

EFEITOS DA AFLATOXINA B₁ E FUMONISINA B₁ SOBRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE ASPARTATO AMINO-TRANSFERASE E PROTEÍNA TOTAL DE FRANGOS DE CORTEE.N.C.Tessari¹, C.A.F. Oliveira², A.L.S.P. Cardoso¹, D.R. Ledoux³, G.E. Rottinghaus⁴

¹Instituto Biológico, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola, Rua Bezerra Paes, 2278, CEP 13690-000, Descalvado, São Paulo, Brasil. E-mail:litessari@terra.com.br

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da aflatoxina B₁ (AFB₁) e da fumonisina B₁ (FB₁) sobre os níveis séricos da enzima aspartato amino-transferase (AST) e de proteínas totais de frangos de corte alimentados com ração contendo as toxinas isoladas e em associação, nos níveis de 0, 50 e 200 µg de AFB₁/kg e 0, 50 e 200 mg de FB₁/kg. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 3, com 9 tratamentos e 12 repetições, totalizando 108 aves. As aves foram alimentadas com as rações contaminadas a partir do 8º dia até o 41º dia de idade. Aos 41 dias de idade, houve um aumento (p < 0,05) nos níveis de AST das aves que receberam dietas contendo AFB₁ e FB₁, com exceção do grupo que recebeu somente 50 µg de FB₁/kg. Este aumento foi maior quanto mais elevados foram os níveis de AFB₁, sendo que um efeito tóxico aditivo foi observado nos tratamentos de associação com 50 mg de AFB₁/kg e 50 ou 200 mg de FB₁/kg. Aos 28 dias de idade, observou-se uma redução (p < 0,05) na concentração de proteína dos grupos que receberam ração com 200 µg de AFB₁/kg, com ou sem FB₁, porém esta redução não foi observada aos 41 dias de idade. Conclui-se que a intoxicação de frangos de corte com AFB₁ e FB₁, isoladas ou associadas, causa um aumento na concentração sérica de AST e uma redução nos níveis de proteínas totais após 20 dias de exposição contínua através da ração.

PALAVRAS-CHAVE: AFB₁, FB₁, frangos de corte, efeitos tóxicos.

ABSTRACT

EFFECTS OF AFLATOXIN B₁ AND FUMONISIN B₁ ON THE LEVELS OF SERUM ASPARTATE AMINO-TRANSFERASE AND TOTAL PROTEIN OF BROILERS. The aim of the present study was to evaluate the effects of dietary aflatoxin B₁ (AFB₁) and fumonisin B₁ (FB₁) on the seric levels of aspartate amino-transferase (AST) and total protein of broiler chicks. The mycotoxins were added to rations, singly and in combination, at levels of 0, 50 and 200 µg AFB₁/kg, and 0, 50 and 200 mg FB₁/kg. A completely randomized 3 x 3 factorial design was used, with 9 treatments and 12 replications per treatment (total: 108 birds). Broilers were fed the contaminated rations from days-of-age 8 to 41. At 41 days of age, the concentration of AST increased (p < 0.05) in all groups receiving AFB₁ and FB₁, with the exception of birds fed 50 mg FB₁/kg alone. Higher levels of AST were found in broilers fed the highest levels of AFB₁, and an additive effect was observed in the association treatments 50 µg AFB₁/kg and 50 or 200 mg FB₁/kg. Total protein decreased (p < 0.05) at 28 days of age in groups receiving 200 µg AFB₁/kg alone or in combination with FB₁. However this reduction was not found at 41 days of age. In conclusion, AFB₁ and FB₁, singly or in combination at the levels studied, cause an increase in the serum levels of AST and a decrease of total proteins after 20 days of continuous exposition through the diet.

KEY WORDS: AFB₁, FB₁, broilers chickens, toxic effects.

²Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Pirassununga, SP, Brasil.

³University of Missouri, Department of Animal Science, Columbia, MU, USA.

⁴University of Missouri, College of Veterinary Medicine, Columbia, MU, USA.

INTRODUÇÃO

As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos que se desenvolvem naturalmente em produtos alimentícios, tais como milho, amendoim, trigo, entre outros, causando efeitos tóxicos em animais vertebrados, incluindo o homem (BORETTI, 1998). Quando presentes em produtos agrícolas resultam em grandes perdas econômicas. Estima-se que a contaminação de grãos leva a indústria de criação intensiva a perdas de milhões de dólares anualmente (CAST, 1989).

As aflatoxinas são produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, espécies *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (MOSS, 1998). São conhecidos, atualmente, 17 compostos similares designados pelo termo aflatoxina, porém, os principais tipos de interesse médico-sanitário são identificados como B₁, B₂, G₁ e G₂, sendo que a aflatoxina B₁ (AFB₁), além de ser a mais freqüentemente encontrada em cereais, é a que apresenta maior poder toxigênico (LEESON *et al.*, 1995). Bioquimicamente, as aflatoxinas podem afetar o metabolismo de energia, de carboidratos e de lipídios e também dos ácidos nucléicos e das proteínas. Os efeitos biológicos incluem carcinogenicidade, mutagenicidade, teratogenicidade, hepatotoxicidade e aflatoxicoses (BRADBURN & COKER, 1993; ELLIS *et al.*, 1991). As aflatoxinas caracterizam-se como um problema freqüente para a produção avícola. Os efeitos tóxicos que determinam os piores resultados de desempenho incluem redução da atividade de enzimas pancreáticas, diminuição da concentração de bile (WYATT, 1993), aumento da incidência de problemas de pernas, lesões no nervo ciático (LEESON & SUMMERS, 1988) e antagonismo ao metabolismo de vitaminas, proteínas e aminoácidos, lipídios e carboidratos, agindo sobre coenzimas ou complexos enzimáticos, principalmente no fígado, além de afetar a estrutura química do DNA (KIESSLING, 1986; KURATA, 1990). Um dos principais efeitos dessa toxina é a inibição da síntese proteica, causando assim uma queda no nível de proteínas plasmáticas, principalmente α e β globulinas, e albuminas (SANTIN, 2000).

A sensibilidade aos efeitos tóxicos das aflatoxinas varia consideravelmente entre as espécies animais. Dentro de uma mesma espécie, a relação dose-resposta pode variar de acordo com raça, sexo, idade, entre outros fatores (COULOMBE, 1991). MARIANI (1998) relata que o efeito das aflatoxinas em frangos é maior na fase inicial de crescimento, ou seja, quando as aves ingerem aflatoxinas nos primeiros 21 dias de idade.

As fumonisinas são metabólitos tóxicos secundários produzidos por fungos, pertencentes ao gênero *Fusarium*, predominantemente pela espécie *Fusarium verticillioides* (BEZUIDENHOUT *et al.*, 1988; DUPUY *et al.*, 1993). Das fumonisinas identificadas até o momento,

a B₁ (FB₁), B₂ e B₃ são as mais freqüentemente isoladas em alimentos naturalmente contaminados, sendo a FB₁ a mais abundante e a mais tóxica, representando cerca de 70% da contaminação total dos alimentos e rações naturalmente contaminados (MALLMANN *et al.*, 2001).

A maioria das aves domésticas apresentam uma susceptibilidade relativamente menor às fumonisinas, quando comparadas aos suínos e eqüídeos, os quais são particularmente sensíveis aos seus efeitos tóxicos (LEESON *et al.*, 1995). Em frangos de corte, os sintomas mais graves como diarreia, diminuição do consumo de alimentos, diminuição do ganho de peso corporal, aumento do peso relativo do fígado e rins e necrose hepática, são observados nas doses maiores que 150 mg/kg de fumonisinas (NORRED & VOSS, 1994). Entretanto, LI *et al.* (1999) relataram uma diminuição na imunidade humoral e supressão de linfócitos de frangos alimentados com 200 mg/kg de FB₁.

É importante destacar que a ocorrência simultânea de 2 ou mais micotoxinas na ração pode determinar a associação dos seus efeitos tóxicos individuais. WEIBKING *et al.* (1994) concluíram que os efeitos da AFB₁ e da FB₁ em frangos e perus, quando combinados, podem ser mais severos do que quando estão presentes isoladamente. Com relação aos frangos de corte, são poucos os estudos disponíveis sobre os efeitos da associação de micotoxinas, não existindo trabalhos anteriores a respeito da exposição simultânea à AFB₁ e FB₁ em aves pertencentes às linhagens utilizadas rotineiramente nas criações brasileiras. Tendo em vista o exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar as alterações na concentração de proteínas totais e da enzima aspartato amino-transferase (AST) em frangos de corte alimentados com rações contaminadas com AFB₁ e/ou FB₁.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em uma unidade de exploração avícola comercial, localizada no Município de Descalvado, SP. Foram utilizados 108 pintos de um dia de idade, com peso médio de 46 g, machos, vacinados no incubatório contra doença de Marek e provenientes de matrizes comerciais de frangos de corte com 53 semanas de idade (linhagem comercial Hybro-PG). As rações experimentais foram formuladas de acordo com os níveis nutricionais recomendados pelo NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1994).

As aves foram mantidas em um único boxe do 1º ao 7º dia de idade, recebendo água e ração *ad libitum*. No 8º dia as aves foram distribuídas aleatoriamente em 9 boxes experimentais com 12 aves em cada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 9 tratamentos em arranjo fatorial 3

x 3, correspondendo a três níveis de incorporação de AFB₁/kg e três níveis de incorporação de FB₁/kg: 0 (controle); 50 mg de FB₁; 200 mg de FB₁; 50 µg de AFB₁; 50 µg de AFB₁ + 50 mg de FB₁; 50 µg de AFB₁ + 200 mg de FB₁; 200 µg de AFB₁; 200 µg de AFB₁ + 50 mg de FB₁; 200 µg de AFB₁ + 200 mg de FB₁. Cada ave foi considerada uma unidade experimental (repetição). Todas as aves receberam as rações experimentais formuladas do 8º ao 41º dia de vida. Aos 14 dias de idade, as aves foram vacinadas contra a doença de Newcastle, pela via ocular, utilizando-se vacina industrializada (liofilizada) com vírus vivo, tipo B₁, amostra LaSota (NEW VAC-LS®).

A AFB₁ e a FB₁ utilizadas no experimento foram produzidas no Veterinary Medical Diagnostic Laboratory da Universidade de Missouri, em Columbia, Estados Unidos, a partir do cultivo de cepas toxigênicas de *Aspergillus flavus*, e *Fusarium verticillioides*, de acordo com O GIDO *et al.* (2004). A AFB₁ foi extraída do meio de cultura utilizando-se clorofórmio, sendo o extrato submetido à quantificação visual através de cromatografia de camada delgada. Após este procedimento, o extrato clorofórmico contendo a toxina foi aquecido em banho de água a 60º C até a completa evaporação do solvente, e imediatamente ressuspenso em óleo de milho esterilizado, sendo esta suspensão, contendo aproximadamente 0,75 mg de AFB₁/mL, utilizada para a contaminação das rações experimentais. A FB₁ foi preparada e mantida em material de cultivo à base de milho, homogeneizado e esterilizado, conforme os procedimentos descritos por WEIBKING *et al.* (1993). A concentração de FB₁ no material de cultivo foi 6.500 mg/kg.

A adição de volumes convenientes da suspensão de AFB₁ e do material de cultivo contendo FB₁ foi realizada em um misturador horizontal/helicoidal (Marconi®), em 5 diferentes batidas de ração, no decorrer do período experimental, totalizando 550 kg de ração. A ração de cada tratamento foi preparada em volumes de 20-30 kg, em cada batida. A confirmação dos níveis de AFB₁ nas rações experimentais de cada tratamento foi efetuada em cada batida através de cromatografia de camada delgada, utilizando-se o método descrito por SÁRES & RODRIGUEZ-AMAYA (1989). Para a confirmação dos níveis de FB₁, utilizou-se à técnica de SHEPHARD *et al.* (1990) com separação através de cromatografia líquida de alta eficiência. Após a análise das rações das 5 batidas, os níveis de AFB₁ nos tratamentos que continham 50 e 200 µg/kg foram 46,51 ± 5,47 µg/kg e 187,68 ± 50,28 µg/kg, respectivamente. Para a FB₁, os níveis encontrados nos tratamentos contendo 50 e 200 mg/kg foram 57,27 ± 1,81 mg/kg e 201,00 ± 25,40 mg/kg, respectivamente.

Aos 14 e 41 dias de idade das aves, foram colhidas amostras de sangue de 6 aves de cada tratamento,

através de punção ulnar. Parte deste sangue foi colocado em tubos de vidro e centrifugado durante 10 min para obtenção do soro. As amostras de soro foram acondicionadas em microtubos estéreis e armazenadas em freezer (-20º C) para posterior análise da dosagem de AST, utilizando-se a metodologia cinética-UV através do "kit" comercial LABTEST – Diagnóstica, seguindo as instruções do fabricante.

Amostras do sangue de 4 aves por tratamento, foram colhidas aos 28 e 41 dias de idade e colocadas em tubos de penicilina contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), na proporção de 0,1 mL para 1,0 mL de sangue, para realização da dosagem de proteínas totais, através do refratômetro de Goldberg (Quimis®). Colocou-se a amostra de sangue em um tubo capilar de 7 cm de comprimento por 1 mm de diâmetro, vedou-se a extremidade livre do tubo com chama e centrifugou-se a 1.200 g, durante 5 min. Em seguida, cortou-se o tubo capilar no limite entre o plasma e a parte globular e uma gota do plasma foi colocada no refratômetro de Goldberg (Quimis®) para a realização da leitura.

Os resultados das análises foram submetidos à análise fatorial (3 x 3), de acordo com os procedimentos estabelecidos no *General Linear Model do SAS*® (SAS Institute, 1992). As médias dos tratamentos que foram estatisticamente diferentes na análise de variância foram analisadas pelo teste de LSD (*Least Significant Difference*) de Fisher, adotando-se, como nível de rejeição, $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados das análises de AST e proteína total no soro dos frangos, realizadas aos 14 e 41 dias de idade (AST) e aos 28 e 41 dias (proteína total). Em casos de intoxicações, que causam lesões hepáticas de moderada a alta intensidade, observa-se comumente alterações nos resultados das provas de função hepática, como, por exemplo, o aumento dos níveis séricos da enzima AST. Aos 14 dias de idade das aves não foi observada diferença ($p > 0,05$) nos níveis da enzima AST, quando comparamos os resultados das aves dos grupos tratados com as aves do grupo controle. Aos 41 dias de idade, houve um aumento significativo ($p < 0,05$) nos níveis da enzima AST no soro sanguíneo das aves que receberam dietas contendo diferentes níveis de AFB₁ e FB₁, com exceção do grupo que recebeu somente 50 mg de FB₁/kg. Este aumento foi maior quanto mais elevados foram os níveis de AFB₁, sendo que um efeito tóxico aditivo foi observado nos tratamentos de associação com 50 µg de AFB₁/kg + 50 mg de FB₁/kg, e com 50 µg de AFB₁/kg + 200 mg de FB₁/kg. Estes resultados concordam

com os dados reportados por HENRY *et al.* (2000), os quais alimentaram aves com 80 mg/kg de FB₁ durante três semanas e observaram um aumento nos níveis da enzima AST. WEIBKING *et al.* (1994) alimentaram peruzinhos com 200 µg de AFB₁/kg e 75 mg de FB₁/kg, e também observaram um aumento na concentração de AST. Resultados semelhantes foram observados por LEDOUX *et al.* (1992) em experimentos com perus e frangos de corte.

Aos 28 dias de idade, observou-se uma redução significativa ($p < 0,05$) na concentração de proteína dos grupos que receberam ração contendo 200 µg de AFB₁/kg, com ou sem associação com FB₁ (Tabela 1). Com relação às aves alimentadas com 50 mg/kg de AFB₁, houve redução ($p < 0,05$) do nível sérico de proteínas somente no grupo que recebeu simultaneamente 50 µg de FB₁/kg, evidenciando um efeito de interação entre as duas toxinas. Aos 41 dias de idade, as aves dos diferentes tratamentos não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) nos valores de proteína, quando comparado ao grupo controle, com exceção do grupo que recebeu 200 µg de AFB₁/kg + 200 mg de FB₁/kg, o qual apresentou um maior ($p < 0,05$) nível de proteína. Os resultados sugerem que as aves intoxicadas sofreram uma adaptação às toxinas ao longo do experimento, recuperando o nível normal de proteínas no soro após 33 dias de exposição contínua através da ração.

De acordo com TUNG *et al.* (1975), o nível de proteínas séricas é considerado um importante indicador de aflatoxicose em frangos de corte. No entanto, os dados

Tabela 1 – Efeitos da aflatoxina B₁ (AFB₁) e fumonisina B₁ (FB₁) sobre os níveis séricos da enzima aspartato aminotransferase (AST) e de proteína total em frangos de corte¹.

AFB ₁ (µg/kg)	FB ₁ (mg/kg)	AST (µg/L)		Proteína total (g/dL)	
		14 dias ²	41 dias	28 dias	41 dias
0	0	19,64 ^a	41,03 ^d	4,03 ^a	3,90 ^b
0	50	25,03 ^a	65,19 ^d	4,05 ^a	3,83 ^b
0	200	30,12 ^a	103,50 ^b	3,95 ^a	4,02 ^{ab}
50	0	26,04 ^a	84,83 ^c	4,22 ^a	3,85 ^b
50	50	25,61 ^a	131,40 ^a	3,65 ^b	3,93 ^b
50	200	25,32 ^a	141,30 ^a	4,03 ^a	4,00 ^{ab}
200	0	20,66 ^a	135,20 ^a	3,77 ^b	3,97 ^{ab}
200	50	24,45 ^a	118,30 ^b	3,70 ^b	3,97 ^{ab}
200	200	25,61 ^a	118,10 ^b	3,75 ^b	4,10 ^a
EPM		3,85	11,85	0,09	0,05

¹ Resultados expressos em médias, para 6 e 4 repetições nas análises de AST e proteína total, respectivamente.

² Idade das aves.

^{a-d} Em uma mesma coluna, médias seguidas de letras desiguais diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

obtidos no presente estudo indicam que a redução do nível protéico ocorre nos primeiros dias de intoxicação, porém não é contínua em todo o período de intoxicação. Outro fator que pode ter contribuído para a recuperação dos níveis normais de proteína sérica foi a baixa concentração de AFB₁ nas rações usadas no experimento (50 e 200 µg de AFB₁/kg), comparativamente a outros trabalhos anteriores. HUFF *et al.* (1986) alimentaram frangos de corte com 2.500 e 5.000 µg de AFB₁/kg e observaram diminuição significativa nos níveis de proteínas séricas nos primeiros 21 dias de intoxicação. Os nossos resultados diferem, também, dos dados obtidos por ESPADA *et al.* (1997), os quais intoxicaram pintos de um dia de idade com 10 mg de FB₁/kg de ração, durante 6 dias, e observaram petéquias, aumento do tempo de coagulação e diminuição da concentração de proteínas totais, especialmente a albumina sérica.

Com relação a outras espécies, consideradas mais sensíveis aos efeitos das micotoxinas, WEIBKING *et al.* (1994) alimentaram peruzinhos com níveis semelhantes ao do presente estudo (200 µg de AFB₁/kg e 75 mg de FB₁/kg), e observaram uma redução na dosagem de proteínas totais nos grupos alimentados com AFB₁ isoladamente e em associação com a FB₁.

CONCLUSÕES

Considerando-se as condições de realização do presente trabalho e os objetivos propostos, conclui-se que a intoxicação de frangos de corte com AFB₁ a partir de 50 mg/kg e com FB₁ a partir de 200 mg/kg, isoladas ou associadas na ração é caracterizada pelo aumento dos níveis séricos da enzima AST. Níveis de 200 mg de AFB₁/kg, com ou sem associação com FB₁, determinam uma redução nos níveis séricos de proteínas totais após 20 dias de exposição contínua através da ração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEZUIDENHOUT, S.C.; GELDERBLUM, W.C.A.; GORST-ALLMAN, C.P.; HORAK, R.M.; MARASAS, W. F.O.; SPITELLER, G.; VLEGGAAAR, R. Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, v.11, p.743-745, 1988.
- BORETTI, L. Micotoxinas em poedeiras. *Rev. Avic. Ind.*, n.1059, p.41-44, 1998.
- BRADBURN, N. & COKER, R.D. Aflatoxin contamination in maize. *Trop. Sci.*, v.33, n.44, p.418-428, 1993.
- COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY (USA). *Mycotoxins: economic and health risks*. Ames, IA: CAST, 1989. (Task Force Report, 16).
- COULOMBE, R.A. Aflatoxins. In: SHARMA, R.P. & SALUNKHE, D.K. (Eds.). *Mycotoxins and phytoalexins*. Boca Raton: CRC Press, 1991. p.103-144.

- DUPUY, J.; BARS, P.L.E.; BOUDRA, H.; BARS, J.L.E. Thermostability of Fumonisin B₁ a mycotoxin form *Fusarium moniliforme*, in corn. *App. Environ. Microbiol.*, v.59, n.9, p.2864-2867, 1993.
- ELLIS, W.O.; SMITH, J.P.; SIMPSON, B.K. Aflatoxin in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection and methods of control. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, v.30, n.4, p.403-439, 1991.
- ESPADA, Y.R.; RUIZ, G.R.; CUADRADAS, C.; C ABANES, F.J. Fumonisin mycotoxicosis in broilers: plasma proteins and coagulation modifications. *Avian Dis.*, v.41, n.1, p.73-79, 1997.
- HENRY, M.H.; WYATT, R.D.; FLETCHER, O.J. The toxicity of purified fumonisin B₁ in broiler chicks. *Poult. Sci.*, v.79, n.10, p.1378-1384, 2000.
- HUFF, W.E.; KUBENA, L.F.; HARVEY, R.B.; CORRIER, D.E.; MOLLENHAUER, H.H. Progression of aflatoxicosis in broiler chickens. *Poult. Sci.*, v.65, p.1891-1899, 1986.
- KIESSLING, K. Biochemical mechanism of action of mycotoxins. *Pure Appl. Chem.*, v.58, n.2, p.327-338, 1986.
- KURATA, H. Mycotoxins and mycotoxicosis: overview. In: POHLAND, A.E. & RICHARD, J.L. (Eds.). *Microbial toxins in foods and feeds*. New York: Plenum Press, 1990. p.249-259.
- LEDoux, D.R.; BROWN, T.P.; WEIBKING, T.S.; ROTTINGHAUS, G.E. Fumonisin toxicity in broiler chicks. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.4, n.3, p.330-333, 1992.
- LEESON, S.; DIAZ, G.J.; SUMMERS, J.D. *Poultry metabolic disorders and mycotoxins*. Guelph: University Books, 1995. 352p.
- LEESON, S. & SUMMERS, J.D. Some nutritional implications of leg problems in poultry. *Br. Vet. J.*, v.44, n.1, p.81-92, 1988.
- LI, Y.C.; LEDoux, D.R.; BERMUDEZ, A.J.; FRITSCH, K.L.; ROTTINGHAUS, G.E. Effects of fumonisin B₁ on selected immune responses in broiler chicks. *Poult. Sci.*, v.78, n.9, p.1275-1282, 1999.
- MALLMANN, C.A.; SANTURIO, J.M.; ALMEIDA, C.A.A.; DILKIN, P. Fumonisin B₁ levels in cereals and feeds from southern Brazil. *Arq. Ins. Biol.*, São Paulo, v.68, n.1, p.41-45, 2001.
- MARIANI, G.V.C. *Efeito de aflatoxinas sobre o desempenho produtivo de frangos de corte em diferentes períodos de desenvolvimento corporal*. Santa Maria (RS): 1998. 78p. [Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria].
- MOSS, M.O. Recent studies of mycotoxins. *J. Appl. Microbiol. Symposium*, v.84, p.62S-76S, 1998.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (USA). *Nutrient requirements of poultry*. 9.ed. Washington D.C., National Academy of Sciences, 1994. 155p.
- NORRED, W.P. & VOSS, K.A. Toxicity and role of fumonisins in animal diseases and human esophageal cancer. *J. Food Prot.*, v.57, n.6, p.522-527, 1994.
- OGIDO, R.; OLIVEIRA, C.A.F.; LEDoux, D.R.; ROTTINGHAUS, G.E.; CORREA, B.; BUTKERAITIS, P.; REIS, T.A.; GONÇALEZ, E.; ALBUQUERQUE, R. Effects of prolonged administration of aflatoxin B₁ and fumonisin B₁ in laying Japanese quail. *Poult. Sci.*, v.83, p.1953-1958, 2004.
- SANTIN, E. Micotoxicoses. In: BERCHIERI JÚNIOR, A. & MACARI, M. (Eds.). *Doenças das aves*. Campinas: FACTA, 2000. p.379-388.
- SAS Institute. SAS® User's Guide: statistics. Cary, NC, 1992.
- SHEPHARD, G.S.; SYDENHAM, E.W.; THIEL, P.G.; GELDERBLOM, G.A. Quantitative determination of fumonisins B₁ and B₂ by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Liq. Chromatogr.*, v.13, p.2077-2087, 1990.
- SOARES, L.M.V. & RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Survey of aflatoxins, ochratoxins, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin thin layer chromatographic method. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v.72, p.22-26, 1989.
- TUNG, H.T.; COOK, F.W.; WYATT, R.D.; HAMILTON, P.B. The anemia caused by aflatoxin. *Poult. Sci.*, v.54, p.1962-1969, 1975.
- WEIBKING, T.S.; LEDoux, D.R.; BERMUDEZ, A.J.; TURK, J.R.; ROTTINGHAUS, G.E. Effects of feeding *Fusarium moniliforme* culture material, containing known levels of fumonisin B₁, on the young broiler chick. *Poult. Sci.*, v.72, n.3, p.456-466, 1993.
- WEIBKING, T.S.; LEDoux, D.R.; BERMUDEZ, A.J.; ROTTINGHAUS, G.E. Individual and combined effects of feeding *Fusarium moniliforme* culture material, containing known levels of Fumonisin B₁ and Aflatoxin B₁ in the young turkey poult. *Poult. Sci.*, v.73, n.10, p.1517-1525, 1994.
- WYATT, R.D. Formas práticas para diminuir exitosamente las pérdidas por micotoxicosis. I. Aflatoxinas. *Avicultura Profesional*, v.11, n.2, p.64-67, 1993.

Recebido em 24/5/05

Aceito em 25/6/05