50 7,17 e A100 7,22, demonstrando que os animais por livre escolha apresentaram boa seletividade para dietas contendo altos níveis de aflatoxinas e zearalenona.

Resultados semelhantes foram observados Johri et al. (1990) que estudaram a contaminação por aflatoxinas nos níveis de 0,0 a 750 µg/kg, e concluíram que para níveis acima de 200 µg/kg, houve menor consumo de ração e, para níveis acima de 500 µg/kg também houve menor porcentagem de postura. Sawhney et al. (1973) trabalhando com diferentes dietas onde foram fornecidos 2000; 4000 e 6000 µg/kg de aflatoxinas para codornas, observaram diminuição significativa no consumo de ração em relação ao grupo controle. Trabalhando em condições controladas com dietas de baixos níveis de aflatoxinas em codornas, Oliveira (2001), observou durante seis períodos de postura, menor consumo à partir dos níveis de 50 µg/kg. Em estudo com frangos de corte de Aravind et al. (2003), concluíram que aves alimentadas com dieta naturalmente contaminada (168 µg/kg de aflatoxinas, 8,4 µg/kg de ocratoxinas, 54 µg/kg de zearalenona e 32 µg/kg de toxina T-2), tiveram uma redução estatisticamente significante ( $P < 0,05$ ), em relação ao grupo controle do experimento; porém quando adicionada a essa dieta 0,05% de glicomanas esterificadas, o consumo de ração não diferiu estatisticamente do grupo controle. Diferentemente do que foi encontrado neste trabalho, na qual teve foram observadas diferenças significativas no consumo de grupos que receberam aflatoxinas sem adição de adsorvente.



## 6 CONCLUSÕES

Oferecendo-se a oportunidade de optarem por diferentes dietas, pôde-se observar que os animais fizeram escolhas não aleatórias quando estas foram oferecidas simultaneamente. Tais escolhas sugerem que os animais perceberam diferenças com relação à presença de micotoxinas nas dietas oferecidas neste experimento.

## REFERÊNCIAS

ABREU, A. P. N. de. **Presença de aflatoxina B1 em milho comercializado para arraçamento animal e seu efeito no desempenho de codornas em postura.** 2001. 116 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu, Botucatu, 2001.

ABREU,A.P.N.;OLIVEIRA,C.A.T.;SPERS,R.C.Comportamento de codornas submetidas a livre escolha de alimentação contendo diferentes níveis de aflatoxinas B1 em comedouros com posições aleatória.In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA,10,2000, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia. Edusp,2000,p.78-81.

ARAVID, K.L.; PATIL, V.S.; DEVEGOWDA, G.; UMAKANTHA, B; GANPULE, S.P. Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. **Poultry Science**, v.82, p. 571-576, 2003.

ARNOLD, G. W. The special senses in grazing animals. 1.Sight and dietary habits in sheeps. **Australian Journal of Agriculture Research**, v. 17, n. 14, p. 521-529,1996.

ASPLIN, F. D.; CARNAGHAN, R. B. A. The toxicity of certain groundnut meals for poultry with special reference to their effect on ducklings and chickens. **Veterinary Record**, v. 73, n. 46, p. 1215-1219, 1961.

BIEHL, M. L.; BUCK, W. B. Chemical contaminants: their metabolism and their residues. **Journal Food Prtec**, v. 50, p. 1058-1073, 1987.

BINTVIHOK, A.; THIENGININ,S.; PATCHIMASIRI,T.;THUMMABOOP,S; SOYA,S; OGURAY,Y. ;DOI,K. Toxic effects of dietary aflatoxin and its residue in tissues and eggs in laying quails. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE WORLD ASSOCIATION OF VETERINARY FOOD HIGIENISTS,11., 1993, Bangcoc, **Anais...** Bangcoc, Tailândia: [s.n.], 1993. p. 109-110.

BLAIR, R.; FITZSIMONS, J. A. Note on the voluntary feed intake and growth of pigs given diets containingan extremelly bitter compound. **Animal Production**, v. 12, part 3, p. 529-530, 1970.

BOSCH, F. X.; PEERS, F. Aflatoxins: data on human carcinogenic risk. In: O'NEILL, I. K.; CHEN, J.; BARTSCH, H. (Ed.). **Relevance to human cancer of N-nitroso compounds, tobacco smoke and mycotoxins**. Lyon: International Animal Research Council, 1991. p. 48-53.

BUTLER, W. H.; BARNES, J. M. Toxic effects of groundnut meal containing aflatoxin to rats and guinea pigs. **Brasilian Journal of Cancer**, v. 17, p. 671-699, 1963.

CHANG, C. F.; HAMILTON, P. B. Experimental aflatoxicosis in young japanese quail. **Poultry Science**, v. 61, p. 869-874, 1982.

CHU, F. S. Mycotoxins: food contamination, mechanism, carcinogenic potential and preventive measures. **Mutation Research, Amsterdam**, v. 259, p. 291-306, 1991.

COULOMBE, R. A. Aflatoxins. In: SHARMA, R. P.; SALUNKHE, D. H. (Ed.). **Mycotoxins and phytoalexins**. Boca Raton: CRC Press, 1991. p. 103-143.

COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY. In: NISI, K. A. (Ed.). **Mycotoxins: economic and health risks**. Ames, IA: Council for agricultural science and technology, 1989. p. 1-91.

DIENER, U. L.; ASQUITH, R. L.; DICKENS, J. W. **Aflatoxin and aspergillus flavus in corn**. Alabama: Department of Research Information, Alabama Agricultural Experimental Station, Auburn University, Southern Cooperative, 1983. 112 p.

DOERR, J. A.; HUFF, W. E.; WABECK, G. W. Effects of low chronic aflatoxicosis in broiler chickens. **Poultry Science, Champaign**, v. 62, p. 1971-1977, 1983.

EMMANS, G. C. Diet selection by animals: Theory and experimental design. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 50, n. 1, p. 59-64, 1991.

ESPADA, Y.; DOMINGO, M.; GOMEZ, J.; CALVO, M. A. Pathological lesions following an experimental intoxication with aflatoxin B1 in broiler chickens. **Research in Veterinary Science**, v. 53, p. 275-279, 1992.

FITZPATRICK, D. W. Mycotoxins in the food chain: nutritional and toxicological considerations. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, v. 68, p. 979-981, 1990.

- FORBES, J. M. Consequenses of feeding for future feeding. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 128, p. 463-470, 2001.
- FORBES, J. M. **The voluntary food intake and diet selection of farm animals**. Wallingford: CAB International, 1995. 532 p.
- FORBES, J. M. ; PROVENZA, F. D. Integration of learning and metabolic signals into a theory of dietary choice and food intake; In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RUMINANT PHYSIOLOGY, 2000, Walling ford. **Proceedings...** Walling ford: CAB International, 2000.346-420 p.
- FORBES, J. M.; SHARIATMADARI, F. S. Diet selection for protein by poultry. **World Poultry Science Journal**, v. 50, n. 1, p. 7-24, 1994.
- GARCIA, E. A. **Níveis nutricionais e métodos de muda forçada em codornas japonesas (coturnix coturnix japonica)**. 2001. 111p. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. Campus Botucatu, Botucatu, 2001.
- GHERARDI,S.G.;BLACK, J.L. Effect of Palatability on voluntary feed intake by sheep.Identification of chemical that alter the palatability of a forage. **Australian Journal o agricultural research**,v.42,n.4, p.571-584, 1991.
- GREEN,G. C.; ELWIN, R. L.; MOTTERSHEAD, B. E; KEOGH, R. G.; LYNCH, J. J. Long term effects of early experience to suppementary feeding in shhep. In: AUSTRALIAN SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 1984, [s.l]. **Proceedings...** [s.l.]: Austrlion Society of Animal Production,1984. p. 373-380.
- GREENHALGH, J. F. D.; REID, G. W Separating the effects of digestibility and palatabilitu on food intake in ruminant animals. **Nature**, v. 212, p.1416-1420, 1967.
- HOLDER, M. D. Conditioned preferences for the taste and odor components of flavor:Blocking but not overshadowing. **Appetite**, v. 17, n. 1, p.189-199,1990.
- HYGINO DA CRUZ, L. C. Micotoxinas: são tão importantes? In: \_\_\_\_\_. **Micotoxinas perspectiva latino-americana**. Rio de Janeiro: Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1996. p. 1-12.
- INTERNACIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs volumes 1 to 2. Lyon: **World**

**Health Organization**, 1987. p. 83-87. (IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, supplement 7).

JOHRI, T. S. AGRAWAL,R.; SADOGOPAN,U.R. Effect of low dietary levels of aflatoxin in laying quails (*Coturnix coturnix japonica*) and their response to dietary modifications. **Indian Journal Animal Science**, v. 60, p. 355-359, 1990.

JONES, F. T.; HAGLER, W. H.; HAMILTON, P. B. Association of low levels of aflatoxin in feed with productivity losses in broiler operations. **Poultry Science**, v. 61, p. 861-868, 1982.

KEMPSTER,H. L. Food selection by laying hens.Journal of the American Association of Institutions and **Investigaions in Poultry**, v. 3, p. 26-28, 1916

KUBENA, L. F.; EDRINGSTON, T. S.; KAMPS-HOLTZAPPLE, S.L.;HARVEY, R. B.; ELISSALDE, M. H.; ROTTINGHAUS, G. E. Effects of feeding fumonisin B1 present in *Fusarium moniliforme* culture material and aflatoxin singly and in combination to turkey poults. **Poultry Science**, v. 74, p. 1295-1303, 1995.

KUTLU, H. R.; FORBES, J. M. Self-selectionof ascorbic acid in colored foods by heat-stressed broiler chicks. **Physiology & Behaviour**, v. 53, n. 1, p. 103-110, 1993.

KYRIAZAKIS, I.; EMMANS, G. C.; WHITTEMORE, C. T. Diet selection in pigs:choices made by growing pigs given foods of different protein concentrations. **Animal Production**, v. 51, Part 1, p. 189-199, 1990.

LARBIER, M.; LECLERCQ, B. **Nutrition and feeding of poultry**. Loughborough: Nottingham University, 1992. 305 p.

LAUNCHBAUGH, K. L.; PROVENZA, F. D.; BURRITT, E. A. Can plants practice mimiary to avoid grazine by mammalian herbivores. **Oikos**, v. 66, p. 501-504,1993.

LAZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2. ed. Curitiba: Ed. do Autor, 1997. 148 p.

LEDOUX , D. R.; ROTTINGHAUS,G.E.; BERMUDEZ,A.J.; ALONSO,M. In Vitro binding of mycotoxins by adsorbents does not always translate into in vivo efficacy. In: INTERNATIONAL IUPAC SYMPOSIUM MYCOTOXINS AND PHYCOTOXINS, 10., 2000, Guarujá, **Anais...** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2000. p.159.

LEESON, S.; DIAZ, G. J.; SUMMERS, J. D. **Poultry metabolic disorders and mycotoxins**. Guelph: University Books, 1995. 352 p.

LYONS, T. P.; JACQUES, K. A. Biotechnology in the feed industry. In: ALLTECH'S SYMPOSIUM, 1997, Nottingham. **Proceedings...** Nottingham: [s.n], 1997, p. 205-215.

MARTIN, G. M.; BELLINGHAAM, W. P.; STORLIEN, L. H. Effects of varied color experience on chickens formation of color and texture aversions. **Physiology & Behaviour**, v. 18, n. 3, p. 415-420, 1977.

MOLIN, R.; VALENTINI, M. L. **Simpósio sobre micotoxinas em grãos**. São Paulo: Fundação Cargill, Fundação ABC, 1999. 208 p.

MOREIRA, J. **Efeito do selênio e aflatoxinas sobre o desempenho e a atividade de oxidase e transferase em frangos de corte normais e ascíticos**. 2000. 110 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

MOSS, M. O. Recent studies of mycotoxins. **Journal Applied Microbiology Symposium**, v. 84, p. 62S-76S, 1998.

MÜLLER, R. D.; CARLSON, C. W.; SEMENIUK, G.; HARSHFIELD, G. S. The response of chicks, ducklings, goslings, pheasants and poult to graded levels of aflatoxin. **Poultry Science**, v. 49, p. 1346-1350, 1970.

NICHOLS, T. E. Economic Impact of aflatoxin in corn. In: DIENER, V. L. (Ed.). **Aflatoxin and Aspergillus flavus in corn**. Auburn: Auburn University. Alabama: Department of Research Information, Alabama Agricultural Experiment Station, 1983. 67 p. (Bulletin, 279).

OLIVEIRA, C. A. F. **Aflatoxina M1 em leite em pó distribuído pelo programa de alimentação escolar no município de São Paulo, SP-Brasil**: utilização do ensaio por enzimas imuno-adsorvidas (Elisa). São Paulo, 1994. 95 p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Faculdade de Saúde Pública de São Paulo. Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

OLIVEIRA, C. A. F. **Efeito da intoxicação prolongada por aflatoxina B1 em codornas japoneses (*Coturnix coturnix japonica*)**. São Paulo, 2001. 101 p. Tese (Livres-Docência) - Faculdade de Engenharia de Alimentos e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

OLIVEIRA, C. A. F.; ALBUQUERQUE, R.; CORRÊA, B.; REIS, T. A.; KOBASHIGAWA, E.; MESTIERI, L. Aflatoxin B1 in eggs of young laying hens exposed to aflatoxin contaminated feed. In: INTERNATIONAL IUPAC SYMPOSIUM ON MYCOTOXIN AND PHYCOTOXIN, 10., 2000, Guarujá. **Anais...** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2000. p. 71-74.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Micotoxinas**. Washington, 1983. p. 125-135. (Critérios de Salud ambiental, 11).

OSWEILER, G. D. Mycotoxins and livestock: what role do fungal toxins play in illness and production losses? **Veterinary Medicine**, v. 85, p. 89-94, 1990.

PASTER, N. A commercial scale study of the efficiency of propionic acid and calcium propionate as fungistats in poultry feeds. **Poultry Science**, v. 58, p. 572-576, 1979.

PESTKA, J. J.; BONDY, G. S. Alteration of immune function following dietary mycotoxin exposure. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 68, p. 1009-1016, 1990.

PIER, A. C. Major biological consequences of aflatoxicosis in animal production. **Journal Animal Science**, v. 70, p. 3964-3967, 1992.

POZZI, C. R. **Efeitos da administração oral prolongada de fumonisina B1 e aflatoxina B1 em ratos (*Rattus norvegicus*)**. São Paulo, 2000. 118 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

PRADO, G.; VIEIRA, M. B. C. M.; SANTOS, J. P.; OLIVEIRA, M. S. Ocorrência de micotoxinas em milho pós-colheita e armazenado do Estado de Minas Gerais, safra 1991. **Higiene Alimentar**. v. 9, n. 35, p. 24-27, 1995.

REED, J. D.; KASALI, O. B. **Hazards to livestock of consuming aflatoxin – contaminated groundnut meal in África**. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON AFLATOXIN CONTAMINATION OF GROUNDNUT, 1987, Patancheru, India. **Summary and recommendations...** Patancheru: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1988. p. 7.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Occurrence of mycotoxins and mycotoxin-producing fungi in Latin America. In: KOE, W. J.; SAMSON, R. A.; VAN EGMOND, H. P.; GILBERT, J.; SABINO, L.N.(Ed.). **Mycotoxins and phycotoxins in perspective at the turn of the millenium**. Wageningen, The Netherlands: W. J. de Koe, 2001. p. 309-320.

ROSE,S.P.; KYRIAZAKIS,I. Diet selection of pig and poultry. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.50, n.1, p.87-98,1991.

SABINO, M. Variações de níveis de aflatoxina B1 em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 40, p. 153-158, 1980

SABINO, M.; LAMARDO, L. C. A.; INOMATA E. I.; ICHIKAWA, A. H.; GIANNATTASIO, C. M. P. Ocorrência de aflatoxina B1 em produtos alimentícios e rações animais, consumidos no estado de São Paulo e em várias regiões do Brasil, no período de 1980 a 1987. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 48, p. 81-85, 1988.

SABINO, M.; PRADO, G.; INOMATA, E. I.; PEDROSO, M. O.; GARCIA, R. V. Natural occurrence of aflatoxins in maize in Brasil: part. II. **Food Additive and Contaminants**, v. 6, p. 327-331, 1989a.

SABINO, M.; RODRIGUES-AMAYA, D. B. Mycotoxin research in Brazil. **Ciência e Cultura** , v. 45, p. 359-371, 1993.

SAS. Statistical Analisis System. **SAS user's guide: statistics.**, Cary: SAS, 1992. p. 36-93.

SANTIN, E.; MAIORKA, A.; ZANELLA, I.; MAGON, L. Micotoxinas do Fusarium spp na avicultura comercial. **Ciência Rural**, v. 31, n. 1, p. 185-190, 2001.

SANTURIO, J. M. Antifúngicos e adsorventes de aflatoxinas em grãos: quando usá-los? In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MICOTOXINAS E MICOTOXICOSES EM AVES, 1995, Campinas. **Anais...** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1995. p. 97-108.

SANTÚRIO, J. M. Impacto das aflatoxinas sobre a produção animal. Perspectiva Latino-americana. In: CONFERÊNCIA APINCO 97 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA



AVÍCOLA, 1996, Campinas. **Anais...** [s.l]: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1996. p. 149-56.

SANTURIO, J. M. Micotoxinas na produtividade avícola: tipos; seus efeitos; como detectá-las e preveni-las. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCULO, 1997. Campinas. **Anais...** p. 224-257.

SAWHNEY, D. S.; VADEHRA, D. V.; BAKER, R. C. Aflatoxicosis in the laying japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Poultry Science**, v. 52, p. 465-473, 1973.

SCOTT, T. R. "Taste": the neural basics of body wisdom. In: NUTRICIONAL TRIGGERS FOR HEALTH AND DISEASE, 1992, Karger. **Proceedings...** Karger: Simopoulos, A.P., 1992. p. 1-39.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em alimentos**. Florianópolis: Insular, 1998. 144 p.

SHANE, S. M. Micotoxinas são empecilhos para uma produção eficiente em avicultura. **Feeding Times**, v. 4, n. 3, p. 6-8, 1999.

SHURTLEFF, M. C. **Compendium of corn diseases**. Illnes. The American Phytopathological Society, 1992. 105 p.

SMITH, J. E.; HENDERSON, R. S. **Mycotoxins and animal foods**. Athens: CRC, 1991. 108 p.

SMITH, K. M. Disease of Turkey poults. **Veterinary Record**, v. 72, n. 32, p. 652, 1960.

SOARES, L. M. V.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxins A, zearalenona and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multitoxin thin layer chromatografic method. **Journal Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, p. 22-26, 1989.

TAMARES, F. química de las arcillas. **Indústria Avícola**, v. 32, p. 20-22, 2000.

TROPICAL DEVELOPMENT AND RESEARCH INSTITUTE. **Mycotoxin training manual**. London: TDRI, 1984. 95 p.

TRUCKSESS, M. W. STOLOFF, L.; YOUNG, K.; WYATT, R. D.; MILLER, B. L. Aflatoxicol and aflatoxins B1 and M1 in eggs and tissues of laying hens consuming aflatoxin-contaminated feed. **Poultry Science**, v. 62, p. 2176-2182, 1983.

STEPHENS, D. W.; KREBS, J. R. **Foraging thory princeton**. Princeton. Princeton University Press, 1986. 247 p.

STEVENS, A. J.; SAUNDERS, C. N.; SPENCE, J. B., NEWHAM, A. C..  
Investigations into "diseases" of turkey poults. **Veterinary Record**, v. 72, n. 31, p.  
627-628, 1960.

WILCOXON, H. C.; DRAGOIN, W. B.; KRAL, P. A. Illnes- induced aversions in rat  
and quail: Relative salience of visual and gustatory cues. **Science**, v. 171, n. 3973,  
p. 826-828, 1971.

WOGAN, G. N. Aflatoxin carcinogenesis: interespecies potency differences and  
relevance for human risk assessmente. **Program Clinical Biological Research**, v.  
374, p. 123-137. 1992.