

**ADRIANO JOSÉ FERNANDES**

**DESEMPENHO PRODUTIVO E REPRODUTIVO DE MATRIZES DE CORTE  
ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO DOSES CRESCENTES DE AFLATOXINAS.**

---

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**UFSM  
SANTA MARIA, RS - BRASIL  
2004**

DESEMPENHO PRODUTIVO E REPRODUTIVO DE MATRIZES DE CORTE  
ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO DOSES CRESCENTES DE  
AFLATOXINAS.

por

**ADRIANO JOSÉ FERNANDES**

Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-Graduação em Zootecnia, da  
Universidade Federal de Santa Maria  
(RS), como requisito parcial para  
obtenção do grau de MESTRE EM  
ZOOTECNIA.

SANTA MARIA, RS – BRASIL

2004

Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado**

DESEMPENHO PRODUTIVO E REPRODUTIVO DE MATRIZES DE CORTE  
ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO DOSES CRESCENTES DE  
AFLATOXINAS

**elaborada por**  
ADRIANO JOSÉ FERNANDES  
**como requisito parcial para obtenção do grau de**  
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA:

---

Prof. Dr. Alexandre Pires Rosa  
**(Presidente/Orientador)**

---

Prof. Dr. Janio Morais Santurio

---

Dr. Everton Luis Krabbe

**Santa Maria, 28 de dezembro de 2004**

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Luis e Irene, e meus irmãos, André e Andressa, pelo incentivo, apoio e carinho em todos os momentos de alegria e dificuldades.

Ao meu Orientador e amigo Prof. Dr. Alexandre Pires Rosa pela disponibilidade e ensinamentos.

A Universidade Federal de Santa Maria pela oportunidade de realizar o Curso de Mestrado em Zootecnia.

Ao Laboratório de Avicultura por terem cedido as instalações para que este trabalho fosse realizado.

À minha equipe de trabalho Amanda, André, Anelcir, Carla, César, Eduardo, Harvey, Jerônimo, Lucas, Marcos e Rodrigo pela dedicação e companheirismo na condução dos experimentos.

Aos funcionários e estagiários, meus amigos do Laboratório de Avicultura da UFSM, em especial a Lourdes Brittes, pelo apoio e amizade.

A todos vocês, meu muito obrigado!

## ÍNDICE

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE TABELAS .....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
LISTA DE ANEXOS.....	xiv
1. INTRODUÇÃO .....	01
2. ESTUDO BIBLIOGRÁFICO.....	04
2.1. AFLATOXINAS.....	04
2.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DAS AFLATOXINAS .....	04
2.3. OCORRÊNCIA NATURAL DAS AFLATOXINAS .....	07
2.4. BIOTRANSFORMAÇÃO DA AFLATOXINA B1.....	08
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	13
3. EXPERIMENTO I - MATRIZES DE CORTE .....	13
3.1.1. LOCAL E PERÍODO.....	13
3.1.2. ANIMAIS.....	13
3.1.3. INSTALAÇÕES E EQUIPAMENTOS .....	13
3.1.4. PARÂMETROS ESTIMADOS .....	13
3.1.5. TRATAMENTOS .....	14
3.1.6. PERÍODO PRÉ-EXPERIMENTAL.....	15
3.1.7. PERÍODO EXPERIMENTAL .....	15
3.1.8. ALIMENTAÇÃO .....	16
3.1.9. ANÁLISE DOS OVOS.....	18
3.1.10. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	19
4.1. CONCLUSÕES PARCIAIS.....	31
5. EXPERIMENTO II - TESTE DE PROGÊNIE.....	31

<b>5.1. LOCAL E PERÍODO .....</b>	<b>31</b>
<b>5.2. INSTALAÇÕES, ANIMAIS E PROCEDIMENTOS .....</b>	<b>31</b>
<b>5.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA .....</b>	<b>32</b>
<b>5.4. PARÂMETROS ESTIMADOS.....</b>	<b>32</b>
<b>5.5. TRATAMENTOS .....</b>	<b>32</b>
<b>6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>6.2. CONCLUSÕES PARCIAIS .....</b>	<b>38</b>
<b>7. CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>38</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>38</b>
<b>9. ANEXOS .....</b>	<b>48</b>

## **RESUMO**

### **DESEMPENHO PRODUTIVO E REPRODUTIVO DE MATRIZES DE CORTE ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO DOSES CRESCENTES DE AFLATOXINAS**

**Autor: Adriano José Fernandes**

**Orientador: Prof. Dr. Alexandre Pires Rosa**

Foram conduzidos dois experimentos para determinar o efeito da intoxicação por aflatoxinas sobre aspectos produtivos e reprodutivos em matrizes de corte e estudar os efeitos residuais da intoxicação da matriz de corte com AFL sobre a progênie. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Avicultura (LAVIC) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria. Este experimento foi conduzido em parceria com Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI), o qual produziu a AFL utilizada nesta pesquisa.

No primeiro experimento foram utilizadas 500 fêmeas e 60 machos da linhagem comercial de matriz de corte Cobb 500. As matrizes foram alojadas em boxes experimentais. Esse experimento foi conduzido de Abril a Outubro de 2003 (48ª a 54ª semanas de idade). Antes da 49ª semana de idade todas as aves foram alimentadas com dieta basal isenta de AFL, conforme análise do LAPEMI, sendo nas 4 semanas subsequentes (49-52ª semanas) foram ofertadas dietas contaminadas de acordo com os trt em que as aves se encontravam. Durante a última semana do estudo (53-54ª semanas) foi oferecido novamente dieta basal livre de AFL a todos os trt. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com 4 trt com 5 repetições de 28 aves cada. Os tratamentos 1, 2, 3 e 4 foram dietas contendo 0, 250, 500 e 750 ppb de AFL na dieta. Intoxicações à níveis de 250 a 750 ppb não produziram efeitos significativos sobre a taxa de postura, peso corporal, gravidade específica, % de casca e % de albúmen de matrizes de corte. Matrizes de corte submetidas à dieta contendo 250 e 500 ppb de AFL tiveram a qualidade de sua progênie afetada negativamente.

O segundo experimento foi conduzido para analisar o desempenho da progênie oriundas de matrizes de corte do primeiro experimento. Este experimento foi conduzido em 3 baterias no período de 1 a 21 dias de idade. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 trt com 8 repetições de 8 aves cada. Após a obtenção dos dados esses foram submetidos a uma análise de variância e, quando apresentaram diferenças significativas, aplicou-se o Teste de Tukey. Verifica-se um marcante efeito residual da alimentação da matriz de corte na progênie, pois, aos 7 dias de idade, verificou-se que em todos os níveis avaliados os pintos provenientes de matrizes que ingeriram dietas com AFL tiveram um menor peso corporal ( $P < 0,05$ ), e ganho médio diário do que pintos oriundos de matrizes de corte não contaminadas. Com relação ao peso corporal aos 21 dias de idade e a conversão alimentar não foram observadas diferenças estatísticas entre os trt. Os níveis de AFL utilizados afetaram significativamente a mortalidade de frangos de corte ( $P < 0,05$ ), observando um efeito linear para mortalidade de 1-7 e 1-21 dias de idade.

## **ABSTRACT**

### **PRODUCTIVE PERFORMANCE AND REPRODUCTIVE OF BROILER BREEDER HENS FED AMENDED WITH INCREASING LEVELS OF AFLATOXIN**

**Author: Adriano José Fernandes**

**Adviser: Prof. Dr. Alexandre Pires Rosa**

Two experiments were conducted to evaluate the dietary Aflatoxin (AFL) effects in broiler breeder hens on productive and reproductive aspects. This study evaluated the residual effect of dietary AFL on subsequent broiler chicks performance. These trials were conducted on Poultry Laboratory (LAVIC) of Animal Husbandry Department at Federal University of Santa Maria. The Micotoxins Research Laboratory (LAPEMI) was partnership and made all AFL in ingredients and diet as well as produced the AFL used in this research.

In the first trial 500 broiler breeder hens and 60 males (COBB 500) were used, housed in floor pens with wood shave. This experiment was conducted from April to October of 2003 (48th to 54th weeks of age). Up to 49th weeks of age all birds were fed with basal diet free of AFL, according To LAPEMI. From 49 to 53 wk of age the birds were fed according to the treatments and after were submitted to free AFL basal diet. The experimental design were a enteirelly randomized with 4 treatments with five replicates with 28 birds each. The treatments 1, 2, 3 and 4 were diets with 0, 250, 500 e 750 ppb of AFL in the diets. The levels of 250 and 750 ppb on broiler breeders diets had not significant effect ( $P>0.05$ ) on egg production, body weight, specific gravity, percentage of shell and albumen of eggs. The progeny originating from broiler breeders hens fed with 250 and 500 ppb of AFL in the diets had baby chicks with poor quality.

A second experiment was conducted to analyze the progeny performance of birds originated from broiler breeders of the first experiment. This experiment was conducted in three Petersime batteries in a temperature controlled room from 1 to 21 days of age. The experimental design was enteirelly with 4 treatments with 8

replicates with 8 birds each, only males were used. The data were submitted to variance analysis and after, when the presented significant differences, Tukey Test 5% was applied. At 7 days of age an expressive negative effect was observed in birds originated from broiler breeder hens fed with dietary AFL. It was observed in this seven days that birds originated from hens fed with 250, 500 or 750 ppb of AFL in the diets had lower body weight and body weight gain than birds originated from breeders fed with a diet free of AFL. At 21 days of age the performance of birds was similar ( $P>0.05$ ). The AFL levels in the broiler breeder diets affected significantly the broiler chicks mortality ( $P<0.05$ ) and linear effect was observed at 7 and 21 days of age.

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS PRINCIPAIS AFLATOXINAS .....</b>	<b>06</b>
<b>TABELA 2. DIETAS EXPERIMENTAIS COM DIFERENTES NÍVEIS DE AFLATOXINA UTILIZADOS NO PERÍODO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>14</b>
<b>TABELA 3. COMPOSIÇÃO DA DIETA BASAL DAS FÊMEAS.....</b>	<b>16</b>
<b>TABELA 4. COMPOSIÇÃO DA DIETA BASAL DOS MACHOS.....</b>	<b>17</b>
<b>TABELA 5. EFEITOS DOS NÍVEIS DE AFL SOBRE A TAXA DE POSTURA (%) DE MATRIZES DE CORTE.....</b>	<b>21</b>
<b>TABELA 6. EFEITOS DOS NÍVEIS DE INTOXICAÇÃO SOBRE O PESO CORPORAL (G) DAS FÊMEAS DE MATRIZES DE CORTE .....</b>	<b>22</b>
<b>TABELA 7. EFEITOS DOS TRATAMENTOS SOBRE O PESO DOS OVOS NA 48<sup>a</sup>, 49<sup>a</sup> e 50<sup>a</sup> SEMANAS DE IDADE.....</b>	<b>23</b>
<b>TABELA 8. EFEITOS DOS TRATAMENTOS SOBRE O PESO DOS OVOS NA 51<sup>a</sup>, 52<sup>a</sup> e 53<sup>a</sup> SEMANAS DE IDADE.....</b>	<b>23</b>
<b>TABELA 9. EFEITOS DOS TRATAMENTOS SOBRE A GRAVIDADE ESPECÍFICA NA 48<sup>a</sup>, 49<sup>a</sup> e 50<sup>a</sup> SEMANAS DE IDADE.....</b>	<b>24</b>
<b>TABELA 10. EFEITOS DOS TRATAMENTOS SOBRE A GRAVIDADE ESPECÍFICA NA 51<sup>a</sup>, 52<sup>a</sup> e 53<sup>a</sup> SEMANAS DE IDADE.....</b>	<b>24</b>
<b>TABELA 11. EFEITOS DOS TRATAMENTOS SOBRE A PERCENTAGEM (%) DE ALBÚMEN EM RELAÇÃO AO PESO DO OVO NA 48<sup>a</sup>, 49<sup>a</sup> e 50<sup>a</sup> SEMANAS DE IDADE.....</b>	<b>25</b>
<b>TABELA 12. EFEITOS DOS TRATAMENTOS SOBRE A PERCENTAGEM (%) DE ALBÚMEN EM RELAÇÃO AO PESO DO OVO NA 51<sup>a</sup>, 52<sup>a</sup> e 53<sup>a</sup> SEMANAS DE IDADE.....</b>	<b>25</b>
<b>TABELA 13. EFEITOS DOS TRATAMENTOS SOBRE A PERCENTAGEM (%) DE GEMA EM RELAÇÃO AO PESO DO OVO NA 48<sup>a</sup>, 49<sup>a</sup> e 50<sup>a</sup> SEMANAS DE IDADE.....</b>	<b>26</b>
<b>TABELA 14. EFEITOS DOS TRATAMENTOS SOBRE A PERCENTAGEM (%) DE GEMA EM RELAÇÃO AO PESO DO OVO NA 51<sup>a</sup>, 52<sup>a</sup> e 53<sup>a</sup> SEMANAS DE IDADE.....</b>	<b>26</b>
<b>TABELA 15. EFEITOS DOS TRATAMENTOS SOBRE A PERCENTAGEM (%) DE CASCA EM RELAÇÃO AO PESO DO OVO NA 48<sup>a</sup>, 49<sup>a</sup> e 50<sup>a</sup> SEMANAS DE IDADE.....</b>	<b>27</b>
<b>TABELA 16. EFEITOS DOS TRATAMENTOS SOBRE A PERCENTAGEM (%) DE CASCA EM RELAÇÃO AO PESO DO OVO NA 51<sup>a</sup>, 52<sup>a</sup> e 53<sup>a</sup> SEMANAS DE IDADE.....</b>	<b>28</b>

<b>TABELA 17. EFEITO DOS TRATAMENTOS SOBRE A PERCENTAGEM DE PINTOS DE PRIMEIRA, SEGUNDA E REFUGOS E SEUS RESPECTIVOS PESOS .....</b>	<b>30</b>
<b>TABELA 18. EFEITOS DOS TRATAMENTOS (TRT) SOBRE O PESO CORPORAL (PC) E GANHO MÉDIO DIÁRIO (GMD) .....</b>	<b>36</b>
<b>TABELA 19. EFEITOS DOS TRATAMENTOS (TRT) SOBRE A CONVERSÃO ALIMENTAR (CA) E MORTALIDADE .....</b>	<b>36</b>
<b>TABELA 20. EFEITOS DOS TRATAMENTOS (TRT) SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR (CO) ..</b>	<b>51</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1. ESTRUTURA QUÍMICA DAS PRINCIPAIS AFL .....</b>	<b>05</b>
<b>FIGURA 2. EFEITOS DOS TRATAMENTOS SOBRE A QUALIDADE DOS PINTOS NO NASCIMENTO .....</b>	<b>30</b>
<b>FIGURA 3. MORTALIDADE DE 1-7 DIAS EM FUNÇÃO DOS NÍVEIS DE AFL .....</b>	<b>37</b>
<b>FIGURA 4. MORTALIDADE DE 1-21 DIAS EM FUNÇÃO DOS NÍVEIS DE AFL .....</b>	<b>37</b>

## LISTA DE ANEXOS

<b>ANEXO 1. CONTROLE DE TEMPERATURA .....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXO2. BATERIAS UTILIZADAS NO TESTE DE PROGÊNIE.....</b>	<b>63</b>
<b>ANEXO 3. EFEITOS DOS TRATAMENTOS SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR DE FRANGOS DE CORTE ORIUNDO DAS MATRIZES DE CORTE ALIMENTADAS COM AFL.....</b>	<b>64</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de aves e suínos do mundo, sendo, em consequência, um dos maiores produtores de rações. A presença de micotoxinas em grãos e rações, cujo tipo ou estrutura química depende do desenvolvimento de linhagens fúngicas específicas, está sujeita à influência de fatores ambientais como umidade do substrato e temperatura ambiente. Portanto, a contaminação de rações e outros alimentos por micotoxinas pode variar de acordo com as condições ambientais, métodos de processamento ou produção e armazenamento. Depende, também, do tipo de alimento, já que alguns grãos são substratos mais susceptíveis que outros para o crescimento de determinados fungos. Em um sistema com elevado grau de tecnificação, tal como ocorre na avicultura de modo geral, qualquer fator que afete negativamente a produção, determina enormes prejuízos aos produtores. Neste contexto deve-se ressaltar a importância dos contaminantes naturais de rações, como as micotoxinas, as quais acarretam perdas consideráveis às criações de aves.

As micotoxinas são metabólitos secundários, produzidos por fungos que se desenvolvem naturalmente em produtos alimentícios, capazes de originar uma ampla variedade de efeitos tóxicos em animais vertebrados, incluindo o homem (COULOMBE, 1991). A exposição às toxinas ocorre, predominantemente, através da ingestão de alimentos contaminados, sobretudo cereais utilizados na preparação de rações, como milho, trigo, amendoim e sorgo, entre outros (CHU, 1991). Os fungos toxigênicos podem contaminar os alimentos nas diferentes fases de produção e beneficiamento, desde o cultivo até o transporte e armazenagem. Ressalta-se, ainda, o fato das micotoxinas apresentarem, de modo geral, grande estabilidade química, o que permite a sua persistência no alimento mesmo após a remoção dos fungos pelos processos usuais de industrialização e embalagem.

Micotoxicose é o termo utilizado para definir qualquer enfermidade causada aos homens e animais pela exposição às micotoxinas. Os quadros tóxicos variam de acordo com a micotoxina, seu efeito dose-dependente, espécie animal e até mesmo entre indivíduos de uma mesma espécie. A micototoxicose é caracterizada por estar relacionada à alimentação, não é contagiosa, não é infecciosa e é

sempre causada pelas toxinas produzidas por fungos (HUSSEIN & BRASEL, 2001). As micotoxicoses são caracterizadas por síndromes difusas, porém, com predomínio de lesões em determinados órgãos, como fígado, rins, tecido epitelial e sistema nervoso central, dependendo do tipo de toxina. Existe, também, a possibilidade de ocorrência simultânea de duas ou mais micotoxinas, o que pode conduzir à potencialização de seus efeitos tóxicos sobre o organismo susceptível.

Em nossas condições, diversas micotoxinas têm sido identificadas em alimentos destinados ao consumo humano e animal. Contudo, deve-se destacar a importância das aflatoxinas, não apenas pela ocorrência freqüente, mas também pelo elevado potencial toxigênico demonstrado em aves de produção.

O descobrimento, no início da década de 1960, das propriedades hepatotóxicas e hepatocarcinogênicas de algumas cepas de *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, seguida pela elucidação da estrutura de seus metabólitos tóxicos, as Aflatoxinas (AFL), deram novo enfoque para a pesquisa sobre micotoxinas, principalmente, pelos problemas causados à saúde animal. O motivo do estudo intenso e da descoberta das aflatoxinas foi a mortalidade devastadora de perus na Inglaterra. Essas aves ingeriram aflatoxinas através de torta de amendoim de origem brasileira contaminada com *Aspergillus parasiticus* (Santurio, 2000).

As Aflatoxinas podem causar inúmeros prejuízos no desempenho de matrizes de corte, tanto imediatos como tardios. Várias perdas econômicas são associadas a ingestão de aflatoxina na ração, afetando aspectos produtivos, como queda na postura (HAMILTON & GARLICH, 1971), perda de peso e queda no consumo; e reprodutivos como baixa eclodibilidade (TRUCKSSES et al., 1983) diminuição no peso de ovos e do volume espermático (LEESON et al., 1995).

Em busca de melhores índices zootécnicos, a avicultura moderna requer cada vez mais uma nutrição com qualidade, com especial enfoque às matérias-primas. Nesse aspecto, a detecção de alimentos contaminados com esse tipo de agente pode ser a diferença entre o lucro e o prejuízo na indústria avícola.

Realizou-se o presente trabalho com os objetivos de:

- Determinar o efeito da intoxicação por Aflatoxinas sobre aspectos produtivos e reprodutivos em matrizes de corte;

- Estabelecer os níveis de AFL toleráveis para matrizes de corte, auxiliando na decisão sobre a inclusão de grãos problemáticos;
- Estudar os efeitos residuais da intoxicação da matriz de corte com AFL sobre o desenvolvimento embriológico e a progênie.

## **2. ESTUDO BIBLIOGRÁFICO**

### **2.1 AFLATOXINAS**

O descobrimento das propriedades hepatotóxicas e hepatocarcinogênicas de algumas linhagens de *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, no início da década de 1960, seguida pela elucidação da estrutura de seus metabólitos tóxicos, as aflatoxinas, deram novo enfoque e prioridade para a pesquisa sobre micotoxinas. Elas se tornaram importantes principalmente pelos problemas causados à saúde animal. O motivo do estudo intenso e da descoberta das aflatoxinas foi a mortalidade devastadora de perus na Inglaterra que foram atingidos por uma doença de etiologia desconhecida que causou elevadas taxas de mortalidade em peruzinhos, em torno de 70% da criação e, em alguns casos, 100%. Os sintomas típicos relacionados foram ingurgitamento e congestão renal, com hemorragia ou necrose do fígado. Além dessas mortes precoces, verificou-se, naquele país, perdas econômicas relevante em decorrência da morte de centenas de milhares de perus de 4 a 6 semanas de idade. Por não apresentar causa aparente, ela foi denominada de *Turkey X Disease*, cujo desaparecimento dos sintomas ocorria com as mudanças de rações. Descobriu-se, posteriormente, que esse problema estava relacionado com a ingestão de torta de amendoim de origem brasileira contaminada com *Aspergillus parasiticus* (Santurio, 2000).

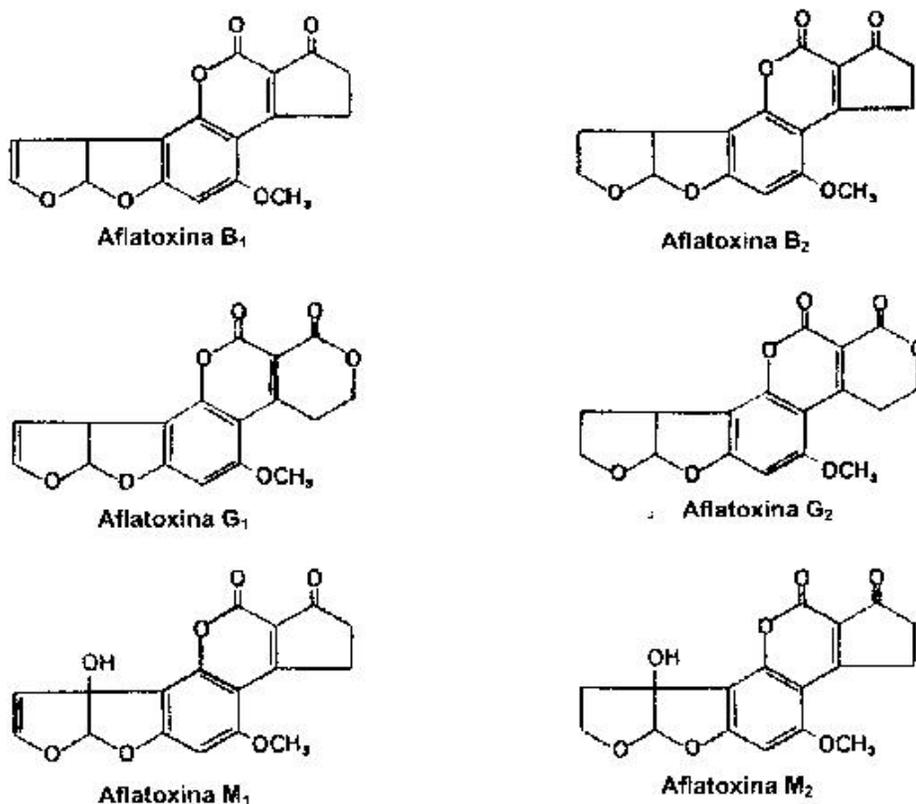
Aflatoxinas fazem parte de um grupo de toxinas produzidas por fungos como metabólitos secundários, sendo produzidos pelos fungos do gênero *Aspergillus*, principalmente *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nominus* (Santurio, 2000).

### **2.2 Características Físicas e Químicas das Aflatoxinas**

Há mais de 20 tipos de moléculas de aflatoxinas e seus derivados isolados, Porém, os principais tipos estudados continuam sendo a B1, B2, G1 e G2 (HUSSEIN & BRASEL, 2001). A estrutura química das aflatoxinas é muito semelhante, dado que são compostos químicos simples e de baixo peso molecular, sendo que todas apresentam um núcleo central cumarínico ligado a uma estrutura bi-furanóide conforme se observa na Figura 1. As aflatoxinas B

apresentam anel ciclopentona na molécula, enquanto que as da série G apresentam anel lactona.

As aflatoxinas assim como outros compostos hetrocíclicos, são substâncias fluorescentes com características próprias. Tanto a aflatoxina B1 (AFB1) como a aflatoxina B2 (AFB2) apresentam uma fluorescência azul, enquanto que a aflatoxina G1 (AFG1) e a aflatoxina G2 (AFG2) apresentam uma fluorescência verde-amarelada sob luz ultravioleta (Sargeant, 1963 apud HUSSEIN & BRASEL, 2001).



**Figura 1- Estrutura Química das principais AFL**

Apesar das semelhanças estruturais, as AFL apresentam diferentes graus de atividade biológica. A AFB1, além de ser a mais freqüentemente encontrada nos cereais, é a que apresenta maior poder toxigênico, seguida das AFL G1, B2 e G2 (COULOMBE et al., 1991). A aflatoxina B1 é a mais tóxica, tanto nos casos de

aflatoxicose aguda como na crônica, enquanto que a aflatoxina M1 (AFM1), um produto de detoxicação, presente no leite, resultante do metabolismo da AFB1, é uma substância hepatotóxica tão potente quanto à AFB1 (CARNAGHAN et al., 1963). TERAO E UENO (1978) demonstraram que a magnitude da toxidez da AFG2, AFB2 e AFG1 correspondem a 10, 20 e 50% da AFB1, respectivamente.

Podemos classificar as aflatoxinas como compostos de natureza cristalina, termoestáveis e solúveis em solventes polares, como clorofórmio e metanol. Podem ser destruídas totalmente na presença de soluções fortemente alcalinas, como a amônia e o hipoclorito (OPAS, 1983). A Tabela 1 apresenta as principais características físico-químicas das aflatoxinas de maior importância em saúde humana e animal.

**Tabela 1-** Características físico-químicas das principais aflatoxinas

AFL	Fórmula Química	Massa Molecular	Temperatura de fusão (°C)	Emissão de fluorescência nanômetros (nm) e cor*
AFB1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	312	269	425-azul
AFB2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	314	286-289	425-azul
AFG1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	244-246	450-verde
AFG2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	237-240	450-verde
AFM1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	299	425-violeta azulada
AFM2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	293	425-violeta
Aflatoxicol	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	314	230-234	425

\*Sob luz ultravioleta

**Fonte: OPAS (1983)**

A decomposição das AFL ocorre na faixa de temperatura entre 237-306°C, variando de acordo com a atividade de água, pH do substrato e tempo de exposição ao calor. Por outro lado, os raios ultravioleta da luz do sol são muito eficazes na desativação das moléculas de AFL. Não há um método totalmente eficaz para a inativação das AFL, sendo que eficiência de cada processo depende do tipo de alimento a ser descontaminado, sua atividade de água, os tipos de AFL nele presentes, o nível de contaminação e o grau de associação em que as AFL

estão ligadas aos constituintes do alimento, principalmente às proteínas (RUSTOM, 1997).

### **2.3. Ocorrência Natural das Aflatoxinas**

O crescimento do *A. flavus* e a produção de AFL em seus substratos naturais são influenciadas por diversos fatores, como os componentes minerais e a atividade de água do substrato, umidade ambiental, temperatura e os danos físicos presentes no substrato (VIQUEZ et al., 1994).

Apesar das maiores concentrações de AFL serem encontradas em grãos que estão mal armazenados em ambientes quentes e úmidos, também é possível detectar concentrações significantes de AFL no campo, antes da colheita. O milho e o amendoim continuam sendo as maiores fontes de AFL principalmente na Índia e América do Sul, porém outros cereais produzidos em clima tropical, bem com os seus subprodutos também são susceptíveis à contaminação por AFL (MOSS, 1998).

Uma característica importante das AFL é a sua capacidade de se concentrar, isto é, seus níveis vão se acumulando ao longo da cadeia produtiva, uma vez que são moléculas altamente estáveis em diferentes bióticos e abióticos (QUEZADA et al., 2000).

No levantamento realizado por RODRIGUEZ-AMAYA (2001), a contaminação do amendoim brasileiro e seus subprodutos, chega a níveis alarmantes. Foram analisadas amostras de amendoim das Regiões Sul e Sudeste, sendo que 27% e 49% das amostras analisadas estavam contaminadas com mais de 30 ppb de AFL, respectivamente.

A ocorrência de AFL tem sido observada com freqüência, principalmente no Estado de São Paulo, em alimentos destinados ao consumo humano e animal, sobretudo milho e rações. No período de 1980 a 1987, SABINO et al. (1988) relataram a ocorrência de AFB1 em 7,79% das amostras de rações animais analisadas, com nível médio de 241,2 ppb de AFB1.

Recentemente, o Ministério da Saúde (BRASIL, 2002) estabeleceu como limite máximo, 20 ppb de AFL totais (AFB1 + AFG1 + AFB2 + AFG2) em

amendoim (incluindo produtos derivados) e em milho em grão (inteiro, amassado, moído ou na forma de farinhas ou sêmolos), destinados para consumo.

Para qualquer matéria prima a ser utilizada diretamente, ou como ingrediente o Ministério da Agricultura (BRASIL, 1988) estabeleceu como limite máximo, 50 ppb de AFL totais (AFB1 + AFG1 + AFB2 + AFG2). A União Européia estabeleceu como limite máximo o valor de 10 ppb de AFB1 para ração pronta, destinada as aves. Países como o Canadá, Chile e Estados Unidos adotaram como limite máximo o valor de 20 ppb de AFB1 + AFG1 + AFB2 + AFG2 para a alimentação de aves de produção (FONSECA, 2003).

#### **2.4. Biotransformação da Aflatoxina B1**

Uma das causas de serem as AFL extremamente tóxicas para as aves é sua rápida absorção pelo trato gastrointestinal que é evidenciada através do aparecimento de aflatoxina imediatamente após a ingestão da micotoxina (WYATT, 1991). Uma vez absorvida, a aflatoxina B1 é imediatamente ligada, de forma reversível, à albumina sanguínea e, em menor escala, a outras proteínas. Formas de aflatoxinas ligadas e não ligadas a proteínas séricas espalham-se pelos tecidos, especialmente o fígado.

Após depositadas no fígado, as AFL absorvidas são biotransformadas, primariamente, por enzimas microssomais do sistema de funções oxidases mistas (BIEHL & BUCK, 1987). Estas enzimas, pertencentes à superfamília de enzimas do citocromo P-450, constituem parte do processo de detoxicação de uma ampla variedade de xenobióticos no organismo (FORRESTER et al., 1990). A biotransformação da AFB1, particularmente, tem sido estudada com maior interesse, uma vez que guarda estreita relação com seus mecanismos de ação tóxica. Existe atualmente consenso, entre grande número de especialistas, de que a AFB1 é, na realidade, um pró-carcinógeno, o qual requer ativação metabólica para manifestar seus efeitos tóxicos (BIEHL & BUCK, 1987; HSIEH & ATKINSON, 1991; WOGAN, 1992). A forma ativada da AFB1 é o composto identificado como 8,9-óxido de AFB1, ou AFB1-epóxido (anteriormente denominado AFB1-2,3

epóxido), originado através da epoxidação da dupla ligação do éter vinílico, presente na estrutura bi-furanóide da molécula de AFB1.

As Aflatoxinas são biotransformadas pelo sistema microsomal hepático em metabólitos muito tóxicos, como AFL B<sub>2a</sub> e 2,3 - Epóxido de Aflatoxina. Este composto é altamente eletrofílico e capaz de reagir rapidamente, através de ligações covalentes, com sítios nucleofílicos de macromoléculas, como ácido desoxirribonucléico (DNA), ácido ribonucléico (RNA) e proteínas (BIEHL & BUCK, 1987). Estas ligações determinam a formação de adutos, os quais representam a lesão bioquímica primária produzida pelas aflatoxinas. A AFB1-epóxido pode também ser conjugada enzimaticamente com glutatona reduzida, através de glutatona-S-transferases, constituindo importante via de detoxicação deste composto (HAYES et al., 1991).

A ligação da AFB1-epóxido com o DNA modifica a sua estrutura e, conseqüentemente, a sua atividade biológica, originando assim os mecanismos básicos dos efeitos mutagênicos e carcinogênicos da AFB1 (HSIEH & ATKINSON, 1991). Estes autores citam ainda que a formação de adutos ocorre através da ligação com guaninas da molécula de DNA, na posição N7, ao nível do códon 249, do gene supressor de tumores p53. A ocorrência deste tipo de alteração é característica de vários carcinomas no homem, sobretudo o hepático (BRESSAC et al., 1991; PUISIEUX et al., 1991). Essas ligações de Aflatoxina com proteínas provocam mau funcionamento do fígado, levando a uma profunda alteração nas propriedades funcionais e na síntese das proteínas das aves (WYATT, 1991).

Os efeitos primários da aflatoxicose em aves podem ser utilizados como guia para diagnóstico clínico da doença. A primeira mudança é alteração no tamanho dos órgãos internos. Ocorre aumento de tamanho no fígado, baço e rins e diminuição da bursa e timo. Também ocorrem alterações na coloração e textura dos órgãos. Por exemplo, o fígado de aves com aflatoxicose têm como característica a coloração amarelada e friável, com acentuada infiltração de gordura. Na aflatoxicose não ocorrem erosões na moela, apesar de muitas aves com lesões características dessa micotoxicose também apresentarem esse tipo de alteração. Isso parece um paradoxo, mas, de acordo com WYATT (1991), cerca

de 36% das linhagens de *Aspergillus flavus*, além de produzirem aflatoxinas, também produzem uma outra micotoxina, o ácido ciclopiazônico (CPA), responsável por erosões na mucosa da moela.

Observa-se, ainda, em frangos e poedeiras que receberam AFL, extrema palidez das mucosas e pernas. Essa pigmentação deficiente parece ser resultado da menor absorção, diminuição no transporte e diminuição tecidual dos carotenóides da dieta (TYCZKOWSKI & HAMILTON, 1987; LEESON et al., 1995).

Os sintomas dos distúrbios causados pelas aflatoxinas sobre a produção de ovos não são manifestados imediatamente, mas sim após alguns dias ou semanas, sendo que a queda na postura é precedida pela redução de proteínas e lipídeos nos níveis sanguíneos. Segundo HAMILTON & GARLICH (1971), poedeiras alimentadas com 10 ppm de Aflatoxinas tem uma drástica queda na produção, comprovando que a toxina causa a "fatty liver syndrome", afetando a síntese lipídica do fígado que é o principal componente do ovo.

MILBRADT et al. (2001) relatam que a taxa e o peso de ovos incubáveis não foram afetados pelo consumo de AFL, na dosagem de 5 ppm.

Em trabalho de ROSA et al. (2001) foi verificado que, após duas semanas de consumo de ração contendo com 5 ppm de AFL, as aves apresentaram menor taxa de postura e, quando voltaram a receber ração sem AFL, a postura voltou aos níveis normais em três semanas. O consumo e o peso corporal das matrizes infectadas não sofreram quaisquer alterações em função dos níveis de AFL utilizados.

Aflatoxina B1 (AFB1) pode contaminar tanto as gemas quanto as claras. TRUCKSSES et al. (1983) encontraram Aflatoxinas B1 e M1 e Aflatoxicol nos ovos 24h após o início do consumo de ração contaminada. Portanto, é necessário salientar que, enquanto o índice postura é afetado somente 8 dias após o início da intoxicação, a eclodibilidade começa a ser afetada 24h após o início do consumo. As Aflatoxinas podem entrar no ovo em qualquer estágio de seu desenvolvimento e, como, levam de 7 a 8 dias para um oócito se desenvolver até um óvulo maduro e 24 horas em ovo, e este o tempo desde a intoxicação até a detecção de Aflatoxinas no ovo. Como o embrião absorve a gema na terceira semana de

incubação, níveis altos de mortalidade embrionária nesta fase são esperados. Estes autores demonstram que os níveis de Aflatoxina nos ovos levam 4-5 dias para atingir um *plateau* e este mesmo período para desaparecer quando a intoxicação é interrompida. QURESHI et al. (1998) encontraram altas taxas de mortalidade embrionária tardia em aves que ingeriram 5 e 10 ppm de AFL e concluíram que os efeitos eram maiores quanto maior o tempo de exposição à toxina. Este efeito é devido a transferência de metabólitos da AFL ou a própria toxina ao ovo, causando alterações imunes ao embrião. Esta exposição afeta a diferenciação e o processo de maturação de células imunológicas, que é considerado crucial para o estabelecimento de várias linhagens hematopoiéticas como os linfócitos e macrófagos (NICOLAS-BOLNET et al.). A mortalidade embrionária na primeira e segunda semanas dos ovos provenientes de aves alimentadas com 5 ppm de AFL não sofreu efeito pela intoxicação (TSUKITA et al., 2001).

Logo no início do desenvolvimento dos estudos com micotoxinas, as pesquisas mostraram que os sintomas da aflatoxicose eram mais severos em aves, ratos e suínos alimentados com dietas com baixo nível protéico em comparação com aqueles que recebiam uma dieta com níveis normais de proteínas. Inversamente, as dietas com níveis mais altos de proteína que o normal conferiram um efeito protetor contra a Aflatoxina em frangos de corte. Esse achado pode ser reafirmado pela demonstração de que a Aflatoxina aumenta a necessidade de proteínas para um determinado nível de produtividade (SMITH & HAMILTON, 1970; SANTURIO, 2000). Esse achado pode ser reafirmado pela demonstração de que a aflatoxina aumenta a necessidade de proteínas para a obtenção de um determinado nível de produtividade. Essa é uma consideração importante porque proteínas são os macro-nutrientes mais caros na dieta e o crescimento animal é tipicamente limitado ao nível de proteínas. A aflatoxina causa diminuição da atividade específica da tripsina pancreática, mas ocorre uma pancreatomegalia compensatória, resultando na mesma atividade total como a que ocorre em frangos de corte normais (OSBORNE & HAMILTON, 1981).

A interação de aflatoxinas com vitaminas não tem sido esclarecida totalmente em aves. Suplementação de vitaminas em até 4 vezes mais que o recomendado pelo NRC (1994) não proporcionou proteção contra os efeitos adversos de Aflatoxina sobre o crescimento de frangos de corte. No entanto, algumas respostas surpreendentes foram obtidas quando foi investigada intoxicação por Aflatoxina em conjunto com deficiência vitamínica. Dietas deficientes em Riboflavina ou Colecalciferol (Vitamina D) tornaram frangos sensíveis, no índice de desenvolvimento corporal, mesmo à concentrações muito baixas de Aflatoxina. Mas, com baixos níveis de vitamina E e K3 não houve nenhum efeito negativo de Aflatoxina em níveis semelhantes aos anteriores. Por outro lado, a deficiência de Tiamina (Vitamina B<sub>6</sub>) mostrou um quadro de melhora no desempenho dos frangos intoxicados com Aflatoxina. A causa disso seria a deficiência dessa vitamina na dieta, que provoca um aumento da oxidação dos ácidos graxos depositados em excesso no fígado, por ação da Aflatoxina LEESON et al. (1995).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Experimento 1: Matrizes de corte.**

##### **3.1.1. Local e Período**

O experimento foi realizado no Laboratório de Avicultura (LAVIC) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) em conjunto com o Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI) da UFSM, no período de abril a outubro de 2003.

##### **3.1.2. Animais**

Foram selecionadas do plantel do Laboratório de Avicultura 500 fêmeas e 60 machos de matrizes de corte da linhagem Cobb 500 para compor o plantel experimental na 47ª semana. O critério de seleção foi o peso corporal, baseando-se na uniformidade do lote.

##### **3.1.3. Instalações e Equipamentos**

A aves foram alojadas em galpão experimental com piso de alvenaria, laterais com tela e mureta, cobertura com telha de barro francesa e lanternim. Com 600 m<sup>2</sup>, este galpão divide-se em duas unidades com 300m<sup>2</sup>, sendo que a área utilizada para o experimento, possui 22 boxes de 7,0m<sup>2</sup> cada.

Para incubação dos ovos foi utilizada a estrutura existente no Laboratório de Avicultura - UFSM que possui a capacidade de produção de 9.317 pintos por semana.

##### **3.1.4. Parâmetros Avaliados**

Os parâmetros mensurados durante o período experimental foram:

- ❖ Taxa de postura
- ❖ Peso corporal
- ❖ Peso de clara, gema e casca
- ❖ Peso de ovos

- ❖ Gravidade específica
- ❖ Percentagem de pintos de primeira, segunda , refugos e seus respectivos pesos

Foram considerados pintos de primeira os que apresentaram umbigo cicatrizado, ausência de problemas locomotores e plumagem seca; os considerados pintos de segunda e refugos foram os que não se enquadraram nessa classificação.

### 3.1.5. Tratamentos

Os tratamentos foram compostos por 4 dietas experimentais, possuindo diferentes níveis de Aflatoxina, formando os tratamentos conforme Tabela 4.

**Tabela 2-** Dietas experimentais com diferentes níveis de Aflatoxina utilizados no período experimental.

DIETAS	AFL (ppb)
1	0
2	250
3	500
4	750

As AFL fornecida às matrizes de corte foram produzidas pelo Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI), segundo metodologia licenciada pelo Ministério da Agricultura, sob nº 21042:002340/2003-18-RS. As AFL apresentavam a seguinte concentração:

- AFB1: 86%
- AFB2: 8,5%
- AFG1: 3,8%
- AFG2: 1,7%

As dietas somente foram fornecidas às aves após comprovação pelo laboratório acima citado de que as mesmas se encontram nos níveis propostos no experimento.

A adição das soluções de toxina as rações foi realizada em um misturador vertical (helicoidal) com capacidade para 500 kg de ração. As rações, assim preparadas, foram homogeneizadas por cerca de 15 minutos, sendo posteriormente armazenadas na área de serviço do galpão até o momento da utilização.

### **3.1.6. Período Pré-Experimental - Cria, Recria e Reprodução I**

- **1<sup>a</sup> - 46<sup>a</sup> Semanas:**

Durante esse período a totalidade das aves receberam alimentação e manejo convencionais, de acordo com o manual da linhagem; foram criadas sobre cama de maravalha e alojadas nas densidades recomendadas em cada fase de criação. O esquema profilático seguiu o modelo preconizado pelo manual da linhagem. Os machos foram alojados separadamente das fêmeas até as 18 semanas de idade, quando foram acasalados.

### **3.1.7. Período Experimental**

- **47<sup>a</sup> - 48<sup>a</sup> Semanas:**

As 500 fêmeas e 60 machos selecionados foram alojados em 20 boxes, conforme o delineamento experimental. Foram 25 fêmeas e 3 machos por repetição (box), totalizando 125 fêmeas e 15 machos por tratamento.

Nesse período, todos os animais receberam uma dieta única, isenta de AFL, conforme monitoramento realizado pelo Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI). O arraçãoamento foi em programa diário controlado, onde os volumes de fornecimento foram de acordo com o manual da linhagem e em função dos índices produtivos do lote.

- **49<sup>a</sup> - 53<sup>a</sup> Semanas:**

As aves foram submetidas aos tratamentos, conforme descrito no item 4.1.10.

Os ovos produzidos na 53<sup>a</sup> semana foram classificados (descartaram-se ovos sujos, ovos de cama e ovos com defeitos na casca), desinfetados utilizando-

se formol 37% + permanganato de potássio(14 ml de formol + 7g permanganato de potássio/m<sup>3</sup> ) e incubados para realização do teste de progênie. Todos os ovos foram submetidos a mesma condição de incubação. Os pintos oriundos desse nascimento foram alojados em bateria para realização do teste de progênie.

Os ovos não eclodidos foram avaliados através da técnica do embriodiagnóstico para o estudo da fertilidade e mortalidade embrionária.

- **54<sup>a</sup> - 57<sup>a</sup> Semanas:**

Nesse período foi fornecida ração isenta de AFL e foram coletados os dados de produção das matrizes pós-tratamento, com finalidade de verificar a consequência dos tratamentos, aplicados na fase anterior, sobre os parâmetros analisados.

### **3.1.8. Alimentação**

As dietas foram calculadas de acordo com as recomendações do manual da linhagem e estão demonstradas na Tabela 2 e 3. A dieta basal foi à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo.

**Tabela 3.** Composição da dieta basal das fêmeas.

<b>INGREDIENTES</b>	<b>%</b>
Milho,grãos	61,35
Farelo de Soja (48% de PB)	27,47
Farelo de Trigo	1,30
Fosfato Bicálcico	1,83
Calcário	7,03
Sal Comum	0,46
Premix Vitamínico e Mineral <sup>1</sup>	0,50
DL-Metionina	0,05

### **Composição Calculada:**

Proteína Bruta (%)	18,00
Energia Metabolizável (Kcal/Kg)	2800
Cálcio (%)	3,20
Fósforo Disponível (%)	0,45

1 - Premix vitamínico e mineral: Níveis de garantia por quilograma de premix: Vit.A 2.750.000 UI; Vit E 6.000 mg; Vit D3 150.000 UI; Vit K3 500 mg; Ácido Nicotínico 8.000mg; Vit B1 550mg; Vit B12 3.750 mg; Vit B2 1.875mg; Vit B6 1000mg; Ac Fólico 250mg; Biotina 45mg; Colina 66.000mg; Ác. Pantotênico 3.750 mg; Metionina 89.100mg; Cobre 2.400mg; Ferro 12.000mg; Iodo 120mg; Manganês 14.000mg; Selênio 48mg e Zinco 13.000mg.

**Tabela 4.** Composição da dieta basal dos machos.

<b>INGREDIENTES</b>	<b>%</b>
Milho	73,08
Farelo de soja	10,30
Farelo de trigo	4,93
Areia	7,66
Fosfato bicálcico	1,82
Calcário	1,08
Premix vitamínico <sup>1</sup>	0,50
Sal	0,40
DL-Metionina	0,14
L-Lisina	0,03
L-Treonina	0,02
<hr/>	
Total	100
<hr/>	
<b>Nutrientes</b>	
<hr/>	
Proteína (%)	12
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2800

Cálcio (%)	0,90
Fósforo (%)	0,45

---

1 - Premix vitamínico e mineral: Níveis de garantia por kilograma de premix: Vit.A 2.750.000 UI; Vit E 6.000 mg; Vit D3 150.000 UI; Vit K3 500 mg; Ácido Nicotínico 8.000mg; Vit B1 550mg; Vit B12 3.750 mg; Vit B2 1.875mg; Vit B6 1000mg; Ac Fólico 250mg; Biotina 45mg; Colina 66.000mg; Ác. Pantotênico 3.750 mg; Metionina 89.100mg; Cobre 2.400mg; Ferro 12.000mg; Iodo 120mg; Manganês 14.000mg; Selênio 48mg e Zinco 13.000mg.

### **3.1.9. Análise dos Ovos**

Todos os ovos, desde a 45<sup>a</sup> até a 54<sup>a</sup> semanas, foram coletados quatro vezes ao dia, identificados por box e selecionados para incubação, ficando armazenados na sala de ovos do incubatório. Os considerados incubáveis foram, então, colocados semanalmente em uma incubadora convencional por 18 dias, quando foram transferidos a um nascedouro. No 21<sup>o</sup> dia, dia da retirada dos pintinhos do equipamento, para os ovos eclodidos, foi feita uma classificação em pintos de primeira e pintos de segunda, com a realização de pesagem, bem como, o embriodiagnóstico.

Uma vez por semana, durante todo o período experimental, foi realizada a densidade dos ovos (gravidade específica), com solução de água, sal, com densidades de 1,075; 1,080; 1,085; 1,090 e 1,095 e utilizou-se um densímetro. Logo após, foi feita a pesagem do ovo, albúmen, gema e casca. O objetivo de tal procedimento foi de verificar a ocorrência da redução de nutrientes, tanto no albúmen quanto na gema, como preconizam alguns autores.

### **3.1.10. Delineamento Experimental e Análise Estatística**

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (0; 250; 500 e 750 ppb de AFL/kg de dieta) com 5 repetições de 28 aves cada.

A análise estatística foi realizada pelo programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, 1996), onde os dados foram submetidos a análise de variância, teste de Tukey e análise de regressão.

O modelo matemático utilizado foi o seguinte:

$$\hat{Y}_{ij} = \mu + i_j + \tau_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

$\hat{Y}_{ij}$  = Observações das variáveis dependentes correspondentes à repetição da independente j sob o tratamento de ordem i.

$\mu$  = Média geral das observações.

$\tau_i$  = Efeito do tratamento de ordem i.

$\varepsilon_{ij}$  = Erro aleatório residual, associado a observação de ordem j sob o tratamento de ordem i, NID  $(0, \sigma^2)$

Depois de selecionado o erro pelo modelo anterior, foi ajustado o seguinte modelo de regressão:

$$\hat{Y}_{ij} = \alpha + \beta x_{ij} + \varphi$$

Onde:

$\hat{Y}_{ij}$  = Observações das variáveis dependentes correspondentes à repetição da independente j sob o tratamento de ordem i.

$\alpha$  e  $\beta$  = são os parâmetros da equação;

$x_{ij}$  = observação da variável independente associado à repetição de ordem j sob tratamento de ordem i;

$\varphi$  = Desvios da regressão.

#### **4. Resultados e Discussão**

De acordo com o demonstrado na Tabela 5 a taxa de postura não foi influenciada pela adição de aflatoxina ( $P > 0,05$ ) em nenhum dos níveis estudados, porém ROSA et al. (2001) trabalhando com matrizes de corte submetidas a 5 ppm de AFL apresentaram queda na taxa de postura após duas semanas de intoxicação, sendo que as mesmas apresentaram recuperação dos níveis normais de produção após três semanas de fornecimento de ração sem AFL. Em um outro

trabalho HOWARTH & WYATT (1976) trabalhando com matrizes de corte alimentadas com dietas contendo doses de 0, 5 e 10 ppm por 4 semanas, observaram que a produção de ovos diminuiu significativamente na 3ª e 4ª. semanas após o início da intoxicação com AFL, nas aves que receberam 5 e 10 µg/g de AFL.

Níveis de 100 ppb de AFL, na dieta em poedeiras, durante 6 semanas, foram suficientes para que fossem encontrados resíduos em ovos da ordem de 0,2 ppb (JACOBSON & WISEMAN, 1974). TRUCKSSES et al. (1983) encontraram AFB1, AFM1 e aflatoxicol nos ovos 24 horas após o início do consumo de ração contaminada. Portanto, é necessário salientar que, enquanto o índice postura é afetado somente sete dias após o início da intoxicação, a eclodibilidade começa a ser afetada 24 horas após o início do consumo de ração contaminada. JACOBSON & WISEMAN (1974) verificaram que AFB1 pode ser transmitida aos ovos de matrizes pesadas, sendo depositados tanto na gema quanto na clara. Além da redução da postura a AFL é responsável pela redução no tamanho dos ovos e pela diminuição proporcional da gema (HUFF et al., 1975). A redução na gema deve-se aos danos causados ao fígado, demonstrado em trabalho realizado por HAMILTON & GARLICH (1971), no qual poedeiras que foram alimentadas com dietas contendo 10 ppm de AFL por três semanas apresentam em torno de 48% de gordura no fígado enquanto nas aves alimentadas com dietas isentas de AFL foi verificado 28%, ficando claro o acúmulo de gordura no fígado. Como consequência existe uma diminuição da deposição de gorduras em outras estruturas, tais como a gema que contém entorno de 33% de lipídios (manual de incubação). Segundo HOWARTH & WYATT (1976) a transmissão de toxinas para ovos férteis é a principal explicação para os prejuízos com a baixa eclodibilidade.

---

**Tabela 5** - Efeitos dos níveis de AFL sobre a taxa de postura (%) de matrizes de corte.

AFL	SEMANAS						
	48	49	50	51	52	53	54
0 ppb	69,26	64,80	65,04	62,00	58,00	55,35	55,79
250 ppb	67,77	69,37	65,26	65,26	59,09	56,46	51,47
500 ppb	68,91	66,63	63,17	61,49	58,06	54,74	49,14
750 ppb	65,49	65,03	62,21	61,21	53,60	52,43	46,79
<b>Média Geral</b>	67,85	66,45	63,92	62,49	57,19	54,74	50,80
<b>C.V (%)</b>	8,16	5,98	7,65	8,47	11,17	9,34	10,01
<b>P</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

MICCO et al. (1988) alimentaram poedeiras jovens por 169 dias com ração contendo 50 µg/kg de AFB1, não observando redução na produção de ovos. Entretanto, ao final do experimento encontraram fígados e rins levemente claros quando comparados com o grupo controle. OLIVEIRA et al. (1999) também não observaram efeitos deletérios na produção de ovos em aves recebendo níveis abaixo de 500 µg/kg de AFB1, por um período de exposição de 60 dias, porém relataram lesões hepáticas significativas nas aves alimentadas com ração contendo níveis acima de 300 ppb.

Reprodutoras de frango de corte (MUTHIAH et al., 1998) e codornas poedeiras (JOHRI et al., 1990) tiveram significante diminuição no consumo de ração e na produção de ovos quando expostas a níveis acima de 500 ppb de AFL.

O peso corporal está demonstrado na Tabela 6, na qual os níveis de intoxicação não afetaram o peso corporal das aves. Conforme OSBORNE (1982), a concentração mínima de AFL na dieta para causar prejuízos no crescimento de frangos estava em torno de 2,5 ppm, já DAFALLA et. al., 1987 encontraram que a administração de 0,5 ppm de AFL durante quatro semanas foi suficiente para diminuir o ganho de peso quando comparado com o grupo controle. Em estudo realizado por OSBORNE & HAMILTON (1981), foi avaliado a redução de enzimas digestivas em frangos de corte, onde foi fornecido dietas contendo 1,25 ppb/g, foi

encontrado uma redução na atividade das enzimas amilase, tripsina, lipase, RNA<sub>ase</sub> e DNA<sub>ase</sub> pancreática. Quando utilizado 2,5 ppb foi observado que houve uma pancreatomegalia compensatória que possibilitou a ocorrência de atividade normal para tripsina, RNA<sub>ase</sub> e DNA<sub>ase</sub>. Com o comprometimento do sistema digestivo das aves é observado até dez vezes mais no teor de gordura nas excretas das aves intoxicadas por AFL (SCHAFFER & HAMILTON, 1991). No trabalho de TRUCKSSES et al. (1983) está demonstrado que ocorre uma perda de peso nas aves. Em trabalho de ROSA et al. (2001) foi verificado que o consumo de ração contaminada com 5 ppm de AFL, em matrizes não sofreram quaisquer alterações no parâmetro peso corporal em função dos níveis de AFL utilizados.

**Tabela 6** - Efeitos dos níveis de intoxicação sobre o peso corporal (g) das fêmeas de matrizes de corte.

AFL	SEMANAS						
	48	49	50	51	52	53	54
0 ppb	3708	3721	3733	3746	3758	3771	3783
250 ppb	3712	3725	3737	3750	3762	3775	3787
500 ppb	3710	3723	3735	3748	3760	3773	3785
750 ppb	3715	3729	3741	3754	3765	3778	3790
<b>Média Geral</b>	3711,25	3724,38	3736,50	3749,38	3761,25	3774,13	3786,25
<b>P</b>	NS						

Na Tabela 7 e Tabela 8 encontram-se o efeito dos tratamentos sobre peso de ovos, onde fica evidente que a adição de AFL nas dietas de matrizes de corte, nos níveis estudados, não afetou o peso dos ovos em nenhuma das semanas estudadas. Segundo LEESON et al., (1995) no que concerne às poedeiras, as principais manifestações da aflatoxicose, em condições experimentais, incluem redução da produção e do peso dos ovos, aumento da gordura hepática e alteração de enzimas séricas. HAFEZ et al. (1982) constataram atresia de ovários

em experimentos com poedeiras recebendo rações contendo 8 ppm de AFB1, durante 7 dias. WASHBURN et al. (1985) alimentaram poedeiras com 5 ppm, observando diminuição significativa no peso dos ovos, fato este explicado pelo metabolismo das aflatoxinas ocorrerem primariamente no fígado, responsável pela síntese e transporte de precursores necessários à produção da gema.

**Tabela 7** - Efeito dos tratamentos sobre o peso de ovos na 48<sup>a</sup>, 49<sup>a</sup> e 50<sup>a</sup> semanas de idade.

Tratamentos	Semanas		
	48	49	50
0 ppb	69,39± 0,34	70,08± 0,73	69,83± 0,49
250 ppb	68,42± 0,51	69,21± 0,69	70,71± 0,67
500 ppb	68,91± 0,28	69,73± 0,40	70,28± 0,38
750 ppb	70,40± 0,52	69,80± 0,65	69,56± 0,64
Média	69,28	69,71	70,10
C.V. (%)	1,37	2,03	1,73
P	NS	NS	NS

**Tabela 8**- Efeito dos tratamentos sobre peso de ovos na 51<sup>a</sup>, 52<sup>a</sup> e 53<sup>a</sup> semanas de idade.

Tratamentos	Semanas		
	51	52	53
0 ppb	70,87 ± 0,22	70,02 ± 0,74	70,03 ± 0,41
250 ppb	69,32 ± 0,49	69,79 ± 0,64	69,42 ± 0,53
500 ppb	70,46 ± 0,49	70,68 ± 0,54	70,25 ± 0,68
750 ppb	70,61 ± 0,29	70,28 ± 0,36	69,60 ± 0,37
Média	70,32	70,19	69,83
C.V. (%)	1,24	1,86	1,63
P	NS	NS	NS

Nas Tabelas 9 e 10 verifica-se que os níveis de 250 a 750 ppb de AFL/kg de dieta não afetaram a gravidade específica ( $P>0,05$ ) em nenhum dos períodos

estudados. Este fato foi observado, também, por OLIVEIRA et al., (2001) onde alimentaram poedeiras com concentração de AFL de até 500 ppb e, não, observaram nenhum efeito das AFL sobre a gravidade específica.

OLIVEIRA et al., (2002) indicam que os níveis de AFB1 estudados (25, 50 ou 100 µg de AFB1/kg) não alteraram significativamente os parâmetros de gravidade específica dos ovos de codorna concordando com WASHBURN et al. (1985), que também relatam a ausência de alterações nos ovos de galinhas poedeiras tratadas com 5000 µg/kg de aflatoxinas (AFB1 + AFB2 + AFG1 + AFG2), conforme Tabela 9 e Tabela 10 esse parâmetro também não foi afetado pela adição de AFL na dieta de matrizes de corte.

**Tabela 9** - Efeito dos tratamentos sobre gravidade específica na 48<sup>a</sup>, 49<sup>a</sup> e 50<sup>a</sup> semanas de idade.

AFL	Semanas		
	48	49	50
0 ppb	1083,91 ± 1,86	1093,90 ± 1,86	1088,44 ± 1,05
250 ppb	1082,70 ± 0,20	1082,89 ± 1,73	1084,57 ± 1,99
500 ppb	1081,88 ± 1,02	1084,00 ± 0,91	1084,41 ± 1,70
750 ppb	1085,14 ± 0,19	1086,01 ± 0,80	1084,97 ± 1,25
Média	1083,41	1086,70	1085,60
C.V. (%)	0,22	0,29	0,30
P	NS	NS	NS

**Tabela 10** - Efeito dos tratamentos sobre gravidade específica na 51<sup>a</sup>, 52<sup>a</sup> e 53<sup>a</sup> semanas de idade.

AFL	Semanas		
	51	52	53
0 ppb	1086,25 ± 1,60	1083,14 ± 0,59	1085,97 ± 0,67
250 ppb	1085,69 ± 0,58	1083,13 ± 0,41	1085,45 ± 0,60
500 ppb	1083,43 ± 0,98	1083,03 ± 0,44	1084,85 ± 1,24
750 ppb	1089,24 ± 0,70	1082,06 ± 0,39	1083,66 ± 1,23
Média	1086,15	1082,84	1084,98
C.V. (%)	0,31	0,10	0,20
P	NS	NS	NS

Nas Tabelas 11 e Tabela 12 encontram-se os valores de percentagem (%) de albúmen em relação ao peso do ovo, ao final do período experimental, podemos observar que a adição de AFL nas dietas das matrizes de corte não influenciou significativamente a percentagem de albúmen ( $P>0,05$ ).

**Tabela 11** - Efeito dos tratamentos sobre a percentagem (%) de albúmen em relação ao peso do ovo na 48<sup>a</sup>, 49<sup>a</sup> e 50<sup>a</sup> semanas de idade.

AFL	Semanas		
	48	49	50
000 ppb	55,44 ± 0,09	55,45 ± 0,09	56,27 ± 0,30
250 ppb	54,97 ± 0,15	55,47 ± 0,25	56,27 ± 0,54
500 ppb	55,25 ± 0,26	56,46 ± 0,14	56,47 ± 0,10
750 ppb	56,49 ± 0,48	54,82 ± 0,50	54,92 ± 0,55
Média	55,54	55,55	55,98
C.V. (%)	1,16	1,17	1,65
P	NS	NS	NS

**Tabela 12**- Efeito dos tratamentos sobre a percentagem (%) de albúmen em relação ao peso do ovo na 51<sup>a</sup>, 52<sup>a</sup> e 53<sup>a</sup> semanas de idade.

AFL	Semanas		
	51	52	53
000 ppb	56,58 ± 0,45	57,20 ± 0,39	57,28 ± 0,21
250 ppb	55,88 ± 0,07	56,94 ± 0,16	56,82 ± 0,33
500 ppb	56,31 ± 0,35	56,96 ± 0,30	57,25 ± 0,48
750 ppb	56,11 ± 0,23	56,96 ± 0,11	57,04 ± 0,48
Média	56,22	57,02	57,10
C.V. (%)	1,23	1,03	1,54
P	NS	NS	NS

Na análise sobre percentagem de gema, conforme Tabela 13 e Tabela 14, não foi constatada uma diminuição da mesma, pelo contrario, ocorreu um leve aumento na concentração de 750 ppb de AFL/kg de dieta. VIEIRA (1995) cita que,

além de reduzir a produção de ovos, a aflatoxicose também é responsável pela redução do tamanho dos ovos, bem como pela redução proporcional no tamanho das gemas, devido aos prejuízos causados na síntese protéica e lipídica. Porém, a deposição de cálcio na casca dos ovos por si só não é afetada. Segundo WASHBURN et al. (1985), a resistência da casca aumenta quando aves consomem aflatoxinas devido à redução na casca desses ovos não terem a mesma proporção da redução ocorrida na clara e gema. A simples espessura maior das cascas pode alterar a eclodibilidade através de reduções nas trocas gasosas entre embrião e ambiente (VIEIRA, 1995).

**Tabela 13** - Efeito dos tratamentos sobre a percentagem (%) de gema em relação ao peso do ovo na 48<sup>a</sup>, 49<sup>a</sup> e 50<sup>a</sup> semanas de idade.

AFL	Semanas		
	48	49	50
000 ppb	30,42 ± 0,29	30,19 ± 0,23	29,31 ± 0,17
250 ppb	31,33 ± 0,18	29,72 ± 0,22	30,00 ± 0,35
500 ppb	31,39 ± 0,26	30,08 ± 0,29	29,96 ± 0,29
750 ppb	29,41 ± 0,15	31,04 ± 0,29	30,85 ± 0,36
Média	30,64	30,26	30,03
C.V. (%)	1,66	1,91	2,24
P	NS	NS	NS

**Tabela 14** - Efeito dos tratamentos sobre a percentagem (%) de gema em relação ao peso do ovo na 51<sup>a</sup>, 52<sup>a</sup> e 53<sup>a</sup> semanas de idade.

AFL	Semanas		
	51	52	53
000 ppb	29,95 ± 0,19	30,20 ± 0,33	30,19 ± 0,18
250 ppb	30,83 ± 0,04	30,45 ± 0,13	30,51 ± 0,25
500 ppb	30,45 ± 0,28	30,45 ± 0,32	30,31 ± 0,60
750 ppb	30,79 ± 0,14	30,75 ± 0,16	30,52 ± 0,38
Média	30,51	30,46	30,38
C.V. (%)	1,34	1,83	2,83
P	NS	NS	NS

Com base nos resultados obtidos, podemos observar que os percentuais de casca demonstrados na Tabela 15 e Tabela 16, não apresentaram diferença significativa com a adição ou não de AFL nas dietas das matrizes de corte.

OLIVEIRA et al. (2002) indicam que os níveis de AFB1 estudados (25, 50 ou 100 µg de AFB1/kg) não alteram significativamente os parâmetros de gravidade específica dos ovos de codorna. Este fato foi observado, também, e em níveis significativos, por WASHBURN et al., (1985), trabalhando com galinhas poedeiras, com a concentração de 5 mg/kg de AFB1, verificaram à diminuição do tamanho do ovo, devido à menor formação de gema nas aves intoxicadas. Anteriormente, HAMILTON & GARLICH (1971) obtiveram resultados semelhantes, porém, não significativos, em aves expostas à ração contendo 1,25 – 20,0 mg/kg. HUFF et al. (1975) também não detectaram alterações significativas na percentagem do peso de casca dos ovos de galinhas poedeiras intoxicadas com doses de 1250 a 10000 µg/kg de AFL (AFB1 + AFB2 + AFG1 + AFG2).

**Tabela 15-** Efeito dos tratamentos sobre a percentagem (%) de casca em relação ao peso do ovo na 48<sup>a</sup>, 49<sup>a</sup> e 50<sup>a</sup> semanas de idade.

AFL	Semanas		
	48	49	50
000 ppb	14,11 ± 0,30	14,18 ± 0,27	14,41 ± 0,20
250 ppb	13,48 ± 0,13	14,38 ± 0,15	13,78 ± 0,24
500 ppb	13,76 ± 0,20	13,86 ± 0,17	13,84 ± 0,32
750 ppb	13,81 ± 0,29	14,16 ± 0,25	14,32 ± 0,24
Média	13,79	14,15	14,09
C.V. (%)	3,89	3,40	4,00
P	NS	NS	NS

**Tabela 16** - Efeito dos tratamentos sobre a percentagem (%) de casca em relação ao peso do ovo na 51<sup>a</sup>, 52<sup>a</sup> e 53<sup>a</sup> semanas de idade.

AFL	Semanas		
	51	52	53
000 ppb	13,47 ± 0,36	12,60 ± 0,13	12,53 ± 0,08
250 ppb	13,40 ± 0,15	12,61 ± 0,08	12,67 ± 0,08
500 ppb	13,25 ± 0,09	12,60 ± 0,11	12,44 ± 0,15
750 ppb	13,10 ± 0,22	12,29 ± 0,08	12,44 ± 0,12
Média	13,31	12,53	12,52
C.V. (%)	3,86	1,82	1,99
P	NS	NS	NS

Neste trabalho a fertilidade e a eclodibilidade dos ovos não sofreram qualquer efeito da adição de AFL na dieta de matrizes de corte, está de acordo com os resultados obtidos por HOWARTH & WYATT (1976), que alimentaram matrizes de corte com dietas contendo AFL nos níveis de 0, 5 e 10 µg/g por 4 semanas. Porém esses autores relatam que a fertilidade não foi afetada pelas dietas contendo AFL a eclodibilidade de ovos férteis decresceu significativamente dentro da primeira semana depois do início da alimentação com AFL. A taxa de eclodibilidade durante a primeira semana de aplicação dos tratamentos foi de 95,1; 68,9 e 48,5% para o controle, 5 e 10 ppm de AFL na dieta, respectivamente. De acordo com MILBRADT et al. (2001) a taxa e o peso de ovos incubáveis, a taxa de infertilidade e a taxa de eclosão não foram afetados pelo consumo de AFL, na concentração de 5 ppm.

Segundo SANTURIO (2000), a melhor explicação para os prejuízos na eclodibilidade de ovos férteis produzidos por aves que consumiram aflatoxinas está na transmissão dessas micotoxinas aos ovos. Aflatoxina B1 (AFB1) pode ser transmitida tanto para as gemas como para as claras. TRUCKSSES et al. (1983) encontraram AFB1, AFM1 e aflatoxicol nos ovos 24 horas após o início do consumo de ração contaminada. Portanto, é necessário salientar que, enquanto o índice postura é afetado somente 8 dias após o início da intoxicação, a

eclodibilidade começa a ser afetada 24 horas após o início do consumo de ração contaminada.

A mortalidade embrionária foi analisada semanalmente, não sendo observado nenhum efeito da adição de AFL na dieta de matrizes de corte sobre esse parâmetro. Segundo TSUKITA et al., 2001 a mortalidade embrionária na primeira e segunda semana de incubação dos ovos provenientes de aves alimentadas com 5 ppm de AFL não sofreu efeito pela intoxicação das aves, porém houve significância nos dados da mortalidade da terceira semana, com um acréscimo desta taxa em aves que consumiram AFL e DON concomitantemente. MILBRADT et al. (2001) relataram também que a mortalidade embrionária na terceira semana de intoxicação é afetada pelo consumo de dietas contendo AFL.

Neste trabalho foi evidenciado que o nível de 250 ppb de AFL na dieta não causou efeito negativo no percentual de pintos de primeira conforme Tabela 17. Porém os tratamentos que receberam 500 e 750 ppb de AFL na dieta apresentaram uma menor percentagem, evidenciando dessa forma o efeito residual das AFL. A possibilidade de transferência de AFL e seus metabólicos tóxicos aos ovos (TRUCKSSES et al., 1983) são um desafio a mais para os produtores.

Na análise dos pintos de segunda e refugos verifica-se um acréscimo marcante dos provenientes de matrizes de corte alimentadas com 500 e 750 ppb em relação aos demais ( $P = 0,0029$ ).

O peso médio dos pintos nascidos correspondente a postura da quarta semana de intoxicação das matrizes de corte encontra-se na Tabela 17. Pode-se observar que a adição de AFL nas dietas de matrizes de corte não influenciou significativamente o peso dos pintos, concordando com o trabalho conduzido por HOWARTH & WYATT (1976), onde esses autores citam que não houve efeito no peso de pintos nascidos, atribuído as dietas com AFL, a exceção de pintos nascidos de ovos coletados na terceira semana de aplicação dos tratamentos com aves alimentadas com 10 ppm de AFL na dieta, que tiveram significativamente reduzido o peso dos pintos de corte no primeiro dia (39,8g), enquanto o grupo

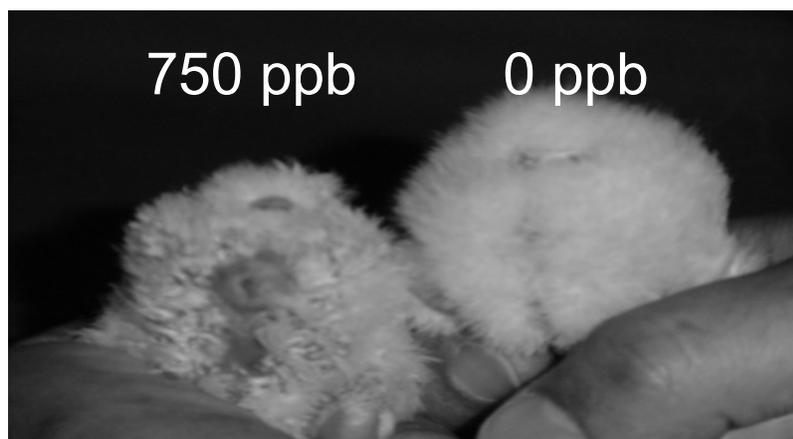
controle obteve peso médio de 41,5g e os pintos oriundos de matrizes de corte que receberam 5 ppm de AFL na dieta apresentaram peso médio de 42,4g.

**Tabela 17-** Efeito dos tratamentos sobre a percentagem de pintos de primeira, segunda e refugos e seus respectivos pesos.

AFL	Primeira		Segunda+ Refugos	
	%	Peso	%	Peso
<b>0 ppb</b>	72,86 ab	49,69	27,14 bc	48,91
<b>250 ppb</b>	83,69 a	49,97	16,31 c	49,02
<b>500 ppb</b>	54,39 c	50,75	45,61 a	49,14
<b>750 ppb</b>	59,85 bc	44,74	40,15 ab	51,70
<b>Média</b>	66,63	48,71	33,37	49,74
<b>CV</b>	12,39	11,17	24,74	5,83
<b>P</b>	0,0029	NS	0,0029	NS

a>b>c (P<0,05) - Teste de Tukey

Na Figura 2 demonstra-se o efeito residual negativo dos pintos provenientes de matrizes de corte que receberam 750 ppb de AFL na dieta sobre a qualidade dos pintos.



**Figura 2-** Efeitos dos tratamentos sobre a qualidade dos pintos no nascimento.

#### **4.1. Conclusões Parciais**

Conforme o demonstrado neste trabalho intoxicações à níveis de 250 a 750 ppb entre a 49<sup>a</sup> e a 53<sup>a</sup> semanas, não produziram efeitos significativos sobre a taxa de postura e peso corporal de matrizes de corte.

Matrizes de corte submetidas à dieta contendo 250 e 500 ppb de AFL tiveram parâmetros de incubação afetados negativamente.

### **5. Experimento 2: Teste de Progênie.**

---

#### **5.1. Local e Período**

Este experimento foi conduzido no Laboratório de Avicultura (LAVIC) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), no período de setembro a outubro de 2003.

#### **5.2. Instalações, Animais e Procedimentos**

O experimento foi conduzido em 3 baterias instaladas em um galpão experimental climatizado conforme Anexo 1. A climatização do ambiente foi feita por ar condicionado e por aquecedores de resistência, a temperatura foi controlada por um termostato e a umidade relativa do ar foi controlada por um higrômetro. As aves foram mantidas sob iluminação constante durante todo o período experimental.

Foram utilizados pintos de corte, machos, oriundos da linhagem Cobb 500, criados de 1 a 21 dias de idade. Os manejos foram comumente utilizados nesse tipo de teste, onde o alimento e a água foram fornecidos *ad libitum*.

Os pintos receberam a mesma dieta inicial, comprovadamente isenta de AFL.

### **5.3. Delineamento Experimental e Análise Estatística**

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com pintos provenientes de matrizes intoxicadas com (0; 250; 500 e 750 ppb de AFL na dieta), formando os quatro tratamentos com 8 repetições de 8 aves cada.

A análise estatística foi realizada pelo programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, 1996), onde os dados foram submetidos a análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey e submetidos a análise de regressão.

### **5.4. Parâmetros Avaliados**

Os parâmetros mensurados no final do período experimental foram:

- ❖ peso corporal
- ❖ ganho médio diário
- ❖ mortalidade
- ❖ conversão alimentar.

### **5.5. Tratamentos**

Os tratamentos utilizados foram os seguintes:

T1: pintos provenientes de matrizes arraçoadas com 0 ppb de AFL na dieta

T2: pintos provenientes de matrizes intoxicadas com 250 ppb de AFL na dieta

T3: pintos provenientes de matrizes intoxicadas com 500 ppb de AFL na dieta

T4: pintos provenientes de matrizes intoxicadas com 750 ppb de AFL na dieta

## **6. Resultados e Discussão**

Observou-se marcante efeito residual da AFL na alimentação da matriz de corte na progênie, pois, aos 7 dias de idade, verificou-se que em todos os níveis avaliados os pintos provenientes de matrizes que ingeriram dietas com AFL tiveram um menor peso corporal ( $P < 0,05$ ) e ganho médio diário (GMD) do que aqueles oriundos de matrizes não intoxicadas, conforme Tabela 18. O peso corporal (Tabela 18), consumo alimentar (Anexo 3) e a conversão alimentar (CA), aos 21 dias de idade, não foram afetados pelos tratamentos ( $P > 0,05$ ). Os

resultados de mortalidade de 1 a 21 dias (Tabela 19), demonstraram que pintos oriundos de matrizes não intoxicadas apresentaram uma menor mortalidade ( $P < 0,10$ ) quando comparados com pintos oriundos de matrizes que consumiram dietas contendo 750 ppb.

Segundo MARIANI (1998) o efeito de aflatoxina nos frangos foi maior na fase inicial de crescimento, ou seja, quando as aves ingeriram aflatoxina nos primeiros 21 dias de vida. O reflexo negativo sobre ganho de peso foi irreversível até o abate, aos 42 dias de idade. Normalmente questiona-se sobre que concentração de aflatoxina seria necessária para afetar o desempenho das aves. A resposta está diretamente relacionada com o nível de conforto das aves, ou seja, quanto maior o nível de estresse menor é a quantidade de toxina necessária para alterar o desempenho dos animais. Fatores como desbalanceamento nutricional, erros de manejo, temperaturas extremas, camas velhas, qualidade dos pintos alojados contribuem de maneira decisiva para que baixos níveis de aflatoxina na ração possam alterar o desempenho.

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 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, sobretudo por agentes virais e bacterianos, associados à exposição dos animais às rações contaminadas com aflatoxina.

GHOSH *et al.* (1990) observaram que 300 ppb de AFB<sub>1</sub> na ração de frangos de corte produz imunossupressão sem efeitos clínicos aparentes, podendo acarretar no plantel morbidades e/ou mortalidade por infecções secundárias.

A exposição do embrião a resíduos ou metabólitos de AFL via maternal pode influenciar no processo de maturação e diferenciação das células progenitoras, as quais são consideradas essenciais para o estabelecimento de

várias células de linhagem hematopoiética, bem como linfócitos e macrófagos (NICOLAS-BOLNET et al., 1995).

Os dados encontrados concordam plenamente com as observações feitas por QURESHI et al. (1998), que afirmaram que a ocorrência da transferência maternal de AFL para a progênie é óbvia e está altamente ligada a mortalidade elevada e de etiologia não explicada. Os eventuais problemas com mortalidade precoce de frangos de corte comumente observadas no campo, deve-se ao fato de ocorrer uma alta austeridade de infecções virais e bacterianas.

Estes autores afirmaram que certamente, a presença de AFL e seus metabólitos em ovos incubáveis podem resultar uma progênie de má qualidade, concordando com os dados achados nesse trabalho, no qual ocorreu uma alta mortalidade de frangos de corte oriundos de matrizes de corte que consumiram AFL.

HOWARTH & WYATT (1976), avaliaram pintos produzidos por matrizes de corte alimentadas com dieta contendo 10 ppm de AFL no período de três semanas, não obteve em duas semanas de avaliação da progênie diferenças significativas na mortalidade, conversão alimentar e ganho de peso.

Nesse trabalho o peso corporal e ganho médio diário foram influenciados na primeira semana das aves, sendo que o tratamento testemunha obteve um melhor desempenho nestes parâmetros em relação aos outros tratamentos. Porém, aos 21 dias de idade, não foi observado nenhuma diferença estatística. Esses resultados observados podem ser relacionados com a rápida eliminação da AFL e seus metabólitos, que segundo LEESON *et al.*, (1995) 28% da dose é eliminada na excreta em 24 horas enquanto que 71% da dose é eliminada em 7 dias.

GIAMBRONE et al. (1985a) alimentaram frangos de corte por 35 dias, com rações contendo diferentes níveis de AFB1, e observaram redução no ganho de peso e alterações histológicas no fígado, apenas nas aves que receberam diariamente rações com aflatoxina acima de 500 ppb. Contudo, em outro experimento, GIAMBRONE et al. (1985b) não constataram sinais de aflatoxicose em frangos alimentados com níveis até 800 ppb de AFB 1 por 5 semanas, porém perus submetidos aos mesmos tratamentos revelaram, além de baixos índices de

ganho de peso e de conversão alimentar, um aumento na morbidade por causas variadas e na mortalidade. Os autores concluíram que níveis na ração de até 66 ppb de AFB1 são seguros na alimentação de frangos e perus. Os resultados obtidos por KAN et al. (1989) corroboram essa afirmativa, pois ao alimentarem frangos de corte com rações contendo 50 e 100 ppb de AFB1, não observaram nenhuma diferença entre os tratamentos quando comparados com o grupo controle.

Por outro lado, DOERR et al. (1983) realizaram dois experimentos com frangos de corte, submetendo-os à intoxicação em condições semelhantes às criações convencionais (densidade de 0,074 m<sup>2</sup>/ave). No experimento 1 encontraram significativa redução no peso vivo e eviscerado dos animais expostos a rações contendo níveis de 75, 225 e 675 ppb de AFL, quando comparado ao grupo controle. Porém, no experimento 2, efetuado sob as mesmas condições do experimento 1, não houve diminuição significativa no peso vivo dos animais recebendo rações contaminadas com 300 e 900 µg/kg de aflatoxinas. Os autores ressaltaram que, quando frangos de corte são alojados e manejados de maneira semelhante aos aviários comerciais, torna-se difícil prever um nível seguro de contaminação na ração, devido aos vários efeitos ambientais capazes de produzir estresse nos animais, os quais podem potencializar os efeitos da aflatoxina.

As análises de regressão mostraram efeito linear significativo dos níveis de AFL sobre os valores avaliados de peso médio aos 7 dias de idade (P=0,0092), ganho médio diário de 1-7 dias de idade (P=0,0074), mortalidade aos 7 dias de idade (P=0,0041) e mortalidade aos 21 dias de idade (P=0,0039).

**Tabela 18** - Efeitos dos tratamentos (AFL) sobre o peso corporal (PC) e ganho médio diário (GMD) de progênie de matrizes de corte que consumiram AFL da 49-53ª semana de idade.

AFL	PC (g)		GMD (g)	
	7 dias	21 dias	1 a 7 dias	1 a 21 dias
<b>0 ppb</b>	142,19 a	730,42	13,36 a	35,88
<b>250 ppb</b>	134,76 b	747,01	12,14 b	36,70
<b>500 ppb</b>	132,57 b	742,96	11,76 b	36,48
<b>750 ppb</b>	131,83 b	732,36	11,81 b	35,96
<b>Média</b>	135,34	738,19	12,27	36,26
<b>CV</b>	5,93	6,26	9,39	6,71
<b>P</b>	0,0404	NS	0,0197	NS

a>b (P<0,10) - Teste de Tukey

**Tabela 19** - Efeitos dos tratamentos (AFL) sobre a conversão alimentar (CA) e Mortalidade de progênie de matrizes de corte que consumiram AFL da 49-53ª semana de idade.

AFL	CA		Mortalidade (%)	
	7 dias	21 dias	1 a 7 dias	1 a 21 dias
<b>0 ppb</b>	0,86	1,33	1,85 b	1,85 b
<b>250 ppb</b>	0,85	1,29	6,67 ab	7,90 ab
<b>500 ppb</b>	0,88	1,29	9,75 ab	11,67 ab
<b>750 ppb</b>	0,87	1,24	15,78 a	15,78 a
<b>Média</b>	0,86	1,29	8,51	9,30
<b>CV</b>	31,73	8,52	115	105
<b>P</b>	NS	NS	0,0871	0,0934

a>b (P<0,05) - Teste de Tukey

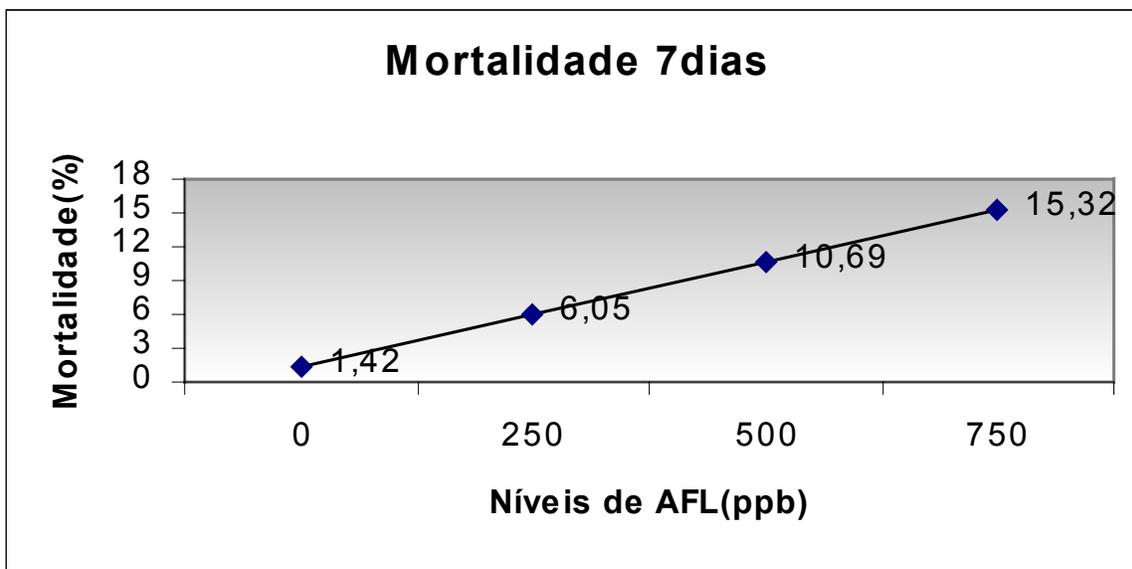


Figura 1 Mortalidade em função dos níveis de AFL

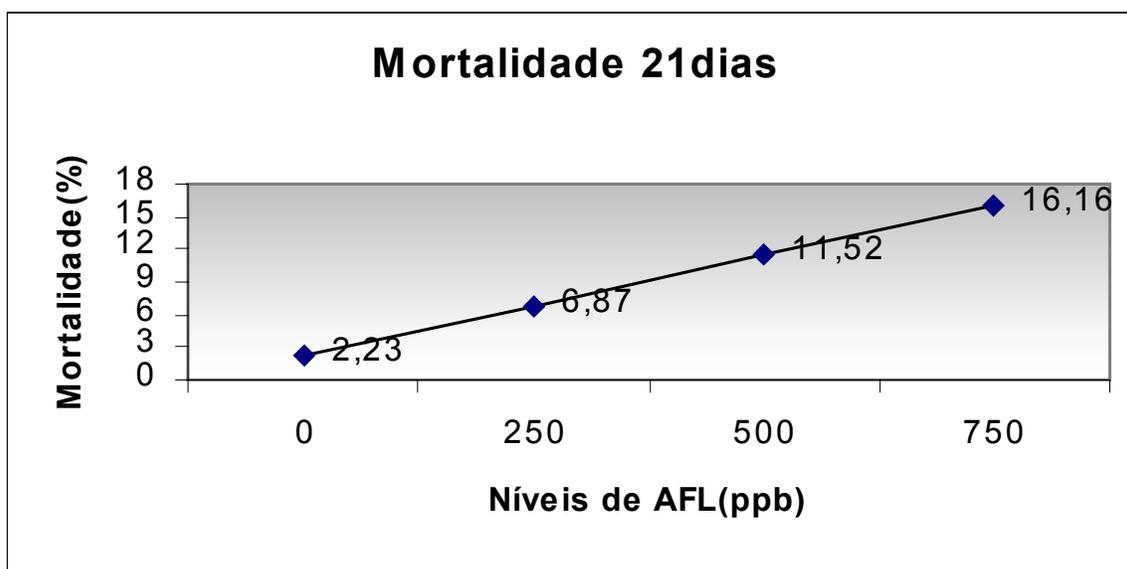


FIGURA 2. Mortalidade em função dos níveis de AFL

Observa-se na Figura 3 e Figura 4, que os níveis de AFL utilizados afetaram significativamente a mortalidade de frangos de corte ( $P < 0,05$ ), observando um efeito linear para mortalidade de 1-7 e 1-21 dias de idade, segundo as equações de regressão:  $\hat{Y}_{ij} = 1,418996 + 18,534323 \cdot \text{AFL}$  e  $\hat{Y}_{ij} = 2,229214 + 18,573166 \cdot \text{AFL}$ , respectivamente.

## **6.2. Conclusões Parciais**

Com base nos resultados obtidos pode-se observar que os pintos provenientes de matrizes intoxicadas apresentaram uma menor qualidade, refletindo-se em um menor peso corporal aos 7 dias de idade.

A mortalidade de pintos aos 7 e 21 dias de idade apresentou uma relação direta e linear com os níveis crescentes de AFL fornecidas as matrizes de corte.

## **7. CONCLUSÕES GERAIS**

A ingestão de AFL pela matriz de corte afeta drasticamente a qualidade da progênie.

Rações contendo até 750 ppb de AFL não causam prejuízos no desempenho produtivo de matrizes de corte, no período aplicado.

A dosagem de 750 ppb de AFL para matrizes de corte durante quatro semanas foi capaz de promover aumento significativo na mortalidade da progênie de 1 a 21 dias de idade.

Níveis de 250 e 500 ppb de AFL na dieta de matrizes de corte, durante 4 semanas consecutivas, afeta negativamente a qualidade de suas progênie.

O peso corporal, consumo alimentar e a conversão alimentar da progênie, aos 21 dias de idade, não foram afetados pela ingestão de AFL pelas matrizes por um período de 4 semanas.

Neste trabalho a fertilidade e a eclodibilidade dos ovos não sofreram qualquer efeito da adição de AFL na dieta de matrizes de corte.

A adição de AFL nas dietas de matrizes de corte, nos níveis estudados, não afetou o peso dos ovos, percentagem de gema, albúmen e casca em relação ao peso do ovo, em nenhuma das semanas estudadas.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIEHL, M.L. & BUCK, W.B. Chemical contaminants: their metabolism and their residues. *J. Food Protec.*, 50: 1058-73, 1987.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria MA/SNAD/SFA nº 7 de 9 de novembro de 1988. *Diário Oficial da União*, 9 de novembro de 1988. Sec. I, p. 21.968.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 274, da ANVISA, de 15 de outubro de 2002. *Diário Oficial da União*, 16 de outubro de 2002.

BRESSAC, B.; KEW, M.; WANDS, J.; OZTURK, M. Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. *Nature*, 350: 429-31, 1991.

CARNAGHAN, R.B.A.; HARTLEY, R.D.; O'KELLY, J. Toxicity and fluorescence properties of aflatoxins. *Nature*, v. 200, n. 4911, p. 1101-1102, 1963.

CHU, F.S. Mycotoxins; food contamination, mechanism, carcinogenic potencial and preventive measures. *Mutat. Res.*, v.259, p. 291-306, 1991.

COULOMBE, R.M.A; CORRÊA, B.; XAVIER, J.G; MALLOZZI, M.A.B.; GAMBALE, W.; PAULA, C.R. Acute effect of aflatoxin B1 on different inbred mouse strains II. *Mycopathologia*, v.133, p.23-29, 1991.

DAFALLA, R., YAGI, A.I. and ADAM, S.E.I.;1987. experimental aflatoxicosis in Hybro-type chicks: sequential changes in growth and serum constituents and histopatological changes. *Vet. Hum. Toxicol.* 29:222-226

DOERR, J.A.; HUFF, W.E.; WABECK, C.J.; CHALOUPKA, G.W.; MAY, J.D.; MERKLEY, J.W. Effects of low level chronic aflatoxicosis in broiler chickens. Poultry Science, v.62, p.1971-1977, 1983.

FONSECA, H. Legislação sobre Micotoxinas. Piracicaba 2003. disponível em <http://www.micotoxinas.com.Br/legisla.html>.

FORRESTER, L.M.; NEAL, G.E.; JUDAH, D.J.; GLANCEY, M.J.; WOLF, C.R. Evidence for involvement of multiple forms of cytochrome P-450 in aflatoxin B1 metabolism in human liver. Proc. Natl. Acad. Sci., 87: 8306-10, 1990.

GIAMBRONE, J.J., DIENER, U.L., DAVIS, N.D., PANANGALA, V.S., HOERR, F.J. Effects of purified aflatoxin on broiler chickens. Poultry Science 64:852-858, 1985a.

GIAMBRONE, J.J.; DIENER, U.L.; DAVIS, N.D.; PANANGALA, V.S.; HOERR, F.J. Effects of aflatoxin on young turkeys and broiler chickens. Poultry Science, v.64, p.1678-1684, 1985b.

GHOSH, R.C., CHAUHAN, H.V.S., ROY, S. Immunosuppression in broilers under experimental aflatoxicosis. Br. Vet., J., v. 146, p. 457-462, 1990.

HAMILTON, P. B., and GARLICH, J. D. Aflatoxin as a possible cause of fatty liver syndrome in laying hens. Poultry Science 50:800-804, 1971

HARLAND, E.C. & CARDEILHAC, P.T. Excretion of carbon-14 labeled aflatoxin B1 via bile, urine and intestinal contents of the chicken. Am. J. Vet. Res.36:909-912,1975

HAYES, J.D.; JUDAH, D.J.; MCLELLAN, L.I.; NEAL, G.E. Contribution of the glutathione-S-transferases to the mechanisms of resistance to aflatoxin B1. *Pharmacol. Ther.*, 50: 443-72, 1991.

HOWARTH B., J.R. and WYATT R. D. Effect of Dietary Aflatoxin on Fertility, Hatchability and Progeny Performance of Broiler Breeder Hens. *Applied and Environmental Microbiology*, May p. 680-684, 1976.

HSIEH, D.P.H.; ATKINSON, D.N. Bisfuranoid mycotoxins: their genotoxicity and carcinogenicity. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 283: 525-32, 1991.

HUFF, W.E.; WYATT, R.D.; HAMILTON, P.B. Effects of dietary aflatoxin on certain egg yolk parameters. *Poultry Science*, 54:2014-2018, 1975.

HUSSEIN, H.S. & BRASEL, J.M.; Review: toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, v.167, n.2, p. 101-1374, 2001.

JACOBISON, R.J. & WISEMAN, H.G. 1974. The transmission of aflatoxin B1 into eggs. *Poultry Science*, 53:1743-1745

JOHRI, T.S.; RASHMI, A.; SADAGOPAN, V.R. Effect of low dietary levels of aflatoxin on laying quails (*Coturnix coturnix japonica*) and their response to dietary modifications. *Indian J. Animal Science*, v.60, p.355-359, 1990.

KAN, C.A.; RUMP, R.; KOSUTZKY, J. Low level exposure of broilers and laying hens to aflatoxin B 1 from naturally contaminated corn. *Arch. Gefluegelkd.*, v.53, p.204-206, 1989.

KURTZMAN C.P., HORN B.W., HESSELTINE C.W. *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*. *Antonie Leeuwenhoek*; 53: 147-158, 1987.

LEESON, S., DIAZ, G. J. and SUMMERS, J. D. *Poultry Metabolic Disorders and Mycotoxins*. University Books, Guelph, Ontario. p. 249-280, 1995.

MARIANI, GVC. Efeito de aflatoxinas sobre o desempenho produtivo de frangos de corte em diferentes períodos de desenvolvimento corporal. [Dissertação]. Santa Maria (RS): Universidade Federal de Santa Maria; 1998.

MARQUES, D. *Fundamentos Básicos de Incubação Industrial*. p. 38-43, 1994.

MICCO, C.; MIRAGLIA, M.; ONORI, R.; BRERA, C.; MANTOVANI, A. L.; IOPPOLO, A.; STASOLLA, D. Long-term administration of low doses of mycotoxins to poultry. 1. Residues of aflatoxin B 1 and its metabolites in broilers and laying hens. *Food Addit. Contam.*, v.5, p.303-308, 1988.

MILBRADT, E., ROSA, A. P., MALLMANN, C. A., JASKULSKI, R.W., TSUKITA, M.H.T. Efeito da Aflatoxinas obre o desempenho Reprodutivo de Matrizes de Corte. In: Fundação Apinco de Ciências e Tecnologia Avícolas. p. 72, 2001.

MOSS, M.O. *Micotoxins*. *Mycol. Res.* 100:513-523, 1998.

MUTHIAH, J.; REDDY, P.R.; CHANDRAN, N.D.J. Effect of graded levels of aflatoxin B1 and the effect of direct fed microbials (DFM) on egg production in egg type breeders. *Indian Vet. J.*, v.75, p.231-233, 1998.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Nutrients requirements of poultry*. 9 ed. Washington D.C.: National Academy of Sciences, 1994.

NICOLAS BOLNET, C., QUERESHI M.A., CIESZYNSKI J.A. AND TAYLOR, J.R.  
R.L Avian hematopoiesis in response to avian cytokines. Poultry Science  
74:1970-1976, 1995.

OLIVEIRA, C.A.F.; ROSMANINHO, J.F.; BUTKERAITIS, P.; CORREA, B.; REIS,  
T.A.; GUERRA, J.L.; ALBUQUERQUE, R.; MORO, M.E.G. Effect of low levels  
of dietary Aflatoxin B1 on laying Japanese quail. Poultry Science, v. 81, n. 7, p.  
976-980, 2002.

OLIVEIRA, C.A.F.; ALBUQUERQUE, R.; CORREA, B.; KOBASHIGAWA, E.;  
REIS, T.A.; FAGUNDES, A.C.A.; LIMA, F.R. Produção e Qualidade dos ovos  
de poedeiras submetidas à intoxicação prolongada com aflatoxina B1.  
Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo, v.68, n.2, p.1-4, 2001.

OLIVEIRA, C.A.F.; REIS, T.A.; ALBUQUERQUE, R.; GUERRA, J.L.; CORREA, B.  
Hepatic lesions in laying hens chronically exposed to rations containing  
different levels of aflatoxin B 1. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.66, p.39-43, 1999.

OSBORNE, D.J. & HAMILTON, P.B. 1981 Decreased pancreatic enzymes during  
aflatoxicosis. Poultry Science, 60:1818-1821

OPAS, Micotoxinas. Criterios de Salud Ambiental, 11. Washington, p. 131. 1983

OSBORNE, D.J., HUFF, W.E., HAMILTON, P.B. and BURTMEISTER, H.R.;  
Comparison of ochratoxin, aflatoxin, and T-2 toxin for their effects on selected  
parameters related to digestion and evidence for specific metabolism of  
carotenoids in chickens. Poultry Science 61:1646-1652, 1982.

PESTKA, J.J. & BONDY, G.S. Alteration of immune function following dietary  
mycotoxin exposure. Can. J. Physiol. Pharmacol., .68:1009-1016, 1990.

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

POTCHINSKY, M. A. and BLOOM, S. E. Selective aflatoxin B1-induced sister chromatid exchanges and cytotoxicity in differentiating B and T lymphocytes in vivo. *Environ. Mol. Mutagen.* 21:87-94, 1993.

PUISIEUX, A.; LIM, S.; GROOPMAN, J.; OZTURK, M. Selective targeting of p53 gene mutational hotspots in human cancers by etiologically defined carcinogens. *Cancer Res.*, 51: 6185-9, 1991.

QUEZADA, T.; CUELLAR, H.; JARAMILLO-JUAREZ, F.; VALDIVIA, A.G.; REYES, J.L. Effects of aflatoxin B1 on the liver and kidney of broiler chickens during development comparative biochemistry and physiology, *Parc* 125, n.3, p. 265-272, 2000.

QURESHI, M.A., BRAKE, J., HAMILTON, P.B., HAGLER, J.R. and NESHEIM, S. Dietary Exposure of Broiler Breeders to Aflatoxin Results in Immune Dysfunction in Progeny Chicks. *Poultry Science* 77:812-819, 1998.

RAMOS A.J., HERNANDEZ E. In situ absorption of aflatoxins in rat small intestine. *Mycopathologia* 134:27-30, 1996.

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, M. (Ed.). *Mycotoxins and phycotoxins in perspective at the turn of millennium*. Wageningen, The Netherlands: W.J. de Koe, p. 309-320, 2001.

ROSA, A. P., MALLMANN, C. A., TSUKITA, M. H. T., JASKULSKI, R.W., MILBRADT, E. Desempenho Produtivo de Matrizes de Corte Submetidas a

Intoxicação por Aflatoxina e Deoxynivalenol. In: Fundação Apinco de Ciências e Tecnologia Avícolas. p. 73, 2001.

ROSMANINHO, J.F., OLIVEIRA, C.A.F., BITTENCOURT, A.B.F. Efeitos das Micotoxicoses Crônicas na Produção Avícola. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v. 68, n.2, p.107-114, 2001.

RUSTOM, I.Y.S. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. Food Chemistry, v. 59, n. 1, p. 57-67, 1997.

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, n. 1-2, p. 81-85, 1988.

SANTIN, E. Doença das aves. FACTA 2000; 6:379-388

SANTURIO, JM, MALLMANN, C.A., ROSA, A.P., APPEL, A., HEER, A., DAGEFORDE, S. AND BOTTCHEER, M. Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxins. British Poultry Science 40:115-119, 1999.

SANTURIO, J. M. Micotoxinas e Micotoxicoses na Avicultura. Revista Brasileira de Ciência. Avícola, vol.2, no.1, p.01-12, 2000.

SAS Institute Inc. (1996) SAS User's Guide: Statistics, rev. 6. 12 th. SAS Institute Inc., Cary, NC.

SAWHNEY D.S, VADEHRA D.V., BACKER R.C. The metabolism of C aflatoxins in laying hens. Poltry Science, 72:282-288, 1993.

SCHAEFFER, J.L.; HAMILTON, P.B. Interactions of micotoxins with feed ingredients. Do safe levels exist? In: Mycotoxins and Animal foods. Smith J.E. and Henderson, R.S. Ed. CRC Press, Chapter 37, p.827-843, 1991.

SCUSSEL, V.M., 1998, Micotoxinas em alimentos , Ed. Insular, Florianópolis, SC. 144p.

SMITH T.W. & HAMILTON P.B. Aflatoxicosis in the broiler chicken. Poultry Science; 49: 207-15, 1970.

TERAO, K. & UENO, Y. Morphological and Functional damage to cells and tissues. In: URAGUCHI, K.; YAMAZAKI, M. Toxicology, biochemistry and pathology of mycotoxins. New York: Wiley, p. 189-210, 1978.

TOOD, L. A., and BLOOM, S. E., Differential induction of sister chromatid exchanges by indirect-acting mutagenic carcinogens at early and late stages of embryonic development. Environ. Mutagem. 2:435-445, 1980.

TRUCKSES, M.W, STOLOFF, L., YOUNG, K, Wyatt, R.D, MILLER B.L. Aflatoxicol and aflatoxins B1 e M1 in eggs and tissues of laying hens consuming aflatoxin-contaminated feed. Poultry Science; 62: 2176-82, 1983.

TSUKITA, M.H.T., MALLMANN, C.A., ROSA, A.P., JASKULSKI, R.W., MILBRADT, E. Efeitos Individuais e Combinados da Aflatoxina e Deoxinivalenol sobre o Desempenho Reprodutivo de Matrizes de Corte In: Fundação Apinco de Ciências e Tecnologia Avícolas. p. 71, 2001.

TYCZKOWSKI, J.K. AND P.B HAMILTON, Altered metabolism of carotenoids during aflatoxicosis in young chickens. Poultry Science 66:1184-1188, 1987.

VIEIRA, S. L., Simpósio internacional sobre Micotoxinas e Micotoxicoses em aves.  
p. 65-80, 1995.

VIQUEZ, O.M.; PERES, M.E.C.; SHELBY, R.A.; BROWN, G. Aflatoxin contamination in corn samples due to environmental conditions, aflatoxin-producing strains, and nutrients in grain grown in Costa Rica. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 42, n. 11, p. 2551-2555, 1994.

WASHBURN, K.W.; WYATT, R.D.; POTTS, P.L.; LANZE, G.M. Effects and mechanism of aflatoxin variation in shell strength. *Poultry Science.*, v.64, p.1302-1305, 1985.

WOGAN, G.N. Aflatoxin carcinogenesis: interspecies potency differences and relevance for human risk assessment. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 374: 123-37, 1992.

WYATT, R D. POULTRY. IN: SMITH, J.E. & HENDERSON, R.S. *Mycotoxins and Animal Foods*. p. 553-605, 1991.

## **ANEXOS**

## Anexo 1- CONTROLE DE TEMPERATURA

<b>DIA</b>	<b>MÁXIMA</b>	<b>MÍNIMA</b>
01	30	25
02	29	26
03	27	26
04	30	27
05	29	24
06	28	26
07	30	26
08	30	27
09	27	21
10	29	21
11	26	22
12	27	24
13	27	20
14	23	22
15	24	21
16	24	21
17	25	22
18	21	22
19	23	20
20	22	20
21	23	19

**Anexo 2- Baterias utilizadas no teste de progênie.**



**Anexo 3-** Efeitos dos tratamentos sobre o consumo alimentar de frangos de corte oriundo das matrizes de corte alimentadas com AFL.

**Tabela 20-** Efeitos dos tratamentos (TRT) sobre o consumo alimentar (CO).

TRT	Semanas	
	1 a 7 dias	8 a 21 dias
T1	123,06 ± 6,57	969,01 ± 24,8
T2	114,39 ± 3,06	961,93 ± 22,3
T3	116,67 ± 7,79	958,39 ± 30,6
T4	111,80 ± 15,1	912,48 ± 47,2
Média	116,48	950,45
C.V. (%)	5,68	5,53
P	NS	NS