

UFRRJ

INSTITUTO DE VETERINÁRIA

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

DISSERTAÇÃO

**Eficácia de aditivo anti-micotoxina à base de
parede celular de levedura em leitões
intoxicados com duas concentrações de
zearalenona**

**DANIELLE FABIÃO GOMES MOREIRA
LEITÃO**

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

EFICÁCIA DE ADITIVO ANTI-MICOTOXINA À BASE DE PAREDE
CELULAR DE LEVEDURA EM LEITOAS INTOXICADAS COM DUAS
CONCENTRAÇÕES DE ZEARALENONA

DANIELLE FABIÃO GOMES MOREIRA LEITÃO

Sob a Orientação do Professor

Carlos Alberto da Rocha Rosa

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau em **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Sanidade Animal.

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2014

636.4
L533e
T

Leitão, Danielle Fabião Gomes Moreira, 1988-
Eficácia de aditivo anti-micotoxina à base de
parede celular de levedura em leitoas intoxicadas
com duas concentrações de zearalenona / Danielle
Fabião Gomes Moreira Leitão – 2014.
35 f. : il.

Orientador: Carlos Alberto da Rocha Rosa.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação
em Ciências Veterinárias.
Bibliografia: f. 31-35.

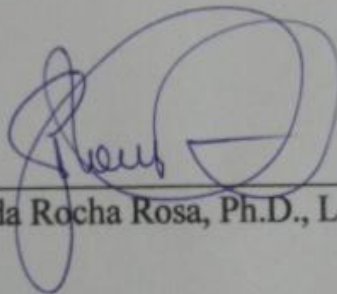
1. Suíno – Teses. 2. Suíno – Doenças – Teses. 3.
Suíno – Alimentação e rações – Teses. 4.
Micotoxinas – Teses. 5. *Saccharomyces cerevisiae* –
Teses. I. Rosa, Carlos Alberto da Rocha, 1953-. II.
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

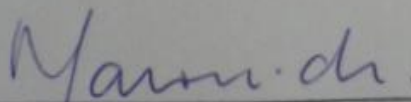
DANIELLE FABIÃO GOMES MOREIRA LEITÃO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, na área de concentração em Sanidade Animal.

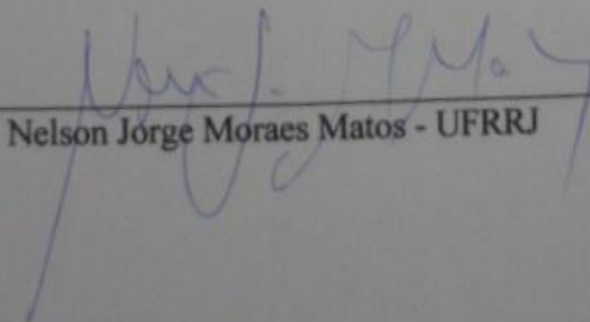
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26 / 2 / 2014



Carlos Alberto da Rocha Rosa, Ph.D., L.D. – UFRRJ



Marcos Aronovich - PESAGRO-RJ



Nelson Jorge Moraes Matos - UFRRJ

RESUMO

LEITÃO, Danielle Fabião Gomes Moreira. **Eficácia de aditivo anti-micotoxina à base de parede celular de levedura em leitoas intoxicadas com duas concentrações de zearalenona.** 2014. 35 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

A suinocultura se consolidou como uma importante fonte de renda para o Brasil, onde a produção e a exportação da carne suína pelo Brasil ocupa o quarto lugar no ranking mundial. Portanto, qualquer agravo a sanidade dos animais afeta negativamente a produção de carne, trazendo muitos prejuízos aos produtores, às indústrias e a economia. Neste contexto, as micotoxinas, que podem estar presentes em grãos e cereais, representam um problema mundial para a saúde dos suínos e demais animais de produção, causando efeitos deletérios a saúde dos que a consomem. Micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por alguns fungos filamentosos, que crescem naturalmente em grãos e cereais. A zearalenona (ZEA) é uma micotoxina, produzida principalmente por *Fusarium graminearum*, sendo a espécie suína a mais sensível a este metabólito secundário. A ZEA causa uma série de problemas de ordem reprodutiva, estando relacionada ao hiperestrogênismo em leitoas. Medidas preventivas que impeçam o crescimento fúngico nem sempre são eficientes, sendo necessário o uso de aditivos anti-micotoxinas (AAM), que são produtos adicionados a ração, capazes de adsorver, biotransformar ou neutralizar as micotoxinas, impedindo o desenvolvimento da micotoxicose. A parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* virou foco de inúmeros estudos, sendo utilizada como AAM, pois possui alta capacidade de ligação, e de adsorção às micotoxinas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de AAM à base de parede celular de levedura (PCL) em leitoas pré-púberes experimentalmente intoxicadas por ZEA. Foram utilizadas 36 leitoas pré-púberes da linhagem Topigs. A ZEA purificada foi acrescida em proporção conveniente a fim de se obter a concentração de 0,6 mg/kg e 0,25 mg/Kg de ZEA na ração. Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso, sendo os tratamentos constituídos por: T01 (dieta sem ZEA ou dieta base – DB) e T02 (DB + 0,2% de AAM), T03 (DB + 0,25 mg/Kg de ZEA) e T04 (DB + 0,25 mg/Kg de ZEA+ 0,2% de AAM), T05 (DB + 0,6 mg/Kg de ZEA) e T06 (DB + 0,6 mg/Kg de ZEA+ 0,2% de AAM). O período experimental foi de 21 dias. Foram calculados o peso vivo, conversão alimentar, ganho de peso, consumo de ração, volume vulvar, pesos relativos de fígado, trato reprodutivo total, conjunto útero-ovário-vagina e comprimento do trato reprodutivo. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas para os parâmetros zootécnicos, peso vivo e conversão alimentar, porém houve diferença para os parâmetros reprodutivos. As leitoas do T05 e T06 obtiveram as maiores médias relacionadas ao volume vulvar e peso do trato reprodutivo. Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos para o peso relativo do fígado. A ZEA mostrou grande capacidade estrogênica nestas concentrações. O AAM foi eficaz na concentração de 0,25 mg/Kg de ZEA, porém não produziu o efeito anti-micotoxina desejado na concentração de 0,6 mg/Kg de ZEA, por provável saturação da molécula adsorvente.

Palavras chaves: micotoxina, adsorvente, *Saccharomyces cerevisiae*, suínos

ABSTRACT

LEITÃO, Danielle Fabião Gomes Moreira. **Effectiveness of anti-mycotoxin additives based on cell wall of yeast in gilts intoxicated with two concentrations of zearalenone**. 2014. 35 p. Dissertation (Master's Degree in Veterinary Sciences, Animal Health) Veterinary Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

The pig industry has consolidated itself as an important source of income for Brazil, where production and export of pork in Brazil ranks fourth in the world rankings. Therefore, any injury to health of animals negatively affects the production of meat, bringing many losses to producers, industries and the economy. In this context, the mycotoxins that may be present in grains and cereals represent a global health problem of pigs and other farm animals, causing deleterious effects to health of those who consume. Mycotoxins are secondary metabolites produced by certain fungi filaments that grow naturally in grains and cereals. Zearalenone (ZEA) is a mycotoxin produced mainly by *Fusarium graminearum*, swine are more sensitive to this secondary metabolite. The ZEA causes a lot of problems in the reproductive tract, being related to the hyperestrogenism in gilts. Preventive measures to prevent fungal growth are not always effective, the use of anti-mycotoxin additives (AMA), which are added to food products, capable of adsorbing, or neutralizing biotransform mycotoxins, preventing the development of mycotoxicosis are required. The cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* has become the focus of numerous studies and is used as AMA, because it has high binding capacity, and adsorption of mycotoxins. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of AMA based on the cell wall of yeast (PCL) in prepubertal gilts experimentally intoxicated by ZEA. 36 prepubertal gilts of Topigs strain were used. The purified ZEA was added in suitable proportion to achieve the concentration of 0.6 mg/kg and 0.25 mg/kg ZEA in feed. We used the design in randomized blocks, with treatments consisting of: T01 (diet without ZEA or base diet-DB) and T02 (BD + 0.2% AAM), T03 (BD + 0.25 mg/kg ZEA) and T04 (BD + 0.25 mg/kg ZEA + 0.2% AAM), T05 (BD + 0.6 mg/kg ZEA) and T06 (BD + 0.6 mg/kg ZEA + 0.2% of AAM). Were calculated body weight, feed conversion, weight gain, feed intake, vulvar volume, relative weights of liver, total reproductive tract, uterus-ovarian-vagina set and reproductive tract length. No statistically significant differences in the performance parameters, body weight and feed conversion were observed, but there was a difference in reproductive parameters. Gilts of T05 and T06 had the highest average related to vulvar volume and weight of the reproductive tract. There was no statistically significant difference between treatments for the relative liver weight. The ZEA showed great ability in these estrogen concentrations. The AMA was effective at a concentration of 0.25 mg/kg ZEA, but did not produce the desired effect at the concentration of 0.6 mg/kg ZEA, probably due to saturation of the adsorbent molecule.

Key words: mycotoxin, adsorption, *Saccharomyces cerevisiae*, swines

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Exportação mundial de carne suína (1000 toneladas).....	4
Tabela 2	Produção mundial de carne suína (1000 toneladas).....	5
Tabela 3	LMT para micotoxinas, com aplicação em janeiro de 2014.....	9
Tabela 4	LMT para micotoxinas, com aplicação em janeiro de 2016.....	10
Tabela 5	Composição química (%) do concentrado de manano-oligossacarídeos.....	19
Tabela 6	Composição da dieta utilizada durante o período experimental (fase de creche).....	21
Tabela 7	Efeito dos tratamentos sobre o peso vivo ao 1º, 7º, 14º e 21º dia de experimento.....	24
Tabela 8	Efeito dos tratamentos sobre o ganho de peso ao 1º, 7º, 14º e 21º dia de experimento.....	25
Tabela 9	Efeito dos tratamentos sobre o consumo de ração ao 1º, 7º, 14º e 21º dia de experimento.....	25
Tabela 10	Efeito dos tratamentos sobre a conversão alimentar ao 1º, 7º, 14º e 21º dia de experimento.....	26
Tabela 11	Efeito dos tratamentos sobre o volume vulvar ao 7º, 14º e 21º dia de experimento.....	27
Tabela 12	Efeito dos tratamentos sobre o peso relativo de órgãos ao 21º dia de experimento.....	28
Tabela 13	Efeito dos tratamentos sobre o comprimento do trato reprodutivo ao 21º dia de experimento.....	29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Microscopia ótica de esporos de <i>F. graminearum</i>	7
Figura 2	Fatores relacionados ao crescimento fúngico e a produção de micotoxina.....	8
Figura 3	Estrutura química da Zearalenona.....	11
Figura 4	Estrutura química dos metabólitos da ZEA: a) α zearalenol e b) β zearaleno.....	12
Figura 5	Esquematização dos componentes da parede celular <i>S. cerevisiae</i>	15
Figura 6	<i>Fusarium graminearum</i> cultivado em Placa de Petri.....	17
Figura 7	Arroz com esporos de <i>F. graminearum</i>	17
Figura 8	Esquematização da purificação do extrato contendo a micotoxina.....	18
Figura 9	Misturador mecânico tipo “Y”.....	18
Figura 10	Galpão do ensaio <i>in vivo</i>	19
Figura 11	Fêmeas alojadas nas baias.....	20
Figura 12	Pesagem das leitoas, realizada em balança digital eletrônica.....	22
Figura 13	Volume vulvar, obtido através da multiplicação da altura, largura e profundidade da vulva.....	23
Figura 14	Morfologia vulvar das leitoas submetidas aos diferentes tratamentos no 21º dia de experimento.....	27

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Hipótese	1
1.2 Objetivo geral	2
1.3 Objetivos específicos	2
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Suinocultura no Brasil	3
2.2 Fungos	5
2.2.1 <i>Fusarium</i>	6
2.3 Micotoxinas	7
2.4 Zearalenona	11
2.5 Aditivo Anti-Micotoxina	14
2.6 Estudos preliminares	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Produção do núcleo de contaminação por ZEA	17
3.2 Extração e quantificação da ZEA	18
3.3 Contaminação da ração experimental	18
3.4 AAM	19
3.5 Local do experimento	19
3.6 Unidades experimentais	20
3.7 Delineamento experimental	20
3.8 Manejo	20
3.9 Dieta	21
3.10 Abate	21
3.11 Parâmetros analisados	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5 CONCLUSÕES	30
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1 INTRODUÇÃO

A suinocultura é um ramo da agropecuária que vem se destacando nas últimas décadas no Brasil. O seu crescimento ocorreu devido à introdução da suinocultura moderna, sendo este um novo sistema de produção com avanços tecnológicos nas áreas de genética, nutrição, sanidade e manejo, os quais possibilitaram a instalação de uma indústria altamente eficiente e competitiva em todo o mundo, particularmente no Brasil. Em um sistema com elevado grau de tecnificação, tal como ocorre na suinocultura 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 os fungos e as micotoxinas, as quais acarretam perdas consideráveis às criações de suínos.

Micotoxinas são substâncias químicas de baixo peso molecular, e de grande estabilidade térmica, provenientes do metabolismo secundário de alguns fungos filamentosos, sendo metabólitos de distribuição global, com maior prevalência em países de clima tropical e subtropical, pois as condições ambientais favorecem o crescimento fúngico.

Os fungos crescem naturalmente em grãos e cereais, durante a fase de produção, colheita ou armazenamento, o que pode resultar na produção de micotoxinas. Tendo em vista que a base da alimentação animal são as rações compostas por grãos, em especial o milho, os animais de forma geral estão muito susceptíveis a ingestão de micotoxinas, gerando agravos a saúde, o que resulta em graves prejuízos econômicos.

Dentre as micotoxinas mais frequentes, a zearalenona (ZEA) merece grande destaque, é produzida por fungos do gênero *Fusarium*, incluindo *F. graminearum* e *F. roseum* como as principais espécies produtoras de ZEA. Esta é encontrada principalmente em cereais, como o arroz, o trigo, a cevada e o milho, sendo um metabólito estrogênico não esteróide, portanto sua biosíntese não é derivada do colesterol, e gera grandes prejuízos de ordem reprodutiva.

A espécie animal mais sensível aos efeitos decorrentes da ingestão da ZEA são os suínos, pois nesta espécie ocorre maior produção de α zearalenol, um metabólito proveniente da biotransformação hepática desta micotoxina. Em fêmeas este composto pode provocar um quadro clínico característico de vulvovaginite, edema de vulva, aumento da glândula mamária e anestro, podendo ainda ocasionar abortos em fêmeas gestantes. As alterações clínicas não ficam restritas só nas fêmeas, nos machos a ZEA pode provocar feminização, atrofia testicular e aumento da glândula mamária.

Medidas preventivas devem ser tomadas para evitar a contaminação do grão, como a adoção de boas práticas de colheita, transporte e armazenamento dos grãos. Prevenir a contaminação do grão ainda no campo é a forma mais simples de evitar o crescimento fúngico. Estas medidas não garantem a ausência de micotoxina nos grãos, porém reduzem a baixos níveis.

Uma forma de solucionar o problema é a adoção de medidas corretivas, como o uso de aditivos anti-micotoxinas (AAM), nas dietas, que são produtos capazes de adsorver, inativar, neutralizar ou biotransformar as micotoxinas. As paredes de leveduras são compostos orgânicos utilizados na elaboração de AAM, principalmente de *Saccharomyces cerevisiae*, que é constituída por dois carboidratos, os β -glucanos e mananos, que são responsáveis pela adsorção da micotoxina.

Torna-se importante o conhecimento das micotoxicoses, pois estas produzem sinais e sintomas específicos, que diminuem índices zootécnicos, como a conversão alimentar, a eficiência reprodutiva, dentre outros. E ainda, avaliar a eficácia de um AAM, para prevenir micotoxicoses, é de grande relevância, pois estes devem ter sua eficácia comprovada para exercer sua função corretiva.

1.1 Hipótese

A absorção de ZEA seria inibida pela substância enteroadsorvente à base de parede de levedura, *Saccharomyces cerevisiae*, adicionada na ração animal, reduzindo a ocorrência de micotoxicose.

1.2 Objetivo Geral

A presente pesquisa visa estudar os efeitos da zearalenona em leitoas pré-púberes intoxicadas experimentalmente e avaliar a eficácia de enteroadsorvente à base de parede de *Saccharomyces cerevisiae* na prevenção da micotoxicose.

1.3 Objetivos Específicos

- a) Produzir o núcleo de contaminação por zearalenona em arroz;
- b) Formar grupos experimentais dos ensaios *in vivo*;
- c) Determinar o ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar;
- d) Avaliação do peso relativo de órgãos
- e) Avaliação do comprimento do trato reprodutivo
- f) Vulvometria;

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Suinocultura no Brasil

A carne suína um dos alimentos mais consumido no mundo, sendo uma excelente fonte de proteínas e vitaminas (do complexo B, B₁, B₂, B₆, B₁₂), contendo potássio, zinco e ferro, e possui sabor e textura única. As proteínas presentes na carne suína possuem alto valor biológico, que ajudam na renovação das fibras musculares do organismo do ser humano. As vitaminas que estão presentes na carne ajudam na atividade cerebral, sendo o zinco responsável por fortalecer o sistema imune e o potássio por auxiliar na regulação da pressão sanguínea (BIERNATH, 2013). Em sua composição a carne suína possui: menos de 1% de carboidratos, 7% de gordura, 1% de minerais, 20% de proteína e 72% de água (BRAGAGNOLO; RODRIGUEZ-AMEYA, 2002).

O sistema de criação de suínos passou por grandes mudanças ao longo dos anos, e cresceu consideravelmente nas últimas décadas. Este crescimento ocorreu devido à introdução da suinocultura moderna, um sistema novo de produção com avanços nas áreas de genética, nutrição, produção e controle de enfermidades (LOPES, 2009).

A ração fornecida aos animais inclui o milho e o farelo de soja, com vitaminas e sais minerais. Graças à nova dieta, a carne suína ficou com menores teores de gordura, e com quantidades de micronutrientes que trazem benefícios ao corpo e a saúde humana. Todas as mudanças que ocorreram na produção de suínos foram em conjunto com o melhoramento genético, que trouxe uma redução de 31% no teor de gordura, de 14% nas calorias, e uma diminuição de 10% do teor de colesterol presentes na carne suína (BIERNATH, 2013).

O controle sanitário estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e por outros órgãos competentes também contribui para a qualidade do produto final. As fiscalizações e os selos de qualidade emitidos por estes órgãos garantem a segurança alimentar da carne suína (BIERNATH, 2013).

Portanto, a suinocultura ganhou destaque no agronegócio brasileiro, sendo uma atividade de grande importância econômica e social. A produção de suínos representa uma fonte de renda direta para mais de 730 mil pessoas, totalizando 2,7 milhões de pessoas que tem como renda o sistema de produção de suínos (GONÇALVES; PALMEIRA, 2006). Logo, a suinocultura representa um importante pilar para a economia do nosso país.

O produto suíno brasileiro é bastante atrativo para o mercado externo, pois possui menor custo em relação a outros países produtores de carne suína. Possuímos um sistema produtivo fundamentado na integração vertical, e na alta disponibilidade de insumos para a alimentação dos animais, como o milho e a soja, e ainda há investimentos em tecnologia. Desta forma, a produção de suínos no Brasil tem custos menores perante os seus principais competidores internacionais (GONÇALVES; PALMEIRA, 2006).

Outro fator favorável a produção brasileira de suínos é a extensão geográfica do nosso país, que possibilita uma ampliação do plantel de animais sem que haja comprometimento dos recursos ambientais, como por exemplo, a contaminação dos solos e dos lençóis freáticos decorrentes da produção de dejetos dos porcos. E ainda, países como a Grécia, Holanda, Alemanha e Áustria possuem concentrações excessivas de animais, com isso estão sendo obrigados a manter seu rebanho estável ou até mesmo reduzidos, não atendendo a própria demanda e a demanda externa (GONÇALVES; PALMEIRA, 2006).

O Brasil ocupou em 2010 o quarto lugar no ranking de produção e exportação de carne suína no cenário mundial, ficando atrás apenas dos Estados Unidos, da União Européia e do Canadá, como pode ser percebido nas Tabelas 1 e 2. A produção de carne de porco foi crescente nos anos de 2005 a 2010, em números podemos elucidar que houve uma produção

de 3 milhões toneladas de carne. E ainda, uma exportação de mais de 600 mil toneladas deste alimento, com um faturamento médio em torno de 1,5 bilhões de dólares (AZEVEDO, 2012).

Tabela 1: Exportação mundial de carne suína (1000 toneladas)

País / Ano	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Estados Unidos	1.209	1.359	1.425	2.117	1.857	1.917
UE-27	1.143	1.285	1.286	1.727	1.415	1.754
Canadá	1.084	1.081	1.033	1.129	1.123	1.159
Brasil	761	639	730	625	707	619
China	502	544	350	223	232	278
Chile	128	130	148	142	152	130
México	59	66	80	91	70	78
Austrália	56	60	54	48	40	41
Vietnã	19	20	19	11	13	13
Noruega	3	6	2	1	3	6
Servia	1	4	6	4	3	3
Croácia	1	2	2	3	4	3
Ucrânia	11	3	2	-	-	1
Taiwan	1	1	2	3	2	2
Singapura	2	2	2	1	1	1
Sul África	1	1	1	4	4	3
Rússia	-	-	-	-	1	1
Filipinas	-	-	1	1	1	1
Guatemala	4	4	3	3	1	1
Argentina	1	1	1	2	2	1
Outros	19	16	14	13	11	1

Fonte: United States Department of Agriculture-USDA (2011)

Tabela 2: Produção mundial de carne suína (1000 toneladas)

País / Ano	2005	2006	2007	2008	2009	2010
China	45.553	46.505	42.878	46.205	48.905	51.070
UE-27	21.676	21.791	22.858	22.596	22.434	23.000
Estados Unidos	9.392	9.559	9.962	10.599	10.442	10.187
Brasil	2.710	2.830	2.990	3.015	3.130	3.195
Rússia	1.334	1.444	1.640	1.736	1.844	1.920
Vietnã	1.602	1.713	1.832	1.850	1.850	1.870
Canadá	1.765	1.748	1.746	1.786	1.789	1.772
Japão	1.245	1.247	1.250	1.249	1.310	1.291
Filipinas	1.175	1.215	1.250	1.225	1.240	1.255
México	1.103	1.109	1.152	1.161	1.162	1.165
Taiwan	911	846	828	784	779	768
Coreia do Sul	1.036	1.000	1.043	1.056	1.062	1.110
Ucrânia	494	526	635	590	527	650
Chile	411	468	470	480	514	498
Bielorrússia	321	346	372	375	377	380
Austrália	385	389	386	348	327	340
Sérvia	253	255	289	266	252	260
Suíça	236	244	242	231	240	241
Argentina	188	210	215	220	225	230
Equador	162	163	189	213	215	220
Outros	1.731	1.769	1.786	1.758	1.775	1.801

Fonte: United States Department of Agriculture-USDA (2011)

No ano de 2011 a produção nacional de suínos cresceu 4,9%, e o consumo interno de carne suína cresceu de 13 Kg per capita em 2009 para 15,1 Kg neste mesmo ano. (INGEP, 2012). De acordo com o MAPA, há uma estimativa que nos próximos oito anos ocorrerá um aumento de 36,9% na produção de carne suína

Com relação aos compradores deste produto no ano de 2012, a Rússia liderou o ranking, comprando 11,8 mil toneladas de carne, o Brasil ainda conta com os seguintes compradores: Hong Kong, Ucrânia, Angola, Argentina e Singapura (AZEVEDO, 2012).

2.2 Fungos

Os fungos são microrganismos eucariotos, multicelulares, multinucleados e heterotróficos, pertencentes ao Reino Fungi (VECCHIA; CASTILHOS-FORTES, 2007), são encontrados em todos os ambientes, como no solo, na água, em vegetais, em grãos, em animais e em humanos. A incidência fúngica varia de acordo com as estações do ano, localização, umidade do ar, dentre outros fatores (LEME et al., 2011).

Os fungos, em resumo, estão divididos em três principais grupos: os bolores, as leveduras e os cogumelos. Neste estudo abordaremos apenas os bolores que são fungos filamentosos, possuem em sua estrutura *hifas*, que são filamentos únicos. As *hifas* crescem em conjunto, e formam tufo compactos, que são denominados *micélio*. O *micélio* é formado porque as *hifas*

quando crescem formam ramificações que ficam entrelaçadas, o que acarreta na formação de uma massa compacta, facilmente observada a olho nu. A estrutura responsável pela reprodução assexuada é denominada *conídio*, e os *gametângios* são estruturas responsáveis pela reprodução sexuada (MADIGAN et al., 2004).

O *micélio* pode apresentar diferentes aspectos: gelatinoso, seco, pulverulento, úmido, compacto ou não. E ainda pode apresentar aparência cotonosa, podendo ser incolor ou com tonalidades de cor vermelha, amarela, preta, verde, cinza ou castanha. O micélio por ser visível, o que torna o alimento inaceitável para o consumo, gerando grandes prejuízos por perdas nas produções de frutas, cereais e hortaliças (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Existem fungos psicrotróficos que causam deterioração em alimentos refrigerados, alimentos salgados também podem ser deteriorados, mas por espécies halófilas de fungos. Há existência de fragmentos de *hifas*, esporos e de *micélio* em alimentos industrializados, o que acarreta a rejeição do produto, indicando que houve utilização de matéria prima de má qualidade (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Como descrito anteriormente, os fungos contaminam os alimentos causando sua deterioração, e redução do seu valor nutricional (VECCHIA; CASTILHOS-FORTES, 2007). A presença de fungos em cereais acarreta grandes perdas para agricultura, tanto para a economia interna, como para as exportações. As doenças fúngicas em cereais não ficam restritas apenas no campo, estando presentes em grãos estocados, causando a sua destruição (MOLINARO, 2009).

Além disso, os fungos são agentes patogênicos, difundidos no ambiente, e causadores de doenças. Doenças fúngicas representam infecções que podem ser transmissíveis, na qual os animais podem ser reservatórios e portadores assintomáticos para seres humanos. A grande preocupação fica a cargo dos imunossuprimidos, onde as infecções de pele ou lesões em mucosas podem ter consequências graves, inclusive levar ao óbito decorrente do comprometimento do sistema imunológico (PASQUALI, 2004). Desta forma, os imunocomprometidos precisam de maior atenção, sendo necessário tomar alguns cuidados, como evitar contato direto ou indireto com animais, lavar bem as mãos após contato com o solo. Estas medidas são essenciais para minimizar o risco de saúde para imunossuprimidos (PASQUALI, 2004).

Os fungos também desempenham um papel importante na natureza, fazendo a mineralização do carbono orgânico (MADIGAN et al., 2004), e são essenciais no campo da medicina, da indústria e da fitopatologia (VECCHIA; CASTILHOS-FORTES, 2007).

A indústria alimentícia utiliza fungos em sua produção de pães, cervejas, queijos e vinhos. Muitos destes alimentos possuem sabores característicos e textura única que são dados por estes microorganismo usados em sua fabricação. Os fungos ainda são utilizados em produtos comerciais, como os ácidos orgânicos, etanol, antibióticos, vitaminas, enzimas e pigmentos (MOLINARO, 2009).

2.2.1 *Fusarium*

O gênero *Fusarium* é composto por inúmeras espécies (PUJOL et al., 1997), muitas são as características que diferenciam as espécies pertencentes a este gênero, como a morfologia do *conídio*, capacidade de disseminação e à agressividade (WAGACHA et al., 2012).

Fusarium são fungos filamentosos, e em sua grande maioria saprófitas, se alimentam de matéria orgânica animal ou vegetal já em decomposição (RAVEN et al., 2001). No entanto, muitas espécies são produtoras de metabólitos secundários, micotoxinas, outras podem causar sérios danos às plantas, como também pode ocorrer estes eventos de forma simultânea (WAGACHA et al., 2012).

O gênero *Fusarium* possui ampla distribuição geográfica, e inúmeros hospedeiros, estando presente no solo, em plantas, grãos, cereais e sementes. São responsáveis por causar podridões em sementes e manchas em plantas, como também mofo em grãos, principalmente no milho, na soja e no sorgo (LESLIE et al., 1990).

Muitos estudos ecológicos do gênero *Fusarium* foram realizados, e revelaram que as espécies pertencentes a este gênero são comuns a certos países, como na Austrália, no Brasil, na Noruega e na África do Sul. E ainda, existem espécies que são restritas geograficamente, encontradas apenas em determinados locais (LESLIE et al., 1990).

A contaminação do grão por *Fusarium* ocorre principalmente na fase de pré-colheita (BRYDEN., 2012), desta forma sua colonização ocorre principalmente em estações de alta umidade associada a temperaturas amenas. Além disso, um fator determinante para que haja produção de micotoxina por estes fungos é a mudança brusca de temperatura, onde *F. graminearum* e *F. culmorum* (Figura 1) se destacam como as principais espécies produtoras de metabólitos secundários (MALLMANN; DILKIN, 2007).



Figura 1: Microscopia ótica de esporos de *F. graminearum*

Fonte: <http://ianrpubs.unl.edu/epublic/pages/publication>

2.3 Micotoxinas

Micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por alguns fungos filamentosos, sendo compostos orgânicos de baixo peso molecular (MALLMANN; DILKIN, 2007). As micotoxinas são formadas a partir de reações de condensação, que acontecem devido a certas condições químicas, físicas e biológicas, sendo formadas ao final da fase exponencial ou no início da fase estacionária do crescimento fúngico (ROBLEDO-MARENCO et al., 2012).

O crescimento fúngico e a produção de micotoxinas são influenciados por inúmeros fatores (Figura 2) (ROBLEDO-MARENCO et al., 2012). Fatores físicos, como umidade, umidade relativa, temperatura e danos mecânicos; fatores químicos (oxigênio, pesticidas e fungicidas) e fatores biológicos, como o estresse, a espécie do grão e a presença de insetos. A umidade e a temperatura possuem maior importância no crescimento deste microorganismo, e na produção de micotoxina. A atividade água também é um fator determinante, pois determina a disponibilidade de água para o crescimento do fungo (BRYDEN, 2012).

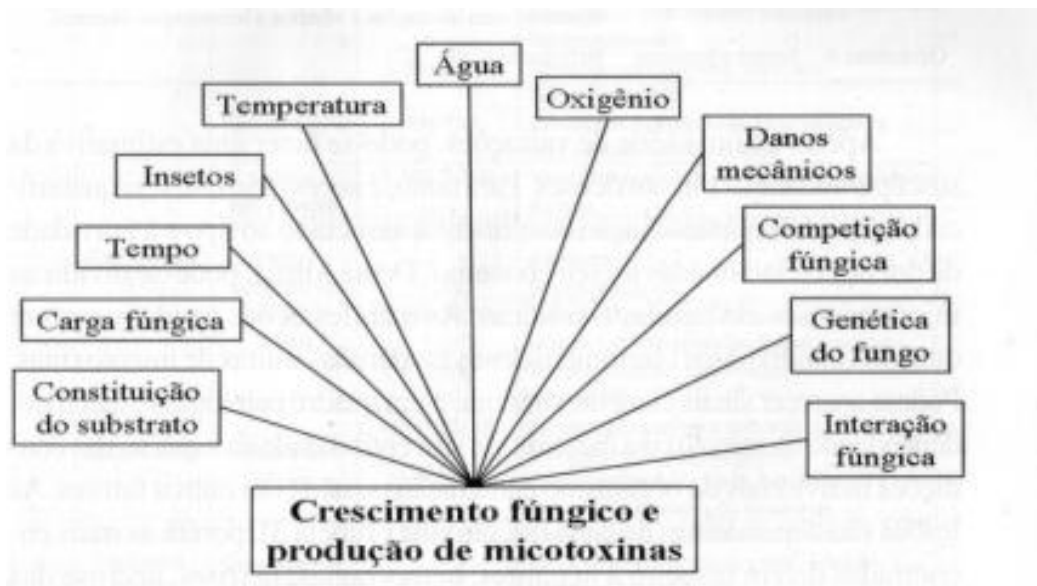


Figura 2: Fatores relacionados ao crescimento fúngico e a produção de micotoxinas.

Fonte: MALLMANN; DILKIN (2007).

È natural a presença de fungos em cultivos de grãos e cereais e no seu armazenamento, porém a produção de micotoxina irá decorrer da presença do fungo, das práticas agrônômicas, da composição do grão, e das condições de colheita, manuseio e armazenamento do grão e do cereal (BRYDEN, 2012).

Portanto, fungos produtores destes compostos podem estar presentes em toda a cadeia de produção de grãos e cereais (MORENO et al., 2009). Além disso, as micotoxinas possuem grande estabilidade química, persistindo no grão até mesmo após o seu processamento e tratamento térmico (BRYDEN, 2012), sendo encontradas principalmente no milho, no trigo, na cevada, no amendoim, no sorgo e no arroz (MALLMANN; DILKIN, 2007).

Existem centenas de micotoxinas reconhecidas como contaminantes de alimentos, as que recebem maior destaque são: aflatoxina, zearalenona, ocratoxina, fumonisina e tricotecenos (ROBLEDO-MARENCO et al., 2012).

As micotoxinas já são descritas no Antigo Testamento, citadas pelos egípcios, como também há relatos de suas ocorrências na Idade Média. Porém, em 1960 que estas toxinas fúngicas começaram a ganhar maior atenção de especialistas e cientistas (MALLMANN; DILKIN, 2007), devido à morte de mais de 100 mil aves na Inglaterra, os animais apresentaram um quadro clínico de hemorragia interna e necrose hepática. Desta forma, muitas investigações foram conduzidas, comprovando que o alimento das aves estava contaminado por um fungo do gênero *Aspergillus*, e em consequência uma alta concentração de aflatoxina, metabólito produzido por este fungo (ABRUNHOSA et al., 2012).

A presença de micotoxinas nos grãos causa sérios problemas para a agricultura, prejudicando a economia (DAKOVIC et al., 2005), essas perdas não ficam restritas apenas à agricultura, o prejuízo também ocorre na pecuária, para os processadores de alimento e de ração animal (MORENO et al., 2009). Em torno de 5 – 10% da produção mundial de alimentos está comprometida, devido à presença desses metabolitos, gerando na União Européia um prejuízo direto de 932 milhões de dólares todos os anos, e indiretamente uma perda de 466 milhões de dólares. Esse problema não fica restrito apenas em países desenvolvidos, países em desenvolvimento também sofrem com os prejuízos causados pelas

micotoxinas, principalmente regiões que depende do cultivo local para subsistência (ABRUNHOSA et al., 2012).

Em países desenvolvidos a preocupação a cerca das micotoxinas gira em torno da contaminação da cadeia produtora de alimentos, o risco para a saúde humana, e claro o impacto na saúde e na produção animal. Enquanto que em países em desenvolvimento a maior preocupação fica a cargo da regulação das micotoxinas, para reduzir a exposição aos seres humanos e animais, e com o custo adicional para o produtor para atender as exigências da regulação no suprimento de alimentos e rações (BRYDEN, 2012).

Micotoxicose é a denominação decorrente da ingestão de alimentos contendo micotoxinas que pode ocorrer nos seres humanos, como também nos animais. Neste contexto micotoxicose primária ocorre pela ingestão direta de alimentos contendo micotoxinas, já a micotoxicose secundária se dá pelo consumo de produtos de origem animal de animais que ingeriram estas toxinas fúngicas (MALLMANN; DILKIN, 2007). Sua toxicidade é dependente da quantidade ingerida, do tempo de ingestão, da presença de duas ou mais micotoxinas no mesmo alimento. Existem espécies que são mais sensíveis a determinadas micotoxinas, o sexo, a idade, o estado imunológico também podem influenciar na manifestação clínica (ABRUNHOSA et al., 2012).

Portanto, a ingestão de alimentos contaminados por estas toxinas é um risco para a saúde, pois geram uma série de sinais e sintomas toxicológicos e afeta o sistema imunológico. Algumas destas toxinas possuem propriedades teratogênicas, mutagênicas e/ou carcinogênica, e estão associadas com uma gama de moléstias em animais de produção ao redor do mundo (RAMOS et al., 2012), e representam um risco para a saúde pública (ABRUNHOSA et al., 2012).

Por esta razão, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determinou os Limites Máximos Tolerados (LMT) de micotoxinas em alimentos comercializados no Brasil, que abrange inúmeras categorias de alimentos, e está vigente desde 2011. Um novo regulamento já está disponível, e entra em vigor partir de janeiro de 2014 (Tabela 3), e outro será aplicado em janeiro de 2016 (Tabela 4), com enfoque nas principais micotoxinas, e os alimentos mais afetados.

Tabela 3: LMT para micotoxinas, com aplicação em janeiro de 2014.

Micotoxinas	Alimento	LMT(µg/Kg)
Ocratoxina A	Cereais para posterior processamento, incluindo grão de cevada	20
Desoxinivalenol (DON)	Trigo e milho em grãos para posterior processamento	3000
	Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo, farelo de arroz, grão de cevada	
	Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada	
Fumonisinias (B1+B2)	Milho em grão para posterior processamento	5000
Zearalenona	Milho em grão e trigo para posterior processamento	400

Fonte: ANVISA (2011).

Tabela 4: LMT para micotoxinas, com aplicação em janeiro de 2016.

Micotoxinas	Alimento	LMT ($\mu\text{g/Kg}$)
Desoxivalenol (DON)	Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo, farelo de arroz, grão de cevada	1000
	Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada	750
Fumonisinias (B1+B2)	Farinha de milho, creme de milho, fubá, flocos, canjica, canjiquinha	1500
	Amido de milho e outros produtos a base de milho	1000
Zearalenona	Farinha de trigo, massas, crackers e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada	100
	Arroz beneficiado e derivados	100
	Arroz integral	400
	Farelo de arroz	600
	Milho de pipoca, canjiquinha, canjica, produtos e sub-produtos à base de milho	150
	Trigo integral, farinha de trigo integral, farelo de trigo	200

Fonte: ANVISA (2011).

De acordo com a ANVISA, a regulamentação tem por objetivo reduzir a quantidade de micotoxinas presente nos alimentos, os limites estabelecidos garantem o consumo seguro desses produtos, segundo pesquisas toxicológicas realizadas em outros países. O descumprimento da resolução pelas indústrias alimentícias irar gerar o pagamento de multas de até 1,5 milhões de reais (ANVISA, 2011).

Além disso, muitos estudos mostraram que as micotoxinas são capazes de interferir na eficiência nutricional dos alimentos, ou seja, no teor nutricional dos grãos. O metabolismo de crescimento fúngico seguido pela produção de micotoxinas provavelmente muda a composição nutricional dos grãos infectados. Pesquisadores relataram que a presença da micotoxina zearalenona no trigo aumenta o nível de proteína bruta, o teor de energia metabolizada e a disponibilidade de aminoácidos (BRYDEN, 2012).

Com relação aos animais de produção que ingerem altas quantidades de micotoxinas na ração contaminada desenvolverão manifestações agudas, que podem levar até a morte destes animais. O consumo de pequenas quantidades destes metabólitos pode causar uma diminuição na produção dos animais, como piora da conversão alimentar, e conseqüentemente uma diminuição no ganho de peso, comprometendo o sistema imune e a eficiência reprodutiva destes animais, sendo esta uma manifestação crônica de intoxicação, e podem ocorrer formações de neoplasias e de patologias crônicas em órgãos vitais (ABRUNHOSA et al., 2012).

Existem poucos estudos referentes aos impactos das mudanças climáticas sobre a produção de micotoxinas. Autores que pesquisam o tema relatam que os países desenvolvidos

serão os mais afetados pelo aquecimento global. Logo, o clima nestes países ficará mais quente, atingindo a temperatura necessária para o desenvolvimento de fungos produtores destas toxinas. De acordo com especialistas no assunto, os fungos produtores de metabólitos secundários podem não sobreviver a temperaturas tão altas, porém se não ocorrer aumento muito grande das temperaturas, e houver períodos de seca, esses são os fatores que favorecerão a produção de micotoxina por fungos. Muitos estudos e pesquisas precisam ser feitos para que haja um real entendimento de como as mudanças climáticas irão afetar a produção de micotoxinas (PATERSON; LIMA, 2010).

A identificação das toxinas fúngicas em grãos, cereais e nos seus subprodutos representa um desafio, pois são inúmeros os componentes químicos presentes em suas estruturas, sendo difíceis de serem distinguidos. Para que haja determinação da quantidade de micotoxina é necessário realizar uma análise dos alimentos e rações, através de equipamentos laboratoriais sofisticados, e assim ocorrer seu monitoramento. Os equipamentos laboratoriais para quantificação destes metabólitos são: cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa, cromatografia gasosa/espectrofotômetro de massa ou cromatografia líquida/espectrofotômetro de massa (BRYDEN, 2012).

Medidas preventivas que evitem a formação das micotoxinas são necessárias, através da adoção de medidas integradas, como o conhecimento da biologia dos grãos, dos fungos, de práticas agrônomicas, dos métodos de colheita e das condições de estocagem. Muitas dessas medidas são aplicadas, chamadas de boas práticas agrônomicas, que podem melhorar a vitalidade do grão ainda no campo. Além disso, o uso criterioso de pesticidas e fungicidas no grão, irrigação e colheita no tempo certo, e também a implementação do melhoramento genético nos grãos para que estes se tornem mais resistentes aos fungos. Estes métodos de prevenção devem ser aplicados em toda a cadeia de produção do grão e do cereal (BRYDEN, 2012).

2.4 Zearalenona

A ZEA é uma lactona ácido resorcílico (Figura 3), sendo uma micotoxina não esteroideal (ANDRETTA et al., 2008; ANDRETTA et al., 2010; CHATOPADHYAY et al., 2012), com estrutura cristalina, insolúvel em água, porém solúvel em substâncias aquosas alcalinas e em solventes orgânicos, e possui ponto de fusão de 164°C (DOLL; DANICKE, 2011). Esta toxina é produzida por fungos do gênero *Fusarium*, *F. graminearum* e *F. culmorum*, como as principais espécies produtoras de ZEA (CHATOPADHYAY et al., 2012), espécies encontradas, principalmente, em cevada, arroz, trigo e no milho (FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD, 2007).

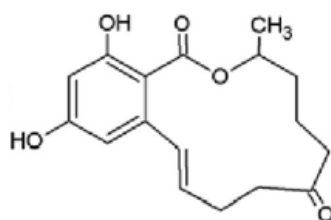


Figura 3: Estrutura química da Zearalenona

Fonte: HEIDTMANN-BEMVENUTI., et al (2012).

A ZEA possui estabilidade térmica, sofrendo mínima destruição quando submetida ao calor, até mesmo a altas temperaturas (MALLMANN; DILKIN, 2007). A contaminação do grão na pré ou na pós-colheita prevalece, pois a toxina não é degradada através do processamento de alimentos e rações (FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD, 2007).

Umidade e oxigênio são dois pilares importantes para a produção de ZEA, as mudanças de temperatura, de moderada para baixa, estimulam a produção deste metabólito pelo fungo. A ZEA é rapidamente produzida a campo durante os dias mais úmidos, no final do verão ou no começo do outono. Concentrações altas de ZEA são produzidas, principalmente, durante o armazenamento inadequado dos grãos, decorrente da alta umidade dos galpões (MOSTROM, 2012).

Esta micotoxina tem prevalência mundial, e está presente em vários tipos de grãos e cereais. De acordo com a Food and Agriculture Organization (FAO), concentrações superiores a um ppm já são suficientes para o desenvolvimento dos efeitos, e dos sinais e sintomas de intoxicação por ZEA (COVER et al., 2010; HAUSCHILD et al., 2007). A concentração desta toxina em produtos destinados a alimentação animal pode chegar a 276 mg/Kg, uma variação que depende do tipo de grão, da região e das condições climáticas locais (FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD, 2007). Segundo ABRUNHOSA et al., 25 % dos alimentos em Portugal destinados a alimentação de animais de granja estão contaminados com ZEA, em outros países da União Européia, como na Áustria, na França, na Itália e na Rússia, a presença deste metabólito nos alimentos varia entre 20 a 200 ppb (COVER et al., 2010).

Após sua ingestão, a ZEA é rapidamente absorvida, estima-se que 80 a 85% da toxina seja absorvida no trato gastro intestinal, e é metabolizada, onde o intestino e o fígado são os principais órgãos responsáveis pela biotransformação desta (FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD, 2007). Existem dois caminhos para a biotransformação da ZEA, pode ocorrer a hidroxilação da micotoxina, que resultará na formação de dois metabólitos, α e β zearalenol (Figura 4), que serão catalisados pela 3α e 3β hidroxiesteróide desidrogenase. A outra forma de biotransformação ocorre através da conjugação da toxina e de seus metabólitos com o ácido glucurônico, sendo uma reação catalisada pela glucuronil-difosfato-uridina-transferase, nessa via a ZEA e seus metabólitos são inativados (ZINEDINE et al., 2007).

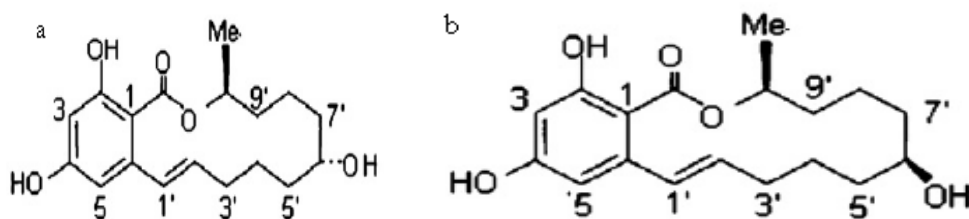


Figura 4: Estrutura química dos metabólitos da ZEA: a) α zearalenol e b) β zearalenol

Fonte: FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD (2007).

A hidroxilação da ZEA é a principal via de biotransformação entre as espécies domésticas. Porém, após a hidroxilação existem diferenças na formação dos metabólitos, por exemplo, na espécie suína há maior formação de α zearalenol (FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD., 2007), que possui maior afinidade pelos receptores estrogênicos, sendo esse um dos fatores que torna os suínos mais suscetíveis a esta toxina. E ainda, pesquisadores relatam que a hidrolização da ZEA em α zearalenol parece ocorrer através de um processo de

ativação (MOSTROM, 2012). Leitoas alimentadas com esta toxina obtiveram maior concentração de α zearalenol em seu plasma sanguíneo, quando comparado a concentração de da própria micotoxina. Além disso, a espécie suína possui menor concentração da enzima glucuronil-difosfato-uridina-transferase, consequentemente há menor capacidade de inativação da ZEA e de seus metabólitos (FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD, 2007).

A ZEA e seus metabólitos quando conjugados com o ácido glucorônico são excretados pela bile para serem re-absorvidos e metabolizados posteriormente pelos enterócitos, e por fim seguem para o fígado e para a circulação sanguínea via sistema porta hepático (ZINEDINE et al., 2007), para serem eliminados pela urina e pela secreção biliar (FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD, 2007). A excreção da ZEA também pode ocorrer através das fezes (MOSTROM, 2012).

A presença de resíduos da toxina e de seus metabólitos no leite, em ovos e em outros alimentos é um risco que não pode ser descartado, muitos autores relatam que a ZEA, α e β zearalenol podem ser transmitidas para o leite de vacas, ovelhas e porcas quando são administradas altas doses desta micotoxina em suas dietas. Pesquisadores desenvolveram estudos em vacas leiteiras, estas fêmeas foram alimentadas com ração contendo a toxina purificada em altas concentrações, os resultados pesquisas mostraram que existe uma mínima transferência da ZEA para o leite, porém por um período curto de tempo após a exposição a altas doses deste composto (MOSTROM, 2012).

A ZEA, e o α e β zearalenol possuem efeitos estrogênicos, se ligam nos receptores de estrógeno (FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD, 2007), agindo como agonista e antagonistas destes receptores. Há interação direta entre esta toxina e de seus metabólitos com os receptores citoplasmáticos de estrogênio, havendo uma translocação do complexo receptor-zearalenona para o núcleo. No núcleo, ocorre a estimulação do RNA levando ao aumento da síntese protéica e o desenvolvimento dos sinais clínicos de hiperestrogenismo (MOSTROM, 2012).

Os efeitos estrogênicos da zearalenona em fêmeas são dependentes da fase reprodutiva que estas se encontram, portanto o aparecimento, a gravidade dos sinais clínicos e sintomas estão em função do tempo de exposição, como também da quantidade de toxina ingerida (FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD, 2007; TEIXEIRA et al., 2011).

Fêmeas em maturidade sexual apresentam atrofia ovariana, estro prolongado, pseudogestação, corpo lúteo persistente, diminuição da fertilidade, anestro e repetição de cio (FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD, 2007). E ainda, manifestam o sinal clínico clássico da síndrome do hiperestrogenismo, caracterizado pelo avermelhamento e o aumento dos lábios vulvares, e podem apresentar prolapso retal ou vaginal decorrente do relaxamento do esfíncter. Alteração macro e microscópicas também são observadas, como metaplasia no corpo, nos cornos uterinos, na cérvix, na vagina e na glândula mamária (MALLMANN; DILKIN, 2007).

Em fêmeas gestantes esta micotoxina pode reduzir a sobrevivência embrionária, diminuir o peso dos fetos, diminuir o tamanho da leitegada, e ainda pode afetar o útero, diminuindo a liberação de LH e de progesterona e também alterando a morfologia do tecido uterino (ZINEDINE et al., 2007).

Leitões podem ser expostos a toxina ainda no útero ou através do leite, e desenvolvem sinais clínicos de aumento e avermelhamento da vulva, no caso das fêmeas, e dos tetos, aumento da glândula mamária presente tanto em machos como em fêmeas, hipertrofia uterina e vulvar, e em alguns casos prolapso retal e/ou vaginal (FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD, 2007).

Leitoas pré-púberes são mais sensíveis a ingestão de alimentos contaminados por ZEA, e apresentam os mesmos sinais descritos nas fêmeas adultas. E ainda, podem apresentar morte embrionária dependendo do tempo de gestação, nascimento de leitões pequenos, alterações na

tireóide, no peso da glândula adrenal e pituitária, e alterações nos níveis de progesterona e estradiol (BRIONES-REYES et al., 2007).

Segundo pesquisadores, doses acima de 22 mg/ Kg desta toxina fúngica nas dietas é capaz de produzir efeitos deletérios no desempenho reprodutivo das matrizes e marrãs, como diminuição do tamanho dos ovários, redução da fertilidade e aumento da taxa de aborto. Os mesmo estudo relata que doses moderadas, acima de 2.0 mg/Kg de ZEA nas dietas, são capazes de induzir o aumento vulvar, e no aumento total do trato reprodutivo (OLIVER et al., 2012).

Em fêmeas sexualmente imaturas que possuem níveis basais de estrógeno endógeno, em razão do alto metabolismo e da baixa taxa de síntese de estrogênio, quando intoxicadas com ZEA foi observado à presença de proteínas nos receptores de estrogênio, altas concentrações da micotoxina e de seus metabólitos em comparação com o estrógeno endógeno, e uma diminuição na atividade do estrogênio endógeno, seguido pela biotransformação modificada de substâncias endógena (GAJECKA et al., 2011).

As alterações também ocorrem em machos, cachacos jovens são mais suscetíveis a toxina do que machos adultos, e podem apresentar atrofia testicular, aumento da glândula mamária (MOSTROM, 2012), comprometimento da qualidade espermática, edema prepucial, que pode provocar até dificuldade na micção (MALLMANN; DILKIN, 2007). Em machos adultos a ZEA pode provocar mudanças no comportamento sexual, diminuição no peso testicular, queda na espermatogênese e diminuição da concentração de testosterona (GAJECKA et al., 2011).

De acordo com a literatura já foi relatado à capacidade da ZEA de induzir lesões no fígado, com desenvolvimento de hepatocarcinoma e adenoma hepatocelular. A toxina em questão, ainda apresentou ser hematotóxica, e genotóxica em pesquisas realizadas com células *in vitro* (ZINEDINE et al., 2007).

2.5 Aditivo Anti-Micotoxina

O uso de aditivos anti-micotoxinas (AAM) é uma forma de corrigir o problema das micotoxinas e das micotoxicoses, pois medidas preventivas, e as boas práticas agrônômicas não são totalmente eficientes. AAM são produtos capazes de adsorver, inativar, biotransformar ou neutralizar as toxinas fúngicas, quando incluídos na dieta dos animais (KELLER et al., 2012; KELLER, 2012).

Os produtos e/ou substâncias que são utilizados como AAM podem ser químicos, físicos ou biológicos. No entanto, muitos destes produtos não são populares devido ao custo alto para a aquisição, e até mesmo por causa de dificuldades práticas envolvidas no processo de descontaminação (SHETTY; JESPERSEN, 2006).

Existem várias substâncias e/ou produtos que são capazes de se ligar as micotoxinas, podemos citar alguns compostos destes produtos, como os cátions sintéticos, anions, bentonitas, argilas, aluminossilicatos, dentre outros. Muitos destes já estão disponíveis comercialmente como aditivos para serem utilizados na alimentação animal. Porém, muito destes produtos possuem capacidade de adsorver poucas micotoxinas, e possuem pouca ou nenhuma capacidade de ligação com outras micotoxinas (BRYDEN, 2012).

Os adsorventes integram o grupo dos AAM, estes atuam dentro do trato gastrointestinal do animal (TGI), e possuem ação de quimio-adsorção, com capacidade ligante eficaz as micotoxinas, de forma que estas são bloqueadas no TGI, não sendo são absorvidas pelos enterócitos da parede intestinal dos animais, e posteriormente são eliminadas nas fezes. Portanto, há uma redução da bio-disponibilidade da micotoxina (GIMENO, 2009).

Como objetivo final, os adsorventes devem reduzir os níveis destes metabólitos secundários no sangue de forma que não haja interferência destes no desempenho produtivo do animal, quando o animal ingere alimento contaminado. Logo, os adsorventes têm como atribuição evitar as micotoxicoses (ZAVIEZO, 2006).

A parede celular de leveduras (PCL) é um exemplo de substância adsorvente (HUWIG et al., 2001), a PCL *Saccharomyces cerevisiae* possui componentes capazes de adsorver as micotoxinas dos alimentos (ARRIETA et al., 2008).

A PCL é responsável pelo formato da célula, fornece proteção mecânica, e resiste à pressão osmótica interna, e ainda configura uma camada de exoesqueleto, sendo dinâmica, permitindo que haja mudanças morfológicas durante o seu ciclo de vida, na fase vegetativa ou na fase sexual (PÉREZ; RIBAS, 2004).

A parede celular de *S. cerevisiae* (Figura 5) representa aproximadamente 30% do seu peso celular total, sendo uma estrutura composta por uma dupla camada, parte desta estrutura é composta por 1,3- β -glucanos e 1,6- β -glucanos. As proteínas da parede celular (mananoproteínas) são heterogêneas e estão covalentemente ligadas aos glucanos. A fração total de carboidratos representa 90% das mananoproteínas, sendo 50% constituída de manano-oligossacarídeos (MOS) (SHETTY; JESPERSEN, 2006).

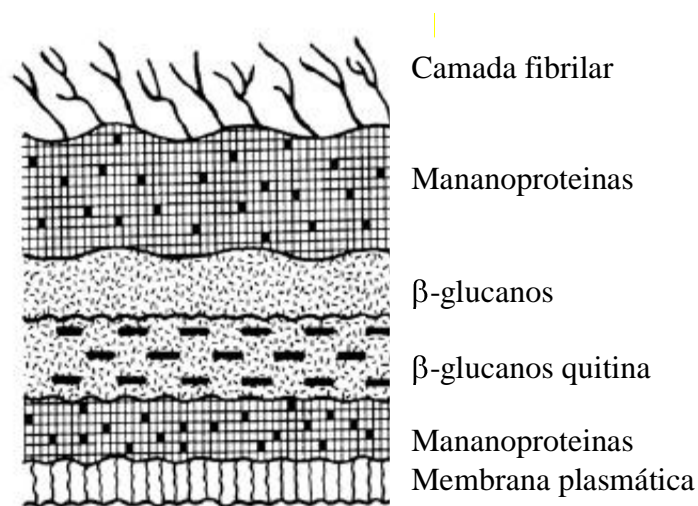


Figura 5: Esquematização dos componentes da parede celular *S. cerevisiae*

Fonte: KOGAN; KOCHER (2007).

Os β -glucanos são responsáveis pela rigidez, configurando forma a parede celular, já as mananoproteínas são responsáveis pelo reconhecimento celular e suas interações, com o ambiente, e caracteriza a especificidade imunológica da levedura (KOGAN; KOCHER, 2007).

Baseado na composição da parede celular e na sua natureza física, *S. cerevisiae* possui inúmeros sítios na sua superfície celular para que haja a adsorção física de moléculas. E ainda, é uma estrutura altamente dinâmica e rapidamente reage a mudanças no ambiente e ao estresse (SHETTY; JESPERSEN, 2006).

É escassa a literatura sobre o mecanismo químico da parede celular de *S. cerevisiae* sobre as micotoxinas, acredita-se que os polissacarídeos presentes na parede celular estejam envolvidos na superfície de ligação das toxinas. Estudos confirmam que a remoção das micotoxinas ocorre através da adesão aos componentes celulares da parede ao invés de ligações covalentes ou pelo metabolismo, já que as células mortas não perdem sua capacidade de ligação (SHETTY; JESPERSEN, 2006).

Há muita discussão sobre o uso de antibióticos como promotores de crescimento, em muitos países a adição de antibióticos na ração animal foi proibida, por conta da resistência bacteriana. Portanto, muitas alternativas vêm sendo estudadas, principalmente o uso de materiais bioativos naturais, capazes de garantir a saúde dos animais e que sejam promotores de crescimento (KOGAN; KOCHER, 2007). Logo, os MOS presentes na parede celular de *S. cerevisiae* estão sendo utilizados como promotores de crescimento, pois possuem propriedades específicas, favorecem a modificação da flora intestinal, a diminuição da taxa de renovação da mucosa intestinal, e estimulam o sistema imune (DALLMANN et al., 2010). E ainda, possuem propriedades antimutagênicas, antioxidantes e antitumorais (KOGAN; KOCHER, 2007). Por esta razão, PCL são contribuintes para a saúde animal, atuam como melhoradores de desempenho, por evitar que haja adesão de microorganismos enteropatogênicos (KELLER et al., 2012).

2.6 Estudos preliminares

O estudo das micotoxicoses se torna importante, pois o consumo agudo de doses altas pode ocasionar sinais clínicos e sintomas específicos e o consumo crônico acarreta numa redução da eficiência reprodutiva, aumento da conversão alimentar e diminuição do ganho de peso e da taxa de crescimento (RAMOS et al., 2012).

No entanto, muitos estudos já foram realizados a cerca dos efeitos estrogênicos da ZEA em fêmeas suínas, em diferentes fases de criação. Porém, é escasso na literatura estudos a cerca da eficácia de AAM à base de *S. cerevisiae* em leitões intoxicadas com esta toxina. Uma vez que, as propriedades benéficas de leveduras dependem muito da composição de sua parede celular, por esta razão torna-se necessário que cada novo produto seja testado em desafios *in vivo*, pois precisam ser altamente eficazes contra os efeitos tóxicos das micotoxinas, já que estas afetam negativamente a produção animal.

3 MATERIAL E METODOS

3.1 Produção do núcleo de contaminação por ZEA

O núcleo de ZEA foi produzido no laboratório do Núcleo de Pesquisas Micológicas e Micotoxicológicas (NPMM), situado no Projeto Sanidade Animal (PSA), convenio da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) com a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

Foi utilizada a cepa de *Fusarium graminearum* UNRC 3639, mantido em Placa de Petri em meio BDA (batata, Dextrose, Agar) (Figura 6).

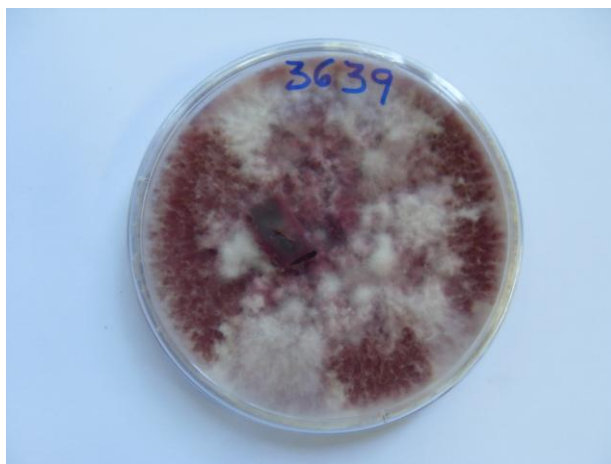


Figura 6: *Fusarium graminearum* cultivado em Placa de Petri.

Fonte: Arquivo Pessoal (2012).

A ZEA foi produzida através da fermentação controlada tendo o arroz branco polido como substrato de acordo com Jiménez at al. (1996). Foi feita solução de água destilada com os esporos fúngicos cultivados, que foi adicionada ao arroz.

Após um período de 30 dias (Figura 7), todo o núcleo foi autoclavado, com o objetivo de inativar os esporos fúngicos, para se obter apenas a micotoxina. Após ser autoclavado o núcleo foi posto em estufa de secagem a 50°C durante 15 dias e triturado. Posteriormente, todo o núcleo foi acondicionado em embalagens plásticas atóxicas, embalado a vácuo e armazenado em freezer, até a sua utilização.



Figura 7: Arroz com esporos de *F. graminearum*.

Fonte: Arquivo Pessoal (2012).

3.2 Extração e quantificação da ZEA

Foi feita uma solução de acetonitrila e água destilada (84 mL de acetonitrila e 16 mL de água destilada), com 25 gramas do núcleo de ZEA. Esta solução foi colocada em *shaker* por 40 minutos, posteriormente filtrada em papel filtro QUANTY[®] JP40 12,5 cm. Após a filtração, foi retirado 5 mL do filtrado, posto em tubo de ensaio, com mais 50 µl de ácido acético glacial. Posteriormente houve a purificação (Figura 8) pela coluna de extração MYCOSEP[®] 226 AFLAZON (RomerLabs[®]). Foi retirado 2 mL do extrato, para a determinação da concentração através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

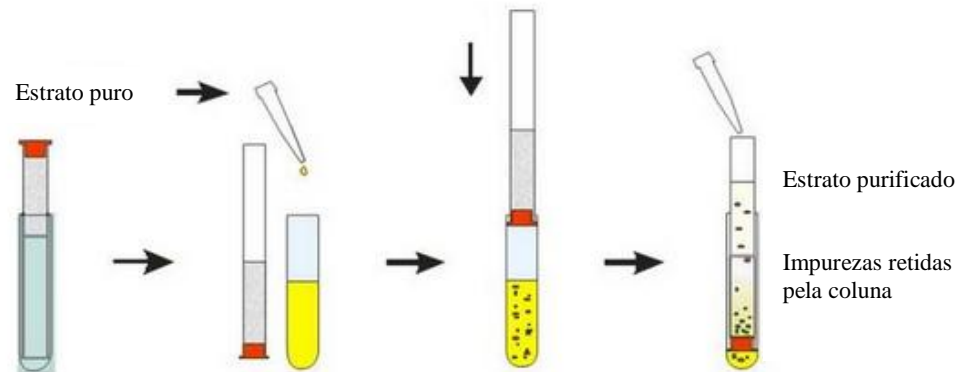


Figura 8: Esquemática da purificação do extrato contendo a micotoxina

Fonte: <http://www.romerlabs.com/en/products/mycotoxins/mycosep-multisep>

3.3 Contaminação da ração experimental

O núcleo foi acrescido à ração das leitoas na devida proporção, através de um misturador mecânico tipo “Y” (Figura 9), a fim de se obter a concentração de 0,6 e de 0,25 mg de ZEA por kilo de ração.



Figura 9: Misturador mecânico tipo “Y”.

Fonte: Arquivo Pessoal (2012).

3.4 AAM

Foi utilizado um produto de origem comercial, sendo aqui denominado AAM. O AAM é um concentrado de MOS e β -glucanos, obtido através da purificação da parede celular de *S. cerevisiae*, utilizando a levedura inativa. A composição do AAM encontra-se na Tabela 5.

Tabela 5: Composição química* (%) do concentrado de manano-oligosacarídeos.

Composição	AAM
β glucanos	23 % Min.
Mananos	21 % Min.
Proteínas	28 % Max.
Fósforo	1 % Min.
Gordura	20 % Min.
Cinzas	4 % Max.
Matéria Seca	95 % Min.

*Dados do fabricante AAM = Aditivo Anti-Micotoxinas

3.5 Local do experimento

O local do ensaio *in vivo* foi o Setor de Suinocultura (Figura 10) pertencente à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizado na cidade de Seropédica/RJ.



Figura 10: Galpão do ensaio *in vivo*

Fonte: Arquivo Pessoal (2012).

3.6 Unidades experimentais

Foram utilizadas 36 leitoas pré-pubescentes da Linhagem Topig (Reprodutor: Topigs Tyboar; Matriz: Topygs C40), recebidas com trinta e quatro dias de idade, com peso inicial médio de 8 kg, as quais foram alojadas em baias do tipo suspensa. Os animais adquiridos estavam vacinados contra os agentes causadores de doenças: *Mycoplasma hyopneumoniae* e *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

3.7 Delineamento experimental

Os animais passaram por um período de sete dias de adaptação, e o período experimental foi de 21 dias. O experimento teve início em 24/07/2012 e término no dia 14/08/2012, sendo o abate dos animais realizado no dia 15/08/2012. As leitoas foram distribuídas em delineamento experimental de blocos ao acaso, em um total de seis tratamentos. Cada tratamento possuía seis animais distribuídos em três baias (dois animais por baia) (Figura 11). Os tratamentos consistiram de:

- T01 = Dieta com 0 ppm de ZEA e 0,0% de AAM
- T02 = Dieta com 0 ppm de ZEA e 0,2% de AAM (2,0 Kg/ton)
- T03 = Dieta com 0,25 ppm de ZEA e 0,0% de AAM
- T04 = Dieta com 0,25 ppm de ZEA e 0,2% de AAM (2,0 Kg/ton)
- T05 = Dieta com 0,6 ppm de ZEA e 0,0% de AMM
- T06 = Dieta com 0,6 ppm de ZEA e 0,2% de AMM (2,0 Kg/ton)



Figura 11: Fêmeas alojadas nas baias.

Fonte: Arquivo Pessoal (2012).

3.8 Manejo

Cada baia era provida de bebedouro do tipo chupeta e comedouro semi automático, onde as fêmeas receberam água e ração à vontade. As leitoas foram pesadas após o recebimento e distribuídas nas unidades experimentais.

Os animais foram monitorados diariamente, três vezes ao dia, ao longo de todo o experimento. Ocorreu monitoramento diário da temperatura no local do experimento, com registro das temperaturas máxima e mínima.

A área experimental dispunha de cortinas, para o controle da ventilação, levando em consideração o conforto térmico dos animais para a fase de creche. E ainda, foi utilizado o sistema de iluminação contínuo da sala, com 24 horas de luz, natural e/ou artificial.

As baias foram limpas diariamente, com auxílio de pá e vassoura, e duas vezes na semana as baias eram lavadas com lavadora de alta pressão.

3.9 Dieta

A dieta utilizada foi formulada atendendo as exigências nutricionais da fase de creche. A composição nutricional encontra-se na Tabela 6.

Tabela 6: Composição da dieta utilizada durante o período experimental (fase de creche). *

Ingredientes	Unidade	Fase Inicial (creche)
Milho	Kg	642,93
Farelo de Soja	Kg	280,00
Farinha de Carne	Kg	42,00
Óleo	Kg	23,00
Sal	Kg	5,00
Calcário	Kg	2,00
Lisina	Kg	1,80
Microminerais	Kg	1,00
Vitaminas	Kg	1,00
Metionina	Kg	0,70
Colina 60%	Kg	0,37
Coxistac [®]	Kg	0,20
TOTAL	Kg	1000

* Dados fornecidos pelo fabricante

3.10 Abate

No final do experimento, três animais de cada tratamento foram abatidos, sendo respeitado o período médio de 6 horas de jejum alimentar e dieta hídrica. O abate ocorreu no Setor de Suinocultura da UFRRJ. Os animais receberam um banho de aspersão por aproximadamente 3 minutos, e posteriormente foram insensibilizados por eletronarcole. Foi respeitado o período de até 30 segundos entre a insensibilização e a sangria. A sangria foi feita através do seccionamento dos grandes vasos, feito em mesa apropriada para a drenagem do sangue. As fêmeas foram então, evisceradas e seus órgãos foram retirados, pesados e medidos.

3.11 Parâmetros analisados

a) Peso Vivo em Kg (PV)

Determinado pela pesagem de todas as leitoas ao 1º, 7º, 14º e 21º dia de experimento (Figura 12).



Figura 12: Pesagem das leitões, realizada em balança digital eletrônica.

Fonte: Arquivo Pessoal (2012).

b) Ganho de peso em Kg (GP)

Obtido ao 7°, 14° e 21° dia de experimento através da diferença entre o peso inicial e final.

c) Consumo de ração em Kg (CR)

Calculado ao 7°, 14° e 21° dia de idade considerando-se a ração fornecida e as sobras de rações nos comedouros.

d) Conversão alimentar em Kg/Kg (CA)

Calculado ao 7°, 14° e 21° dia de experimento considerando o consumo de ração e o ganho de peso.

e) Volume vulvar em cm³

Obtido ao 7°, 14° e 21° dia de experimento estimado através da multiplicação da mensuração da altura, largura e profundidade da vulva das fêmeas. Medição feita através de um paquímetro digital (Figura 13).

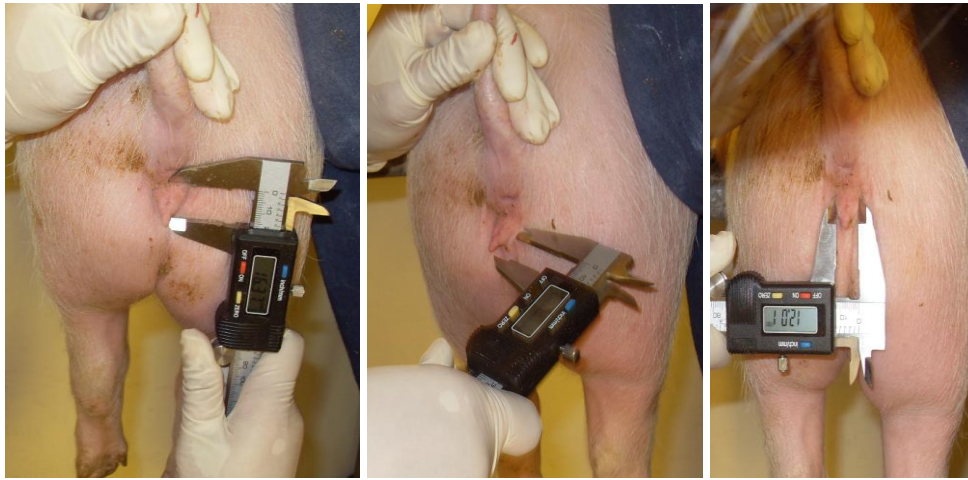


Figura 13: Volume vulvar, obtido através da multiplicação da altura, largura e profundidade da vulva.

Fonte: Arquivo Pessoal (2012).

f) Pesos relativos em %

Obtido ao final do experimento, após o abate de três animais de cada tratamento. Foi realizada abertura da cavidade abdominal, através de incisão pré-retro-umbilical para retirada do trato reprodutivo total (vulva, vagina, útero e ovários), posteriormente ocorreu dissecação do trato reprodutivo, e retirado do trato urinário (vesícula urinária e uretra), para que o trato reprodutivo fosse pesado em balança de precisão, valor obtido em kg.

O peso relativo do trato reprodutivo total e do conjunto útero-ovário- vagina foi obtido em relação ao peso vivo pós-jejum de cada fêmea.

g) Comprimento do Trato Reprodutivo em cm

O comprimento do trato reprodutivo foi medido através de régua graduada em centímetro e milímetro. A medição foi realizada através da extremidade mais caudal da vulva até a extremidade cranial da curvatura do corno uterino.

h) Análise estatística

Para as análises estatísticas, utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk para testar à normalidade de distribuição das variáveis, vista a presença de normalidade dos dados, as variáveis foram submetidas a análise de variância (ANOVA). O nível de significância para informar as diferenças foi de $P \leq 0,05$. Quando detectado diferença estatística foi realizado o Teste de Tukey para verificar diferenças entre as medias, para dados paramétricos. Para os dados não- paramétricos utilizou-se o Teste de Kruskal-Wallis. As análises foram conduzidas usando o programa computacional estatístico R (R Development Core Team 2009).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de PV estão apresentados na Tabela 7. Não foi observada diferença estatística significativa de PV entre os tratamentos no 1º, 7º, 14º e 21º dia de experimento. O consumo desta micotoxina não interfere no desempenho dos animais, pois não afeta a digestibilidade das dietas, como também não demonstra interferir no metabolismo protéico e energético dos suínos. E ainda, a ingestão experimental de ZEA purificada nas dietas, sem a presença do fungo, não altera a composição nutricional dos ingredientes da ração (HAUSCHILD et al., 2007).

Tabela 7. Efeito dos tratamentos sobre o peso vivo ao 1º, 7º, 14º e 21º dia de experimento¹.

Tratamentos	Peso Vivo (Kg)			
	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia
T01: 0ppm ZEA + 0,0% AAM*	11,10 ^a ± 0,48	15,52 ^a ± 1,21	20,10 ^a ± 1,67	25,90 ^a ± 1,40
T02: 0ppm ZEA + 0,2% AAM	11,20 ^a ± 0,85	15,13 ^a ± 1,42	19,19 ^a ± 1,71	23,46 ^a ± 2,37
T03: 0,25ppm ZEA + 0,0%AAM	10,47 ^a ± 0,60	14,30 ^a ± 1,08	19,04 ^a ± 1,70	23,62 ^a ± 2,18
T04: 0,25ppm ZEA + 0,2% AAM	11,21 ^a ± 0,96	15,23 ^a ± 1,60	19,84 ^a ± 1,86	24,25 ^a ± 2,01
T05: 0,6ppm ZEA+0,0% AAM	11,08 ^a ± 1,50	15,12 ^a ± 1,81	19,38 ^a ± 2,77	23,63 ^a ± 3,42
T06: 0,6ppm ZEA + 0,2% AAM	10,80 ^a ± 1,25	14,28 ^a ± 1,05	18,13 ^a ± 1,40	23,25 ^a ± 1,35

* AAM = Aditivo anti micotoxinas

¹ Resultados expressos em média ± desvio padrão das repetições

^a Médias com mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente segundo ANOVA (p>0,05)

A tabela 8 mostra o GP dos animais dos seis tratamentos no 7º, 14º e 21º dia de experimento. Não houve diferença estatística significativa entre as médias no 7º e no 14º dia de experimento. No 21º dia houve diferença estatística significativa entre os tratamentos. As fêmeas alimentadas com dieta sem ZEA (T01) apresentaram o maior ganho de peso, em relação aos demais tratamentos. O AAM não foi capaz de melhorar o desempenho das leitões. As fêmeas que consumiram a DB junto com o AAM (T02) aos 21 dias de experimento não obtiveram maior média de GP em relação ao T01, não havendo efeito positivo sobre o GP dos animais.

TEIXEIRA et al. (2011), não observaram diferença estatística no ganho de peso entre o grupo controle e o grupo intoxicado experimentalmente com 0,75 mg Kg⁻¹ de ZEA, resultados que se assemelham com o estudo. Similar aos resultados apresentados por ANDRETTA et al. (2010) e TEIXEIRA et al. (2011), a ZEA não interferiu significativamente sobre os índices zootécnicos e sobre o desempenho produtivo dos animais.

Em divergência com os resultados de ORTIZ et al. (2008), que relataram que a suplementação de AAM à base de parede celular de *S. cerevisiae* na dieta de monogástricos é benéfico, pois promove o crescimento, possuindo ação promotora e favorável ao desenvolvimento e ao ganho de peso dos animais. No entanto, KELLER et al. (2012) descreveram em seu estudo que a ação promotora de crescimento que ocorre nos animais pela adição de cultivos de parede celular de *S. cerevisiae* nas dietas se dá pelo uso contínuo, e em quantidades suficientes deste ingrediente/aditivo.

Tabela 8. Efeito dos tratamentos sobre o ganho de peso aos 7°, 14° e 21° dia de experimento¹.

Tratamentos	Ganho de Peso (Kg)		
	7° dia	14° dia	21° dia
T01: 0ppm ZEA + 0,0% AAM*	4,42 ^a ± 0,89	4,58 ^a ± 0,78	5,80 ^a ± 0,80
T02: 0ppm ZEA + 0,2% AAM	3,93 ^a ± 0,65	4,06 ^a ± 0,36	4,27 ^b ± 0,98
T03: 0,25ppm ZEA + 0,0%AAM	3,83 ^a ± 0,67	4,74 ^a ± 0,69	4,58 ^b ± 0,67
T04: 0,25ppm ZEA + 0,2% AAM	4,02 ^a ± 0,80	4,61 ^a ± 0,60	4,41 ^b ± 0,20
T05: 0,6ppm ZEA+0,0% AAM	4,04 ^a ± 0,80	4,26 ^a ± 1,20	4,25 ^b ± 0,78
T06: 0,6ppm ZEA + 0,2% AAM	3,48 ^a ± 0,56	3,84 ^a ± 0,74	5,12 ^{ba} ± 0,49

* AAM = Aditivo anti micotoxinas

¹ Resultados expressos em média ± desvio padrão das repetições

^a Médias com letras distintas nas colunas diferem estatisticamente segundo ANOVA (p<0,05)

O CR dos animais dos seis tratamentos nos dias 7, 14 e 21 estão apresentados na Tabela 9. Os maiores valores de CR foram apresentados pelas fêmeas expostas ao tratamento com AAM e 0,25 mg/Kg de ZEA (T04) e T01 no 7° e 14 ° dia de experimento. No 21° de experimento o grupo controle (T01) apresentou maior consumo de ração. Os resultados obtidos estão associados a fatores externos e individuais e não podem ser atribuídos a ZEA e/ou ao AAM.

Mallmann; Dilkin (2007) relatam recusa e diminuição do consumo de alimentos pelos animais intoxicados pela micotoxina em questão, pois a contaminação fúngica confere sabor desagradável ao alimento. Os resultados obtidos pelos autores citados anteriormente não podem ser atribuídos ao presente estudo, já que se trata de uma intoxicação experimental, não havendo presença de massa fúngica, apenas da toxina purificada.

Andretta et al. (2010) relatou que a ZEA não alterou o CR das leitoas em comparação ao grupo controle, pois esta micotoxina não está associada a piora do desempenho produtivo dos animais.

Tabela 9. Efeito dos tratamentos sobre o consumo de ração ao 7°, 14° e 21° dia de experimento¹.

Tratamentos	Consumo de Ração (Kg)		
	7° dia	14° dia	21° dia
T01: 0ppm ZEA + 0,0% AAM*	5,77 ^{ba} ± 0,85	7,52 ^{ba} ± 0,55	9,02 ^a ± 0,09
T02: 0ppm ZEA + 0,2% AAM	5,40 ^{bc} ± 0,10	6,82 ^{bac} ± 0,54	7,89 ^b ± 0,20
T03: 0,25ppm ZEA + 0,0%AAM	5,27 ^{bc} ± 0,53	7,15 ^{bac} ± 0,15	8,52 ^{ba} ± 0,18
T04: 0,25ppm ZEA + 0,2% AAM	6,13 ^a ± 0,33	7,66 ^a ± 0,15	8,47 ^{ba} ± 0,19
T05: 0,6ppm ZEA+0,0% AAM	5,33 ^{bc} ± 0,80	6,70 ^{bc} ± 1,48	7,97 ^b ± 1,31
T06: 0,6ppm ZEA + 0,2% AAM	5,04 ^c ± 0,26	6,61 ^c ± 0,66	8,08 ^b ± 0,34

* AAM = Aditivo anti micotoxinas

¹ Resultados expressos em média ± desvio padrão das repetições

^a Médias com letras distintas nas colunas diferem estatisticamente segundo ANOVA (p<0,05)

O valor da CA dos animais dos seis tratamentos aos 7, 14 e 21 dias estão apresentados na Tabela 10. A inclusão de ZEA nas dietas não alterou a CA dos animais, não havendo diferença estatística significativa entre os tratamentos. Além disso, a adição do AAM não melhorou significativamente a CA dos animais. Estes resultados confirmam as observações de Andretta et al. (2010), que em seu experimento não houve diferença estatística significativa na CA das leitoas experimentalmente intoxicados com ZEA.

Andretta et al. (2010) ainda relata, que até mesmo em altas concentrações a intoxicação experimental com ZEA não afeta o desempenho dos animais, em condições naturais a presença de ZEA está associada a outras micotoxinas que em conjunto afetam o desempenho dos animais. O uso de desta toxina produzida em laboratório, sem a presença de outras toxinas não demonstra influenciar parâmetros zootécnicos, como a CA.

Tabela 10. Efeito dos tratamentos sobre a conversão alimentar ao 7°, 14° e 21° dia de experimento¹.

Tratamentos	Conversão Alimentar (Kg/Kg)		
	7° dia	14° dia	21° dia
T01: 0ppm ZEA + 0,0% AAM*	1,33 ^a ± 0,21	1,50 ^a ± 0,23	1,51 ^a ± 0,12
T02: 0ppm ZEA + 0,2% AAM	1,40 ^a ± 0,22	1,54 ^a ± 0,13	1,66 ^a ± 0,19
T03: 0,25ppm ZEA + 0,0%AAM	1,40 ^a ± 0,21	1,47 ^a ± 0,21	1,61 ^a ± 0,21
T04: 0,25ppm ZEA + 0,2% AAM	1,57 ^a ± 0,27	1,61 ^a ± 0,12	1,71 ^a ± 0,12
T05: 0,6ppm ZEA+0,0% AAM	1,34 ^a ± 0,19	1,48 ^a ± 0,22	1,62 ^a ± 0,24
T06: 0,6ppm ZEA + 0,2% AAM	1,47 ^a ± 0,20	1,62 ^a ± 0,25	1,60 ^a ± 0,16

* AAM = Aditivo anti micotoxinas

¹ Resultados expressos em médias

^a Médias com mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente segundo ANOVA (p>0,05)

O volume vulvar no 7°, 14° e 21° dia de experimento está apresentado na Tabela 11. Houve diferença significativa entre os tratamentos a partir da primeira semana. No 7° e no 14° dia de experimento T05 (DB + 0,6 mg Kg⁻¹ de ZEA + 0,0% AAM) obteve o maior volume vulvar, seguido de T06 (DB + 0,6 mg Kg⁻¹ de ZEA + 0,2% AAM). O T01, T02, T03 (DB + 0,25 mg Kg⁻¹ de ZEA + 0,0% AAM) e T04 (DB + 0,25 mg Kg⁻¹ de ZEA + 0,2% AAM) obtiveram menor volume vulvar. Os resultados mostram a manifestação do hiperestrogenismo causada pela ingestão de ZEA em T05 e T06. Ocorreram manifestações estrogênicas nas leitoas do T03, porém menos expressivas quando compradas ao T05 e T06.

No 21° dia, os resultados (Figura 14) foram bastante semelhantes aos apresentados nas semanas anteriores. As leitoas do T05 e T06 apresentaram maior volume vulvar. Os animais do T01, T02, T03 e T04 apresentaram menor volume vulvar. O AAM foi eficaz nas leitoas do T04, porém o mesmo resultado não ocorreu no T06. O hiperestrogenismo observado nas leitoas do T05 e T06 foi mais evidente devido à maior concentração de ZEA, quando comparados aos animais do T03.

Para os pesquisadores Fink-Gremmels; Malekinejad (2007), a concentração de 0,1 mg/ Kg de ZEA nas dietas é a dose segura para leitoas pré-púberes, não manifestarem os sinais clínicos reprodutivos decorrentes da ingestão de ZEA.

Os resultados obtidos estão de acordo com a literatura, a ingestão de ZEA purificada nas dietas de leitoas pré-púberes causa edema vulvar acentuado, evidente (MOSTROM, 2012). E ainda, o presente estudo concorda com Doll; Danicke (2011), os autores mencionam em sua pesquisa que o hiperestrogenismo causado pelo consumo de ZEA se torna mais evidente à medida que a concentração desta micotoxina aumenta.

Foi observado aumento do volume vulvar a partir da primeira semana de consumo da ZEA, as mesmas mudanças foram descritas no estudo de Andretta et al. (2008), com a adição de 2 mg/Kg de ZEA na ração de 12 leitoas. Portanto, portanto o volume vulvar é o primeiro parâmetro que já pode ser observado quando há intoxicação por ZEA, pois este aumenta rapidamente. O monitoramento desse órgão é uma ferramenta importante para avaliar a atividade da micotoxina, e conseqüentemente a eficácia do AAM.

Tabela 11. Efeito dos tratamentos sobre o volume vulvar ao 7°, 14° e 21° dia de experimento¹.

Tratamentos	Volume Vulvar (cm ³)		
	7° dia	14° dia	21° dia
T01: 0ppm ZEA + 0,0% AAM*	3,24 ^{cb} ±0,95	3,48 ^b ± 1,58	6,14 ^{dc} ±3,58
T02: 0ppm ZEA + 0,2% AAM	2,10 ^c ±0,69	2,86 ^b ± 0,95	3,82 ^d ± 0,83
T03: 0,25ppm ZEA + 0,0%AAM	4,24 ^{cb} ±0,93	9,94 ^{ba} ±4,23	19,02 ^{bc} ±7,59
T04: 0,25ppm ZEA + 0,2% AAM	3,25 ^{cb} ± 1,12	6,57 ^b ±2,51	12,06 ^{dc} ±5,83
T05: 0,6ppm ZEA+0,0% AAM	9,21 ^a ±5,16	16,61 ^a ±12,42	34,66 ^a ±19,97
T06: 0,6ppm ZEA + 0,2% AAM	5,93 ^b ±4,03	15,83 ^a ±13,05	25,46 ^{ba} ±15,24

* AAM = Aditivo anti micotoxinas

¹ Resultados expressos em médias± desvio padrão das repetições

^a Médias com letras distintas nas colunas diferem estatisticamente segundo ANOVA (p<0,05)



Figura 14: Morfologia vulvar das leitoas submetidas aos diferentes tratamentos no 21° dia de experimento.

Fonte: Arquivo Pessoal (2012).

Os resultados dos pesos relativos de fígado dos animais dos seis tratamentos ao final do experimento estão apresentados na Tabela 12. Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos em relação ao peso relativo do fígado. Portanto, a inclusão de ZEA e/ou AAM nas dietas não afetou o peso relativo do órgão. Os resultados encontrados em nosso estudo estão em acordo com o proposto por ANDRETTA et al. (2008), que também não observaram diferença para o peso absoluto e relativo do fígado entre o grupo controle e os grupos que ingeriram a ZEA.

Os resultados referentes ao peso relativo do Trato Reprodutivo Total e do Conjunto Útero-Ovário-Vagina (CUOV) dos seis tratamentos também estão apresentados na Tabela 12.

Os resultados foram os mesmos para os dois parâmetros. Houve diferença estatística significativa entre os tratamentos. As leitoas do T05 e T06 obtiveram as maiores médias referentes aos dois parâmetros avaliados, não havendo diferença estatística entre estes dois tratamentos. Portanto, o AAM não foi eficaz, não sendo capaz de reverter os efeitos causados pela ingestão da ZEA. As fêmeas do T01 e T02 obtiveram a menor média referente ao peso relativo do Trato Reprodutivo Total e do Conjunto Útero-Ovário-Vagina, resultado esperado para os grupos controle. As leitoas do T03 apresentaram maior peso relativo do Trato Reprodutivo Total e do CUOV em relação às fêmeas do T04, aumento influenciado pela adição de ZEA nas dietas, que não ocorreu com as leitoas do T04 em função do AAM.

Os danos no trato reprodutivo das fêmeas são decorrentes da ingestão de ZEA, que ocorrem devido à competição desta micotoxina e de seus metabolitos, provenientes da metabolização hepática, pelos receptores estrogênicos (BRYDEN, 2012).

A ingestão de ZEA causa o aumento no útero, este aumento pode ser observado em concentrações superiores a $0,15 \text{ mg Kg}^{-1}$ de ZEA (ANDRETTA et al., 2008). OLIVER et al., (2012) obtiveram os mesmos resultados após o período de quatro semanas de consumo de ZEA, onde o peso do trato reprodutivo total dobrou em relação ao grupo controle, o que pode ser atribuído ao fato que a ZEA e os seus metabolitos possuem alta afinidade de ligação pelos receptores estrogênicos no útero (BRYDEN, 2012), estimulando uma maior produção de proteínas pela parede uterina, causando o aumento do peso deste órgão (MOSTROM, 2012).

Tabela 12. Efeito dos tratamentos sobre o peso relativo de órgãos ao 21º dia de experimento¹.

Tratamentos	Peso Relativo de Órgãos (%)		
	Fígado	Trato Reprodutivo Total	Conjunto Útero-Ovário-Vagina
T01: 0ppm ZEA + 0,0% AAM*	3,376 ^a ± 0,822	0,089 ^d ± 0,017	0,060 ^d ± 0,013
T02: 0ppm ZEA + 0,2% AAM	3,103 ^a ± 0,206	0,092 ^d ± 0,012	0,082 ^d ± 0,017
T03: 0,25ppm ZEA+ 0,0%AAM	3,256 ^a ± 0,388	0,260 ^b ± 0,012	0,198 ^b ± 0,019
T04: 0,25ppm ZEA+0,2% AAM	3,057 ^a ± 0,214	0,197 ^c ± 0,036	0,154 ^c ± 0,018
T05: 0,6ppm ZEA+0,0% AAM	2,623 ^a ± 0,387	0,367 ^a ± 0,048	0,293 ^a ± 0,029
T06: 0,6ppm ZEA + 0,2% AAM	3,127 ^a ± 0,123	0,335 ^a ± 0,009	0,266 ^a ± 0,022

* AAM = Aditivo anti micotoxinas

¹ Resultados expressos em média ± desvio padrão das repetições

^a Médias com letras distintas nas colunas diferem estatisticamente segundo ANOVA ($p < 0,05$)

^{ab} Médias com mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente segundo ANOVA ($p > 0,05$)

Os resultados do Comprimento do Trato Reprodutivo dos seis tratamentos ao 21º dia de experimento estão apresentados na Tabela 13. Os resultados são semelhantes aos resultados do peso relativo do Trato Reprodutivo Total e do CUOV. As leitoas do T01 e T02 obtiveram a menor media para o Comprimento do Trato Reprodutivo, resultado esperado por se tratar dos grupos controles. As fêmeas do T05 e T06 obtiveram o maior comprimento do trato reprodutivo, não havendo diferença significativa entre os dois tratamentos.

Andretta et al. (2008) encontrou resultados similares, ocorreu um aumento 63% do comprimento do trato reprodutivo nas leitoas intoxicadas experimentalmente por ZEA em relação ao grupo controle. Os resultados ainda estão de acordo com Oliver et al.,(2012), que também observaram maior desenvolvimento do trato reprodutivo em leitoas pré-púberes alimentadas com ZEA durante quatro semanas.

Tabela 13. Efeito dos tratamentos sobre o comprimento do trato reprodutivo ao 21° dia de experimento ¹.

Tratamentos	Comprimento do Trato Reprodutivo (cm)
T01: 0ppm ZEA + 0,0% AAM*	18,07 ^d ± 1,11
T02: 0ppm ZEA + 0,2% AAM	17,73 ^d ± 1,46
T03: 0,25ppm ZEA + 0,0%AAM	25,07 ^b ± 1,37
T04: 0,25ppm ZEA + 0,2% AAM	21,53 ^c ± 0,64
T05: 0,6ppm ZEA+0,0% AAM	28,13 ^a ± 2,75
T06: 0,6ppm ZEA + 0,2% AAM	27,17 ^a ± 1,40

* AAM = Aditivo anti micotoxinas

¹ Resultados expressos em média ± desvio padrão das repetições

^a Médias com letras distintas nas colunas diferem estatisticamente segundo ANOVA (p<0,05)

O uso de parede celular de *S. cerevisiae* tem se tornado um método cada vez mais difundido na produção animal com o objetivo de inativar as micotoxinas já presentes nos alimentos. Com relação à ZEA pesquisadores relatam que a parede celular de *S. cerevisiae* possui 80% de capacidade de adsorção toxina (FINK-GREMMELS; MALEKINEJAD, 2007), onde os β -glucanos parecem ser responsáveis pela maior parte da adsorção a ZEA, e que esta ligação ocorre na superfície da PCL (SHETTY; JESPERSEN, 2006). O AAM demonstrou eficiência concentração de 0,25 mg Kg⁻¹ de ZEA, porém na concentração de 0,6 mg Kg⁻¹ de ZEA. Este resultado está em desacordo com os resultados obtidos por HUWIG et al., (2001), que descreveram em seu estudo a capacidade da parede celular da cepa de *S. cerevisiae* de adsorver a ZEA na concentração 2,7 mg.

5 CONCLUSÕES

- ✓ A adição de 0,6 e 0,25 ppm de ZEA nas dietas de leitoas pré-púberes, durante 21 dias não determinaram efeitos negativos sobre o desempenho zootécnico das leitoas. As alterações observadas no GP e no CR não podem ser atribuídas à inclusão de ZEA e/ou do AAM nas dietas, podendo estar relacionada a fatores individuais dos animais.
- ✓ O AAM não mostrou ser eficaz como melhorador de desempenho zootécnico.
- ✓ A ZEA possui propriedades hiperestrogênicas em leitoas pré-púberes. A micotoxina em questão foi capaz de alterar o volume vulvar, o peso e comprimento do trato reprodutivo das fêmeas do estudo.
- ✓ O AAM expressou efeito anti-micotoxina desejado na concentração de 0,25 ppm de ZEA, evitando as manifestações clínicas decorrentes da micotoxicose.
- ✓ O AAM não foi eficaz na concentração de 0,6 ppm de ZEA, pois não preveniu os efeitos tóxicos da ZEA, por provável saturação da superfície da molécula adsorvente, não havendo mais sítios de ligação disponíveis para ZEA e seus metabolitos.
- ✓ Mais estudos devem ser desenvolvidos acerca desse assunto, para que possa ser esclarecido o mecanismo de ação do AAM no organismo dos animais.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRUNHOSA, L.; MORALES, H.; SOARES, C.; CALADO, T.; VILA-CHÃ, A. S.; PEREIRA, M.; VENÂNCIO, A. Micotoxinas detectadas em productos alimentícios em Portugal: Revision. **Revista Bio Ciencias**, v. 2, n. 1, p. 5-31, 2012.

ANDRETTA, I.; LOVATTO P. A.; HAUSCHILD, L.; DILKIN, P.; GARCIA, G. G.; LANFERDINI, E.; CAVAZINI, N. C.; MALLMANN, C. A. Alimentação de leitoas pré-púberes com dietas contendo zearalenona. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 5, p. 1227-1233, 2008.

ANDRETTA, I.; LOVATTO, P. A.; LANFERDINI, E.; LEHNEN, C. R.; ROSSI, C. A. R.; HAUSCHILD, L.; FRAGA, B. N.; GARCIA, G. G.; MALLMANN, C. A. Alimentação de leitoas pré-púberes com dietas contendo aflatoxinas ou zearalenona. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, n. 225, p. 123-130, 2010.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). Resolução – RDC nº 7 de 18 de fevereiro de 2011. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 22 de fevereiro de 2011, Seção 1, p. 72.

ARRIETA, D.; PÉREZ, M. L.; FONCESA, J. H.; OVIEDO, M. G.; MIRANDA, S. LUENGO, A. Efecto Del consumo de cultivo de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* y/o selenio em pollos de engorde expuestos a bajos niveles de Aflatoxina B₁ en la dieta. **Revista Científica Facultad de Ciencias Veterinarias-Universidad Del Zulia**, v. 18, n. 1, p. 93-102, 2008.

AZEVEDO, D. Exportações de carne suína aumentaram em julho e, também, no ano. **Revista Porkworld**, Ed. 70, 2012.

BIERNATH, A. Justiça à carne de porco. **Saúde**, n. 363, p. 26-29, 2013.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em cortes de carne suína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 160-165, 2002.

BRIONES-REYES, D.; GOMEZ-MARTINEZ, L.; CUEVA-ROLÓN, R. Zearalenone contamination in corn for human consumption in the state of Tlaxcala, Mexico. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 693-698, 2007.

BRYDEN, W. L. Mycotoxin contamination of feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, n. 1-2, p. 134-158, 2012.

CHATOPADHYAY, P.; PANDEY, A.; CHAURASIA, A. K.; UPADHYAY, A.; KARMAKAR, S.; SINGH, L. Hepatic hyperplasia and damages induced by zearalenone *Fusarium* Mycotoxins in BALB/c Mice. **Archives of Gastroenterology**, v. 49, n.1, p. 77-81, 2012.

COVER, J. S.; TEIXEIRA, M. L.; SOUZA, L. F. O.; FUENTEFRIA, A. M. Zearalenone determination in high performance liquid chromatography: A new standardization method. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 37, n. 3, p. 369-375, 2010.

DAKOVIC, A.; CANOVIC, M. T.; DONDUR, V.; ROTTINGHAUS, G.E.; MEDAKOVIC, V.; ZARIC, S. Adsorption of mycotoxins by organozeolites. **Colloids and Surfaces B**, v. 46, p. 20-25, 2005.

DALLMANN, H. M.; AVILA, V. S.; BRUM, P. A. R.; COSTA, P. T. C.; COLDEBELLA, A.; DALLMANN, P. R.; MAIER, J. C.; RUTZ, F. Desempenho de frangos de corte alimentados com ingrediente de alta digestibilidade nas fases de criação pré-inicial e inicial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 9, p. 944-951, 2010.

DOLL, S.; DANICKE, S. The Fusarium toxins deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) in animal feeding. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 102, n.2, p. 132-145, 2011.

FINK-GREMMELS, J.; MALEKINEJAD, H. Review Clinical effects and biochemical mechanisms associated with exposure to the mycoestrogen zearalenone. **Animal Feed Science and Technology**, v. 137, n. 3-4, p. 326-341, 2007.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 181p.

GAJECKA, M.; RYBARCZYK, L.; ZWIERZCHOWSKI, W.; JAKIMIUK, E.; ZIELONKA, L.; OBREMSKI, K.; GAJECKI M. The effect of experimental, long-term exposure to low-dose zearalenone mycotoxicosis on the histological condition of ovaries in sexually immature gilts. **Theriogenology Journal**, v. 75, n. 6, p. 1085-1094, 2011.

GIMENO, A. Engormix. **Brasil desafia aos Aditivos**. 2009. Disponível em: <<http://pt.engormix.com/MA-micotoxinas/artigos/brasil-desafia-aos-aditivos-t232/p0.htm>>. Acesso em: 12 fev. 2013.

GONÇALVES, R. G.; PALMEIRA, E. M. Suinocultura Brasileira. **Revista académica de economia**, n. 71, p. 1-11, 2006.

HAUSCHILD, L.; LOVATTO, P. A.; LEHNEN, C. R.; CARVALHO, A. A.; GARCIA, G. G.; MALLMANN, C. A. Digestibilidade e metabolismo de dietas de suínos contendo zearalenona com adição de organoaluminossilicato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 2, p. 219-224, 2007.

HEIDTMANN-BEMVENUTI, R; HACKBART, H. C. S.; SOUZA, M. M.; BADIALE-FURLONG, E.; DORS, G. C., FAGUNDES, C. A. Determinação de deoxinivalenol e zearalenona em arroz natural e parboilizado e suas frações utilizando QuEChERS e HPLC/UV-FL. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1244-1249, 2012.

HUWIG, A.; FREIMUND, S.; KAPPELI, O.; DUTLER, H. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. **Toxicology Letters**, v. 122, n. 2, p. 179-188, 2001.

INGEP - Soluções em sustentabilidade. **Importância da suinocultura para o agronegócio brasileiro e mundial será debatida durante a PORKEXPO 2012.** 2012. Disponível em: <http://porkexpo.com.br/noticias/post/importancia-da-suinocultura-para-o-agronegocio-brasileiro-e-mundial-sera-debatida-durante-a-porkexpo-2012>. Acesso em: 20 jan. 2013.

JIMÉNEZ, M.; MÁÑEZ, M.; HÉRNANDEZ, E. Influence of water activity and temperature on the production of zearalenone in corn by three *Fusarium* species. **International Journal of Food Microbiology**, v. 29, n. 2-3, p. 417-421, 1996.

KELLER, K. M. **Leveduras com potencial ação descontaminante de micotoxinas e como probiótico para aplicação na produção animal.** Seropedica, Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2012. Originalmente apresentada como tese de Doutorado (Ciências Veterinárias). 146p.

KELLER, K. M.; OLIVEIRA, A. A.; ALMEIDA, T. X.; KELLER, L. A. M.; QUEIROZ, B. D.; NUNES, L. M. T.; CAVAGLIERI, L. R.; ROSA, C. A. R. Efeito de parede celular de levedura sobre o desempenho produtivos de frangos de corte intoxicados com Aflatoxina B₁. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 2, p. 101-105, 2012.

KOGAN, G.; HOCHER, A. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. **Livestock Science**, v. 109, n. 1-3, p. 161-165, 2007.

LEME, F. C. O.; NEGREIROS, M. M. B.; KOGA, F. A.; BOSCO, S. M. G.; BAGAGLI, E.; JUNIOR, V. H. Evaluation of pathogenic fungi occurrence in traumatogenic structures of freshwater fish. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 182-185, 2011.

LESLIE, J. F.; PEARSON, C. A. S.; NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A. *Fusarium* spp. from corn, sorghum, and soybean fields in the Central and Eastern United States. **Ecology and Epidemiology**, v. 80, n. 4, p. 343-350, 1990.

LOPES, D. V. **Parâmetros hematológicos e bioquímicos em matrizes suínas com e sem infecção urinária tratadas com ácido cítrico e cloreto de amônio.** Goiana, Goiás: Universidade Federal de Goiás, 2009. Originalmente apresentada como tese de Mestrado (Medicina Veterinária). 75p.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock.** 10 ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004. 608 p.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P. **Micotoxinas e micotoxicoses em suínos.** Santa Maria: Sociedade Vicente Palloti, 2007. 238 p.

MOLINARO, E. M. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde.** Rio de Janeiro: EPSJV IOC, 2009. V. 4. 496 p.

MORENO, E. C.; GARCIA, G. T.; ONO, M. A.; VIZONI, E.; KAWAMURA, O.; HIROOKA, E. Y.; ONO, Y. S. Co-occurrence of mycotoxins in corn samples from the Northern region of Paraná State, Brazil. **Food Chemistry**, v. 116, p. 220-226, 2009.

MOSTROM, M. S. Zearalenone. In: GUPTA, R. C. **Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles**. 2 ed. London: Academic Press, 2012. p. 1266-1271.

OLIVER, W. T.; MILES, J. R.; DIAZ, D. E., DIBNER, J. J.; ROTTINGHAUS, G. E.; HARRELL, R. J. Zearalenone enhances reproductive tract development, but does not alter skeletal muscle signaling in prepubertal gilts. **Animal Feed Science and Technology**, v. 174, n.1-2, p. 79-85, 2012.

ORTIZ, A.; REUTO, J.; FAJARDO, E.; SARMIENTO, S.; AGUIRRE, A.; ARBELAEZ, G.; GÓMEZ, D.; HIDALGO-QUEVEDO, B. Evaluación de la capacidad probiótica “in vitro” de una cepa nativa de *Saccharomyces Cerevisiae*. **Universitas Scientiarum**, v. 13, n. 2, p. 138-148, 2008.

PASQUALI, P. Food and Agriculture Organization of United Nations - FAO **HIV infection and zoonoses**. 2004. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep>>. Acesso em: 30 mar. 2013.

PATERSON, R. R. M.; LIMA, N. How will climate change affect mycotoxins in food?. **Food Research International**, v. 43, n. 7, p. 1902-1914, 2010.

PÉREZ, P.; RIBAS, J. C. Cell wall analysis. **Methods**, v. 33, n. 3, p. 245-251, 2004.

PUJOL, I.; GUARRO, J.; GENÉ, J.; SALA, J. In-vitro antifungal susceptibility of clinical and environmental *Fusarium spp.* strains. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 39, n.1, p. 163–167, 1997.

RAMOS, A. J.; CANO-SANCHO, G.; SANCHIS, V., MARÍN, S. Evaluacion de La exposición humana a lãs micotoxinas: Estudio global em La población de Cataluña (España). **Revista Bio Ciencias**, v. 2, n. 1, p. 45-57, 2012.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6. Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2001. v. 1. 906 p.

ROBLEDO-MARENCO, M. L.; ROJAS-GARCIA, A. E.; MEDINA-DIAZ, I. M.; BARRÓN-VIVANCO, B. S.; ROMERO-BAÑUELOS, C. A.; RODRIGUEZ-CERVANTES, C. H.; GIRÓN-PÉREZ, M. L. Micotoxinas en Nayarit, México: Estudio de casos. **Revista Bio Ciencias**, v. 2, n. 1, p. 92-98, 2012.

SHETTY, P. H.; JESPERSEN, L. *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 2, p. 48-55, 2006.

TEIXEIRA, L. C.; FERREIRA- MONTIANI, F.; DITTRICH-LOCATELLI, R.; SANTIN, E.; ALBERTON, G. C. Effects of zearalenone in prepubertal gilts. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 8, p. 656-662, 2011.

VECCHIA, A. D.; FORTES-CASTILHOS, R. Contaminação fúngica em granola comercial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 324-327, 2007.

WAGACHA, J. M.; OERKE, E. C.; DEHNE, H. W.; STEINER, U. Colonization of wheat seedling leaves by *Fusarium* species as observed in growth chambers: a role as inoculums for head blight infection?. **Fungal Ecology**, v. 5, n. 5, p. 581- 590, 2012.

ZAVIEZO, D. Consideraciones técnicas sobre la problemática de las micotoxinas y las micotoxicosis aviares. **Ciencia & Trabajo**, v. 8, n. 22, p. 154-158, 2006.

ZINEDINE, A.; SORIANO, J. M.; MOLTO, J. C.; MAÑES, J. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 1, p. 1-18, 2007.