

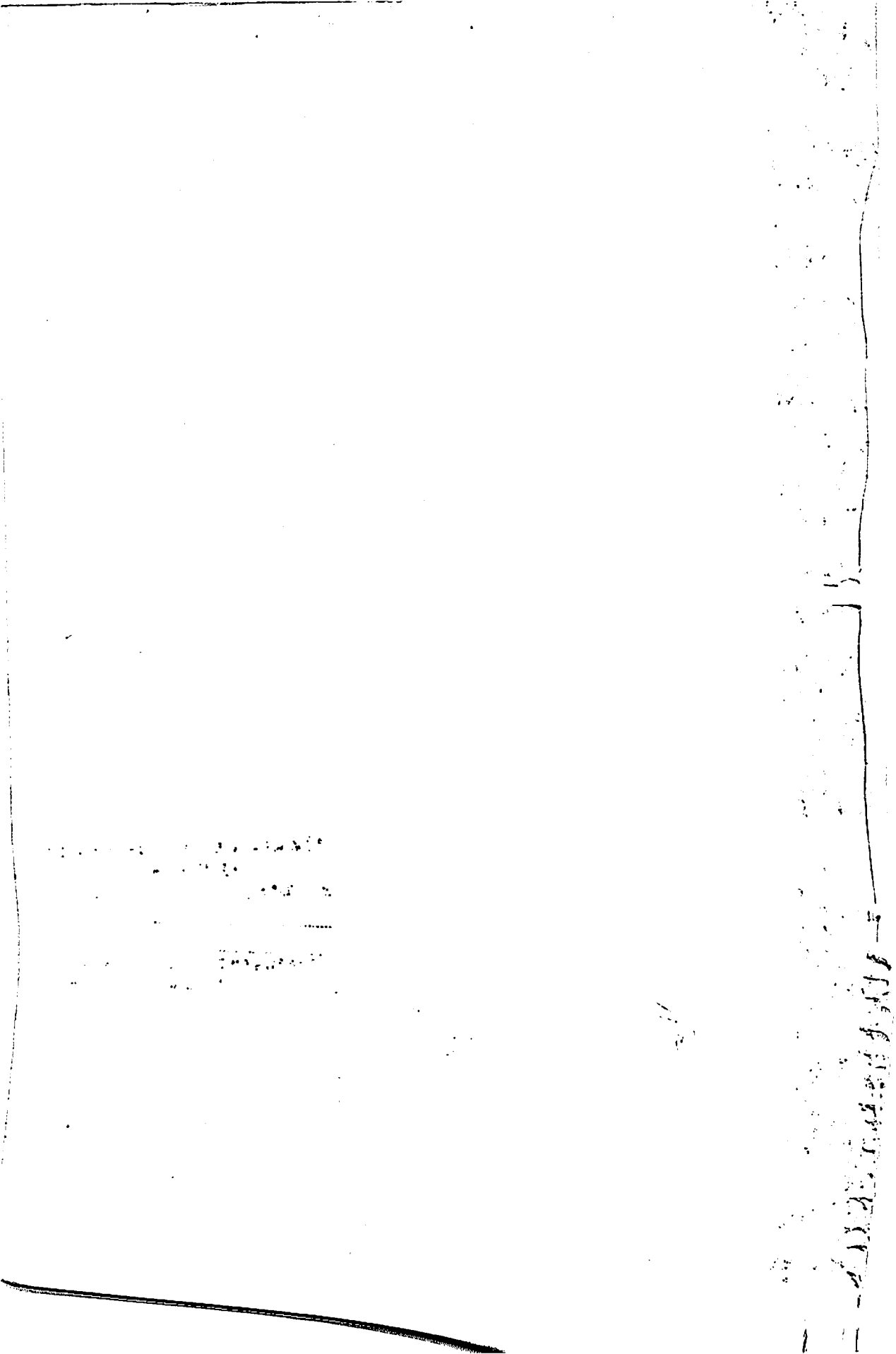


UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

**EFEITO DO SELÊNIO E AFLATOXINAS SOBRE O
DESEMPENHO E A ATIVIDADE DE OXIDASES E
TRANSFERASE EM FRANGOS DE CORTE
NORMAIS E ASCÍTICOS.**

JOERLEY MOREIRA

2000



18964

MFN 34305

JOERLEY MOREIRA

**EFEITO DO SELÊNIO E AFLATOXINAS SOBRE O
DESEMPENHO E A ATIVIDADE DE OXIDASES E TRANSFERASE
EM FRANGOS DE CORTE NORMAIS E ASCÍTICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Agroquímica e Agrobioquímica, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. CUSTÓDIO DONIZETE DOS SANTOS

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2000

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Moreira, Joerley

Efeito do Selênio e Aflatoxinas Sobre o Desempenho e a Atividade de Oxidases e Transferase em Frangos de Corte Normais e Ascíticos. /Joerley Moreira. – Lavras: UFLA, 2000.

115 p.: il.

Orientador: Custódio Donizete dos Santos

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1.Frangos de Corte, 2.Atividade 3.Enzimática, 4.Glutationa Peroxidase, 5. Glutathione S-transferase, 6.Glutathione Redutase, 7.Selênio, 8.Aflatoxinas, 9.Síndrome Ascítica.. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-636.513

-636.50852

JOERLEY MOREIRA

**EFEITO DO SELÊNIO E AFLATOXINAS SOBRE O DESEMPENHO E
A ATIVIDADE DE OXIDASES E TRANSFERASE EM FRANGOS DE
CORTE NORMAIS E ASCÍTICOS**

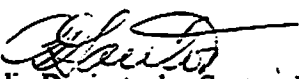
Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Lavras, como parte das exigências
do Curso de mestrado em Agronomia, área de
concentração em Agroquímica e
Agrobioquímica, para obtenção do título de
"Mestre"

APROVADA em 14 de janeiro de 2000.

Prof. Dra. Maria das Graças Cardoso.....UFLA

Prof. Dra. Celeste Maria Patto de Abreu.....UFLA

Prof. Dr. Antônio Gilberto Bertechini.....UFLA


Prof. Dr. Custódio Donizete dos Santos UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Ao meu querido pai, Honorino Alves de Oliveira (im memoriam),
À minha mãe, Maria Emília Moreira,
À minha esposa, Ivania P. Silva
À minha filha, Ana Laura P. Moreira,
Às minhas tias, Eny Alves e Aninha Alves,
Aos meus queridos irmãos, Braulio, Genilma, Genilson, Hugo, Ana Elizia,
Alexander, Eliane, Higor e Ronise.

DEDICO

**"AMAR A DEUS ACIMA DE TODAS AS COISAS, E AO
PRÓXIMO COMO A SI MESMO."**

ESTÁ AÍ TODA A LEI E OS PROFETAS

O Evangelho Segundo o Espiritismo

A DEUS E A SEUS QUERIDOS EMISSÁRIOS,

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Química pela oportunidade para realização do curso.

Ao professor Dr. Custódio Donizete dos Santos pela dedicação, paciência e compreensão, orientação e amizade.

A professora Dra. Maria das Graças Cardoso pela dedicação, compreensão e amizade e por iniciar-me na pesquisa científica.

A CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo suporte financeiro, sem o qual não seria possível a realização deste trabalho.

Aos professores Antônio Gilberto Bertechini (DZO), Celeste Maria Patto de Abreu (DQI) e Denilson Ferreira de Oliveira (DQI), pela co-orientação nos trabalhos desenvolvidos.

Aos professores Custódio D. dos Santos (DQI), Celeste M. P. de Abreu (DQI), Luciano Paiva (DQI), Maria G. Cardoso (DQI), Antônio G. Bertechini (DZO) e Magno Ramalho (DBO), pelos valiosos ensinamentos.

Aos funcionários do Departamento de Química (Vera Lúcia, Marcelo, Wilson, Guimarães, Joales, Liege, Sr. Pedro, Marli e Miriam) e do Laboratório de Sementes (Ângela Santos), pelo incentivo e auxílio na condução das análises laboratoriais.

Aos colegas de Pós-graduação, Alan Kardec, Renato Fráguas, Rozane Aparecida e Suzan Kelly, pela amizade, convivência, incentivo e auxílio.

Aos amigos, Júlio César, Edmilson, Cícero, Vandeir, Ricardo, Sidney Jaime, Zózimo Batista, Frederico, Edvaldo, Valdimilson,

Leonardo e Andréia, Marco César (in memoriam) e Renato, pela amizade, convívio, estímulo e compreensão.

À minha querida esposa Ivania P. Silva e à minha querida filha Ana Laura P. Moreira, pelo incentivo, paciência, carinho, compreensão e amor dedicados em todos os momentos da realização deste trabalho.

À família da minha esposa, pelo apoio e incentivo.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

A DEUS por sempre, em minha vida, me proporcionar mais do que mereço.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
CAPÍTULO 1	1
1 Introdução Geral.....	1
2 Referencial Teórico.....	3
2.1 Síndrome Ascítica.....	3
2.1.1 Processo desencadeador da síndrome ascítica, sinais clínicos e órgãos afetados.....	4
2.1.1.1 Hipertensão Pulmonar.....	4
2.1.2 Fatores que predis põem as aves à incidência de síndrome ascítica.....	6
2.1.3 Fatores preventivos à incidência de síndrome ascítica.....	8
2.2 Aflatoxinas como fonte de origem tóxica desencadeadora de síndrome ascítica em frangos de corte.....	9
2.2.1 Aflatoxinas (AFTs).....	9
2.2.1.1 Efeitos sobre aves.....	11
2.2.1.2 Outras considerações sobre aflatoxinas.....	12
2.2.1.2.1 Desenvolvimento fungico e produção de aflatoxinas em grãos e rações.....	12
2.2.1.2.2 Estabilidade e degradação das aflatoxinas.....	13
2.2.1.2.3 Efeitos toxicológicos e deposição de aflatoxinas nos tecidos após contaminação da dieta.....	15
2.3 Sistemas enzimáticos de proteção celular: antioxidativos e envolvidos na detoxificação de xenobióticos (aflatoxinas).....	16
2.3.1 Ação enzimática no metabolismo de xenobióticos.....	16
2.3.2 Papel da glutathione s-transferase (GST) no metabolismo de xenobióticos.....	19
2.4 Sistemas enzimáticos correlacionados ao estresse oxidativo em aves normais e ascíticas.....	22
2.4.1 Ação antioxidante.....	22
2.4.1.1 Glutathione peroxidase (GSH-PX).....	23
2.4.1.1.1 Ação da via das pentoses-fosfato na proteção contra o estresse oxidativo	24
2.4.1.1.2 Papel do selênio na atividade enzimática da glutathione peroxidase.....	26
2.4.1.1.3 Papel da GSH-Px e da GSHR na peroxidação de lipídeos usada como fonte de radicais livres.....	30
2.4.1.2 Glutathione redutase (GSHR).....	30
2.5 Correlações entre os sistemas enzimáticos envolvidos no estresse oxidativo e sobre a síndrome ascítica em aves.....	31

3 Referências Bibliográficas.....	35
CAPÍTULO 2 Efeito de fonte e níveis de selênio na atividade enzimática da glutatona peroxidase e no desempenho de frangos de corte.....	50
Resumo.....	50
Abstract.....	51
1 Introdução.....	52
2 Material e Métodos.....	53
2.1 Local e duração do trabalho.....	53
2.2 Instalações.....	53
2.3 Animais utilizados.....	53
2.4 Rações utilizadas.....	54
2.5 Fontes e níveis de selênio utilizados.....	55
2.6 Parâmetros de desempenho avaliados.....	55
2.6.1 Peso vivo e ganho de peso.....	55
2.6.1 Consumo de ração.....	55
2.6.3 Conversão alimentar.....	55
2.6.4 Viabilidade.....	56
2.7 Determinação enzimática.....	56
2.7.1 Sacrifício das aves e coleta do material.....	56
2.7.2 Preparo das amostras.....	56
2.7.3 Atividade enzimática da glutatona peroxidase.....	57
2.8 Delineamentos Experimentais, e Análise Estatística.....	58
2.8.1 Para desempenho das aves.....	58
2.8.2 Para atividade enzimática.....	58
3 Resultados e Discussões.....	60
4 Conclusões.....	65
5 Referências Bibliográficas.....	65
CAPÍTULO 3 Interações entre os sistemas enzimáticos envolvidos no metabolismo de xenobióticos (aflatoxinas) e oxidativo em frangos de corte normais e ascíticos.....	68
Resumo.....	68
Abstract.....	69
1 Introdução.....	70
2 Material e Métodos.....	72
2.1 Local e duração do trabalho.....	72
2.2 Instalações.....	72
2.3 Animais utilizados.....	73
2.4 Rações utilizadas.....	73
2.4.1 Ração contaminada.....	74
2.4.1.1 Amostras para determinação de aflatoxinas.....	75
2.5 Parâmetros de Desempenho Avaliados.....	75

2.5 Parâmetros de desempenho avaliados.....	75
2.6 Determinações das atividades enzimáticas.....	75
2.6.1 Preparo das amostras.....	75
2.6.2 Atividade enzimática da glutathione peroxidase (gsh-px).....	76
2.6.3 Atividade enzimática da glutathione s-transferase (gst).....	76
2.6.4 Atividade enzimática da glutathione redutase (gshr).....	77
2.7 Delineamentos Experimentais, e Análises Estatísticas.....	77
2.7.1 Para desempenho das aves.....	77
2.7.2 Para as atividades enzimáticas.....	78
3 Resultados e Discussões.....	79
3.1 Parâmetros de desempenho.....	79
3.2 Parâmetros enzimáticos.....	85
4 Conclusões.....	98
5 Referências Bibliográficas.....	99
ANEXOS.....	104

Listas de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

Se	selênio
GSH	glutathione na forma reduzida
GSSG	glutathione na forma oxidada
GSH-Px	glutathione Peroxidase
GSHR	glutathione Redutase
GST	glutathione S-transferase
MYCOSORB	produto comercial (adsorvente de micotoxinas)
ASCITEC	produto comercial (usado para controle da ascite)
AFTs	aflatoxinas
S. A.	síndrome ascítica
CAT	catalase
XOD	xantina oxidase
Px	lipoperoxidação
SOD	superóxido dismutase
G-6-P	glicose-6-fosfato desidrogenase
ROOH	peróxido
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
SI	selênio inorgânico (selenito de sódio)
SO	selênio orgânico (selplex-50- Alltech)
PV	peso vivo
GP	ganho de peso
CR	consumo de ração
CA	conversão alimentar
ppb	parte por bilhão
ppm	parte por milhão
rpm	rotação por minuto
mM	milimolar
M	molar
μmol	micromol
U	unidade enzimática (μmol/minuto)

RESUMO

MOREIRA, J. Efeito do Selênio e Aflatoxinas Sobre o Desempenho e a Atividade de Oxidases e Transferase em Frangos de Corte Normais e Ascíticos. Lavras: UFLA, 2000 (Dissertação de Mestrado em Agronomia).

O presente trabalho teve por objetivos estudar o desempenho e determinar as atividades enzimáticas da glutathione s-transferase (GST), glutathione peroxidase (GSH-Px) e glutathione reductase (GSHR) em fígados de frangos de corte normais e ascíticos, alimentados a partir de rações contaminadas por aflatoxinas (AFTs). Para avaliação do desempenho foi adotado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial ($2 \times 2 \times 4$) sendo 2 tipos de rações (contaminada e não contaminada), 2 sexos (machos e fêmeas), 4 tratamentos (controle, selênio, mycosorb e ascitec) com 2 repetições. Foram avaliadas as seguintes características: peso vivo (PV), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA). As determinações das atividades enzimáticas para GST, GSH-Px e GSHR foram feitas segundo um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial ($2 \times 4 \times 6$) sendo 2 tipos de rações (contaminada e não contaminada), 4 tratamentos (controle, selênio, mycosorb e ascitec), 6 idades (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias) com 4 repetições. Os resultados mostraram que o sexo das aves influenciou o CR aos 7 e 42 dias ($P < 0,05$) e a CA aos 42 dias, sendo que aos 7 dias, as fêmeas consumiram mais que os machos, e aos 42 dias, os machos apresentaram maior CR e CA. Os tratamentos diferiram entre si aos 14 e 21 dias de idade ($P < 0,05$) para o CR, sendo que o tratamento com ascitec proporcionou o maior consumo e o tratamento com selênio o menor. As rações diferiram entre si ($P < 0,05$) aos 14 e aos 42 dias, sendo que a ração contaminada aumentou o CR aos 14 dias, o PV e o GP aos 42 dias. As atividades enzimáticas da GST, GSH-Px e GSHR, variaram segundo as idades ($P < 0,05$), sendo que para GST aos 14 e 35 e para GSH-Px aos 35 e 42 dias verificou-se as maiores atividades e aos 7 e 21 dias as menores. Para a GSHR, as maiores atividades foram expressas aos 21 e 35 dias e as menores aos 7 e 42 dias. Os tratamentos nas diferentes idades também diferiram entre si ($P < 0,05$), sendo que o tratamento controle aos 14 dias foi o que proporcionou a maior atividade para GST e GSH-Px, enquanto que para GSHR, o tratamento com selênio aos 35 dias foi o que proporcionou a maior atividade. A atividade enzimática da GST não diferiu entre as aves normais e ascíticas, no entanto, a atividade da GSH-Px e GSHR diferiu, sendo a atividade de GSH-Px maior nas aves normais aos 35 e 42 dias, e a atividade de GSHR maior aos 35 dias, também para as aves normais.

Orientador: Dr. Custódio Donizete dos Santos - UFLA

ABSTRACT

MOREIRA, J. Effects on Selenium and Aflatoxins on Performance and Activity of the Oxidasis and Transferase in Broilers Chichens Normals and Ascitics. Lavras: UFLA, 2000 (Dissertation - Master in Agronomy).

The present work aimed to study the performance and determine the enzyme activities of glutathione S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GSH-Px) and glutathione reductase (GSHR) in normal in ascitic broilers, fed on aflatoxin (AFTs) contaminated rations. For evaluation of the performance, a completely randomized design in (2x2x4) factorial scheme, being two sorts of rations (contaminated and un contaminated), 2 sexes (males and females), 4 treatments (control, selenium, mycosorb and ascitec) with 2 replicates. The following characteristics were evaluated: live weight (LW), weight gain (WG), ration consumption (RC) and feed conversion (FC). The determinations of the enzyme activities for GST, GSH-Px and GSHr were done according to a completely randomized design in a (2x4x6) factorial scheme, being two types of rations (contaminated and uncontaminated), 4 treatments (control, selenium, mycosorb and ascitec), 6 ages (7, 14, 21, 28, 35 and 42 days) with four replicates. The results showed that the Sex of the birds influenced CR at 7 and 42 days ($P<0,05$) and CA at 42 days, being that at 7 days, the females consumed more than the males and at 42 days, the males presented greater CR and CA. The treatments differ among them at 14 and 21 days of age ($P<0,05$) for CR, being that the treatments with ascitec provided the highest consumption and the treatment with selenium the least the rations differed among them ($P<0,05$) at 14 and at 42 days, being that the contaminated ration increased CR at 14 days, PV and GP at 42 days. The enzyme activities of GST, GSH-Px and GSHR ranged according to the ages ($P<0,05$), being that for GST at 14 and 35 and for GSH-Px at 35 and 42 days, the greatest activities and at 7 and 21 days the lowest ones. For GSHR, the highest activities were expressed at 21 and 35 days and the lowest at 7 and 42 days. The treatments at the different ages also different among them ($P<0,05$), being that the control treatment at 14 days was the one which provided the greatest activity for GST and GSH-Px, while for GSHR, the treatment with selenium at 35 days was the one which provided the greatest activity. The enzyme activity of GST did not differ among the normal and ascitic birds, nevertheless, the activity of GSH-Px and GSHR differed, being the activity of GSH-Px higher in the normal birds at 35 and 42 days, and the activity of GSHR greater at 35 days, also for the normal birds.

Guidance: Dr. Custódio Donizete dos Santos - UFLA

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil produz em torno de 5 milhões de toneladas de carne de frango e 13 milhões de ovos (750 mil toneladas) por ano. Isto movimenta uma soma de aproximadamente 10.2 bilhões de dólares por ano, considerando-se um consumo de 12 bilhões de toneladas de rações, com custo aproximado de 1 bilhão e meio de dólares por ano.

Estes dados numéricos credenciam o Brasil como terceiro produtor mundial de frangos, perdendo apenas para os Estados Unidos e China. Isto se deve em parte aos avanços tecnológicos nas áreas de nutrição, melhoramento genético, sanidade e manejo. Com isso, é possível obter uma ave com alto desempenho produtivo, crescimento rápido, melhor peso e eficiência alimentar.

Porém, esses benefícios requerem um alto custo metabólico do organismo da ave, o que acaba predispondo estes animais ao surgimento de alterações metabólicas.

A síndrome ascítica (S.A.), uma destas alterações, causa crescentes prejuízos econômicos para este setor, pois os custos com a mortalidade causadas pela referida síndrome são cada vez maiores em todo o mundo.

A partir de 1970, principalmente nos países da América Latina com altitude elevada, o problema da S.A. começou a tomar características alarmantes devido aos prejuízos econômicos, pelo elevado índice de mortalidade e descarte nos abatedouros (Back, 1991). A S.A. no Brasil começou a ser constatada inicialmente de forma discreta, a partir da década de 80 (Amorim Filho, 1989; Back, 1991), sendo que em 1983 foi criado um item específico para a S.A. no quadro de condenações da Inspeção Federal (Amorim Filho, 1989).

As perdas econômicas causadas pela S.A. em relação ao total de condenações de carcaças passou de 10.4% em 1987 para 27.4% em 1990 (Back,

1991), sendo hoje uma das principais, senão a principal causa de condenação de carcaças de frangos em todo o país.

A maioria das causas da S.A. pode ser atribuída a lesões hepáticas, cardíacas e pulmonares. Segundo Widemam (1999), o rápido crescimento das aves, aliado a baixas temperaturas ambiente e quaisquer condições que aumentam as necessidades de oxigênio pelas aves, são disparadores primários de S.A. em frangos de corte sob a maior parte das condições de criação comercial.

A dieta dos frangos de corte no panorama atual das criações comerciais é constituída basicamente de milho e farelo de soja. Segundo a F.A.O, 25% destes grãos no mundo estão contaminados com micotoxinas. A presença das micotoxinas na alimentação das aves leva a uma aceleração do quadro clínico da S.A., uma vez que as mesmas interferem no metabolismo das aves.

Bertechini (1998) relata que a S.A. no Brasil tem causado prejuízos anuais da ordem de 30 milhões de reais.

Por ser a S.A. uma alteração metabólica, influenciada por vários fatores, faz-se necessário o desenvolvimento de trabalhos voltados para o estudo bioquímico correlacionados com estas alterações no organismo da ave, com o intuito de esclarecer os locais ou vias em que tais alterações ocorrem, visando, desta forma, buscar uma solução na bioquímica para se tentar reduzir as perdas causadas pela S.A..

Assim sendo, o objetivo do presente trabalho foi investigar a ação dos sistemas enzimáticos e antioxidativos (glutathione peroxidase, glutathione reductase e glutathione S-transferase), envolvidos nos processos de eliminação de peróxidos lipídicos e de hidrogênio e no metabolismo de xenobióticos, sobre o desempenho e a incidência de síndrome ascítica em frangos de corte, a partir de rações com diferentes fontes e níveis de selênio e rações contendo farelo de amendoim com altos teores de aflatoxinas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Síndrome Ascítica

É inquestionável o avanço tecnológico, tanto da nutrição quanto da genética, nas últimas décadas. Isso permitiu a obtenção de linhagens modernas de frangos de corte muito precoces, mas este benefício teve de ser compensado por um alto custo metabólico, que tem refletido em novos problemas que vêm causando índices elevados de mortalidade nos lotes de frangos de corte. Dentre esses problemas, destaca-se a síndrome ascítica (Lopez Coelho et al., 1991), que tem como característica principal o acúmulo de líquido na cavidade abdominal.

São muitas as causas que podem induzir o acúmulo de líquido na cavidade abdominal da ave, favorecendo a uma confusão de terminologias: toxemia alimentar (Sanger et al., 1958), miocardites (Hall e Machicao, 1968), doenças do edema de pintinhos, endotileoses, doença do hidropéricárdio, edema, hepatite toxohepática, “barriga d’água”, problema “X” (Friedman et al., 1959; Maxwell, Robertson e Spence, 1986), ascite, edema aviar, falha congestiva cardíaca, doença tóxica do coração, lipídeos tóxicos (Agudelo, 1983), doença de altitude (Huchzermeyer e De Ruyck, 1986), síndrome de hipertensão pulmonar e síndrome cardíaca (Wilson, Julian e Barker, 1988).

Para evitar confusões devido à diversidade de terminologias, faz-se necessário demarcar o histórico da ascite antes e depois de 1970, isto porque, antes de 1970, eram várias as causas que induziam o acúmulo de líquido na cavidade abdominal, porém eram mínimos os prejuízos causados. Mas a partir de 1970, a etiologia foi totalmente modificada, entretanto, sem alteração de nome. Assim, o termo ascite continuou sendo utilizado por muitos pesquisadores, mas, prudentemente, Teuscher, Lopez e Alvarez (1971), foram os primeiros a utilizarem um nome mais apropriado para o recente surto ascítico sem causa definida, ou seja, “Síndrome Ascítica”.

Portanto, síndrome ascítica abrange todas as características do distúrbio, envolvendo um conjunto de manifestações patológicas do organismo que não necessariamente caracterizam uma enfermidade (Hernandez, 1989).

Maxwell e Robertson (1997) relatam que as perdas de aves com mortalidade por síndrome ascítica, ganharam maior importância a partir da década de 80, com aparecimento nas regiões de médias e baixas altitudes devido a um melhor desempenho quanto ao crescimento e conversão alimentar das aves em função do ganho genético obtido neste período.

2.1.1 Processo Desencadeador da Síndrome Ascítica, Sinais Clínicos e Órgãos Afetados

A S.A. nos últimos anos, tem sido causa comum de mortalidade de frangos de corte criados em grandes altitudes, pois a reduzida pressão parcial de oxigênio na atmosfera provoca hipóxia tecidual e aumento do débito cardíaco. No entanto, a incidência de S.A. tem sido aumentada consideravelmente em regiões de baixa altitudes, sendo esta mortalidade cada vez mais expressiva, levando ainda à condenação das carcaças das aves sobreviventes nos abatedouros.

A causa mais frequente do desencadeamento de S.A. é a hipertensão pulmonar, que representa o aumento da resistência ao fluxo sanguíneo nas aves acometidas (Julian, 1990; Julian e Wilson, 1992).

2.1.1.1 Hipertensão Pulmonar

No sistema circulatório normal da ave, ocorre o bombeamento de sangue venoso pelo lado direito do coração (ventrículo direito) para os pulmões, a fim de que o mesmo seja oxigenado, e este, após voltar ao coração (átrio e ventrículo esquerdo), é lançado ao organismo para atender as necessidades do metabolismo oxidativo. Na S.A., em função do rápido desenvolvimento do frango de corte, ocorre uma maior demanda de O_2 pelo organismo, devendo o sangue ser

bombeado com maior rapidez. Desta forma, o débito cardíaco é aumentado. Contudo, a quantidade de sangue que circula nos pulmões é limitada e, com isso, o coração exerce maior pressão sobre o sistema pulmonar, na tentativa de aumentar o fluxo e, conseqüentemente, aumentar a oxigenação do sangue. Isto acarreta um aumento de pressão sobre a circulação pulmonar (artéria pulmonar e pulmões), desenvolvendo hipertensão arterial pulmonar. Quando a hipertensão arterial ocorre, uma série de mecanismos hemodinâmicos são desencadeados em forma de cascata, na seguinte ordem: aumento da pressão no pulmão e da artéria pulmonar, aumento da pressão no lado direito do coração (ventrículo direito), com conseqüente espessamento da musculatura ventricular direita. Isto leva à insuficiência valvular, o que acarreta um refluxo de sangue do coração para o organismo (veias cavas). Este refluxo junto, com o aumento da pressão, são fatores que vão impedir o retorno do sangue venoso ao coração, causando insuficiência cardíaca e ascite. A predisposição à S.A. no frango de corte é ainda maior devido ao pulmão ser rígido e fixo na cavidade torácica, dificultando a acomodação de grandes quantidades de sangue devido à pequena capacidade de expansão dos capilares. Todos os mecanismos que estão associados ao transporte de oxigênio para os tecidos, e as conseqüentes trocas gasosas nos pulmões, estão envolvidos no mecanismo de desencadeamento da S.A.. O desenvolvimento de S.A é acompanhado de aumento da viscosidade sanguínea, aumento do hematócrito, elevação do número de eritrócitos, aumento da concentração de hemoglobina e hipertrofia ventricular e atrial direita (Macari, Furlan e Gonzales, 1994).

As aves acometidas pela referida síndrome apresentam: dilatação da porção abdominal, penas arrepiadas e opacas, peso variado de acordo com a idade na qual são acometidas. Na necropsia, dentre as várias lesões macroscópicas observadas, evidencia-se: ascite, hidropericárdio, congestão

venosa, dilatação cardíaca e miocardites, além de congestão e degeneração do fígado e dos rins (Lopez Coelho et al., 1991 e Morris, 1992).

O líquido ascítico contido na cavidade abdominal, e também no pericárdio, caracteriza-se por um exsudado branco-amarelo, dependendo da concentração de pigmentos presentes no alimento (Hernandez, 1989), de composição química semelhante à do plasma ou soro sanguíneo, e ao se coagular, toma o aspecto de uma massa gelatinosa (Hulan et al., 1984; Velasco e Martinez, 1985 e Stuart, 1991).

A identificação da síndrome ascítica, em frangos de corte em estado avançado, pode ser reconhecida naquelas aves que apresentam penas arrepiadas, apatia, cianose na cabeça e patas, edema de abdômen, caminhar lento com as patas abertas, com um tipo de marcha que recorda o andar do pato e dispnéia que se acentua com a movimentação forçada das aves (Buys e Barnes, 1981 e Stuart, 1991).

Dentre os órgãos mais afetados pela síndrome ascítica estão os pulmões, o fígado e o coração, sendo que nos estágios terminais da síndrome, o fígado apresenta-se como a principal fonte de extravasamento de líquido que se acumula na cavidade abdominal da ave (Lamas da Silva, 1991).

A relação existente entre o coração e os pulmões e a síndrome ascítica, segundo Wideman jr. e Robert (1989) e Lopez Coelho et al., (1991), está relacionada, entre outros fatores, com a falta de oxigênio ou com uma maior demanda metabólica.

2.1.2 Fatores que Predis põem as Aves à Incidência de Síndrome Ascítica.

As alterações fisiológicas na síndrome ascítica podem ser provocadas por muitos fatores, todos afetando direta ou indiretamente o coração, pulmão e fígado.

Este fato se agrava pela constatação feita por McKay (1989), que relatou que muitos órgãos essencialmente importantes, como o coração e os pulmões, se

desenvolvem em função da idade, em lugar de estarem correlacionados com o desenvolvimento corporal do animal, portanto, qualquer fator que favoreça uma hipóxia predispõe a ave à síndrome ascítica.

Além disso, a baixa estatura do frango de corte moderno, o músculo peitoral largo e pesado, a pressão do conteúdo abdominal nos sacos aéreos e o pequeno volume do pulmão, comparado com o peso corporal, contribui para limitar o espaço para o sangue fluir através dos pulmões das aves (Julian, 1993).

Vários outros fatores influenciam a síndrome ascítica, dentre os quais podemos citar: agentes tóxicos (micotoxinas, excesso de cloreto de sódio, furazolidona); infecciosos (aspergilose, broncopneumonias); mecânicos (frio, excesso de gás carbônico, grandes altitudes); genéticos (rápido crescimento) e nutricionais (densidade energética e forma física do alimento), (Julian, 1987; Lopez-Coelho, Arce e Avila, 1990).

A S.A. pode ocorrer na fase inicial da criação, porém a mortalidade aumenta substancialmente a partir da quarta semana de idade, atingindo o máximo entre a quinta e a sexta semana. Os machos são mais susceptíveis que as fêmeas em virtude do rápido crescimento (Wideman, 1989 e Lopez-Coelho, Arce e Avila, 1990).

Aves que consomem ração granulada têm freqüentemente apresentado maior incidência de ascite do que as que consomem a mesma ração na forma farelada (Arce et al., 1990).

Baixa temperatura e umidade relativa contribuem para o aumento da incidência de ascite em frangos. Estes fatores levam a um incremento da taxa metabólica da ave, ocasionando aumento do requerimento de oxigênio (Lopez-Coelho e Wideman, 1986).

Altos níveis de sódio levam a um acúmulo excessivo de água e podem causar um aumento das células vermelhas do sangue, e estas células grandes apresentam dificuldade de passar pelos pequenos capilares pulmonares. Além

disso, o sódio causa uma maior retenção de água no sangue, aumentando a força de contração no coração, o que faz com que ocorra uma maior dilatação, hipertrofia e falha do coração, predispondo à ocorrência de síndrome ascítica (Steven Leeson, 1994).

Julian, Mcmillan e Quiato (1989) avaliaram a ocorrência de S.A. em frangos com relação à linhagem, valor energético da ração e temperatura ambiente e detectou uma maior incidência da síndrome ascítica na linhagem com maior potencial para rápido crescimento, bem como naquelas alimentadas com ração contendo maior teor energético e mantidas sob condições de baixa temperatura.

Manejo inadequado de cortinas (mudanças bruscas na temperatura e ventilação deficiente), alta densidade populacional, manejo inadequado de bebedouros e comedouros (aumento de umidade e amônia na cama) e quaisquer outras condições de estresse para as aves, favorecem o surgimento da S.A. (Coelho, Menocal e Gonzales, 1993).

Dentre as causas de síndrome ascítica por origem tóxica, podemos destacar as micotoxinas presentes largamente em grãos e rações e, dentre estas, as aflatoxinas apresentam a maior contribuição.

2.1.3 Fatores Preventivos à Incidência de Síndrome Ascítica

Visando minimizar este problema, muitos pesquisadores têm proposto várias maneiras e medidas para diminuir a demanda metabólica dos frangos de corte, visando uma diminuição na exigência do elemento mais precioso atualmente para estas aves, o “oxigênio” (Stewart et al., 1980; Stewart e Muir, 1982). Dentre estes, são propostos a restrição de alimento (Oporta e Rubio, 1989; Menocal, 1991; Sholosberg et al., 1991); a diminuição do valor energético da ração (Dale e Villacres, 1988); o não estímulo excessivo de crescimento corporal nas duas primeiras semanas de vida; redução do excesso de proteína

utilizando-se matéria prima de qualidade e, especialmente, aminoácidos sintéticos; manter mínimo o nível de sódio na dieta; a não utilização de matéria prima contaminada com micotoxinas; usar somente pintinhos de boa qualidade; manter a temperatura interna do galpão nas três primeiras semanas de vida, o mais uniforme possível; evitar o excesso de poeira no galpão, mantendo uma ventilação adequada; usar aquecedores (campânulas) de qualidade, visando a redução da produção de monóxido de carbono (Wideman JR., 1989; Mendez, Paasch e Ramirez, 1990 e Lamas da Silva, 1991).

Apesar de todas essas medidas serem adotadas por muitos criadores, a síndrome ascítica continua persistindo e sua incidência não tem sido atenuada pelos programas preventivos adotados, aparecendo em qualquer época do ano e em qualquer tipo de instalação, além de estar prevalecendo há mais de vinte anos (Teuscher, Lopez e Alvarez, 1971 e Lopez-Coelho et al., 1991). A maioria das recomendações não representam uma medida efetiva no controle da síndrome ascítica, servindo apenas como um paliativo.

2.2 Aflatoxinas como Fonte de Origem Tóxica Desencadeadora de Síndrome Ascítica em Frangos de Corte

As micotoxinas compreendem um conjunto de substâncias quimicamente complexas e pouco correlacionadas entre si, sintetizadas como metabólitos secundários produzidos no final da fase exponencial ou no princípio da fase estacionária do crescimento por certos fungos (Burllemam, Schroeder e Young e Park, 1984).

2.2.1 Aflatoxinas (AFTs)

A descoberta das aflatoxinas, substâncias hepatotóxicas, no início da década de 60, conduziu um grande número de pesquisadores em todo o mundo a

estudarem o papel desempenhado pelas micotoxinas causadoras de doenças no homem e nos animais. Muitas delas são hoje reconhecidas como importantes, para a economia agropecuária, por causarem perdas consideráveis na produção. Do mesmo modo, deve ser considerada a atividade tóxica que essas mesmas substâncias podem ter sobre o organismo do homem, seja através de sua ingestão, juntamente com alimentos contaminados, seja através de produtos originados de animais alimentados com ração contaminada. As aflatoxinas têm uma larga distribuição entre os produtos agrícolas, representando, por isso, um sério risco à saúde humana e animal. Dependendo de sua concentração na ração, as aflatoxinas podem produzir, nos animais domésticos, efeito agudos, com apresentação de sintomatologia clínica e ou alterações patológicas características e efeito sub-agudos, cuja identificação é mais difícil porque não há um quadro sintomatológico típico. Entretanto, os efeitos mais frequentemente observados nas intoxicações por aflatoxinas são a diminuição da velocidade de crescimento e da eficiência alimentar, causados pela redução do metabolismo protéico e da absorção de gorduras. Essa influência negativa sobre a produção animal deve-se à interferência exercida pelas aflatoxinas sobre diversos sistemas enzimáticos (amilase pancreática, tripsina, lipase, RNase, DNase), interferindo na digestão de amidos, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Os sais biliares que atuam como redutores de tensão superficial, possibilitando a atividade das lipases no intestino, têm sua produção reduzida pela ação das aflatoxinas. Verifica-se, por isso, uma importante redução na absorção de gorduras e, em consequência disso, há redução no processo de absorção de vitaminas lipossolúveis, ocorrendo redução na função de detoxificação de toxinas e drogas, exercida pelo fígado, e há uma considerável redução na produção de proteínas plasmáticas, o que influi sobre a produção de imunoglobulinas, sobre o mecanismo de coagulação sanguínea e sobre a síntese de importantes sistemas enzimáticos que, aliado ao

aumento da fragilidade capilar, resulta em hemorragias generalizadas. (Hygino da Cruz, 1996).

Baseados em mais de 2500 análises de micotoxinas realizadas no laboratório da Universidade Federal de Santa Maria, no período de 1987 a 1994, foi possível afirmar que cerca de 25% do milho produzido no Brasil está contaminado por aflatoxinas e que deste montante, em torno de 15% apresentam níveis superiores a 20 partes por bilhão, segundo Santurio (1996).

2.2.1.1 Efeitos Sobre Aves

A F.A.O estima que 25% dos grãos do mundo estão contaminados por micotoxinas. Estima-se que no sul do Brasil concentra-se a maior parte dos grãos com aflatoxinas. Como o sul produz cerca de 60% do milho do país, têm-se aproximadamente 7 milhões de toneladas de grãos com aflatoxina, e desse total, 15% apresentam níveis de contaminação acima de 20 ppb, representando em torno de 30% da produção nacional. Isso Figura a soma de 1 milhão e 50 mil toneladas de milho com mais de 20 ppb de aflatoxina. O efeito disso é enorme, principalmente sobre o desempenho de suínos e aves. Normalmente não se observa mortalidade acentuada de aves por aflatoxinas, mas elas recebem as conseqüências das aflatoxinas sobre a produção de carne e ovos (Santúrio, 1996).

Nichols (1989) calculou em cerca de 100 milhões de dólares os prejuízos provocados por aflatoxinas, nos Estados Unidos, no começo da década de setenta.

Infelizmente não existem dados seguros sobre os prejuízos por aflatoxinas em frangos e poedeiras na América Latina, mas, com certeza são bastante elevados.

Com relação aos níveis danosos de aflatoxinas para aves, pequenas quantidades, para frangos alojados em galpões comerciais, cerca de 14 ppb,

provocam perdas substanciais no desempenho. Experimentalmente, se trabalha com níveis de aflatoxina centenas de vezes maior, já que numa investigação experimental, utiliza-se um menor número de aves, o que diminui os teores de amônia no ar e a disputa por espaço e por alimento. (Jones, Hagler e Hamilton, 1982 e Doerr et al., 1983).

Animais em boxes experimentais, em condições de “estresse”, apresentam diferenças significativas em termos de peso, a partir de 75 ppb de aflatoxina, e aves sob as mesmas condições, mas sem o fator “estresse”, somente a partir de 2700 ppb de aflatoxina é que se notam estas diferenças. Isso significa que as aflatoxinas e outras micotoxinas, para causar problemas nos animais, estão na dependência do nível de toxina e da qualidade de vida do animal (níveis alimentares e de estresse). Quanto maior o “estresse”, menor a quantidade de micotoxina necessária para causar problemas orgânicos (Doerr et al., 1983).

2.2.1.2 Outras Considerações Sobre Aflatoxinas

2.2.1.2.1 Desenvolvimento Fúngico e Produção de Aflatoxinas em Grãos e Rações

Prado et al., (1991), analisando amendoim no estado de São Paulo, verificaram que o armazenamento a 75% de umidade relativa não afetou a contagem de fungos e leveduras até os 30 dias. No entanto, em umidade relativas acima de 90%, houve um aumento significativo no crescimento fúngico, além de uma maior produção de aflatoxinas.

Baldissera et al., (1992) analisaram um total de 342 amostras de grãos (milho, sorgo, trigo) e rações balanceadas, utilizados na alimentação animal, no período de 1987 a 1990, com o intuito de verificar a presença de aflatoxinas. Eles verificaram que das amostras de rações analisadas, 30.7% estavam contaminadas, representando 14.62% do total das amostras entre grãos e rações analisadas.

Oliveira et al., (1997) estudando a presença de aflatoxinas em alimentos (rações) para frangos de corte no estado do Goiás (Brasil), verificaram que

apenas 1 amostra em 60 colhidas apresentou contaminação, o que equivale a 1,66% das amostras totais.

El-gazzar e Marth (1988) avaliaram o papel do peróxido de hidrogênio para prevenir o crescimento e produção de AFT por *Aspergillus parasiticus* e encontraram que concentrações de peróxido entre 0.3-0.5% estimularam a produção de AFT B1/ G1 durante 10 dias, à medida que aumentaram as concentrações além de 0.3-0.5%, observou-se uma inibição total do crescimento do fungo e produção de AFT.

Em experimentos realizados por Mabee e Chipley (1973) sobre a distribuição tissular da AFTB1 com C14 em frangos de corte, verificou-se que as aves retiveram a décima parte da dose administrada, sendo suas porcentagens as seguintes: sangue 11%, fígado 9.8%, coração 4.3%, moela 12.5%, músculos peitorais 31.7% e coxas 30.6%, sendo a acumulação de gordura no fígado um dos principais sintomas da contaminação por aflatoxinas. A observação apenas deste órgão pode indicar erroneamente a ausência da contaminação por aflatoxinas, pois quando estas se associam com outras toxinas, outros órgãos de importância são afetados.

2.2.1.2.2 Estabilidade e Degradação das Aflatoxinas

O calor pode ser utilizado para inativar aflatoxinas, mas seriam necessárias temperaturas elevadas (268-269°C) para alcançar sua destruição, e assim eliminar sua toxicidade. A prática de tostar o amendoim reduz a atividade da aflatoxina B1 em 70% e da B2 em aproximadamente 45%. Apesar disso, o uso do calor geralmente não é satisfatório para minimizar ou eliminar a toxicidade das aflatoxinas. Agentes oxidantes são efetivos em reduzir a toxicidade das aflatoxinas. O hipoclorito de sódio, bem como a exposição a substâncias alcalinas (pH > 8.0), e além disso, o uso de sulfito e bissulfito, também reduzem a atividade tóxica das aflatoxinas. A exposição prolongada de

grãos a temperatura de 28°C faz com que o fungo metabolize a aflatoxina B1 em B2, sendo esta de toxicidade mínima.

Existem trabalhos que demonstram que as micotoxinas podem ser combinadas com adsorventes tais como vermiculita, bentonita, aluminossilicatos etc..., para uma posterior redução dos seus níveis e (Huff, 1992; Andrade e Rosiles, 1992).

Os métodos mais recentes de detoxificação de micotoxinas têm sido a adição de adsorventes não nutritivos, que sequestram as toxinas e reduzem sua absorção gastrointestinal, reduzindo seus efeitos tóxicos, e entre estes destacamos bentonita, zeolita e aluminossilicato de sódio e cálcio hidratado (Kubena et al., 1998).

Santúrio et al., (1999) avaliaram os efeitos da bentonita sódica como adsorvente na redução dos efeitos tóxicos causados pelas aflatoxinas e verificaram que todas as aves tratadas com aflatoxinas e sem bentonita foram afetadas, porém, o tratamento com aflatoxinas e com bentonita melhorou o ganho de peso das aves em 31.3% aos 42 dias e aumentou o consumo de ração em 23.8%, melhorando ainda a eficiência produtiva em 40.1%. O peso de órgãos como coração, fígado e pâncreas não foi afetado.

Doyle e Marth (1978) demonstraram que o bissulfito, os ácidos fortes, por catalisarem a adição de água à AFTB1, produzindo um hidroxilato análogo à AFTB2, além do processo de amoniação utilizando amônio gasoso e hidrogênio de amônio, reduzem os níveis de AFTs.

Acredita-se que a glutathione, um tripeptídeo contendo enxofre, liga-se ao epóxido ativo da molécula de aflatoxina presente no fígado, tornando-a atóxica e passível de ser eliminada pela urina. Possivelmente, por provocar um aumento na concentração de glutathione, uma dieta rica em aminoácidos sulfurados pode inibir os efeitos das aflatoxinas, possibilitando um crescimento próximo àquele observado em animais atóxicos. Por causa disso, uma dieta

enriquecida por proteína poderá compensar os efeitos das aflatoxinas pelo aumento da concentração de precursores de glutathione (Hygino da Cruz, 1996).

Judah et al., (1994) relatam haver correlações inversas na conjugação de aflatoxinas com glutathione, de acordo com a classe de glutathione S-transferase envolvida na conjugação do composto.

Muitas evidências mostram que a velocidade de conjugação da glutathione com aflatoxinas exo e endo-epóxido-GSH é um importante fator na determinação da toxicidade das aflatoxinas e que a indução da atividade da enzima glutathione S-transferase pode ter um efeito protetor significativo na redução dos efeitos das aflatoxinas (Raney et al., 1992).

2.2.1.2.3 Efeitos Toxicológicos e Deposição de Aflatoxinas nos Tecidos Após Contaminação da Dieta

Chen et al., (1984) observaram que uma pequena fração das aflatoxinas presentes na ração consumida era depositada nos tecidos de frangos de corte. Os níveis de deposição variaram de 0.09 a 2,60 µg/Kg por dia, com maiores níveis encontrados na moela e depois no fígado, após uma ingestão de dieta contaminada com 2057 µg/Kg para a aflatoxina B1 e 1323 µg/Kg para a aflatoxina B2, durante 5 semanas. Estes pesquisadores ainda observaram que os resíduos de aflatoxinas eram rapidamente eliminados após a retirada da dieta contaminada.

Micco et al., (1988) ao estudarem resíduos de AFTB1 e seus metabólitos em frangos de corte e poedeiras, verificaram que os animais alimentados com pequenas doses, por longos períodos, passaram normalmente pela inspeção de carnes; entretanto, pequenas quantidades estavam presentes em vários tecidos comestíveis.

Segundo Mule, Bottalico e Solfrizzo (1988), após a ingestão de AFTB1 ocorrem mudanças no núcleo dos hepatócitos, congestão centrolobular, hemorragia e necrose, em um período de 9 a 12 horas. Clinicamente, os animais

se tornam inapetentes e deprimidos. Observa-se, inicialmente aumento de temperatura, seguido de quadro de hipotermia, icterícia e fezes sanguinolentas; coagulopatias e permeabilidade capilar aumentada, que são responsáveis por hemorragias de serosa, mucosa, fígado e rins, além de pulmões e glândula supra renal. Esta toxina inibe a síntese protéica, com efeito negativo evidente sobre o animal jovem, e interfere com o sistema imunitário reduzindo a resistência à infecção. A AFTB1 inibe a síntese de DNA e interfere na síntese de RNA, e pode ainda inibir a mitose e produzir alterações nos cromossomos, tendo assim efeitos mutagênicos.

A morte ocorre em 24-36 horas após a ingestão de 2mg de AFTB1/Kg de peso corporal, segundo Pier et al., (1981).

As micotoxinas são conhecidas pela capacidade de manterem, por longo tempo, sua atividade biológica. Não existe atualmente nenhum tratamento físico ou químico que possa reduzir os níveis de aflatoxinas que, além disso, causam alterações indesejáveis nos alimentos, tais como perda de substâncias nutritivas e mudanças no aroma e sabor (Schmidth e Esser, 1985).

Ramos (1996) verificou que a adição de aflatoxinas em cordeiros causou efeito sobre os constituintes minerais do sangue, causando uma redução de Zn no plasma e redução dos níveis de Ca, P, Mg e K, sendo que apenas a concentração de Cu aumentou e os níveis de sódio permaneceram inalterados. Estes resultados o levaram a concluir que durante a aflatoxicose, ocorrem alterações severas no metabolismo mineral ou na absorção de minerais, e que as lesões hepáticas e renais provocadas pela presença das aflatoxinas podem causar uma redução da eficiência alimentar nos animais.

2.3 Sistemas Enzimáticos de Proteção Celular: Antioxidativos e Envolvidos na Detoxificação de Xenobióticos (Aflatoxinas)

2.3.1 Ação Enzimática no Metabolismo de Xenobióticos

Xenobióticos são compostos estranhos ao organismo, e as principais classes de xenobióticos de relevância são as drogas, carcinogênicos químicos e vários compostos aos quais somos expostos, como as aflatoxinas. A maioria desses compostos está sujeito a serem metabolizados em nosso organismo, principalmente no fígado. O metabolismo de xenobióticos é dividido em duas fases, na primeira fase ocorre uma hidroxilação, que é catalisada pela citocromo P450; na segunda fase, os compostos hidroxilados ou outros produzidos na primeira fase, são convertidos por enzimas específicas em vários metabólitos mais polares, através de conjugações (ácido glicurônico, sulfato, acetato, glutathione, etc...), bem como por metilação. O processo geral do metabolismo de xenobióticos consiste em aumentar suas solubilidades e, desta forma, facilitar suas excreções do organismo, através da urina ou bile. As enzimas que catalisam estas reações são denominadas Glutathione S-transferases (GST), que encontram-se presentes em grandes quantidades no citossol hepático e em menores quantidades, em outros tecidos. Se os xenobióticos potencialmente tóxicos não fossem conjugados com a GSH, estariam livres para se combinarem covalentemente com DNA, RNA ou proteínas celulares, podendo, portanto, resultar em sérias lesões celulares, como mostrado na Figura 1 (Harper, 1994).

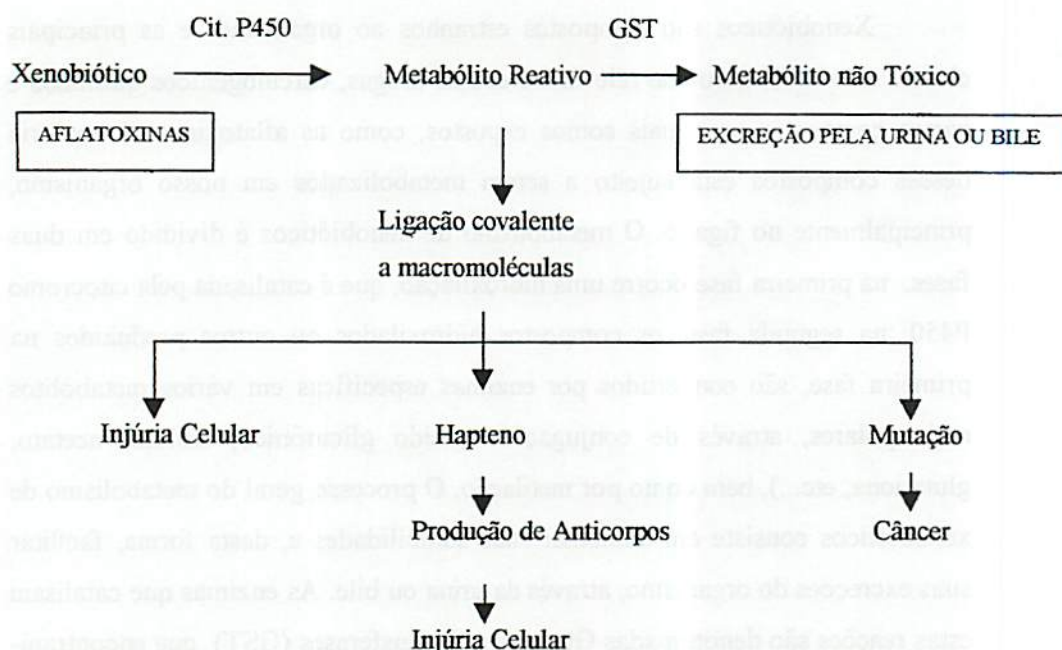


FIGURA 1 Esquema simplificado demonstrando como o metabolismo de um xenobiótico pode resultar em injúria celular, alteração imunológica ou câncer (Harper, 1994).

O transporte vetorial de xenobióticos através dos hepatócitos é mediado por várias proteínas transportadoras, que diferem na especificidade do ligante e na função. Na célula, os xenobióticos podem ser sequestrados por proteínas de transferência intracelular, facilitando a localização destes, e encaminhando-os para os sítios de metabolismo ou para eliminação direta. Destas proteínas de transferência, a classe de maior importância é a da glutathione s-transferase. Elas catalisam as reações de eliminação dos xenobióticos por promoverem a conjugação destes com a glutathione (Leblanc, 1994).

As fases I e II do metabolismo de xenobióticos estão diretamente correlacionadas com a atividade biológica das aflatoxinas. A enzima citocromo P450 tem um papel central na biotransformação das aflatoxinas para a forma epóxido bioativa, formando produtos intermediários, que são conjugados com a

glutathione pela glutathione S-transferase, tornando, desta forma, as aflatoxinas passíveis de serem eliminadas ou atóxicas ao organismo (Guerre, Galtier e Burgat, 1996).

Segundo Mclean e Dutton (1995), as aflatoxinas constituem um grupo fechado de micotoxinas e são largamente distribuídas na natureza. A de maior importância no grupo, é a aflatoxina B-1, pelas suas características tóxicas, a qual tem um anel biologicamente mais ativo, o que lhe confere uma toxicidade aguda, teratogenicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade. Para se reduzir a toxicidade das aflatoxinas, é necessário que elas sejam convertidas nas formas reativas, de epóxido, e sofram ação de sistemas enzimáticos pelas monooxidasas (citocromo P450) nos tecidos, em particular no fígado. A enzima citocromo P450 pode catalisar adicionalmente uma hidroxilação e demetilação de moléculas semelhantes, resultando em produtos menos tóxicos, pela conjugação destes com a glutathione.

Resultados obtidos por Saxena et al., (1991), demonstram realmente que no metabolismo das aflatoxinas ocorre primeiramente uma epoxidação da aflatoxina, e subsequentemente, sua conjugação com a glutathione, catalisada pela GST.

2.3.2 Papel da Glutathione S-Transferase (GST) no Metabolismo de Xenobióticos

Glutathione S-transferases (EC 2.5.1.18) são um grupo de enzimas (isoenzimas) que catalisam a conjugação de vários eletrófilos com a glutathione (Jakoby, 1978; Judah, 1994; Leblanc, 1994; Ketterer, 1996; Schultz, Dutra e Tew, 1997). A função principal da enzima GST está na detoxificação de intermediários reativos no metabolismo de xenobióticos, através da conjugação destes com a glutathione (Leblanc, 1994; Ketterer, 1996; Schultz, Dutra e Tew, 1997; Gonzalez, 1998; Sheweita, 1998; Salinas, 1999) e compostos endógenos para a célula (Jakoby, 1978; Raney et al., 1992 e Sheweita, 1998). Os produtos

da reação são conjugados solúveis em água que são passíveis de serem excretados pela urina e bile (Jakoby e Habig, 1980; Mannervik, 1985).

As GSTs são divididas em subclasses, sendo alpha (α), mu (μ), Pi (π) e Theta (θ). A classificação foi feita com base na similaridade de sequência e reatividade imunológica. GSTs mostram um alto nível de especificidade para GSH, mas o segundo substrato eletrofilico pode variar significativamente (Salinas, 1999).

Com objetivo de comparar a forma microsomal com a forma citosólica da GST, as mesmas foram isoladas e caracterizadas em fígados de ratos e a forma microsomal mostrou possuir características claramente distintas das GST do citossol em relação à sequência de aminoácidos, subunidades, propriedades e habilidades de serem ativadas por reagentes tíois, além da GST presente no citossol ser mais ativa que a microsomal (Depane e Ernster, 1979; Morgenstern, Guthenberg e Depane, 1982, Morgenstern, Depane e Jornvall, 1985; Morgenstern et al., 1980 e Judah et al., 1994).

Várias GSTs (AA, A, B,C,D,E) foram purificadas de homogenizados de fígados de ratos (Fjellstedt et al., 1973; Habig e Pabst e Jakoby, 1976). Exceto para GST A e C, as demais são distinguíveis por métodos imunológicos e pela composição de aminoácidos. Cada GST tem um ponto isoelétrico distinto, variando de 7.0 a 10.0 (Habig e Pabst e Jakoby, 1974; Jakoby, 1976 e Hales, 1978).

Todas as classes de GSTs estão também presentes de forma significativa em rins. As propriedades estruturais, imunológicas e funcionais destas classes diferem-se uma das outras, no entanto, quando elas pertencem a mesma classe, têm propriedades similares. Algumas isoenzimas de rins não correspondem as GSTs de outros tecidos e podem ser específicas deste tecido (Shivendra et al., 1987).

As GSTs também constituem o grupo de enzimas ativas envolvidas no passo inicial de síntese do ácido mercaptúrico, catalisando a formação de tioésteres pela adição de GSH a um largo número de compostos que carregam um carbono eletrofílico. Muitos compostos com grupos nitro, halogêneos, époxis ou ésteres sulfato são reativos. Em estudos preliminares, Keem e Habig (1976) notaram que reações de nitroglicerina com GSH designada por éster nitrato redutase e de GSH com tiocinatos orgânicos foram ambas catalisados pela GST. Todas as preparações homogêneas de GST testadas catalisaram a reação de GSH com nitratos orgânicos e tiocinatos. A natureza da reação com ésteres nitratos resultou na formação de GSSG antes do tioéster. A presença de um monosubstrato tiol adicional reduziu a formação de GSSG (Keen, Habig e Jakoby, 1976).

Formas isoenzimáticas de GSTs foram descritas em fígado humano (Awasthi, Dao e Saneto, 1980; Singh et al., 1985; Soma, Stoch e Sato, 1986), pulmões (Partridge, Dao e Awasthi, 1984), eritrócitos (Awasthi e Singh, 1984), placenta (Awasthi e Dao, 1981; Guthenberg e Mannervik, 1981), olhos (Singh et al., 1985), córneas e retina (Singh et al., 1985), cérebro (Theodore et al., 1985).

As GSTs estão, também, essencialmente envolvidas na detoxificação de compostos reativos do metabolismo oxidativo em mamíferos (Hermam, Mannervik e Danielson, 1987).

O sítio ativo de uma subunidade de GST é subdividido em dois subsítios (Mannervik et al., 1978), um para a GSH e o outro para o segundo substrato eletrofílico. Certamente, análogos da GSH também servem como substrato (Sugimoto et al., 1985).

A natureza e a estrutura do substrato pode variar de acordo com o tamanho. Estudos de inibição de uma série de glutathione S-substituídas indicaram que o sítio para o substrato eletrofílico adjacente GSH ligante é hidrofóbico (Hermam, Mannervik e Danielson, 1987).

A atividade da GST pode ser influenciada negativamente pela presença de metais pesados, como mercúrio, cobalto, cério e prata (Sheweita, 1998).

A atividade de GSTs em fígados de ratos apresentou correlação com a atividade de GSH-Px independente de Selênio, direcionada somente para hidroperóxidos orgânicos, tal como hidroperóxido cumene (Lawrence e Burk, 1979). Isto implica que a GST tem papel adicional de proteção contra o estresse oxidativo (Awasthi, Dao e Saneto, 1980).

2.4 Sistemas Enzimáticos Correlacionados ao Estresse Oxidativo em Aves Normais e Ascíticas.

② A criação de aves sob condições que propiciam estresse oxidativo (baixa ventilação, temperaturas baixas, níveis altos de energia nas rações, alta produção de amônia (ambiente tóxico), metabolismo intenso, entre outros fatores, com uma maior ou menor demanda de oxigênio), faz com que as aves desencadeiem seus processos normais de defesa do organismo, para se contrapor a este processo, pela compensação de uma necessidade ou excesso de O₂. Para se contrapor à ação da oxidação, o organismo dispõe de substâncias antioxidantes (como a vitamina E, selênio, etc) e sistemas enzimáticos e antioxidativos (catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutathione reduzida e oxidada (GSH e GSSG), glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione redutase (GSHR), peroxidase (Px), xantina oxidase (XOD), glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-P-D), etc...), de acordo com Vieira (1995), os quais atuam neutralizando os peróxidos, evitando oxidações indesejáveis nos seres vivos.

2.4.1 Ação Antioxidante

A vitamina E parece constituir a primeira linha de defesa contra a peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados. Os tocoferóis atuam como antioxidantes, interrompendo reações em cadeia de radicais livres, devido a suas capacidades de transferirem um hidrogênio fenólico ao radical livre peroxila de

um ácido graxo poliinsaturado peroxidado. O radical livre fenóxi formado pode reagir com a vitamina C para regenerar o tocoferol. A ação antioxidante do tocoferol é efetiva em concentrações elevadas de oxigênio e, desta forma, não é surpreendente que tenda a estar concentrado naquelas estruturas lipídicas expostas à pressões parciais de O₂ mais elevadas; por exemplo, nas membranas do eritrócito, do trato respiratório e retina.

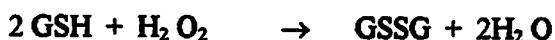
A glutathiona peroxidase (GSH-Px), da qual o selênio (Se) constitui um componente integral, proporciona uma segunda linha de defesa contra hidroperóxidos, antes que estes alterem membranas e outros componentes celulares. Assim, tocoferol e selênio, cada um tem seus mecanismos de ação contra peróxidos lipídicos. Além disso, o selênio é necessário à função pancreática normal que, por sua vez é necessária para a digestão e absorção de lipídeos, incluindo a vitamina E. Por outro lado, a vitamina E reduz as necessidades de selênio, prevenindo a perda do mesmo no organismo ou mantendo-o em uma forma ativa.

Os mecanismos individuais para defesa dos tecidos atuantes nas fases da lipoperoxidação (iniciação e terminação) constituem basicamente de superóxido dismutase, antioxidantes lipídicos, glutathiona peroxidase e selênio, vitamina C, vitaminas A e β-caroteno, bem como a vitamina E.

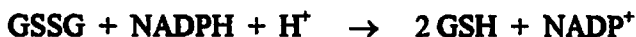
2.4.1.1 Glutathiona Peroxidase (GSH-PX)

Para se contrapor à ação da oxidação, o organismo dispõe de sistemas enzimáticos e antioxidativos (Vieira, 1995) que neutralizam os peróxidos, evitando oxidações indesejáveis nos seres vivos. Entre as enzimas que participam destes processos, está a glutathiona peroxidase, a qual está presente principalmente nas membranas tissulares.

3 A glutathione desempenha um papel importante na detoxificação por reagir com peróxido orgânico e peróxido de hidrogênio, de acordo com as seguintes reações.



Para catalisar tal reação, é necessária a presença da enzima glutathione peroxidase, a qual tem selênio (Se) covalentemente ligado no seu centro ativo. Assim, o funcionamento da enzima se dá da seguinte maneira: o selenolato (E-Se) dessa unidade reduz o substrato peróxido a um álcool, e por sua vez é oxidado a ácido selênico (E-SeOH). A glutathione agora entra em ação formando um ligação selenossulfeto (E-Se-S-G). Uma segunda glutathione regenera então a forma ativa da enzima ao atacar o selenossulfeto para formar glutathione oxidada (Stryer, 1992 e Devlin, 1992). A glutathione oxidada é rapidamente reduzida pela glutathione-redutase. Por sua vez, o NADPH produzido na via das pentoses-fosfato é o responsável por manter a concentração intracelular adequada de glutathione reduzida (Smith, 1983), da seguinte forma.



A via das pentoses-fosfato é ativa no fígado, no tecido adiposo, no córtex adrenal, na tireóide, no eritrócito, no testículo e na glândula mamária em lactação. Todos os tecidos, nos quais a via é ativa, utilizam NADPH nas sínteses redutivas, como na síntese de ácidos graxos, de esteróides ou de glutathione reduzida no eritrócito.

2.4.1.1.1 Ação da Via das Pentoses-Fosfato na Proteção Contra o Estresse Oxidativo

A via das pentoses-fosfato no eritrócito fornece o NADPH necessário à redução da glutathione oxidada (GSSG) para glutathione reduzida (GSH), reação esta catalisada pela glutathione redutase (GSHR), uma flavoproteína contendo

FAD. Por sua vez, a GSH remove H_2O_2 do eritrócito em uma reação catalisada pela glutathiona peroxidase (GSH-Px).

Esta reação é importante uma vez que o acúmulo de H_2O_2 pode diminuir o tempo de vida do eritrócito por aumentar a velocidade de oxidação da hemoglobina. A sequência das reações pode ser apresentada como mostrado na Figura 2.

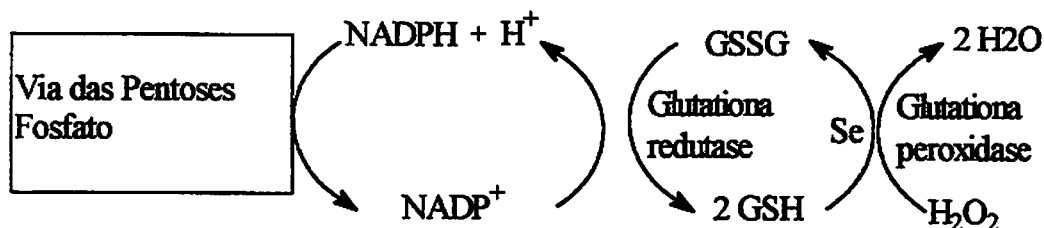
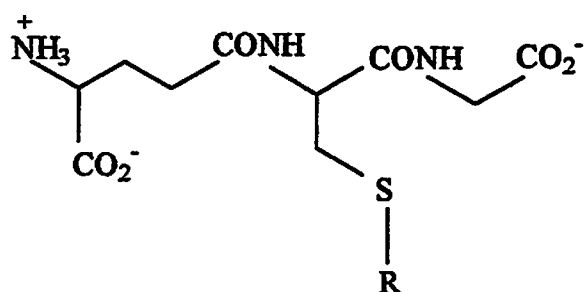


FIGURA 2 Esquema da via das pentoses-fosfato na reação da glutathiona peroxidase dos eritrócitos

O comprometimento da via das pentoses-fosfato determina hemólise do eritrócito. A deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase compromete a formação de NADPH, uma vez que a mesma está envolvida no processo de formação do mesmo. A glutathiona peroxidase, com sua ação antioxidante natural em muitos tecidos, depende do suprimento de NADPH. A enzima decompõe os peróxidos inorgânicos, além do H_2O_2 . Simultaneamente com a vitamina E, a GSH-Px protege o organismo da lipoperoxidação, a fórmula da glutathiona na forma reduzida ou oxidada está apresentada na Figura 3.



1 GSH; R=H

2 GSSG; R=SG

FIGURA 3 Estrutura referente as formas da glutathione na forma reduzida (GSH), e na forma oxidada (GSSG).

2.4.1.1.2 Papel do Selênio na Atividade Enzimática da Glutathione Peroxidase

O selênio é um micronutriente essencial ao organismo, sua presença em alimentos varia grandemente por região, dependendo das condições do solo e das práticas agrícolas utilizadas. O selênio é um cofator integral importante da enzima antioxidante Glutathione Peroxidase, e sua atividade em sangue tem sido utilizada para avaliar a disponibilidade do Se em produtos alimentícios (Wyatt, et al., 1996).

O selênio é também um elemento muito tóxico ao organismo e a sua toxicidade foi primeiramente confirmada em 1933, ocorrida em gado que consumiu plantas do gênero *Astragalus*, *Xylophora*, *Oenothera* e *Stanleya* nas regiões oeste dos Estados Unidos. Em 1957, o selênio foi identificado como um nutriente essencial para ratos de laboratório e logo depois para aves e ovinos. Essencialmente para espécies de mamíferos, a necessidade deste elemento foi

foi estabelecida em 1973, com a descoberta de que a enzima GSH-Px, possui o Se como cofator.

Esta toxicidade se deve ao fato do selênio apresentar atividade catalítica prooxidante para produzir superóxido, peróxido de hidrogênio e muito provavelmente outros oxiradicais (Spallholz, 1994). A ação antioxidante do Se está associada ao metabolismo da glicose, a qual é a principal fonte de produção de NADPH, sendo este responsável diretamente pela manutenção dos níveis de GSH, usado como substrato pela enzima GSH-Px. Portanto, qualquer causa que afete o metabolismo da glicose, compromete a ação do Se.

Esta reação, mostrada na seção anterior, pode também ser apresentada como mostra a figura 4, na seguinte sequência de reações:

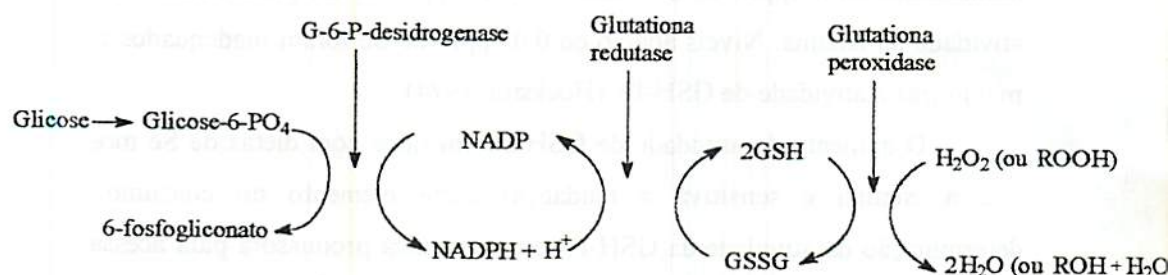


FIGURA 4 Mecanismo de ação da GSH-Px e GSHR.

Somente quando a glicose é incluída na reação, o consumo de selênio na dieta tem uma influência marcada na proteção do eritrócito contra hemólise.

Quando a vitamina E protege os eritrócitos contra hemólise na presença ou ausência de glicose, isto tem um pequeno ou nenhum efeito na redução do dano oxidativo para hemoglobina, no entanto, dietas suplementadas com selênio mostraram proteger as membranas celulares e seus conteúdos contra dano oxidativo, diferenciando neste aspecto, a ação do Se da vitamina E (Hoekstra, 1974).

Na presença de H_2O_2 , a GSH desaparece rapidamente quando os animais são suplementados com selênio, o que não ocorre quando não há esta suplementação (Rotruck, 73). Isto sugere que a reação entre GSH e H_2O_2 é dependente da presença de selênio na dieta, o que se verifica pelo papel do selênio na enzima que catalisa esta reação, a GSH-Px.

Com o objetivo de verificar se o Se era um componente essencial para a GSH-Px, injetou-se ^{75}Se em ratos, e posteriormente a enzima GSH-Px foi parcialmente purificada de seus eritrócitos. A maior parte dos eritrócitos contendo ^{75}Se acompanharam a GSH-Px durante a purificação, sugerindo que o Se é realmente um grupo prostético da GSH-Px (Rotruck, 1973)

Níveis máximos de GSH-Px foram obtidos do fígado de ratos alimentados com 1ppm de Se, mas 0.5 e 0.1 ppm de Se produziram elevada atividade da enzima. Níveis abaixo de 0.05 ppm de Se foram inadequados para maximizar a atividade de GSH-Px (Hoekstra, 1974).

O aumento da atividade de GSH-Px em ratos com dietas de Se mostra que a enzima é sensível a mudanças deste elemento no consumo. A determinação da atividade da GSH-Px é uma técnica promissora para acessar a localização do Se e, possivelmente, para medir a disponibilidade de Se (Levander, 1983).

Segundo Xia et al, (1992) e Mahan (1999), o Se na forma orgânica é mais efetivamente retido nos tecidos do que Se na forma inorgânica. No entanto, a disponibilidade de Se orgânico para atividade de GSH-Px é menor em relação à fonte inorgânica. Porém, com relação à proteção contra degeneração pancreática em aves, a forma orgânica com selenometionina se mostrou mais efetiva em aumentar a atividade da GSH-Px em relação ao selenito de sódio.

Segundo Ali (1995), o requerimento de Se para frangos de corte, listado no NRC (1995), de 0.15mg/Kg de dieta, é adequado para otimizar a atividade de GSH-Px até os 21 dias de idade.

A disponibilidade de Se na dieta é afetada não somente pela forma química, mas também por outros fatores da dieta, como: proteína total e conteúdos de gorduras (Smith e Picciano, 1987).

Cantor et al., (1995), estudando a influência da suplementação de níveis de Se (como Na_2SeO_3) e ocorrência natural em alimentos a base de milho e soja com altos teores de Se, verificaram que a porcentagem de Se excretada foi aumentada pela adição de 0.3 mg/Se/Kg de dieta e não foi afetada pelos ingredientes usados na alimentação. Os mesmos autores, estudando o efeito de levedura selenizada e selenito de sódio como suplemento de Se na dieta de frangos de corte até os 42 dias, concluíram que o desempenho dos animais para GP, CR e CA não foi afetado. Os níveis de Se foram aumentados em todos os tecidos avaliados. As aves suplementadas com levedura selenizada apresentaram menores concentrações de Se no fígado e rins e maiores no músculo do peito e pâncreas, comparado com selenito de sódio.

A atividade da GSH-Px foi investigada em aves suplementadas com dietas de Se na forma de levedura de Se (*Saccharomyces cerevisie*), e não houve diferença significativa na peroxidação de lipídeos, glicose sanguínea e concentrações de α -tocoferol no plasma entre aves suplementadas ou não. A atividade de GSH-Px em eritrócitos, plasma e fígado aumentou significativamente nas aves suplementadas (Arai, 1994).

Wang et al., (1996) relata que a GSH tem muitas funções vitais incluindo detoxificação e proteção de radicais livres, e que um aumento na proporção de GSSG em relação à GSH tem sido usada como indicador de estresse oxidativo *in vivo*. A exposição das aves ao frio causou aumento nos níveis de GSSG, GSH e na relação GSSG/GSH. Um maior aumento da relação de GSSG/GSH nestas aves indicou um maior grau de estresse oxidativo.

2.4.1.1.3 Papel da GSH-Px e da GSHR na Peroxidação de Lipídeos Usada Como Fonte de Radicais Livres.

2 Radicais livres são átomos ou moléculas que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados. A peroxidação lipídica que ocorre quando o organismo é exposto ao estresse oxidativo, e é responsável não somente pela deterioração de alimentos, mas também por danos aos tecidos *in vivo*. Os efeitos deletérios ao organismo são causados pelos radicais livres ($\text{ROO}^\cdot$, $\text{RO}^\cdot$, $\text{OH}^\cdot$) produzidos durante a formação dos peróxidos a partir de ácidos graxos poliinsaturados encontrados na natureza. A peroxidação é uma reação em cadeia que fornece um suprimento contínuo de radicais livres, que iniciam uma peroxidação subsequente. Uma vez que o precursor molecular do processo de iniciação é, geralmente, o produto hidroperóxido ROOH , a peroxidação de lipídeos é uma reação em cadeia com efeitos potencialmente devastadores. Para controlar e reduzir a lipoperoxidação, tanto o homem, em suas atividades, quanto a natureza, utilizam os antioxidantes e, dentre estes, o sistema enzimático mais ativo contra os produtos formados na peroxidação lipídica (peróxidos lipídicos) é o sistema envolvendo a glutathione peroxidase e a glutathione reductase (Harper, 1994).

2.4.1.2 Glutathione Redutase (GSHR)

A glutathione reductase (EC 1.6.4.2) faz parte de uma classe de enzimas e proteínas com dissulfetos funcionais como parte de seu sítio catalítico. Este grupo inclui as flavoproteínas, tioredoxina reductase (EC 1.6.4.5), lipoamido desidrogenase (EC 1.6.4.3), reductase mercúrica e um número de outras enzimas (e.g. ribonucleotídeo reductase) e proteínas (e.g. tioredoxina, glutaredoxina). A glutathione reductase tem um papel crucial na manutenção da proporção celular entre GSH:GSSG, sendo esta proporção de 20:1, e usa NADPH como coenzima por possuir uma flavina como sítio ativo. A Glutathione reductase liga os

dinucleotídeos NADP⁺ e FAD, na mesma subunidade. Seu mecanismo de atuação está descrito na seção 2.4.1.1.

2.5 Correlações Entre os Sistemas Enzimáticos Envolvidos no Estresse Oxidativo e Sobre A Síndrome Ascítica em Aves.

Widemam (1999) relaciona o rápido crescimento e baixas temperaturas (fatores que afetam o metabolismo oxidativo) como disparadores primários de S.A. sob a maior parte das condições de criação do frango de corte comercial. Isto sugere a temperatura como um fator primário na incidência da S.A.

Aumentos em qualquer resistência vascular pulmonar devido ao rápido crescimento das aves ou por fatores que induzam acidose metabólica contribuem para o aumento de incidência da S.A. (Widemam, 1998).

Enkvetchakul (1993) com o objetivo de avaliar o efeito da S.A. sobre o ácido ascórbico, tocoferol e glutathione, os quais são relacionados como os maiores antioxidantes intracelulares, concluiu que não houve diferença em tecidos no teor de ascorbato, tocoferol e GSH entre as aves controles e as aves ascíticas, com exceção do tocoferol hepático às 7 semanas, que foi maior em aves não ascíticas do que nas aves ascíticas e nas aves controle. Em geral, concentrações nos pulmões e fígado dos três antioxidantes foram menor em aves ascíticas do que nos controles e nas aves não ascíticas, embora os menores níveis de antioxidantes possam ser devidos, em parte, à redução do consumo alimentar. Os resultados indicam que os sistemas antioxidantes são comprometidos durante a formação da ascite causada por baixas temperaturas e ventilação deficiente.

Bottje (1995), analisando a capacidade antioxidante em frangos de corte com S.A., verificou que as aves exibiram menor peso corporal, maior concentração de hematócritos, hipertrofia ventricular direita, menores concentrações de α -tocopherol e GSH em fígados e pulmões, servindo como bons indicadores de estresse oxidativo, incluindo elevados teores de peróxidos lipídicos no plasma e menor GSSG no fígado e eritrócitos, às 5 semanas de

idade. Correlações diretas entre peso corporal e peróxidos lipídicos, S.A. e peróxidos lipídicos no plasma às 5 semanas, sugerem que a peroxidação lipídica disputa um papel na etiologia da ascite. Os resultados finais indicaram que a Vitamina E foi efetiva em reduzir a mortalidade induzida por S.A. em frangos de corte, aparentemente por atenuar processos que precedem a peroxidação lipídica.

Cawthon (1999), estudando GSH mitocondrial em resposta ao estresse oxidativo em mitocôndria *in vitro* obtida de frangos de corte com e sem S.A., indicou uma maior susceptibilidade para estresse oxidativo para as aves com S.A. O estresse oxidativo induzido por t-butil hidroperóxido não indicou diferenças em GSH e GSSG entre mitocôndrias controles e de aves com S.A.. No entanto, reduções nas taxas da frequência respiratória em aves com S.A. indicaram uma disfunção que pode contribuir patofisiologicamente para esta doença metabólica nas aves.

Venditti (1997), avaliando os efeitos de antioxidantes (GSH-Px e GSHR) sobre a peroxidação lipídica em ratos adultos submetidos a danos induzidos por exaustivos exercícios nos tecidos, verificou que a atividade e capacidade antioxidante total foi aumentada em fígado e músculo. No coração, a capacidade antioxidante foi aumentada, porém a atividade de GSH-Px foi alterada e, a atividade de GSHR reduziu.

Kostadinovc (1998), investigando os efeitos da infecção coccidial sobre sistemas antioxidativos (glutathione (GSH), glutathione redutase (GSHR), glutathione peroxidase (GSH-Px), peroxidase (Px), superóxido dismutase (SOD), xantina oxidase (XOD) e lipoperoxidação (LPx)), enzimáticos e não enzimáticos, em sangue hemolisado e homogenizado de fígado em frangos de corte, concluiu que a infecção de coccidia em frangos intensifica o processamento de radicais livres e que as mudanças nas atividades enzimáticas foram mais pronunciadas em sangue do que em fígados.

Wang Sy et al., (1997), determinando o efeito de santonina (agente antioxidante) e fornecimento de gordura oxidada sobre a GSH e GSSG em fígado e intestino e mortalidade por S.A., verificou que as aves alimentadas com gordura oxidada exibiam menos GSSG em fígados do que os outros grupos. Todos os tecidos exibiram maiores níveis de GSH às 7 semanas. Maiores teores de GSH foram benéficos por aumentarem a proteção das células intestinais contra os efeitos deletérios das toxinas ou outras formas de estresse oxidativo.

A enzima GST também está envolvida na defesa contra o estresse oxidativo (Garcia Afonso, 1998).

Bottje et al., (1998) correlacionou positivamente os níveis de GSSG com peso ventricular direito do coração, servindo como um indicador de S.A. a ser usado comumente em frangos. Os dados finais indicaram que o estresse oxidativo em frangos pode ser detectado em líquidos de frangos expostos a altos níveis de poeira e amônia em ambiente de criação simulado.

Julian (1992), verificando o efeito de concentrações de O_2 e CO_2 sobre a incidência de S.A. em frangos de corte em ambiente controlado, verificou que a concentração mais baixa de O_2 estudada não proporcionou uma redução na insaturação de hemoglobina em sangue arterial de galinhas normais, não favorecendo a incidência de S. A..

White (1999), relata que após um período de pós hipóxia, é caracterizado um aumento na formação de produtos da peroxidação lipídica. Mudanças nos sistemas de enzimas antioxidantes incluem redução de catalase e glutathione redutase e elevados conteúdos de GSH reduzida. O aumento de toxicidade por H_2O_2 pode ser relatado pela redução significativa na atividade enzimática da glutathione redutase.

Skrzydłowska (1999), verificando o efeito sobre os sistemas enzimáticos da intoxicação de ratos com metanol, concluiu que a administração de metanol

aumenta a concentração de produtos da peroxidação lipídica e, como consequência, causa reduções nas atividades de GSH-Px e GSHR.

Venditti (1999), analisando a proteção contra estresse oxidativo em quatro espécies diferentes de vertebrados, entre eles o *Gallus gallus domesticus*, verificou uma possível relação entre a capacidade respiratória e antioxidantes, capacidade e susceptibilidade para estresse oxidativo em fígado. Mediu-se o consumo de oxigênio e atividade da citocromo oxidase, glutathione peroxidase, glutathione reductase e a capacidade global antioxidante e a ação da peroxidação de lipídeos em resposta ao estresse oxidativo *in vitro* em fígado. Como conclusão, foi relatado que as defesas antioxidantes não foram adaptadas para uma ação combinada de GSH-Px e GSHR em relação às capacidades respiratórias. Não houve correlação entre as atividades destas duas enzimas e o consumo de oxigênio.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUDELO, L. G. Possible causes of avian edema. Poultry International, Mt Morris, v. 22, n. 7, p. 8-14, 1983.
- ALI, J; CANTOR, A. H: Poultry Science. University of Georgia. Athens P. 229, 1997.
- ARAI, T; SUGAWARA, M; SAKO, T; MOTOYOSHI, S; SHIMURA, T; TSUTSUI, N; KONNO, T: Glutathione-peroxidase activity in tissues of chickens supplemented with dietary selenium. Comparative Biochemistry and Physiology, Oxford, v. 107, n.1, p. 245-248, Jan. 1994.
- AMORIM FILHO, A.S. Aspectos econômicos da ascite em frangos de corte no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AVICULTURA, 1989, Brasília. Anais...Brasília, 1989. p. 111- 120.
- ANDRADE, F. E ROSILES, R. Efficiency of aluminosilicates as sequestring of aflatoxin B1 in chickens feed. In: VIII INTERNATIONAL IUPAC SYMPOSIUM ON MYCOTOXINS AND PHYCOTOXINS, 1992, México.
- ARABA, M. Factors relating to prevention and control of aflatoxicosis in broiler chickens. Athens: University Georgia, 1992.
- ARCE, M. J. El uso de la restricción del alimento en edades tempranas en el pollo de engorda para reducir la incidencia del síndrome ascítico. In: MESA REDONDA SOBRE EL SÍNDROME ASCÍTICO, 2., 1990, México. Memórias... Mexico: Universidad Nacional de Mexico, 1990.
- AWASTHI, Y. C; DAO, D. D. E SANETO, R. P: Biochem. J. 191, 1-10, London, 1980.
- AWASTHI, Y. C; DAO, D. D: Placenta 3 (Suppl.), 289-301, London, 1981.
- AWASTHI, Y. C. E SINGH, S. V: Biochem. Biophys. Res. Commun. 125, 1053-1060, San Diego, 1984.

- BACK, A. Ascite em frangos de corte. A situação na empresa avícola brasileira. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1991, Campinas. Anais... Campinas: FACTA, 1991. p.101-105.
- BALDISSERA, M. A. SANTURIO, J. M. E MALLMANN, C. A. Detecção de aflatoxinas Zearalenona e Ocratoxina em alimentos para consumo animal no período 1988-1993. In: CONGRESSO LATINO- AMERICANO DE MICOTOXICOLOGIA, 1., 1994, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro, 1994.
- BERGER, M. M.; CORTEZ, M. E. Y CASTELLANOS, G. F.: Contol de síndrome ascítico en pollo de engorda por medio de la restricion en el tiempo de acceso diario al alimento. In: CONVENCION NACIONAL DE LA ASSOCIACION NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN CIENCIAS AVÍCOLAS, 15., 1990, Cancún. Memórias ... Cancún: 1990, p. 25-43.
- BERTECHINI, A. G. Síndrome ascítica em frangos de corte. In: CONGRESSO NACIONAL DE ESTUDANTES DE ZOOTECNIA, Viçosa, 1999. Anais UFV. Viçosa. p. 343-348. 1999.
- BOTTJE, W; WANG,S; KELLY, F. J; DUNSTER, C; WILLIAMS, A; MUDWAY, I: Antioxidants defenses in lung lining fluid of broilers: Impact of porr ventilation conditions. Poultry Science, Champaign, v.77, n.4, p.516-522, Apr. 1998.
- BOTTJE, W; ENKVETCHAKUL, B; MOORE, R; MCNEW, R: Effect of alpha-tocopherol on antioxidants, lipid-peroxidation, and incidence of pulmonary-hypertension syndrome (ascites) in broilers. Poultry Science, Champaign, v. 74, n.8, p.1356-1369, Aug. 1995.
- BULLERMAN, L. B; SCHROEDER, L. L; YOUNG PARK, K. Formation and control of mycotoxins in food. Journal of Food Protection, Ames, v. 47, n. 8, p. 637-646, Aug. 1984.

- BUYS, S. B; BARNES, P. Ascites in broilers. The Veterinary Record, London, v.108, n. 3, p. 266, 1981.
- CANTOR, A. H; PESCATORE, A. J; STRAW, M. L; FORD, M. J: Broiler litter selenium concentrations na influenced by dietary sources and levels of selenium. Alberta: Poultry Science Association, 1995.
- CAWTHON, D; MCBEW, R; BEERS, K. W; BOTTJE, W. G: Evidence of mitochondrial dysfunction in broilers with pulmonary hipertension syndrome (ascites): Effect of t-butyl-hydroperoxide on hepatic mitochondrial function, glutathione and related thiols. Poultry Science, Champaign, v.78, n.1, p.114-124, Jan. 1999.
- CHEN, C; PEARSON, A. M; COLEMAN, T. H; GRAY, J. J; PESTKA, J; AUST, J. D. Tissue deposition and clearance of aflatoxins from broiler chickens feed a contaminated diet. Food and Chemical Toxicology. Oxford. v. 22, n. 6, p. 447-451, Jun. 1984.
- COELHO, C. L.; MENOCAL, J. A. ; GONZALES, E. A. El syndrome ascitico en pollos de engorda. In: CONFERENCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Santos. Anais... Santos: APINCO/FACTA, 1993. p. 221-248.
- DALE, N.; VILACRE, A. Relationship of two-week body weight to the incidence of ascitis in broilers. Avian Diseases, Texas, v.32, p. 556-560, 1988.
- DOER, J. A; HUFF, W. E; WABECK, G. W; CHALOUPKA, J. D. E MERKLEY, J. M: Effects of low chronic aflatoxicosis in broiler chickens. Poultry Science, Chanpaign, v.62, n.10, p.1971-1977, Oct.1983.
- DOYLE, M. P. E MARTH, E. H. 1978. Bisulfite degrades Aflatoxins. Effect of temperature and concentration of bisulfite. Journal of Food. Protection, Ames, v.41, n.10, p.774-780, Oct. 1979.

- ENKVETCHAKUL, B; BOTTJE, W; ANTHONY, N; MOORE, R; HUFF, W:
Compromised antioxidant status associated with ascites in broilers. Poultry Science, Champaign, v.72, n.12, p.2272-2280, Dec.1993.
- EL-GAZZAR, F.E. E MARTH, E. H. Role of peroxide in the prevention of growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*, 1988.
- FJELLSTEDT, T. A; ALLEN, R. H; DUNCAN, B. K. e JAKOBY, W. B:
Journal Biological Chemistry, Bethesda, v.248, p.3702-3707, 1973.
- FRIEDMAN, L; FIRESTONE, D; HORWITZ, W; BANES, D; ANSTEAD, M;
SHUE, G. Studies of the chicken edema disease factor. Journal of the A. O. A. C., Washington, v. 42, n. 1, p.129-140, 1959.
- GARCIA-AFONSO, C; REPETTO, G; SANZ, P; REPETTO, M; LOPEZ-BAREA, J: Direct determination of glutathione s-transferase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in cells cultured in microtitre plates as biomarkers for oxidative stress. Atla-Alternatives to Laboratory Animals, v.26, n.3, p.321-330, May. 1998.
- GONZALEZ, E; BUYSE, J; TAKITA, T. S; SARTORI, J. R; DECUYPERE, E:
Metabolic disturbances in male broilers of different strains. 1 Performance, mortality, and right ventricular hypertrophy. Poultry Science, Champaign, v.77, n.11, p.1646-1653, Nov. 1998.
- GONZALEZ, F. J: The study of xenobiotic-metabolizing enzymes and their role in toxicity in vivo using targeted gene disruption., Toxicology Letters, Limerick, v.103, p.161-166, Dec. 1998.
- GUERRE, P; GALTIER, P; BURGAT, V: Metabolism and susceptibility to aflatoxin toxicity. Revue de Medicine Veterinaire, Maseux Alford, v.147, n.12, p.879-892, Dec. 1996.
- GUTHENBERG, C. e MANNERVIK, B: Biochem. Biophys. ACTA, Amsterdam, v.661, p.255-260, 1981.

- HABIG, W. H; PABST, M. J; JAKOBY, W. B: Glutathione s-transferases- First enzymatic step in mercapturic acid formation. Journal of Biological Chemistry, Bethesda, v.249, n.22, p.7130-7139, Nov. 1974.
- HABIG, W. H; PABST, M. J; JAKOBY, W. B: Arch. Biochem. Biophys., San Diego, v.175, p.710-716, 1976.
- HALES, B. F; JAEGER, V. E NEIMS, A. H: Biochem. Journal, London, v.175, p.937-943, 1978.
- HALL, S. A; MACHICAO, N. Myocarditis in broiler chickens reared at high altitude. Avian Diseases, Texas, v. 12, n. 1, p. 75-84, 1968.
- HARPER, A. H; MURRAY, R. K; GRANNER, D. K; MAYES, P. A; RODWELL, V. W. HARPER: Bioquímica. 7. Ed. São Paulo: Atheneu, 1994.
- HERMANN, E; MANNERVIK, B; DANIELSON, U. H. Structure activity relationships of 4-hydroxyalkenals in the conjugation catalysed by mammalian glutathione transferase. Biochem. Journal, London, v.247,p.707-713, 1987.
- HERNANDEZ, A. Manual del productor para el control del síndrome ascítico II. México: U. S. Feed Grains Council, 1989, p. 48.
- HOEKSTRA, W. G: Biochemical role of selenium. Trace Elements Metabolism in Animals. Baltimore. p.61-67, 1974.
- HOERR, F.J. Pathogenesis of ascitis. Poultry Digest, Mt Morris, v.46, n.550, p. 8-12, 1988.
- HUCHZERMEYER, F. W.; DE RUYCK, A.M.C. Pulmonary hypertension syndrome associated with in broilers. Veterinary Record, London, v.119, n. 4, p. 94, 1986.
- HUFF, W. E: Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the individual and combined toxicity of aflatoxin and ochratoxin. Poultry Science, Champaign, v.71, p. 65-69, 1992.

- HULAN, H. W; NASH, D; CORNER, A. H. E PROUDFOOT, F. G. Some aspects of the composition of avian ascitic fluid. Poultry Science, Champaign, v.63, p. 1357-1363, 1984.
- HYGINO da CRUZ, L. C: Características gerais das micotoxinas e micotoxicoses: reflexos na indústria avícola. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE MICOTOXINAS E MICOTOXICOSES EM AVES, 1995, Rio de Janeiro, p.1-13.
- HYGINO da CRUZ, L. C: Micotoxinas: são tão importantes? Perspectiva Latino-Americana, 1996, Rio de Janeiro, p.1-12.
- JAKOBY, W. B: Advances Enzymology. Relat. Areas Molecular Biology, New York, v.46, p.383-414, 1978.
- JAKOBY, W. B; HABIG, W. H; KEEN, J. H; KETLEY, J. N. E PABST, M. J: In glutathione metabolism and function. Raven Press. New York. v.189, p.211, 1976.
- JAKOBY, W. B; HABIG, W. H: In enzymatic basis of detoxification. v.2, p.63-94, Academic Press. New York, 1980.
- JONES, F. T; HAGLER, W. M. E HAMILTON, P. B: Association of low levels of aflatoxin in feed with productivity losses in commercial broiler operation. Poultry Science, Champaign, v.61, p. 861, 1982.
- JUDAH, D. J; DAVIES, R; HAYES, J. D; MCLELLAN, L. I; NEAL, G. E: The primary and secondary metabolism os aflatoxins B-1 by rat hepatocytes cultured on matrigel. Toxicology an Applied Pharmacology, San Diego, v. 125, n.1, p.27-33, Mar. 1994.
- JULIAN, R.J. Pulmonary Hipertension: a cause of right heart failure, ascites in meat-type chickens. Feedstuffs, Mineapolis, v.29, p. 19-22, 1990.
- JULIAN, R.J. Ascites in Poultry. Avian Pathology, Oxon, v.22, p.419-454, 1993.

- JULIAN, R.J; FRIARS, G.W; FRENCH, H. The relation-ship of right ventricular hipertension, right ventricular failure and ascites to weight gain in broilers and roaster chickens. Avian Diseases, Texas, v..31, n.1, p.130-135, 1987.
- JULIAN, R.J; MCMILLIAN, I; QUINTO, M. The effect of cold and dietary energy on right ventricular failure and ascites in meat-type chickens. Avian Pathology, Oxon, v.18, n. 4, p. 675-684, 1989.
- JULIAN, R. J; WILSON, B: Pen oxygen concentration and pulmonary hypertension-induced right ventricular failure and ascites in meat-type chickens at low altitude. Avian Diseases, Texas, v.361, n.3, p.733-735, Jul.1992
- KEEN, J. H; HABIG, W. H; JAKOBY, W. B. Mechanism for the several activities of the glutathione s-transferases. Journal Biological Chemistry, Bethesda, v.251, p.6183-6188, Jul. 1976.
- KETTERER, B: Effects of genetic polymorphism and enzyme induction in the glutathione s-transferases family on chemical safety and risk assessment. Environmental Toxicology an Pharmacology, v.2, n.2-3, p.157-160, Oct. 1996.
- KOSOLAPOV, V. A; OSTROVSKII, O. V; SPASOV, A. A: Antioxidant defense and lipid peroxidation in rat tissue after hypobaric hypoxia. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, New York, v.126, n.11, p.1103-1105, Nov.1998.
- KOSTADINOVIC, L; POPOVIC, M; PAVKOV, S; DIMITRIJEVIC, S; STEVANOVIC, D: Effect of coccidiosis on the enzymatic and non-enzymatic antioxidative systems in broilers. Acta Veterinaria-Beograd, v.48, n.56, p.223-230, 1998.
- KUBENA, L. F; HARVEY, R. B; BARLEY, R. H; BUCLEY, S. A; ROTTINGHAUS, G. E: Effects of hydrated sodium calcium

- aluminosilicate (T-bind TM) on mycotoxicosis in young broiler chickens. Poultry Science, Champaign, v.77, n.10, p.1502-1504, Oct. 1998.
- LEBLANC, G. A: Hepatic vectorial transport of xenobiotics. Chemico-Biological Interactions, Limerick, v.90, n.2, p.101-120, Feb. 1994.
- LESSON, S: Ascite e síndrome da morte súbita: manejo e potencial de controle. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1994, p. 137-144.
- LEVANDER, O. A.; DeLOACH, D. P.; MORRIS, V.C.; MOSER, P. B.: Platelet glutathione peroxidase activity as an index of selenium status in rats. Journal of Nutrition, v.113, p.55-63, 1983.
- LOPEZ-COELHO, C.; ARCE, J. M; AVILA, E.G. El síndrome ascítico. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE PATOLOGIA AVIAR, 7., 1990, Athens. Anais...Athens: Ameyca, 1990. p. 138-157.
- LOPEZ-COELHO, C.; ARCE, J. M; GONZALEZ, E. A; PELAEZ, C. V. El síndrome ascítico en pollos de engorda. In: COFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1991, Campinas. Anais...Campinas: APINCO/FACTA, 1991, p. 75-96.
- LOPEZ-COELHO, C.; WIDEMAN, R.F. Ascites: un importante factor en la mortalidad de asaderos. Industria avícola, Mount Morris, v.33, n.2, p. 12-17, 1986.
- LAMAS DA SILVA, J. M. Ascite em frangos de corte. A situação no Brasil. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1991, Campinas. Anais...Campinas: APINCO/FACTA, 1991. p. 97-100.
- MABEE, M. S. E CHIPLEY, J. R. Tissue distribution and metabolism of aflatoxin B-1 14 C in broiler chickens. Applied Microbiology, v.25, p.763-769, 1973.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L; GONZALES, E. Fisiologia aviaria aplicada à frangos de corte. Jaboticbal: FUNEP, 1994.

- MAHAN, D. C.; KIM, Y. Y. The role of vitamins and minerals in the production of high quality pork-Review. Asian-Australasian Journal of Animal Science, v.12, n.2, p.287-294, Mar 1999.
- MANNERVIK, B; GUTHENBERG, C; JAKOBSON, I; WARHOLM, M: Conjugation reaction in drug transformation. Amsterdam: North Holland Biomedical Press, 1978, p.101.
- MANNERVIK, B: Advances Enzymology, New York, v.57, p.357, 1985.
- MAXWELL, M.H.; ROBERTSON, G.W. Vision panoramica de la ascitis en pollos en el mundo: Industria Avicola, Mount Morris, v.44, p. 14-25, 1997.
- MAXWELL, M.H.; ROBERTSON, G.W.; Spence, S. Studies on an ascitic syndrome in young broilers, 2. Ultrastruture. Avian Pathology, Oxon, v.15, n.3, p. 525-538, 1986.
- McKAY, B. Implicaciones nutricionales de la seleccion continua par crecimiento, eficiencia alimenticia y composicion corporal en lineas de pollos de engorda. Shaver Poultry Breeding Farms. 1989.
- MCLEAN, M; Dutton, M. F: Cellular interactions and metabolism os aflatoxin- An update. Pharmacology e Therapeutics, Oxford, v.65, n.2, p.163-192, 1995.
- MENDEZ, A. A; PAASCH, L. H; RAMIREZ, L. M. La hypoxia en la patogenia del sindrome ascitico del pollo de engorda. Veterinaria Mexico, México, v.21, n.1, p. 23-28, 1990.
- MENOCAL, J. A. Restricion alimenticia para disminuir la ascitis. Avicultura Profesional, Athens, v.8, n. 3, p. 96-102, 1991.
- MICCO, C; MIRAGLIA, M; BENELLI, L; ONORI, R; IOPPOLO, A; MANTOVANI, A. L. Long term administration of low doses of mycotoxins in poultry. Food Additives and Contaminants, London, v. 5, n. 3, p. 309-314, 1988.

- MORGENSTERN, R; GUTHENBERG, C. E DEPIERRE, J. W: Enr. J. Biochem, Bethesda, v.128, p.243-248, 1982.
- MORGENSTERN, R; DEPIERRE, J. W. E JORNVALL, H: J. Biolog. Chem, Bethesda, v.260, p.13976-13983, 1985.
- MORRIS, M. P. Survey: ascites in broilers. Broiler Industry, Mt Morris, v.55, n.9, p.38-45, 1992.
- MULE, G; BOTALLICO, A; SOLFRIZZO, M. Study on the presence of aflatoxin M1 in milk substitutes for animal feeding. Zootecnia e Nutrizione Animale, Bologna, v. 14, n. 6, p. 529-532, Nov. 1988.
- NICHOLS, T. E., Jr. Economic impact of aflatoxin in corn. In: Diener, V. L. (ed.) Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn. Alabama: Alabama Agric. Experiment Station, 1983. P.63 (Southern Cooperative Ser. Bull. 279).
- OLIVEIRA, M. A. B; MESQUITA, A. J; SABINO, M; CAFE, M. B: Aflatoxins B-1 and G-1 in broiler feeds on farms from Goiás. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo-Horizonte, v.49, n.6, p.701-708, Dec. 1997.
- OPORTA, M.E.; RUBIO, M. R. Uso de restricción alimenticia como control parcial del síndrome ascítico. Veterinaria México, México, v.20, p. 193-195, 1989.
- PARTRIDGE, C. A; DAO, D. D. E AWASTHI, Y. C: Lung. v.162, p.27-36, 1984.
- PEREIRA, M. C. e TOLEDO, M. C. F. Micotoxinas: Impacto na saúde humana e animal e sua detecção pelo método de ELISA. Alim. Nut. (In press), 1993.
- PIER, A. C; RICHARD, J. L. E CYZEWSKI, S. J: Implications of mycotoxins in animal disease. Journal American Veterinary Medical Association, v.176, p.719-724, 1980.

- PRADO, G; MARTINS-VIEIRA, M. B. C; NICÁCIO, M. ; GLÓRIA, M. B.
Effects of relative humidity on microbial contamination and aflatoxin production in peanut kernels. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.11, n.2, p. 264-273, 1991.
- RAMOS, J. J; FERNANDEZ, A; SAEZ, T; SANG, M. C; MARCA, M. C:
Effect of aflatoxicosis on blood mineral constituents of growing lambs. Small Ruminant Research, Amsterdam, v. 21, n.3, p.233-238, Jul. 1996.
- RANEY, K. D; MEYER, D. J; KETTERER, B; HARRIS, T. M;
GUENGERICH, F. P: Glutathione conjugation of aflatoxin B-1 exo-epoxide and endo-epoxide by rat and human glutathione s-transferases. Chemical Research in Toxicology, Washington, v.5, n.4, p.470-478, Jul. 1992.
- ROSTAGNO, H. S; SILVA, J. D; COSTA, P. M. A; SOARES, P. R; PEREIRA, J. A. A. A; SILVA, M. A. Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos. (tabelas brasileiras), Viçosa: UFV, 1994, 48p.
- ROTRUCK, J. T; POPE, A. L; GANTHER, H. E; SWANSON, A.B;
HAFEMAM, D. G; HOEKSTRA, W. G: Science, London, v.179, p.588-590, Feb.1973.
- SALINAS, A. E; WONG, M. G: Glutathione s-transferases- A review. Current Medical-Chemistry, Schipol, v.6, n.4, p.279-309, Apr. 1999.
- SANGER, V. L; SCOTT, L; HAMDY, A; GALE, C; POUNDEN, W. D.
Alimentary toxemia in chickens. Journal of American Veterinary Medical Association, Chicago, v. 133, n. 3, p. 172-176, 1958.
- SANTOSH, T. R; SREEKALA, M; LALITHA, K: Oxidative estresse during selenium deficiency in seedlings of trigonella foenum-graecum and mitigation by mimosine-Part II. Glutathione metabolism. Biological Trace Element Research, Totowa, v.70, n.3, p.209-222, Dec. 1999.

- SANTÚRIO, J. M; MALLMANN, C. A; ROSA, A; APPEL, G; HEER, A; DAGEFORDE, S; BOTTCHEER, M: Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxins. British Poultry Science, Cambridge, v.40, n.1, p.115-119, Mar. 1999.
- SANTÚRIO, J. M: Impacto das aflatoxinas sobre a produção animal. Perspectiva Latino-Americana. Rio de Janeiro. P.149-156, 1996.
- SAS, B: Contribution to the pathobiochemistry of furazolidone induced oxidative toxicity in chickens. Acta Veterinaria Hungarica, Budapest, v.41, n.1, p.103-121, 1993.
- SAXENA, M; ALTAMEH, A; MUKERJI, K. G; RAJ, H. G: Epoxidation of aflatoxin B-1 by *Aspergillus flavus* microsome in vitro-interaction with DNA and formation of aflatoxin-B1-glutathione conjugate. Chemico-Biological Interactions, Limerick, v.78, n.1, p.13-22, 1991.
- SCHMIDT, F. R; ESSER, K. Aflatoxins: medical, economic impact, and prospects for control. Process. Biochemistry, London, v. 20, n.5, p. 167-174, 1985.
- SCHULTZ, M; DUTRA, S; TEW, K. D: Inhibitors of glutathione s-transferases as therapeutics agents. Advanced Drug Delivery Reviews, Amsterdam, v.26, n.2-3, p.91-104, Jul. 1997.
- SHEWEITA, S. A: Heavy metal-induced changes in glutathione levels and glutathione reductase/ glutathione s-transferase activities in the liver of male mice. International Journal of Toxicology, New Delhi, v.17, n.4, p.383-392, Jul. 1998.
- SHIVENDRA, V. S; LEAL, T; ANSARI, G. A. S; YOGESH, C. A. Purification and characterization of glutathione s-transferases of human kidney. Biochem. Journal, London, v.246, p.179-186, 1987.

- SHLOSBERG, A; BERMAN, E; BENDHEIM, U; PLAVNIK, I. Controlled early feed restriction as a potential means of reducing the incidence of ascites in broilers. Avian Diseases, Texas, v. 35, n. 4, p. 681-684, 1991.
- SHLOSBERG, A; PANO, G; HANDJI, V; BERMAM, E: Prophylactic and therapeutic treatment of ascites in broiler-chickens. British Poultry Science, Cambridge, v.33, n.1, p.141-148, Mar. 1992.
- SINGH, S. V; DAO, D. D; PARTRIDGE, C. A; THEODORE, C; SRIVASTAVA, S. K. E AWASTHI, Y. C: Biochem. Journal, London, v.232, p.781-790, 1985,
- SINGHAL, S. S; GODLEY, B. F; CHANDRA, A; PANDYA, V; JIN, G. F; SAINI, M. K; AWASTHI, S: Induction of glutathione s-transferase hGST 5.8 is an early response to oxidative stress in RPE cells. Investigative Ophthalmology, Washington, v.40, n.11, p.2652-2659, Oct. 1999.
- SKRZYDLEWSSKA, E; FARBISZEWSKI, R: Protective effect of N-acetylcysteine on reduced glutathione, reduced glutathione-related enzymes and lipid peroxidation in methanol intoxication. Drug and Alcohol Dependence, Limerick, v.57, n.1, p.61-67, Nov. 1999.
- SMITH, E. L: Bioquímica de mamíferos. 7. Ed. Guanabara. Rio de Janeiro. 620, 1983.
- SPALLHOLZ, J. E: On the nature of selenium toxicity and carcinostatic activity. Free Radical Biology na Medicine, Oxford, v.17, n.1, p.45-64, Jul. 1994.
- SOMA, Y; SATOH, K. E SATO, K: Biochem. Biophys, London, Acta. v.869, p.247-258, 1986.
- STEWART, P. A., MUIR, W. M; BEGIN, J. J; JOHNSOW, T. H. Feed efficiency and gain responses to protein levels in two lines of birds selected for oxygen consumption. Poultry Science, Champaign, v.59, n.12, p. 2692-2696, 1980.

- STEWART, P. A., MUIR, W. M. The effect of varying protein levels on carcass position and nutrient utilization in two lines of chickens divergently selected for consumption. Poultry Science, Champaign, v.61, n.1, p.1-11, Jan. 1982.
- STRYER, L. Ciclo do ácido cítrico e glicólise in: Bioquímica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992a.p.309-328.
- STUART, J. C. Síndrome de ascitis - muerte súbita - neumonía. Selecciones Avícolas, Barcelona, v. 33, n. 8, p. 540-552, 1991.
- SUGIMOTO, M; KUHLENKAMP, J; OOKBTENS, M; AW, T. Y; REEVE, J; JR. E KAPLOWITZ, N: Biochem. Pharmacol, Tokyo, v.34, p.3645-3647, 1985.
- TEUSCHER, E; LOPEZ, V; ALVAREZ, R. Pathological-anatomical studies on an ascites syndrome in fattening chickens at high altitude. Zentralblatt für Veterinärmedizin, Berlin, v. 18, n.5, p. 380-394, 1971.
- THEODORE, C; SINGH, S. V; HONG, T. D. E AWASTHI, Y. C: Biochem Journal, London, v.225, p.375-382, 1985.
- VELASCO, E. M; MARTINEZ, L. P. Evaluación del efecto de la hipertensión pulmonar en la presentación del síndrome ascítico en México. Veterinaria México, México, v.16, n.1, p.15-19, 1985.
- VENDITTI, P; DANIELE, C. M; BALESTRIERI, M; DI MEO, S: Protection against oxidative stress in liver of four different vertebrates. Journal of Experimental Zoology, New York, v.284, n.6, p.610-616, Nov. 1999.
- VENDITTI, P; DI MEO, S: Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats. International Journal of Sports Medicine, Stuttgart, v.18, n.7, p.497-502, Oct. 1997.
- VIEIRA, E. C: Nutrição: in química fisiológica. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1995. P.243-313.

- WANG, S. Y; BOTTJE, W; MAYNARD, P; DIBNER, J; SHERMER, W:
Effect of santonin® and oxidized fat on liver and intestinal glutathione in broilers. Poultry Science, Champaign, v.76, n.7, p.961-967, Jul 1997.
- WANG, S. Y; BOTTJE, W; EMMERSON, K; EVENSON, C; MOORE, R:
Time course changes in tissue glutathione in broilers maintained in cages or floor pen conditions. Poultry Science Association. Kentucky, 1996.
- WHITE, A. R; COLLINS, S. J; MAHER, F; JOBLING, M. F; STEWART, L. R; THYER, J. M; BEYRENTHER, K; MASTERS, C. L; CAPPAL, R: Prion protein-deficient neurons reveal lower glutathione reductase activity and increased susceptibility to hydrogen peroxide toxicity. American Journal of Pathology, Bethesda, v.155, n.5, p.1723-1730, Nov. 1999.
- WIDEMAM Jr; ROBERT, F. Patogenia da ascite em frango de corte - O que sabemos? Ascite em aves. In: UBA, XI CONGRESSO BRASILEIRO DE AVICULTURA, 1989, p.99-100.
- WIDEMAM, R. F; FRENCH, H: Broiler breeder survivors of chronic unilateral pulmonary artery occlusion produce progeny resistant to pulmonary hypertension syndrome (ascites) induced by cool temperatures. Poultry Science, Champaign, v.78, n.3, p.404-411, Mar. 1999.
- WILSON, J. B; JULIAN, R. D; BARKER, I. K. Lesions of right heart failure and ascites in broiler chickens. Avian Diseases, Texas, v.32, n.2, p.246-261, 1988.
- WYATT, C. J; MELENDEZ, J. M; ACUNA, N; RASCON, A: Selenium (Se) in foods in northern México, their contribution to the daily Se intake and the relationship of Se plasma levels and glutathione peroxidase activity. Nutrition Research, Oxford, v.16, n.6, p.949-960, Jun. 1996.

CAPÍTULO 2

EFEITO DE FONTE E NÍVEIS DE SELÊNIO NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA GLUTATIONA PEROXIDASE E NO DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO

MOREIRA, J. Efeitos de Fontes e Níveis de Selênio na Atividade Enzimática da Glutathiona Peroxidase e no Desempenho de Frangos de Corte. Lavras: UFLA, 2000 (Dissertação de Mestrado em Agronomia).

O presente trabalho teve por objetivos avaliar os efeitos de duas fontes de selênio, selênio orgânico (SO) e selênio inorgânico (SI), em seis níveis (0; 0,15; 0,45; 0,75; 1,05 e 1,35 ppm) sobre a atividade enzimática da glutathiona peroxidase (GSH-Px) em fígados; e sobre o desempenho de frangos de corte. Para avaliação do desempenho, foi adotado um delineamento inteiramente casualizado com fatorial (2x6), sendo duas fontes de selênio em seis níveis, com duas repetições. Foram avaliadas as seguintes características: peso vivo (PV), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA). As determinações das atividades de GSH-Px foram realizadas em extratos de fígados liofilizados. Para as análises estatísticas das atividades de GSH-Px, foi adotado um fatorial ao acaso (2x6x3) com duas fontes de selênio, em seis níveis e três idades (7, 21, 42 dias), com duas repetições. Os resultados mostraram que as fontes influenciaram no desempenho das aves para o PV e GP, sendo SO superior a SI. Os níveis testados diferiram para o consumo de ração aos 21 dias de idade, não diferindo para os demais parâmetros. Para as atividades enzimáticas de GSH-Px, as fontes não diferiram entre si, no entanto, dos níveis testados, 1,05 ppm de selênio foi o que proporcionou uma maior atividade, que foi expressa aos 42 dias de idade.

Orientador: Dr. Custódio Donizete dos Santos - UFLA

ABSTRACT

MOREIRA, J. Effects of Source and Levels of Selenium in Glutathione Peroxidase Activity in the Performance of Broilers. Lavras; UFLA, 2000 (Dissertation - Master in Agronomy).

The objective of this research was to evaluate the effects of two selenium sources, organics selenium (SO) and inorganic selenium (SI) in six levels (0; 0.15; 0.45; 0.75; 1.05; 1.35ppm) on glutathione peroxidase (GSH-Px) activity in liver and performance of broilers. For the determination of performance was adopted a experimental design totally randomized, in a factorial scheme (2x6)x2 utilizing two selenium sources in six levels with two replications. Were evaluated the following characteristics: body weight, weight gain, feed intake and feed conversion. The determination of the GSH-Px activity were realized in liver extract lyophilized. For the analysis statistics of the GSH-Px activity were adopted a factorial scheme randomly (2x6x3)x2 with two selenium sources in six levels e tree age (7, 21 and 42 days) with two replications. The results indicate that sources (SO and SI) are different for the performance of the broilers on body weight and weight gain, with SO superior SI. The levels evaluated differentiated for the feed intake in 21 day of age and others paramets were unaffected. The GSH-Px activity in the sources were not affected, however, of the levels evaluated, that has 1,05ppm of selenium was that provided a high GSH-Px activity that was expressed in 42 days of age.

Guidance: Dr. Custódio Donizete dos Santos - UFLA

1 INTRODUÇÃO

O selênio (Se) é um micronutriente essencial para o organismo. Em aves, sua deficiência pode causar necrose hepática, redução da quantidade de proteínas, diátese exsudativa, redução na secreção de enzimas digestivas, além de reduzir o crescimento.

Apesar da grande importância, o seu papel no metabolismo ainda é pouco explicado, sendo relacionado com a síntese de complexos Se-aminoácidos e Se-proteínas, funcionando como antioxidantes eficientes.

A seleno-enzima glutathione peroxidase (GSH-Px), cuja biossíntese é induzida por selênio, (Bengoumi et al., 1998) foi a primeira seleno-proteína a ser descrita e é a enzima mais conhecida em termos de estrutura e função (Daniels, 1996).

A atividade enzimática da GSH-Px no organismo, funciona como um antioxidante primário e é importante componente na proteção contra radicais livres em espécies que utilizam o metabolismo oxidativo, sendo crucial para a sobrevivência da célula por catalisar a redução de peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos. Usualmente, a atividade de GSH-Px é considerada como um indicador da localização de selênio em uma variedade de espécies (Ganther, 1979). A importância das seleno-proteínas na redução dos efeitos de aflatoxinas em ratos foi ressaltada por Mahmoud et al., (1997).

Segundo Ali et al., (1997), a exigência de selênio para frangos de corte, listada no NRC (1994), é de 0.15 mg/Kg de ração, o que seria suficiente para otimizar a atividade de GSH-Px até os 21 dias de idade. Porém, segundo Cantor et al., (1997), o efeito da suplementação de selênio em dietas de aves pode variar de acordo com a fonte utilizada, ou seja, quando comparada à fonte inorgânica (selenito de sódio), a orgânica (selênio-levedura) proporcionou menores concentrações deste micronutriente no fígado e rins, e maiores no músculo peitoral e pâncreas, sem afetar o desempenho das aves.

Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito da suplementação de Se na forma orgânica e inorgânica, em diferentes níveis, sobre a atividade enzimática da glutathione peroxidase em fígados e sobre o desempenho de frangos de corte.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e Duração do Trabalho

O experimento de campo foi conduzido no galpão experimental do setor de avicultura do Departamento de Zootecnia da UFLA, no período de 27 novembro de 1998 a 07 de janeiro de 1999, na cidade de Lavras-MG, situada na latitude 21° 14' S, longitude 45° W e uma altitude de 918 metros. As temperaturas média, mínima e máxima no galpão experimental foram de 26,5°, 21,5° e 32° C, respectivamente.

As determinações das atividades enzimáticas foram realizadas no laboratório de bioquímica do Departamento de Química da UFLA.

2.2 Instalações

Foram utilizados dois galpões de alvenaria, construídos na orientação leste-oeste, cobertos com telhas de cimento amianto e pé-direito de 3,0 metros. De 1 a 28 dias de idade, as aves foram criadas em boxes de uma bateria metálica com aquecimento e em galpão fechado, e dos 29 aos 42 dias, foram transferidas para gaiolas de 40 cm de altura por 60 cm de comprimento usando 4 aves por gaiola, em galpão protegido apenas por tela.

2.3 Animais Utilizados

Foram utilizados 360 pintos de corte de um dia de idade, da linhagem Cobb-500, de ambos os sexos. Os pintos foram pesados antes de serem alojados

e apresentaram peso médio de 46,0g. O manejo diário foi idêntico para todas as aves.

2.4 Rações Utilizadas

Foram utilizadas rações fareladas misturadas na fábrica de rações do Departamento de Zootecnia da UFLA, formuladas à base de milho e farelo de soja, suplementadas com minerais (sem selênio) e vitaminas. Utilizaram-se dois tipos de rações, segundo as fases: inicial-crescimento, fornecida de 1 a 28 dias de idade, e crescimento-final, fornecida de 29 a 42 dias de idade, balanceadas segundo as exigências nutricionais de aves, preconizadas nas Tabelas brasileiras de Rostagno et al., (1994). As composições e os níveis nutricionais das rações experimentais são apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1: Composição das rações experimentais de acordo com as fases de criação.

INGREDIENTES	FASES	
	1-28 dias (%)	29-42 dias (%)
Milho	60.00	68.30
Farelo de Soja	34.50	28.00
Fosfato Bicálcico	2.50	2.20
Calcário Calcítico	0.80	0.80
Premix Vitaminico ¹	0.10	0.10
Premix Mineral ²	0.10	0.10
Sal	0.35	0.35
DL-Metionina	0.15	0.10
Anticoccidiano	0.050	0.050
Óleo de soja	1.45	-
Total	100.00	100.00

1 Premix Vitaminico (Vit. A, Vit. D₃, Vit. E, Vit. K, Vit. B₁, Vit. B₂, Vit. B₆, Vit. B₁₂, Ácido nicotínico, Ácido pantotênico, Ácido fólico, Biotina, Colina, Vit. C, Antioxidante e Antibiótico).

2 Premix Mineral (Cobre, Ferro, Iodo, Manganês, Zinco e Cobalto).

TABELA 2: Níveis nutricionais das rações segundo as fases de criação

Nutrientes e Energia Metabolizável	Fases	
	1-28 dias	29-42 dias
EM Kcal/Kg	2964.60	2972.30
Proteína bruta (%)	20.99	18.68
Cálcio (%)	1.00	0.91
Fósforo Disponível (%)	0.54	0.49
Metionina (%)	0.47	0.40
Metionina + Cistina (%)	0.82	0.71

Segundo Rostagno et al., (1994).

2.5 Fontes e Níveis de Selênio Utilizados

Foram utilizadas duas fontes de selênio, na forma orgânica e inorgânica, sendo a orgânica constituída de Selplex-50 (levedura selenizada-Alltech) e a inorgânica de selenito de sódio (Sulfal). Os níveis avaliados foram 0,00, 0,15, 0,45, 0,75, 1,05 e 1,35 mg/Kg de selênio.

2.6 Parâmetros de Desempenho Avaliados

2.6.1 Peso Vivo e Ganho de Peso

Semanalmente, foram feitas avaliações do peso vivo e do ganho de peso de todas as aves de cada parcela experimental; no entanto, apenas as avaliações aos 21 e 42 dias constam neste trabalho.

2.6.1 Consumo de Ração

A avaliação do consumo de ração foi realizada semanalmente, retirando-se a sobra dos comedouros e subtraindo-se do total de ração fornecida. Obteve-se o consumo acumulado por ave, apresentados aos 21 e 42 dias de idade.

2.6.3 Conversão Alimentar

A conversão alimentar foi obtida pela divisão do consumo acumulado de ração pelo ganho de peso médio dos frangos nas respectivas idades.

2.6.4 Viabilidade

Obteve-se a viabilidade subtraindo-se de 100 a porcentagem de mortalidade.

2.7 Determinação Enzimática

2.7.1 Sacrificio das Aves e Coleta do Material

As aves foram sacrificadas (por atordoamento seguido de deslocamento do pescoço) semanalmente para coleta de material. Logo após o sacrificio, as articulações coxo femural direita e esquerda foram deslocadas, deixando a ave em decúbito dorsal, em seguida, a pele da parte inferior do abdômen foi cortada e deslocada no sentido da cabeça, expondo o peito da ave. A parede do abdômen e as costelas foram cortadas, deslocando o peito no sentido da cabeça, expondo as vísceras. O fígado e o coração foram retirados, limpos e congelados em freezer. Posteriormente, estes órgãos foram pesados para acompanhamento do crescimento dos mesmos nas diferentes idades.

2.7.2 Preparo das Amostras

Os fígados coletados das aves sacrificadas semanalmente foram congelados, pesados e liofilizados. Após liofilização, os fígados foram macerados em almofariz e passados em peneira com malha de 0,2 mm para obtenção dos extratos liofilizados. Dos extratos de fígado liofilizados, foram retiradas amostras de 0.03g, que foram homogeneizadas em homogeneizador tipo Potter com 6ml de tampão fosfato de potássio 0.25M (preparado pela combinação de 0.25M de K_2HPO_4 (reagente A) e 0.25M de KH_2PO_4 (reagente B) e pH final igual 7.4). Após homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi coletado para as determinações enzimáticas e o sedimento foi descartado.

2.7.3 Atividade Enzimática da Glutathiona Peroxidase

As atividades enzimáticas de glutathiona peroxidase (GSH-Px) nos extratos de fígados foram determinadas como descrito por Levander et al, (1983), pelo método de Paglia e Valentine (1979), modificado da seguinte maneira:

Método Analítico Modificado: Foram transferidos, para um tubo de ensaio, 200µl de tampão fosfato de potássio 0.25M (tampão fosfato de potássio 0.25M pH 7.4 contendo 25mM de EDTA (preparado pela combinação de 0.25M de K_2HPO_4 com 25mM de Na_2EDTA (reagente A) e 0.25M de KH_2PO_4 com 25mM de Na_2EDTA (reagente B)); 5 unidades de glutathiona redutase (Sigma) por ml de tampão; 50µl de glutathiona reduzida (Sigma) 40 mM preparada em tampão fosfato de potássio 0.25M (ajustando o pH para 7.4 com KOH 1N); 100µl de sobrenadante de fígado e 620µl de tampão fosfato de potássio 0.25M pH 7.4. Incubou-se a mistura em banho maria por 10 minutos a 37°C. Adicionou-se 10µl de NADPH (Sigma) 20 mM dissolvidos em $NaHCO_3$ 0.1%, e incubou-se a mistura novamente por 2 minutos, a 37°C. A reação foi iniciada adicionando 20µl de t-butil hidroperóxido (Sigma) 15 mM, preparados em tampão, e fez-se as leituras de absorbâncias em espectrofotômetro contra branco a 340 nm em intervalos de 2 em 2 minutos, até 10 minutos, a 37° C. A atividade da GSH-Px foi monitorada pela variação das absorbâncias em função da oxidação do NADPH a 340 nm. A atividade da enzima foi expressa em unidades por grama de extrato de fígado liofilizado (U/g). Cada mistura de reação foi incubada por pelo menos seis períodos de tempo. Controles sem substrato (branco de enzima) foram realizados paralelamente aos ensaios.

Uma unidade de atividade foi definida como a quantidade de enzima que oxida 1 µmol de NADPH por minuto, nas condições de ensaio.

2.8 Delineamentos Experimentais, e Análise Estatística

2.8.1 Para Desempenho das Aves

Adotou-se um delineamento experimental inteiramente ao acaso, e a análise estatística foi em esquema fatorial 2x6 (duas fontes de selênio (selenito de sódio e levedura selenizada), e seis níveis (0.00, 0.15, 0.45, 0.75, 1.05 e 1.35ppm)), com duas repetições de 15 aves cada.

O modelo estatístico foi definido como:

$$Y_{ijl} = \mu + F_i + N_j + (FN)_{ij} + E_{ijl}$$

sendo:

Y_{ijl} = o valor observado na fonte i, no nível j, na unidade experimental l.

μ = média geral

F_i = efeito da fonte i, com i = 1 e 2.

N_j = efeito do nível j, com j = 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

$(FN)_{ij}$ = efeito da interação do nível i na fonte j.

E_{ijl} = erro experimental associado a observação Y_{ijl} com l = 1 e 2.

As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey e os níveis, por regressão, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, segundo Banzato e Kronka, 1995.

Utilizou-se o programa de Sistema de Análise Estatística SANEST para a análise final dos dados.

2.8.2 Para Atividade Enzimática

Adotou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado, e a análise estatística foi em esquema fatorial 2x6x3 (duas fontes de selênio (orgânica e inorgânica), em seis níveis (0.00, 0.15, 0.45, 0.75, 1.05 e 1.35ppm), com três idades (7, 21 e 42 dias)), com duas repetições de 15 aves cada uma, extraídas do experimento de campo.

O modelo estatístico foi definido como:

$$Y_{ijkl} = \mu + F_i + N_j + I_k + (FNI)_{ijk} + E_{ijkl}$$

sendo:

Y_{ijkl} = o valor observado na fonte i , no nível j e na idade k , na unidade experimental l .

μ = média geral.

F_i = efeito da fonte i , com $i = 1$ e 2 .

N_j = efeito do nível j , com $j = 1, 2, 3, 4, 5$ e 6 .

I_k = efeito da idade k , com $k = 1, 2$ e 3 .

$(FNI)_{ijk}$ = efeito da interação da fonte i no nível j e idade k .

E_{ijkl} = erro experimental associado a observação Y_{ijkl} com $l = 1$ e 2 .

As médias obtidas foram comparadas de forma idêntica aos dados de desempenho.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados de desempenho das aves aos 21 e 42 dias de idade são apresentados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente. Para o desempenho aos 21 dias, as fontes de selênio (SO e SI) diferiram entre si para peso vivo e ganho de peso ($P<0,01$), não diferindo para consumo de ração e conversão alimentar ($P>0,05$). Os níveis testados não influenciaram o peso vivo, ganho de peso e conversão alimentar ($P>0,05$). No entanto, apresentaram diferenças quanto ao consumo de ração ($P<0,05$), sendo 1.05 ppm o que proporcionou o maior consumo, enquanto o controle apresentou o menor valor. Aos 42 dias de idade, as fontes de selênio (SO e SI) também diferiram entre si para peso vivo e ganho de peso ($P<0,05$), porém, não houve diferença significativa para os parâmetros avaliados dentro dos níveis testados ($P>0,05$). As interações das fontes e dos níveis aos 21 e 42 dias de idade não foram significativas ($P>0,05$).

Os dados de desempenho obtidos neste experimento contradizem os resultados obtidos por Cantor et al., (1997), que mencionam não terem verificado diferenças para ganho de peso, consumo e conversão alimentar em frangos de corte suplementados com selênio nas formas orgânica e inorgânica. Ali et al., (1997), analisando a necessidade de selênio para frangos de corte, alimentados à base de milho e farelo de soja até os 21 dias de idade, também não verificaram diferença para os mesmos parâmetros avaliados. No entanto, Rutz et al., (1990), quando forneceram selênio e riboflavina para frangos de corte, encontraram efeito significativo para ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. Os dados citados para desempenho das aves (Tabelas 3 e 4) sugerem que os níveis de selênio testados não diferem entre si para o desempenho final das aves. Porém, as fontes de selênio (SO e SI) diferiram, sendo a forma orgânica (SO) a que mais contribuiu para aumentar o peso vivo e também aos 21 dias de idade.

TABELA 3: Desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes fontes e níveis de selênio aos 21 dias de idade.

Fontes de Variação	PV (g)	GP (g)	CR (g)	CA
Níveis de Se (ppm)	ns	ns	*	ns
0	540	494	816 B	1.67
0.15	545	499	881 AB	1.75
0.45	560	514	878 AB	1.70
0.75	570	524	912 AB	1.73
1.05	513	467	942 A	2.01
1.35	560	514	891 AB	1.73
Fontes de Se	**	**	ns	ns
SO	572 A	526 A	895	1.69
SI	524 B	478 B	878	1.83
Interação (N*F)	ns	ns	ns	ns
C. V (%)	5.53	5.77	4.74	9.10

Médias com letras iguais nas colunas, não diferem entre si pelo teste de tukey ($P>0.05$).

* $P<0.05$

** $P<0.01$

ns – Não significativo

C. V (%) Coeficiente de Variação

TABELA 4: Desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes fontes e níveis de selênio aos 42 dias de idade.

Fontes de Variação	PV (g)	GP (g)	CR (g)	CA
Níveis de Se (ppm)	ns	ns	ns	ns
0	1948	1892	3685	1.95
0.15	1952	1906	3799	1.99
0.45	1941	1895	3830	2.02
0.75	1939	1893	3944	2.09
1.05	1905	1859	4077	2.19
1.35	1917	1871	3745	2.01
Fontes de Se	*	*	ns	ns
SO	1978 A	1932 A	3910	2.03
SI	1886 B	1840 B	3783	2.06
Interação (N*F)	ns	ns	ns	ns
C. V (%)	5.07	5.29	6.51	6.08

Médias com letras iguais nas colunas, não diferem entre si pelo teste de tukey ($P>0.05$).

* $P<0.05$

ns – Não significativo

C. V (%) Coeficiente de Variação

A variação do consumo de ração, de acordo com os níveis de selênio utilizados aos 21 dias de idade, foi um resultado inesperado e concorda com os valores obtidos aos 42 dias, quando tal variação não foi observada.

Os dados das atividades enzimáticas de GSH-Px estão apresentados na Tabela 5. Verifica-se que as fontes de selênio (SO e SI) não diferenciaram para a atividade total de GSH-Px ($P>0,05$) ao final do experimento. A idade das aves e os níveis de selênio avaliados diferenciaram significativamente para a atividade de GSH-Px ($P<0,05$). Dos níveis avaliados, o que melhor contribuiu para aumentar a atividade de GSH-Px foi o de 1.05 ppm ($P<0,05$). Nas três idades avaliadas, a maior atividade enzimática foi verificada aos 42 dias e a menor aos 21 dias.

Todas as interações foram estatisticamente significativas ($P<0,01$). Dentre as fontes de selênio avaliadas, podemos notar que para as idades de 7 e 21 dias não houve diferença significativa ($P>0,05$), mas para os 42 dias, os figados extraídos das aves alimentadas com ração contendo selênio inorgânico apresentaram, em seus sobrenadantes, maior atividade do que aqueles extraídos das aves alimentadas com ração contendo selênio orgânico ($P<0,05$). Para as aves alimentadas com ração contendo selênio orgânico, aos 21, dias os níveis de selênio não diferiram entre si em relação à atividade de GSH-Px ($P>0,05$), no entanto, para 7 e 42 dias de idade, notou-se diferença estatística entre eles ($P<0,05$). Para as aves alimentadas com ração contendo selênio inorgânico, os níveis de selênio diferenciaram estatisticamente nas três idades avaliadas ($P<0,05$) quanto à atividade de GSH-Px.

Os dados observados sugerem que não há diferença estatística para as fontes de selênio avaliadas (SO e SI), sem levar em consideração as distintas idades; no entanto, considerando as idades isoladamente, podemos notar que a forma inorgânica aos 42 dias de idade mostrou-se superior à forma orgânica, o que corrobora os resultados obtidos por Mahan et al., (1999), que afirmam ser a

TABELA 5: Efeito da fonte e dos níveis de selênio na atividade enzimática da glutatona peroxidase (GSH-Px) em fígados de frangos de corte aos 7, 21 e 42 dias de idade, expressa em u/g de fígado liofilizado.

Fontes de Selênio	Idade (dias)	NÍVEIS DE SELÊNIO (ppm)					
		0.00	0.15	0.45	0.75	1.05	1.35
Selênio-levedura	7	27.65 a A	31.44 a A	13.32 bc A	5.32 c B	21.44 ab A	13.50 bcA
	21	12.38 a B	12.32 a B	16.59 a A	16.08 a A	19.70 a A	18.08 a A
	42	11.86 bc B	8.53 c B	17.64 abc A	6.58 c AB	26.44 a A	23.35 ab A
Selenito de Sódio	7	27.65 a A	4.94 b B	3.26 b B	6.36 b B	39.29 a A	14.70 b B
	21	12.38 ab B	20.06 a A	4.44 b AB	15.50 ab AB	10.85 ab C	16.92 ab B
	42	11.86 c B	13.47 bc AB	13.88 c A	18.12 bc A	24.94 b B	41.44 a A
Médias		17.30 bc	15.13 cd	11.52 d	11.33 d	23.78 a	21.33 ab
		IDADE EM DIAS					
		7	21	42	Médias		
Selenito de Sódio		16.04 b A	13.36 b A	20.62 a A	16.67 A		
Selênio-Levedura		18.78 a A	15.86 a A	15.74 a B	16.79 A		
Médias		17.41 ab	14.41 b	18.18 a			
Interações		**	**	**	**		
Fonte*Idade		Fonte*Níveis	Idade*Níveis	Fonte*Idade*Níveis			
C. V (%)		25.43					

Médias seguidas de letras minúsculas iguais nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey (P>0.05)

** P<0,01

C. V (%) Coeficiente de Variação

forma inorgânica de selênio a mais eficiente para viabilizar a atividade de GSH-Px em relação à forma orgânica. Estes dados ainda estão de acordo com os obtidos por Ali et al, (1997), que afirmam ser o nível de 0.15mg/kg o adequado para otimizar a atividade de GSH-Px aos 21, quando o selenito de sódio é usado como fonte de selênio, o que também foi verificado neste trabalho. Porém, na fase final das aves, o nível que mais contribuiu para aumentar a atividade de GSH-Px foi o de 1.05mg/kg, o que está de acordo com resultados obtidos por Rutz et al, (1990) e Arai et al, (1994), quando indicam haver um aumento na atividade de GSH-Px em sangue, plasma e fígado em aves, com a suplementação de selênio.

A Tabela 6 mostra a mortalidade total das aves durante o experimento.

TABELA 6 : Mortalidade total das aves de 1 a 42 dias de idade nas fontes e níveis de selênio avaliadas.

FONTES DE SELÊNIO	NÍVEIS DE SELÊNIO (ppm)						Total
	0.00	0.15	0.45	0.75	1.05	1.35	
SI	-	-	-	3	2	1	6
SO	1	1	2	-	1	1	6
TOTAL	1	1	2	3	3	2	12

Viabilidade do experimento = $100 - 3.33 = 96.67 \%$

Semanalmente foram feitas coletas e pesagens dos corações e fígados das aves para acompanhamento do crescimento destes órgãos em relação ao desempenho. As atividades enzimáticas podem ser transformadas para fígado inteiro com base nos dados das pesagens. Os dados estão apresentados na Figura 1.

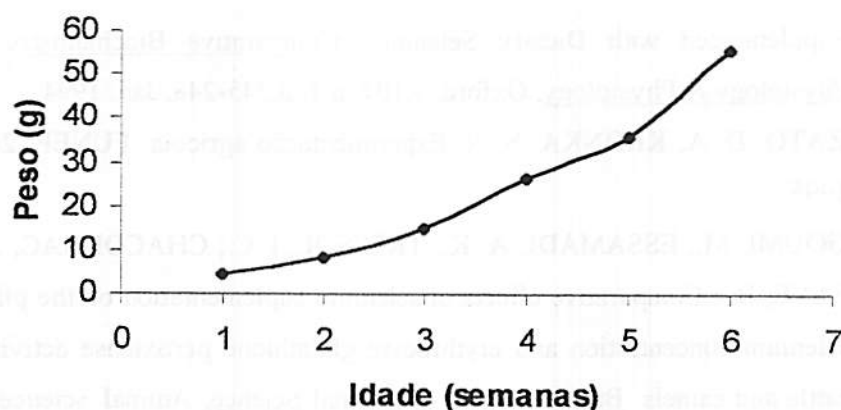


FIGURA 1: Peso dos fígados das aves nas diferentes idades.

4 CONCLUSÕES

- As fontes de selênio testadas influenciaram no peso vivo e ganho de peso aos 21 e 42 dias de idade, sendo a forma orgânica (SO) superior à forma inorgânica (SI) para estes parâmetros. A variação dos níveis de selênio foi significativa somente sobre o consumo de ração aos 21 dias de idade, permanecendo inalterados os demais parâmetros.
- A atividade enzimática da glutathione peroxidase não foi influenciada pelas fontes de selênio. No entanto, dentre os níveis de selênio testados, 1.05 mg/Kg foi o que proporcionou uma maior atividade.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, J. ; LEDOUX, D. R.; BERMUDEZ, A. J.; SUNDE, R. A.: Selenium requirement of broilers fed corn-soybean meal diets from day 1 to 21. University of Georgia, Poultry Science, 1997.
- ARAI, T.; SUGAWARA, M.; SAKO, T.; MOTOYOSHI, S.; SHIMURA, T.; TSUTSUI, N. Glutathione-Peroxidase Activity in Tissue of Chickens

- 
- Supplemented with Dietary Selenium. Comparative Biochemistry and Physiology A-Physiology, Oxford, v.107, n.1, p.245-248, Jan. 1994.
- BANZATO, D. A.; KRONKA, S. N. Experimentação agrícola. FUNEP, 240p., 1995.
- BENGOUMI, M.; ESSAMADI, A. K.; TRESSOL, I. C.; CHACORNAC, J. P.; FAYE, B. : Comparative effects of selenium supplementation on the plasma selenium concentration and erythrocyte glutathione peroxidase activity in cattle and camels. British Society of Animal Science, Animal Science, 67: 461-466, 1998.
- CANTOR, A. H.; PESCATORE, A. J.; STRAW, M. L.; FORD, M. J.; DUNLAP, M. K.: Tissue selenium concentrations of broilers fed diets supplemented with selenized yeast and sodium selenite. University of Georgia, Poultry Science, 1997.
- DANIELS, L. A.: Selenium metabolism and bioavailability. Biological Trace Element Research, Clifton, v.54, p.185-199, 1996.
- GANTHER, H. E.: Metabolism of hydrogen selenide and methylated selenides, in: DRAPER, H. H. (Eds) Advances in Nutritional Research, New York: Plenum Press, 1979. v.2, p. 107-128.
- LEVANDER, O. A.; DeLOACH, D. P.; MORRIS, V.C.; MOSER, P. B.: Platelet glutathione peroxidase activity as an index of selenium status in rats. Journal Nutrition, v.113, p.55-63, 1983.
- MAHAN, D. C.; KIM, Y. Y. The role of vitamins and minerals in the production of high quality pork-Review. Asian-Australasian Journal of Animal Science, Suweon, v.12, n.2, p.287-294, Mar 1999.
- MAHMOUD, A. Z.: Experimental studies on the combined effect of some amino acids, minerals and vitamins on the pathological changes of aflatoxin B1 in albino rats. Poultry Science, v.97, 1997.

- PAGLIA, D. E. e VALENTINE, W. N.: Studies on the quantitive and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. Journal. Laboratory Clinical Medical, St. Louis, v.70, p.158-168, 1979.
- ROSTAGNO, H. S.; SILVA, D. J.; COSTA, P. M. A.; FONSECA, J. B.; SOARES, P. R.; PEREIRA, J. A. A.; SILVA, M. A. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais de Aves e Suínos. Tabelas Brasileiras. Viçosa: UFV, 1994, 61p.
- RUTZ, F.; CANTOR, A. H.; PESCATORE, A. J. AND JOHNSON, T. H.: Interaction of dietary riboflavin and selenium on metabolism of floor-raised broilers. Poultry Science, Champaign, v.69, 1990.

CAPÍTULO 3

INTERAÇÕES ENTRE OS SISTEMAS ENZIMÁTICOS ENVOLVIDOS NO METABOLISMO DE XENOBIÓTICOS (AFLATOXINAS) E OXIDATIVO EM FRANGOS DE CORTE NORMAIS E ASCÍTICOS.

RESUMO

MOREIRA, J. Interações Entre os Sistemas Enzimáticos Envolvidos no Metabolismo de Xenobióticos (Aflatoxinas) e Oxidativo em Frangos de Corte Normais e Ascíticos. Lavras: UFLA, 2000 (Dissertação de Mestrado em Agronomia).

O presente trabalho teve por objetivos estudar o desempenho e determinar as atividades enzimáticas da glutathione s-transferase (GST), glutathione peroxidase (GSH-Px) e glutathione reductase (GSHR) em fígados de frangos de corte normais e ascíticos, alimentados a partir de rações contaminadas por aflatoxinas (AFTs). Para avaliação do desempenho foi adotado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x2x4), sendo 2 tipos de rações (contaminada e não contaminada), 2 sexos (machos e fêmeas), 4 tratamentos (controle, selênio, mycosorb e ascitec) com 2 repetições. Foram avaliadas as seguintes características: peso vivo (PV), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA). As determinações das atividades enzimáticas para GST, GSH-Px e GSHR foram feitas segundo um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x4x6) sendo 2 tipos de rações (contaminada e não contaminada), 4 tratamentos (controle, selênio, mycosorb e ascitec), 6 idades (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias) com 4 repetições. Os resultados mostraram que o sexo das aves influenciou o CR aos 7 e 42 dias ($P<0,05$) e a CA aos 42 dias, sendo que aos 7 dias, as fêmeas consumiram mais que os machos, e aos 42 dias, os machos apresentaram maior CR e CA. Os tratamentos diferiram entre si aos 14 e 21 dias de idade ($P<0,05$) para o CR, sendo que o tratamento com ascitec proporcionou o maior consumo e o tratamento com selênio o menor. As rações diferiram entre si ($P<0,05$) aos 14 e aos 42 dias, sendo que a ração contaminada aumentou o CR aos 14 dias, o PV e o GP aos 42 dias. As atividades enzimáticas da GST, GSH-Px e GSHR variaram segundo as idades ($P<0,05$), sendo que, para GST aos 14 e 35 e para GSH-Px aos 35 e 42 dias verificou-se as maiores atividades e aos 7 e 21 dias as menores. Para a GSHR, as maiores atividades foram expressas aos 21 e 35 dias e as menores aos 7 e 42 dias. Os tratamentos nas diferentes idades também diferiram entre si ($P<0,05$), sendo que o tratamento controle aos 14 dias foi o que proporcionou a maior atividade para GST e GSH-Px, enquanto para GSHR, o tratamento com selênio aos 35 dias foi o que proporcionou a maior atividade. A atividade enzimática da GST não diferiu entre as aves normais e ascíticas, no entanto, a atividade da GSH-Px e GSHR diferiu, sendo a atividade de GSH-Px maior nas aves normais aos 35 e 42 dias, e a atividade de GSHR maior aos 35 dias, também para as aves normais.

Orientador: Dr. Custódio Donizete dos Santos - UFLA.

ABSTRACT

MOREIRA, J. Interactions Among the Enzymatic Systems Involved in the Metabolism of Xenobiotics (Aflatoxins) and Oxidative in Normal and Ascitic Broilers. Lavras: UFLA, 2000 (Dissertation - Master in Agronomy).

The present work aimed to study the performance and determine the enzyme activities of glutathione S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GSH-Px) and glutathione reductase (GSHr) in normal and ascitic broilers, fed on aflatoxin (AFTs) contaminated rations. For evaluation of the performance, a completely randomized design in (2x2x4) factorial scheme, being two sorts of rations (contaminated and un contaminated), 2 sexes (males and females), 4 treatments (control, selenium, mycosorb and ascitec) with 2 replicates. The following characteristics were evaluated: live weight (LW), weight gain (WG), ration consumption (RC) and feed conversion (FC). The determinations of the enzyme activities for GST, GSH-Px and GSHr were done according to a completely randomized design in a (2x4x6) factorial scheme, being two types of rations (contaminated and uncontaminated), 4 treatments (control, selenium, mycosorb and ascitec), 6 ages (7, 14, 21, 28, 35 and 42 days) with four replicates. The results showed that the Sex of the birds influenced CR at 7 and 42 days ($P<0,05$) and CA at 42 days, being that at 7 days, the females consumed more than the males and at 42 days, the males presented greater CR and CA. The treatments differ among them at 14 and 21 days of age ($P<0,05$) for CR, being that the treatments with ascitec provided the highest consumption and the treatment with selenium the least the rations differed among them ($P<0,05$) at 14 and at 42 days, being that the contaminated ration increased CR at 14 days, PV and GP at 42 days. The enzyme activities of GST, GSH-Px and GSHr ranged according to the ages ($P<0,05$), being that for GST at 14 and 35 and for GSH-Px at 35 and 42 days, the greatest activities and at 7 and 21 days the lowest ones. For GSHr, the highest activities were expressed at 21 and 35 days and the lowest at 7 and 42 days. The treatments at the different ages also different among them ($P<0,05$), being that the control treatment at 14 days was the one which provided the greatest activity for GST and GSH-Px, while for GSHr, the treatment with selenium at 35 days was the one which provided the greatest activity. The enzyme activity of GST did not differ among the normal and ascitic birds, nevertheless, the activity of GSH-Px and GSHr differed, being the activity of GSH-Px higher in the normal birds at 35 and 42 days, and the activity of GSHr greater at 35 days, also for the normal birds.

Guidance: Dr. Custódio Donizete dos Santos - UFLA

1 INTRODUÇÃO

A síndrome ascítica S.A., uma alteração metabólica em frangos de corte, tem sido causa comum de mortalidade nas criações comerciais, trazendo enormes prejuízos para a avicultura de corte.

As aves acometidas pela S.A. apresentam na necrópsia, líquido ascítico contido na cavidade abdominal e no pericárdio, congestão venosa, dilatação cardíaca, congestão e degeneração do fígado e rins (Bergman, Muller-Molenar e Birbaun, 1979; Lopes Coelho et al., 1991 e Morris, 1992).

Dentre os órgãos mais afetados pela S.A. estão os pulmões, o fígado e o coração, sendo que nos estágios terminais da síndrome, o fígado se apresenta como o principal local de extravasamento de líquido para a cavidade abdominal da ave (Lamas da Silva, 1991).

Uma desproporcionalidade no desenvolvimento dos órgãos, como fígado e coração, em relação ao rápido crescimento dos animais, faz com que os mesmos trabalhem em seus limites superiores para compensar uma maior demanda de oxigênio em função da maior demanda metabólica requerida pela ave (Widemam Jr., 1989 e Lopes-Coelho et al., 1991).

Segundo Macari, Furlan e Gonzales (1994), todos os mecanismos associados ao transporte de oxigênio para os tecidos e as consequentes trocas gasosas nos pulmões das aves, estão envolvidos no mecanismo desencadeador da S.A., e afirmam que o seu surgimento é acompanhado de um aumento da viscosidade sanguínea, aumento de hematócritos, elevação do número de eritrócitos, aumento da concentração de hemoglobina, hipertrofia ventricular e atrial direita. Todas estas alterações estão relacionadas direta ou indiretamente ao metabolismo oxidativo das aves.

Segundo Bittar (1997), a atividade da enzima succinato desidrogenase (uma enzima envolvida no metabolismo aeróbico) é menor em aves ascíticas do

que em aves normais, o que provavelmente, ocorre em função do coração da ave não conseguir adaptar-se ao rápido crescimento e dilatar-se para compensar uma maior exigência de débito cardíaco.

As baixas temperaturas, associadas ao rápido crescimento dos frangos de corte, são disparadores primários da S.A.(Widemam, 1999).

Informações da literatura, nos induzem a crer que nas condições atuais em que os frangos de corte comerciais são criados, ocorrem alterações no metabolismo oxidativo envolvendo sistemas enzimáticos específicos, como os sistemas envolvidos no metabolismo de xenobióticos e antioxidativos.

Segundo Enkvetchakul (1993), as concentrações de antioxidantes nos tecidos (pulmões e fígado) são menores em aves ascíticas do que em aves normais, indicando um maior gasto dos mesmos durante a S.A..

De acordo com Bottje (1995), a peroxidação lipídica disputa também um papel na etiologia da S.A., uma vez que há diferenças significativas nos teores de peróxidos lipídicos associado ao estresse oxidativo nas aves durante a S.A..

Cawthon (1999), relatou uma maior susceptibilidade para estresse oxidativo em mitocôndria de aves ascíticas em relação às mitocôndrias de aves normais.

Entre os fatores desencadeadores da S.A., a condição de hipóxia, segundo Bittar (1997), agrava o quadro etiológico da S.A., e de acordo com White (1999), o período pós hipóxia é caracterizado por um aumento na formação de produtos da peroxidação lipídica e alterações nos sistemas enzimáticos antioxidativos, reduzindo a atividade de catalase e glutathione reductase.

Venditti (1999), estudando a atividade da citocromo oxidase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, peroxidação de lipídios e capacidade global antioxidante em resposta ao estresse oxidativo em *Gallus gallus domesticus*, concluiu que estes mecanismos não são adaptados para uma ação combinada de

GSH-Px e GSHR, não havendo correlação destas enzimas com o consumo de oxigênio e, conseqüentemente, com a capacidade respiratória das aves.

Baseando-se nas informações citadas acima, o presente trabalho visou fazer um estudo de parâmetros bioquímicos e nutricionais envolvidos com a incidência de S.A., entre os quais destacamos as determinações das atividades enzimáticas da glutathione s-transferase (GST), glutathione peroxidase (GSH-Px) e glutathione reductase (GSHR) envolvidas no metabolismo de xenobióticos (GST) e antioxidativos (GSH-Px e GSHR), a partir de rações contaminadas por aflatoxinas como mecanismo de indução e, possivelmente, obter um método bioquímico para o controle da síndrome ascítica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e Duração do Trabalho

O experimento de campo foi conduzido no galpão experimental do setor de avicultura do Departamento de Zootecnia da UFLA, no período de inverno de 03 de julho a 14 de agosto de 1999, na cidade de Lavras MG.

As determinações das atividades enzimáticas e as análises dos dados foram realizadas no laboratório de bioquímica do Departamento de Química da UFLA.

As temperaturas médias, mínimas e máximas foram medidas diariamente durante o período experimental.

2.2 Instalações

As instalações utilizadas neste experimento foram as mesmas utilizadas no primeiro experimento, conforme está descrito no item 2.2 do capítulo 1.

2.3 Animais Utilizados

Foram utilizados 384 pintos de corte de um dia de idade, da linhagem cobb-500, sexados. Os pintos foram pesados antes de serem alojados e os machos apresentaram peso médio de 43g e as fêmeas 44g. O manejo diário foi idêntico para todas as aves.

2.4 Rações Utilizadas

Foram utilizadas rações fareladas misturadas na fábrica de ração do Departamento de Zootecnia da UFLA, formuladas à base de milho e farelo de soja, para as rações não contaminadas, e à base de milho, farelo de soja e farelo de amendoim para as rações contaminadas. Desta forma, utilizou-se dois tipos de rações segundo as fases: inicial-crescimento, fornecida de 1 a 28 dias de idade, e crescimento-final, fornecida dos 29 aos 42 dias de idade. As rações foram balanceadas segundo as exigências nutricionais de aves, preconizadas nas Tabelas brasileiras de Rostagno et al., 1994. As composições e os níveis nutricionais das rações estão apresentadas nas Tabelas 1 e 2. Os tratamentos foram adicionados às rações, sendo os seguintes: Ração controle (RC - testemunha); RC + 1.05 mg/Kg de selênio (adicionado na forma de selenito de sódio); RC + 1.5 Kg/ton. de Mycosorb (produto comercial usado como adsorvente de micotoxinas) e RC + 0.5 Kg/Ton de Ascitec (produto comercial usado para controlar a ascite).

TABELA 1 : Composição das rações experimentais de acordo com as fases de criação (Ração contaminada e não contaminada)

INGREDIENTES	RNC		RC	
	1-28 dias (%)	29-42 dias (%)	1-28 dias (%)	29-42 dias (%)
Milho	59.29	62.93	60.25	63.90
Farelo de soja	34.53	30.21	25.63	21.31
Farelo de Amendoim	-	-	8.00	8.00
Fosfato bicalcico	2.26	2.08	2.24	2.06
Calcário calcítico	0.95	0.92	1.02	0.98
Sal	0.35	0.40	0.35	0.40
Núcleo ¹	0.50	0.50	0.50	0.50
Óleo de soja	2.12	2.96	2.01	2.85
TOTAL	100.00	100.00	100.00	100.00

1 Núcleo (Premix Vitaminico e Premix Mineral (descritos na seção 2.4 do capítulo 1), DL-Metionina, Anticoccidiano e Colina)

TABELA 2 : Níveis nutricionais das rações segundo as fases de criação

NUTRIENTE E E.M	1-28 dias	29-42 dias
E.M (Kcal/ Kg)	3000.00	3100.00
Proteína Bruta (%)	20.79	19.130
Cálcio (%)	0.999	0.930
Fósforo Disponível (%)	0.501	0.465
Metionina (%)	0.447	0.412
Metionina + Cistina (%)	0.813	0.747

Segundo Rostagno et al.,, 1994.

2.4.1 Ração Contaminada

Para contaminação da ração, foi usado um farelo de amendoim que apresentava níveis de aflatoxinas acima das dosagens permitidas pelo Ministério da Agricultura, que foi incorporado nas rações na proporção de 8 Kg de farelo para 100 Kg de ração.

2.4.1.1 Amostras para Determinação de Aflatoxinas

Do farelo de amendoim utilizado para contaminar as rações, foram retiradas amostras, que foram imediatamente colocadas em freezer e posteriormente foram enviadas para o laboratório de micotoxinas (LABIMIC-Piracicaba-SP) para análise de detecção e quantificação das toxinas presentes. Concentrações máximas de aflatoxinas em alimentos estão apresentadas na Tabela 3.

TABELA 3: Limites máximos admissíveis de aflatoxinas em alimentos.

ALIMENTOS	AFLATOXINAS	CONCENTRAÇÃO
Leite Fluido	M1	0.5 µg/l
Leite em pó	M1	5.0 µg/Kg
Milho e derivados	B1+B2+G1+G2	20.0 µg/Kg
Amendoim e derivados	B1+B2+G1+G2	20.0 µg/Kg

- Regulamento técnico sobre os limites máximos de aflatoxinas em alimentos MERCOSUL / GMC / Resolução nº 56/94.

2.5 Parâmetros de Desempenho Avaliados

Os parâmetros de desempenho avaliados neste experimento foram os mesmos do primeiro experimento, descritos na secção 2.6 do capítulo 2.

2.6 Determinações Das Atividades Enzimáticas

2.6.1 Preparo das Amostras

Semanalmente, foram sacrificadas aves do experimento de campo, e os fígados coletados foram congelados, pesados e liofilizados, como descrito no capítulo 1. Dos extratos de fígado liofilizados, foram retiradas amostras de 0.03g, que foram homogeneizadas em homogeneizador tipo Potter com 6ml de tampão fosfato (em g/l: NaCl, 9; KCl, 0.46; KH₂PO₄, 2.1; MgSO₄. 7H₂O, 0.38; NaHCO₃, 2.7 e glicose, 0.9; com pH final ajustado para 6.5 com KOH 1N). Após homogeneização, a amostra foi centrifugada a 3000 rpm durante 10

minutos. O sobrenadante foi coletado para as determinações enzimáticas e o sedimento foi descartado. As amostras foram congeladas e armazenadas em freezer. O descongelamento das amostras para as determinações enzimáticas, foi realizado em geladeira a 4-6°C e, posteriormente colocadas em isopor com gelo para realizar as análises. Neste segundo experimento, as mesmas amostras foram utilizadas para a determinação enzimática das enzimas glutathione s-transferase e glutathione reductase.

2.6.2 Atividade Enzimática da Glutathione Peroxidase (GSH-PX)

A determinação da atividade enzimática da GSH-Px foi realizada de modo idêntico ao citado nas seções 2.7.2 e 2.7.3 do capítulo 2.

2.6.3 Atividade Enzimática da Glutathione S-Transferase (GST)

A determinação da atividade de GST foi feita pelo método de Habig, Pabst e Jakoby (1974), citado por Levander et al., (1983), modificado da seguinte maneira:

Método Analítico Modificado: A determinação da atividade de GST em sobrenadante de fígado liofilizado foi feita transferindo-se, para um tubo de ensaio, 400µl de glutathione reduzida (GSH - Sigma) 2.5mM em tampão fosfato de potássio 0.25M com EDTA 25mM em pH 6.5; 25µl de sobrenadante de fígado e 475µl de tampão fosfato descrito no item 2.6.1. Incubou-se a mistura em banho maria a 37°C, por 10 minutos, e logo após iniciou-se a reação com adição de 100µl de 1-cloro 2,4-dinitrobenzeno (CNB - Sigma) 10mM. Imediatamente, as absorbâncias foram lidas contra branco em espectrofotômetro a 340nm, em intervalos de 3 em 3 minutos, até 15 minutos. Uma unidade de atividade da enzima foi definida pela conjugação de 1 µmol de CNB com GSH por minuto. A atividade foi expressa em unidades (U) por g de fígado liofilizado.

2.6.4 Atividade Enzimática da Glutathione Redutase (GSR)

A determinação da atividade enzimática da glutathione redutase foi realizada pelo método de Carlberg e Mannervik (1985), descrito por Bittar (1997), com as seguintes modificações: o meio de reação foi composto por 740 µl de tampão fosfato de sódio 0.1M contendo EDTA 5 mM, com pH final ajustado para 7.4; 50 µl de glutathione oxidada (GSSG - Sigma) 50 mM (preparada em tampão fosfato de sódio 0.1M com EDTA 5mM pH 7.4) e 200 µl de extrato de fígado (amostra). O meio de reação foi incubado por 10 minutos em banho maria, a 37°C. Logo após, a reação foi iniciada adicionando-se 10 µl de β-NADPH (Sigma) 25mM, preparado em bicarbonato de sódio 0.1%.

As leituras de absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro (CARY 50-VARIAN) calibrado a 340nm, a cada 3 minutos, por um intervalo de tempo de 15 minutos.

Controles sem enzima (branco de substrato), foram realizados do mesmo modo que os ensaios experimentais. A atividade foi expressa em U/g de fígado liofilizado, que consistiu na oxidação de 1 µmol de NADPH + H⁺ por minuto de reação.

2.7 Delineamentos Experimentais, e Análises Estatísticas

2.7.1 Para Desempenho das Aves

Adotou-se um delineamento experimental inteiramente ao acaso (DIC), e a análise estatística foi em esquema fatorial 2x2x4 (dois tipos de rações (contaminada e não contaminada), dois sexos (machos e fêmeas) e quatro tratamentos (Ração controle (RC), RC + 1.05 ppm de selênio (usando selenito de sódio como fonte), RC + mycosorb (adsorvente de micotoxinas) e RC + ascitec (produto comercial usado para controlar ascite), com duas repetições de 12 aves cada uma.

O modelo estatístico foi definido como:

$$Y_{ijkl} = \mu + R_i + S_j + T_k + (RST)_{ijk} + E_{ijkl}$$

sendo:

Y_{ijkl} = o valor observado na ração i , no sexo j e no tratamento k , na unidade experimental l .

μ = média geral.

R_i = efeito da ração i , com $i = 1$ e 2 .

S_j = efeito do sexo j , com $j = 1$ e 2 .

T_k = efeito do tratamento k , com $k = 1, 2, 3$ e 4 .

$(RST)_{ijk}$ = efeito da interação da ração i no sexo j e no tratamento k .

E_{ijkl} = erro experimental associado a observação Y_{ijkl} com $l = 1$ e 2 .

As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, segundo Banzato e Kronka (1995). Para as análises estatísticas finais, utilizou-se o programa de Sistema de Análise Estatística SANEST.

2.7.2 Para as Atividades Enzimáticas

Adotou-se um delineamento experimental inteiramente ao acaso (DIC), e a análise estatística foi em esquema fatorial $2 \times 4 \times 6$ (dois tipos de rações (contaminada e não contaminada), quatro tratamentos (Ração controle (RC), RC + 1.05 ppm de selênio (usando selenito de sódio como fonte), RC + mycosorb e RC + ascitec), seis idades (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias), com quatro repetições de 12 aves cada uma.

O modelo estatístico foi definido como:

$$Y_{ijkl} = \mu + R_i + T_j + I_k + (RTI)_{ijk} + E_{ijkl}$$

sendo:

Y_{ijkl} = o valor observado na ração i , no tratamento j , na idade k na unidade experimental l .

μ = média geral.

R_i = efeito da ração i , com $i = 1$ e 2 .

T_j = efeito do tratamento j , com $j = 1, 2, 3$ e 4 .

I_k = efeito da idade k , com $k = 1, 2, 3, 4, 5$ e 6 .

$(RTI)_{ijk}$ = efeito da interação da ração i no tratamento j e na idade k .

E_{ijkl} = erro experimental associado a observação Y_{ijkl} com $l = 1, 2, 3$ e 4 .

As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey de forma idêntica aos dados de desempenho.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Parâmetros de Desempenho

Os parâmetros de desempenho, peso vivo (PV), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar aos 7, 14, 21 e 42 dias de idade, estão apresentados nas Tabelas 4 e 5.

TABELA 4 : Desempenho de frangos de corte cobb-500 aos 7 e 14 dias de idade nos diferentes sexos, rações e tratamentos avaliados.

FONTES DE VARIAÇÃO	7 DIAS				14 DIAS			
	P.V(g)	G.P(g)	C.R(g)	C.A	P.V(g)	G.P(g)	C.R(g)	C.A
TRAT.	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
Controle	130.25	87.13	162.63	1.84	313.50	270.50	527.13 BC	1.96
Selenio	140.25	97.13	161.63	1.67	325.75	282.75	523.00 C	1.86
Mycosorb	137.13	93.88	162.63	1.76	326.63	283.63	555.75 AB	1.98
Ascitec	132.63	89.75	156.88	1.75	323.38	280.38	564.13 A	2.02
RAÇÕES	ns	ns	ns	ns	NS	NS	**	NS
RNC	131.75	88.75	160.31	1.81	315.25	272.25	525.63 B	1.94
RC	138.37	95.19	161.56	1.70	329.38	286.38	559.37 A	1.96
SEXO	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns
Macho	132.63	89.84	157.88 B	1.74	322.25	279.25	541.00	1.95
Fêmea	137.50	94.00	164.00 A	1.76	322.38	279.38	544.00	1.96
C.V (%)	6,62	9,52	3,48	11,78	7.12	8.22	4.17	8.76

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($P>0,05$).

(** significativo ao nível de 1%); (ns não significativo). C.V Coeficiente de Variação.

TABELA 5 : Desempenho de frangos de corte cobb-500 aos 21 e 42 dias de idade nos diferentes sexos, rações e tratamentos avaliados.

FONTES DE VARIAÇÃO	7 DIAS				14 DIAS			
	P.V(g)	G.P(g)	C.R(g)	C.A	P.V(g)	G.P(g)	C.R(g)	C.A
TRAT.	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns
Controle	670.0	627.0	1213.3AB	1.94	1995.8	1953.3	4742.5	2.38
Selenio	712.8	669.8	1169.8B	1.75	2112.8	2070.3	4693.7	2.23
Mycosorb	701.2	658.2	1212.6AB	1.85	2082.0	2038.2	4925.0	2.43
Ascitec	708.2	665.2	1260.3A	1.90	2103.1	2060.7	4897.5	2.34
RAÇÕES	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	ns
RNC	686.0	643.0	1200.8	1.88	2007.6B	1965.1B	4879.3	2.44
RC	710.1	667.1	1227.3	1.84	2139.3A	2096.1A	4750.0	2.25
SEXO	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	**
Macho	702.6	659.6	1218.9	1.85	2065.1	2022.5	5103.7A	2.51A
Fêmea	693.5	650.5	1209.1	1.87	2081.8	2038.8	4525.6B	2.18B
C.V (%)	7.1	7.6	3.9	8.16	6.9	7.1	10.9	11.23

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($P>0,05$).

(** significativo ao nível de 1%); (ns não significativo). C.V Coeficiente de Variação.

Não houve diferenças estatísticas significativas para os tratamentos e as rações avaliadas aos 7 dias ($P>0,05$). No entanto, o sexo interferiu no CR ($P<0,05$), sendo que as aves fêmeas consumiram mais alimento do que os machos no mesmo período.

As rações diferiram entre si para o CR ($P<0,05$) aos 14 dias, sendo que a ração contaminada contribuiu significativamente para aumentar o consumo nesta fase. Os tratamentos aos 14 e 21 dias diferiram entre si para o CR ($P<0,01$), sendo que o tratamento com ascitec apresentou o maior consumo e o tratamento com selênio o menor.

Aos 42 dias, os tratamentos não influenciaram no desempenho das aves ($P>0,05$), no entanto as rações influenciaram o P.V e o G.P ($P<0,05$), sendo que, a ração contaminada contribuiu significativamente para aumentar estes parâmetros. O sexo influenciou no CR e CA ($P<0,05$), sendo, os machos, os maiores responsáveis pelo aumento destes parâmetros.

A mortalidade total das aves está apresentada na Tabela 6.

TABELA 6 : Mortalidade total das aves de 1 a 42 dias de idade em função dos tratamentos, rações e idades avaliadas.

TRATAMENTOS										
CONTROL E			SELENIO		MYCOSORB		ASCITEC		TOTA L	S.A.
IDADE	RN C	RC	RN C	RC	RNC	RC	RNC	RC		
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	1	-	-	-	1	-	2	-
21	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-
28	1	-	1	2	2	4	2	2	14	12
35	3	-	4	1	2	2	3	4	19	17
42	5	4	3	2	3	5	5	3	30	16
TOTAL	9	4	9	6	7	11	11	9	66	-
S.A.	5	0	7	4	5	9	7	8	-	45

Mortalidade por S A (Síndrome Ascítica) RC (Ração contaminada) RNC (Ração não contaminada).

Verificamos uma mortalidade total de 17.19% das aves, que é acentuada dos 28 aos 42 dias de idade. Da mortalidade total, 68.18% foram atribuídos à incidência de Síndrome Ascítica nas aves. Isto ocorreu em função da exposição das aves a baixas temperaturas na fase inicial.

A mortalidade por ascite das aves até os 42 dias não foi influenciada (P.0,05) pelos tratamentos estudados. Convém ressaltar que o tratamento Ascitec, foi utilizado com metade do nível recomendado para o seu uso. A mortalidade por síndrome ascítica de acordo com o sexo das aves está apresentada na Tabela 7.

TABELA 7: Mortalidade por Síndrome Ascítica nos diferentes tratamentos em relação aos sexos.

TRATAMENTOS	MACHO	FÊMEA
Controle	3	2
Selênio	6	5
Mycosorb	9	5
Ascitec	11	4
TOTAL	29	16

Podemos notar que da mortalidade atribuída a síndrome ascítica, 64.40% foram de machos e 35.60% de fêmeas.

Estes dados corroboram os resultados de Julian, Mcmilliam e Quinto (1989); Widemam Jr. (1989) e Lopez-Coelho, Arce e Avila (1990), que também verificaram a maior ocorrência de S.A. nos frangos de corte machos, em função do seu maior desempenho. No entanto, pode-se notar que aos 42 dias de idade, o PV e o GP para os machos foi semelhante ao das fêmeas, apesar de apresentarem um CR e uma CA maior. Isto nos leva a concluir que a maior incidência de S.A. nos machos se deu mais em função da decorrência da exposição destes a baixas temperturas do que propriamente pelo desempenho. Isto talvez tenha ocorrido devido aos machos terem empenamento mais tardio e sofrerem mais o estresse térmico nas primeiras semanas de vida.

Os resultados da análise de toxinas no farelo de amendoim, utilizado nas rações como fonte de contaminação, está apresentado na Tabela 8.

TABELA 8: Quantidades de aflatoxinas por Kg presentes no farelo de amendoim e nas rações usadas para as aves de 1 a 42 dias de idade.

AFLATOXINAS	Quantidades (µg/Kg)	
	FARELO DE AMENDOIM	RAÇÃO
Aflatoxina B1	2747	219.76
Aflatoxina B2	414	33.12
Aflatoxina G1	694	55.52
Aflatoxina G2	297	23.76
TOTAL	4152	332.16

Resultado laboratorial de micotoxinas determinadas em farelo de amendoim (LABMIC).

Eram esperados teores mais elevados de aflatoxinas nas rações, uma vez que as aves resistem a uma variação relativamente alta destas toxinas sem que seus desempenhos sejam afetados.

As leituras relacionadas às temperaturas durante a condução do experimento estão mostradas na Figura 1.

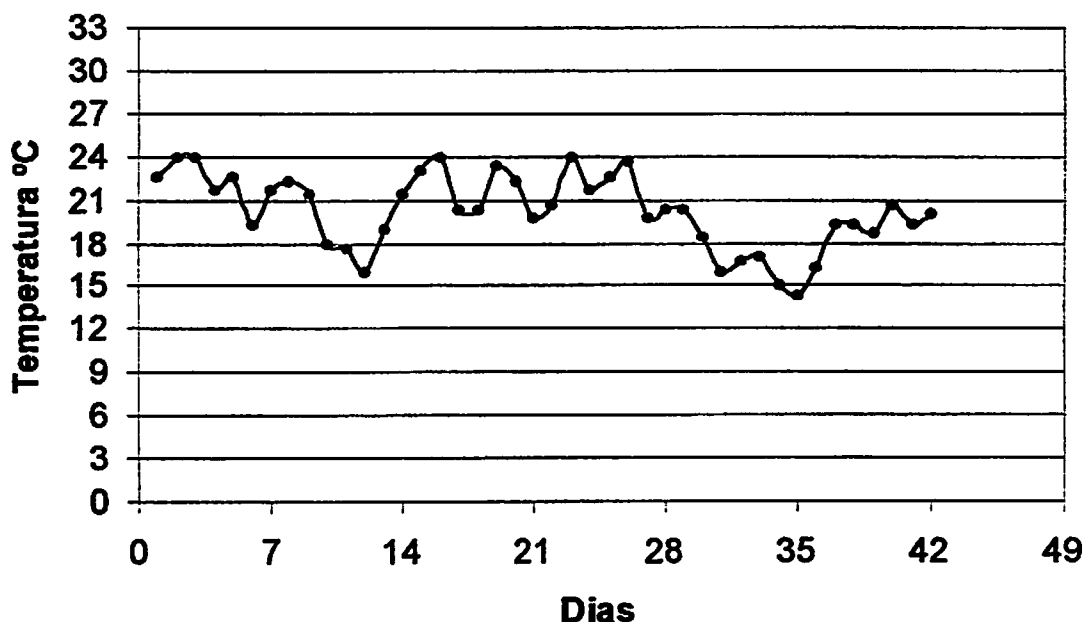


FIGURA 1: Variação da temperatura média ambiente durante o período experimental.

Observando o gráfico das temperaturas médias durante a condução do experimento, pode-se notar que as aves foram expostas a um estresse térmico elevado nas primeiras semanas de vida, uma vez que as temperaturas ideais para um bom desempenho deveriam ser de aproximadamente 33°C na primeira semana de vida, e depois esta temperatura deveria ser reduzida de 3°C, semanalmente até estabilizar-se aos 21°C, até a fase final das aves. Esta exposição a baixas temperaturas nas primeiras semanas de vida das aves, com intuito de favorecer as condições para surgimento da S.A., pode ter mascarado o efeito dos tratamentos.

3.2 Parâmetros Enzimáticos

Os resultados dos parâmetros enzimáticos analisados, estão representados nas Figuras de 2 a 14 relacionadas sequencialmente.

A atividade das enzimas glutathione s-transferase (GST) e glutathione peroxidase (GSH-Px) nas várias idades das aves apresentaram um comportamento muito semelhante (Figuras 2, 3 e 4). Aos 14 dias de idade, a atividade foi maior que nas demais idades, cuja explicação pode estar relacionada aos dados de desempenho, como mostrados na Tabela 4, em que se nota uma influência diferenciada dos tratamentos para o consumo de ração, além de um maior consumo da ração contaminada pelas aves, sugerindo, nesta fase, um aumento da ingestão de aflatoxinas e, conseqüentemente, um aumento das atividades destas enzimas. Esta maior atividade pode ainda ter sido influenciada por uma queda brusca da temperatura verificada nesta fase, como mostra a Figura 1, o que pode ter causado alterações no metabolismo das aves, em função do estresse térmico a que as mesmas foram submetidas. Excetuando-se esta idade, observa-se um aumento da atividade com o aumento da idade, que pode ser explicada pelo crescimento natural da aves (de acordo com os dados de desempenho), em que ocorre o aumento das demandas nutricionais bem como de oxigênio.

A atividade da glutathione redutase (GSHR), apresentou um comportamento ligeiramente diferente das demais enzimas, e apresentou um pico de atividade aos 21 dias, ao invés do pico aos 14 dias como mostrado para GST e GSH-Px. Como essa enzima é responsável pela redução da glutathione oxidada (Harper, 1994; Bottje, 1995; Wang, 1997 e Bottje, 1998) para manter a atividade da GSH-Px, é de se esperar que a sua atividade aumente somente após o pico de atividade da GSH-Px, quando a quantidade da glutathione oxidada está aumentada (White, 1999). Embora aos 35 dias de idade o pico de atividade da GSHR corresponda ao pico de atividade da GSH-Px, pode-se observar, nas

Figuras 2, 4 e 5, que a atividade da GSH-Px começa a aumentar a partir da 3ª semana, enquanto que para a GSHR, a atividade somente aumenta após a 4ª semana, como uma resposta posterior a atividade da GSH-Px, para fornecimento, como comentado acima, de glutathione reduzida.

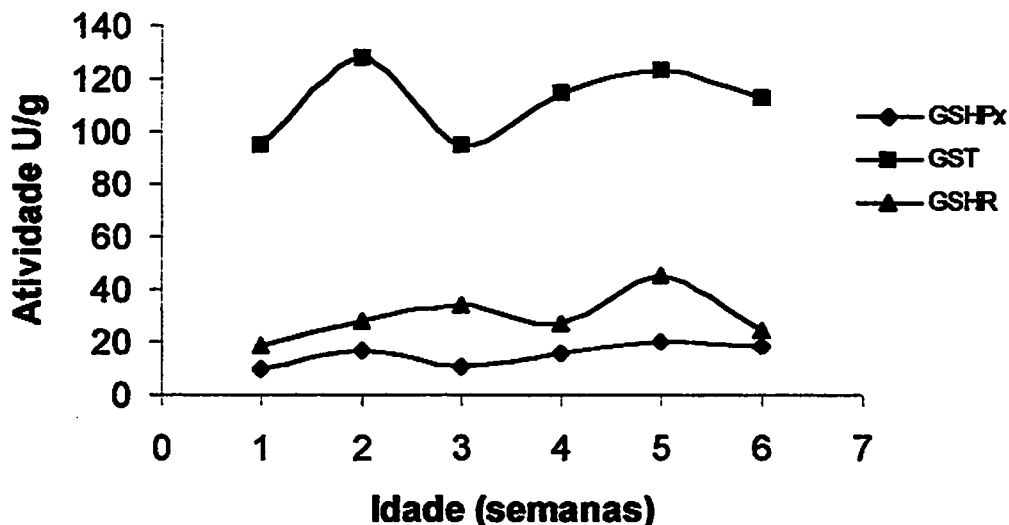


FIGURA 2 Atividades enzimática semanais da glutathione s-transferase (GST), glutathione redutase (GSHR) e glutathione peroxidase (GSH-Px), expressas em U/g de fígado liofilizado.

A atividade enzimática da GST não foi diferente nas aves normais em relação às aves ascíticas, como podemos verificar na Figura 3. Isto sugere que a presença das aflatoxinas nos níveis que estavam presentes na ração contaminada não foi suficiente para afetar o metabolismo de xenobióticos e, desta forma, afetar a atividade enzimática da GST, como é relatado na literatura, que mostra que há alterações no desempenho das aves com dosagens de toxinas muito

inferiores que aquelas utilizadas neste experimento (Jones, Hagler e Hamiltom 1982; Doerr et al., 1983). Esperava-se que houvesse alterações na atividade da GST, uma vez que comprovadamente, esta enzima está envolvida no metabolismo de xenobióticos (Habig e Jakoby, 1974; Leblanc et al., 1994; Guerre, Galtier e Burgal 1996; Ketterer, 1996; Schultz, Dutra e Tew 1997; Garcia, 1998; Gonzalez, 1998; Sheweita, 1998; Salinas, 1999). A igualdade na atividade da GST em aves normais e ascíticas pode sugerir, como mostram também os dados de desempenho e mortalidade (Tabelas 5, 6 e 7), que a incidência de ascite não foi provocada pela presença das toxinas.

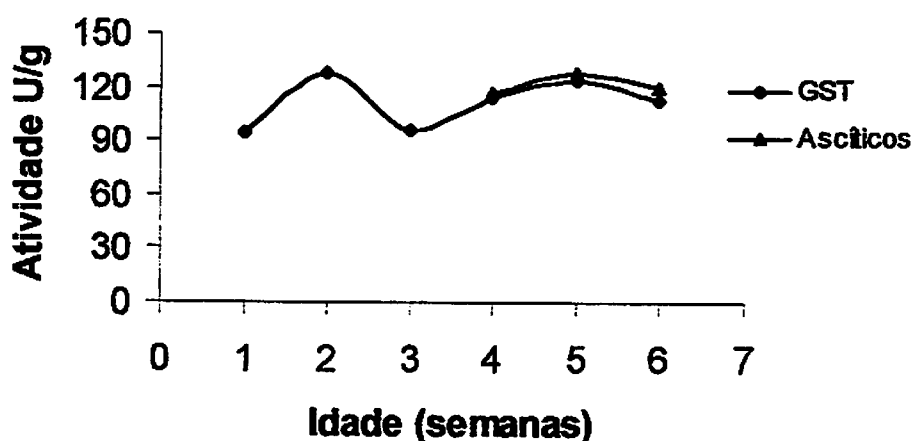


FIGURA 3 Atividade enzimática semanal da glutatona s-transferase (GST) em aves normais e ascíticas

Os resultados obtidos da atividade enzimática da GSH-Px nas aves normais e ascíticas nas diferentes idades estão apresentados na Figura 4. As aves ascíticas apresentaram menor atividade que as aves normais, principalmente aos 35 e 42 dias de idade, quando as diferenças são bastante acentuadas. A menor atividade dessa enzima em aves ascíticas concorda com Enkvetchakul (1993),

que cita que essas aves apresentam menor concentração de antioxidantes nos pulmões e fígados, o que seria suficiente para causar uma redução das atividades enzimáticas envolvidas nos processos antioxidativos.

Da mesma forma, Bittar (1997) sugere que o metabolismo oxidativo nas aves ascíticas é menor que nas aves normais, verificado através da quantificação da succinato desidrogenase em coração. Essa diminuição no metabolismo oxidativo poderá também causar uma redução nas enzimas envolvidas nos processos antioxidativos. Por outro lado, Bottje (1995); Kostadinovc (1998) e Venditti (1997) verificaram um aumento dos produtos de peroxidação lipídica nas aves ascíticas e sugeriram que estes produtos acarretariam um aumento na atividade enzimática da GSH-Px nestas aves em relação às aves normais, uma vez que esta enzima está envolvida nos processos de eliminação dos produtos formados na peroxidação lipídica.

Os resultados de atividade de GSH-Px encontrados nas aves ascíticas mostram uma diminuição da atividade de 28 a 42 dias, ao contrário da atividade nas aves normais. Esses resultados estão de acordo com os dados de desempenho que mostram uma incidência de ascite mais acentuada nas idades mais avançadas das aves e que as aves com quadro ascítico apresentam um metabolismo oxidativo menor.

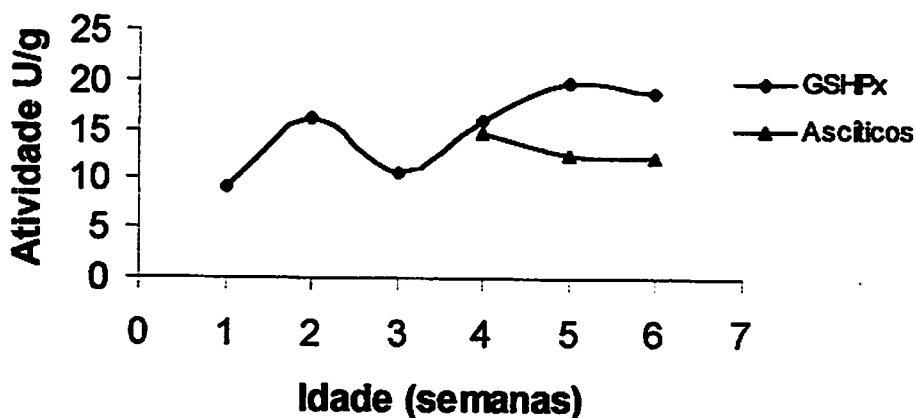


FIGURA 4 Atividade enzimática semanal da glutatona peroxidase (GSH-Px) em aves normais e ascíticas

A comparação das atividades de GSHR entre as aves normais e ascíticas está mostrada na Figura 5. As atividades nas aves ascíticas foram bem menores na 5ª semana (35 dias), não apresentando o pico de atividade como nas aves normais. Essa diferença nas atividades de GSHR pode ser explicada por duas hipóteses: primeiro, não houve aumento da atividade de GSH-Px, ao contrário, houve uma redução, portanto, não houve necessidade de aumento de atividade da GSHR para repor a glutatona reduzida consumida; segundo, a ave ascítica está com o seu metabolismo aeróbico completamente comprometido pelo quadro de hipóxia já instalado. Como Bottje (1998) observou que as aves ascíticas apresentam níveis mais elevados de glutatona oxidada (GSSG) em comparação com as aves normais, é provável que a segunda hipótese seja a mais coerente uma vez que, pelo resultados apresentados, a GSH-Px diminui nas aves ascíticas,

não justificando, portanto, o aumento de GSSG nessas aves. Se as aves ascíticas apresentam maiores quantidades de GSSG, era de se esperar uma maior atividade de GSHR, uma vez que esta enzima catalisa a redução da GSSG. Os resultados apresentados não mostraram esse aumento de atividade nas aves ascíticas, justificando o comprometimento do metabolismo oxidativo nessas aves.

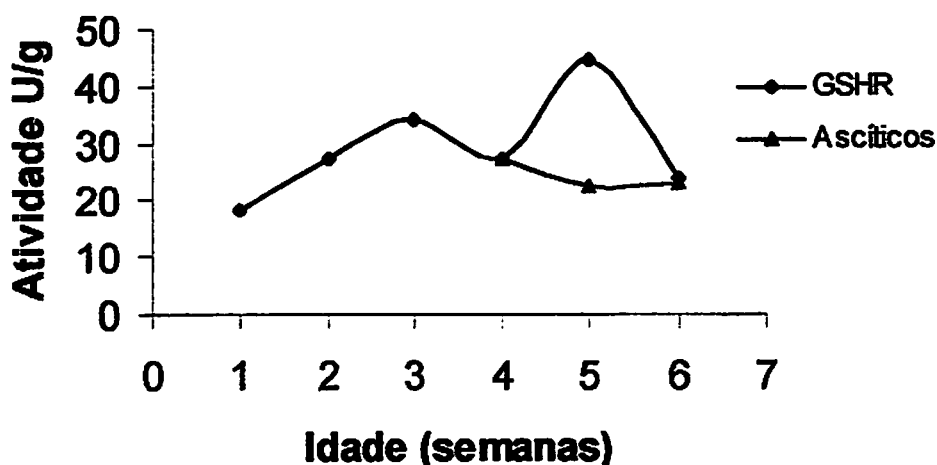


FIGURA 5 Atividade enzimática semanal da glutatona redutase (GSHR) em aves normais e ascíticas.

Os resultados comparando a atividade de glutatona s-transferase (GST), glutatona peroxidase (GSH-Px) e glutatona redutase (GSHR) nas várias idades com a contaminação da ração com aflatoxinas através do uso de farelo de amendoim contaminado, estão apresentados nas Figuras 6, 7 e 8, respectivamente. Embora as análises estatísticas tenham mostrados significância nos resultados obtidos, o comportamento geral dessas enzimas nas várias idades é muito semelhante, sugerindo que as rações contaminadas não interferiram nos

sistemas enzimáticos estudados. Estes resultados foram inesperados, uma vez que os sistemas de eliminação de xenobióticos dos organismos vivos, envolvem etapas de oxidação e conjugação com a finalidade de tornarem os compostos a serem excretados mais solúveis (Leblanc, 1994; Mclean e Dutton, 1995 e Guerre, Gardier e Burgal 1996). Dessa forma, era de se esperar senão um aumento na atividade das 3 enzimas estudadas, pelo menos na atividade da GST. Esses resultados mostram que embora a quantidade de aflatoxinas presentes nas rações usadas neste experimento tenham sido maiores que aquelas suficientes para provocarem perdas e danos para as aves, (Jones, Hagler e Hamiltom 1982 e Doerr et al., 1983), não foram suficientes, para provocar qualquer alteração tanto no desempenho quanto no aparecimento de síndrome ascítica.

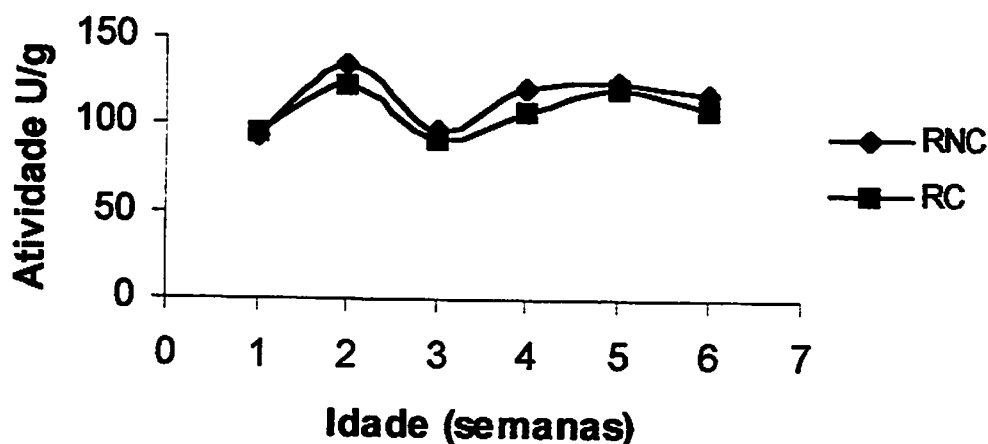


FIGURA 6 Atividade enzimática semanal da glutathione s-transferase (GST) nas aves alimentadas com ração contaminada e não contaminada por aflatoxinas

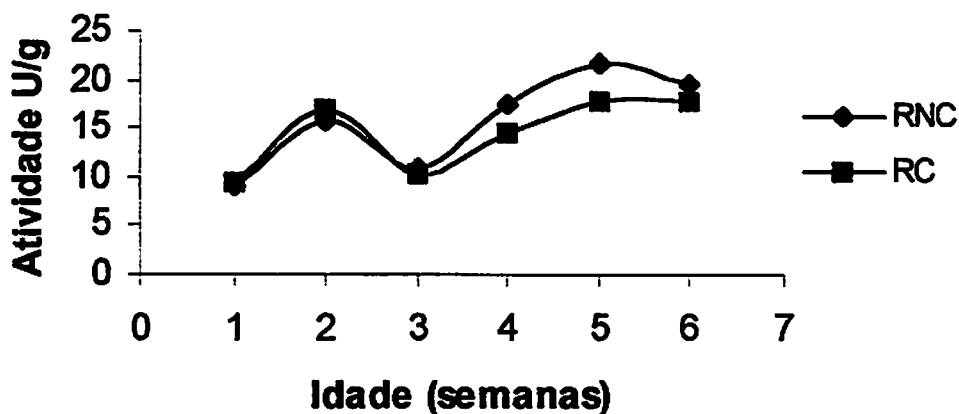


FIGURA 7 Atividade enzimática semanal da glutathione peroxidase (GSH-Px) nas aves alimentadas com ração contaminada e não contaminada por aflatoxinas.

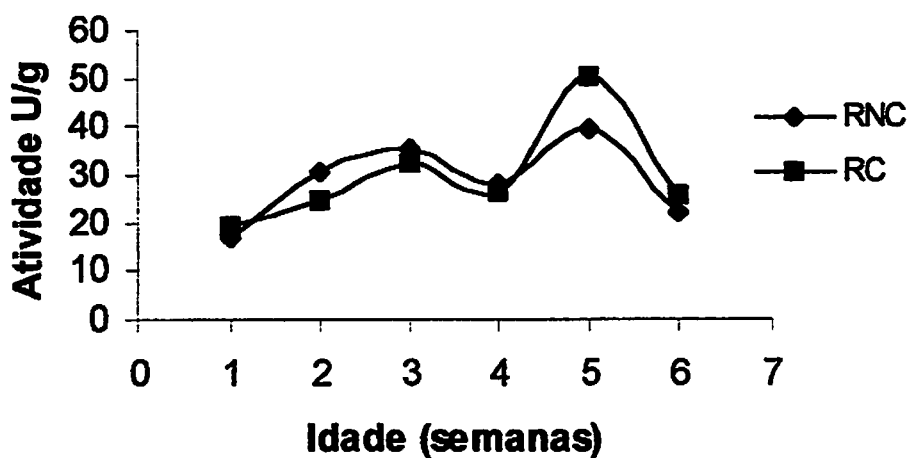


FIGURA 8 Atividade enzimática semanal da glutathione redutase (GSHR) nas aves alimentadas com ração contaminada e não contaminada por aflatoxinas.

Os resultados da atividade das enzimas glutathione s-transferase (GST), glutathione peroxidase (GSH-Px) e glutathione reductase (GSHR) nas diferentes idades, em relação aos tratamentos, estão representadas nas Figuras 9, 10, e 11, respectivamente. Embora a atividade de algumas dessas enzimas tenham apresentado significância em algumas idades (GST e GSH-Px / controle aos 14 dias e GSHR / selênio aos 35 dias), o comportamento das 3 enzimas são essencialmente semelhantes. Essas diferenças, provavelmente não podem ser explicadas pelos tratamentos utilizados, uma vez que as maiores atividades de GST e GSH-Px ocorrem aos 14 dias e na ração controle, enquanto a maior atividade de GSHR ocorreu aos 35 dias na ração com selênio. Convém salientar que esta enzima não utiliza o selênio como cofator, e sim a GSH-Px. Os resultados não significativos dos tratamentos utilizados (mostrados nas Figuras 9, 10, e 11) em relação ao aparecimento da síndrome ascítica estão de acordo com os resultados discutidos anteriormente em que, da mesma forma, as rações contaminadas não interferiram no aparecimento da ascite.

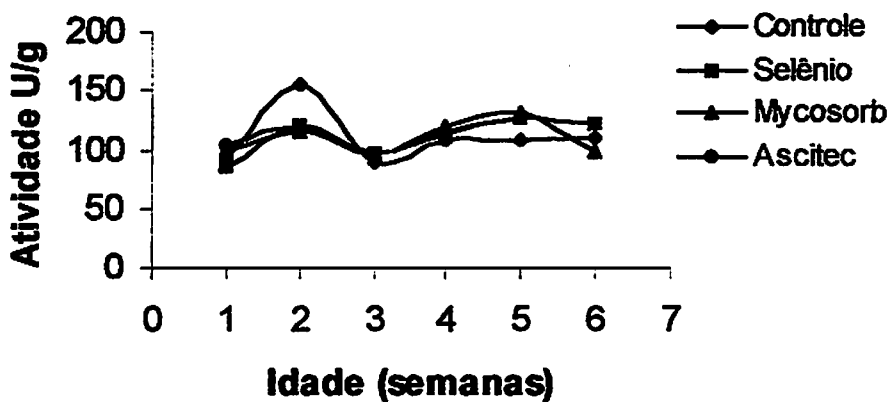


FIGURA 9 Atividade enzimática semanal da glutathione s-transferase (GST) das aves nos diferentes tratamentos.

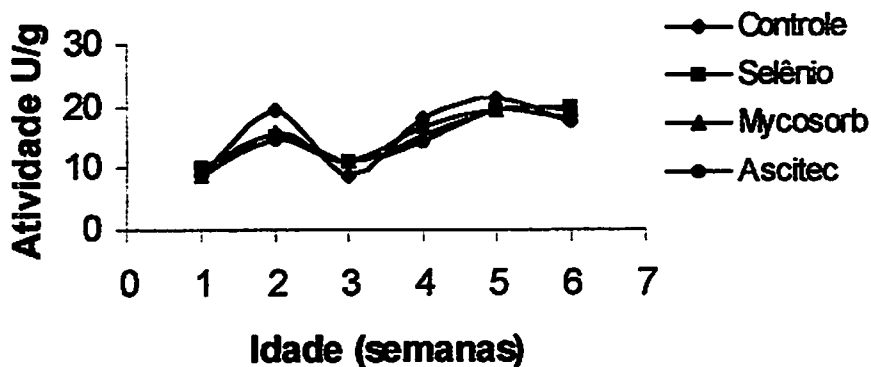


FIGURA 10 Atividade enzimática semanal da glutathione peroxidase (GSH-Px) das aves nos diferentes tratamentos.

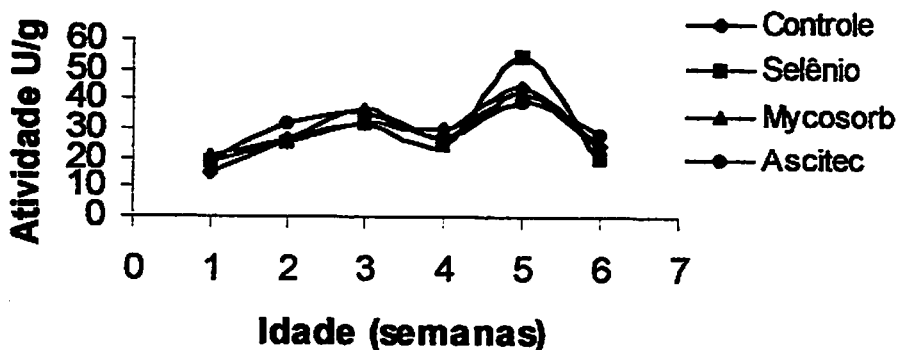


FIGURA 11 Atividade enzimática semanal da glutathione redutase (GSHR) das aves, nos diferentes tratamentos.

As atividades médias das enzimas GST, GSH-Px e GSHR nos diferentes tratamentos e dentro das diferentes rações testadas, estão apresentadas nas Figuras 12, 13, e 14 relacionadas a seguir.

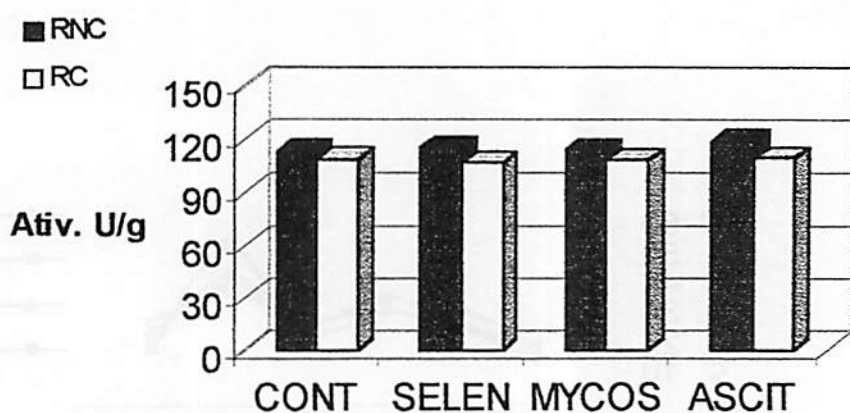


FIGURA 12 Atividade enzimática média da glutathione s-transferase (GST) das aves, nos diferentes tratamentos e nas diferentes rações.

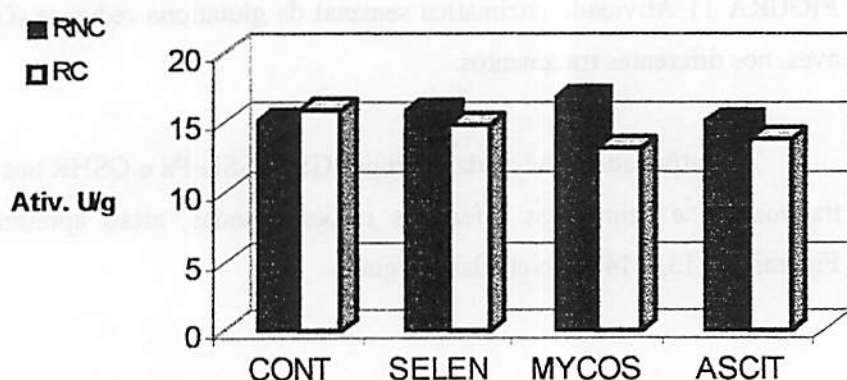


FIGURA 13 Atividade enzimática média da glutathione peroxidase (GSH-Px) das aves, nos diferentes tratamentos e nas diferentes rações.

■ RNC

□ RC

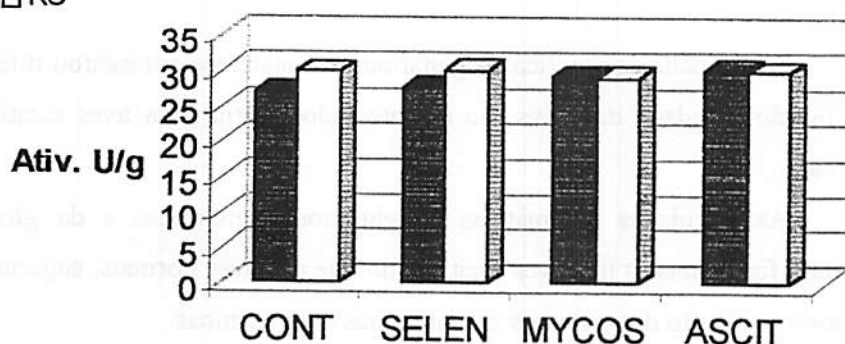


FIGURA 14 Atividade enzimática média da glutathione redutase (GSHR) das aves, nos diferentes tratamentos e nas diferentes rações.

Podemos notar na Figura 12, que a atividade de GST, tende a ser mais elevada nos tratamentos com ração não contaminada, quando o que deveria está ocorrendo, seria o oposto. Para a atividade de GSH-Px mostrada na Figura 13, o tratamento com mycosorb parece contribuir para uma redução da atividade nas rações contaminadas, o que era realmente de se esperar, uma vez que, o mycosorb é um adsorbente de micotoxinas.

4 CONCLUSÕES

A atividade enzimática da glutathione s-transferase apresentou diferenças em função da idade das aves, no entanto, não diferiu para aves ascíticas ou normais.

As atividades enzimáticas da glutathione peroxidase e da glutathione redutase foram menor nas aves ascíticas do que nas aves normais, sugerindo um comprometimento dos sistemas oxidativo nas aves ascíticas.

Os sistemas enzimáticos estudados não contribuíram para diferenciar a incidência de síndrome ascítica por uma provável origem tóxica devido a uma provável influência da temperatura ambiental, que se mostrou como um fator de maior relevância para provocar a incidência de síndrome ascítica nas aves, do que a presença de aflatoxinas nas rações.

Os tratamentos avaliados (selênio, mycosorb e ascitec) não contribuíram para diferenciar as atividades das enzimas estudadas nas aves normais e ascíticas.

Em vista dos dados obtidos neste trabalho, fazem-se necessários estudos de outros sistemas enzimáticos (como por exemplo, superóxido dismutase, catalase, glicose-6-fosfato-desidrogenase, etc...), envolvidos no mecanismo da síndrome ascítica, para se tentar elucidar o funcionamento adequado destes sistemas enzimáticos nestas aves e sugerir, desta forma, um método de controle sob o aspecto bioquímico para a síndrome ascítica.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANZATO, D. A; KRONKA, S. N. Experimentação agrícola. FUNEP, 240p., 1995.
- BERGMANN, V; MULLER-MOLENAR, K; BIRBAUM, H. Occurrence of hydropericardium ascites syndrome in broiler chicken stock. Monatshefte Fur Veterinarmedizin, v.34, n.16, p.626-628, 1979.
- BITTAR, E. R. Estudos metabólicos em frangos de corte com síndrome ascítica: aspectos bioquímicos e ultraestruturais. Lavras: UFLA, 1997. 45p. (Dissertação-Mestrado).
- BOTTJE, W; ENKVETCHAKUL, B; MOORE, R; MCNEW, R: Effect of alpha-tocopherol on antioxidants, lipid-peroxidation, and incidence of pulmonary-hypertension syndrome (ascites) in broilers. Poultry Science, Champaign, v. 74, n.8, p.1356-1369, Aug. 1995.
- BOTTJE, W; WANG,S; KELLY, F. J; DUNSTER, C; WILLIAMS, A; MUDWAY, I: Antioxidants defenses in lung lining fluid of broilers: Impact of poor ventilation conditions. Poultry Science, Champaign, v.77, n.4, p.516-522, Apr. 1998.
- CAWTHON, D; MCBEW, R; BEERS, K. W; BOTTJE, W. G: Evidence of mitochondrial dysfunction in broilers with pulmonary hypertension syndrome (ascites): Effect of t-butyl-hydroperoxide on hepatic mitochondrial function, glutathione and related thiols. Poultry Science, Champaign, v.78, n.1, p.114-124, Jan. 1999.
- DOER, J. A; HUFF, W. E; WABECK, G. W; CHALOUKKA, J. D. E MERKLEY, J. M: Effects of low chronic aflatoxicosis in broiler chickens. Poultry Science, Champaign, v.62, n.10, p.1971-1977, Oct.1983.

- ENKVETCHAKUL, B; BOTTJE, W; ANTHONY, N; MOORE, R; HUFF, W:
Compromised antioxidant status associated with ascites in broilers. Poultry Science, Champaign, v.72, n.12, p.2272-2280, Dec.1993.
- GARCIA-AFONSO, C; REPETTO, G; SANZ, P; REPETTO, M; LOPEZ-BAREA, J: Direct determination of glutathione s-transferase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in cells cultured in microtitre plates as biomarkers for oxidative estresse. Atla-Alternatives to Laboratory Animals, v.26, n.3, p.321-330, May. 1998.
- GONZALEZ, E; BUYSE, J; TAKITA, T. S; SARTORI, J. R; DECUYPERE, E:
Metabolic disturbances in male broilers of different strains. 1 Performance, mortality, and right ventricular hypertrophy. Poultry Science, Champaign, v.77, n.11, p.1646-1653, Nov. 1998.
- GONZALEZ, F. J: The estudy of xenobiotic-metabolizing enzymes and their role in toxicity in vivo using targeted gene disruption., Toxicology Letters, Limerick, v.103, p.161-166, Dec. 1998.
- GUERRE, P; GALTIER, P; BURGAT, V: Metabolism and susceptibility to aflatoxin toxicity. Revue de Medicine Veterinaire, Masons Alford, v.147, n.12, p.879-892, Dec. 1996.
- HABIG, W. H; PABST, M. J; JAKOBY, W. B: Glutathione s-transferases- First enzymatic step in mercapturic acid formation. Journal of Biological Chemistry, Bethesda, v.249, n.22, p.7130-7139, Nov. 1974.
- HARPER, A. H; MURRAY, R. K; GRANNER, D. K; MAYES, P. A; RODWELL, V. W. Harper: Bioquímica. 7. Ed. São Paulo: Atheneu, 1994.
- JAKOBY, W. B: Advances Enzymology. Relat. Areas Molecular Biology, New York, v.46, p.383-414, 1978.
- JONES, F. T; HAGLER, W. M. E HAMILTON, P. B: Association of low levels of aflatoxin in feed with productivity losses in commercial broiler operation. Poultry Science, Champaign, v.61, p. 861, 1982.

- JULIAN, R.J; MCMILLIAN, I; QUINTO, M. The effect of cold and dietary energy on right ventricular failure and ascites in meat-type chickens. Avian Pathology, Oxon, v.18, n. 4, p. 675-684, 1989.
- KETTERER, B: Effects of genetic polymorphism and enzyme induction in the glutathione s-transferases family on chemical safety and risk assessment. Environmental Toxicology and Pharmacology, v.2, n.2-3, p.157-160, Oct. 1996.
- KOSTADINOVIC, L; POPOVIC, M; PAVKOV, S; DIMITRIJEVIC, S; STEVANOVIC, D: Effect of coccidiosis on the enzymatic and non-enzymatic antioxidative systems in broilers. Acta Veterinaria-Beograd, v.48, n.56, p.223-230, 1998.
- LEBLANC, G. A: Hepatic vectorial transport of xenobiotics. Chemico-Biological Interactions, Limerick, v.90, n.2, p.101-120, Feb. 1994.
- LEVANDER, O. A.; DeLOACH, D. P.; MORRIS, V.C.; MOSER, P. B.: Platelet glutathione peroxidase activity as an index of selenium status in rats. Journal of Nutrition, v.113, p.55-63, 1983.
- LOPEZ-COELHO, C.; ARCE, J. M; AVILA, E.G. El síndrome ascítico. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE PATOLOGIA AVIAR, 7., 1990, Athens. Anais...Athens: Ameyca, 1990. p. 138-157.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L; GONZALES, E. Fisiologia aviaria aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: FUNEP, 1994.
- MCLEAN, M; DUTTON, M. F: Cellular interactions and metabolism of aflatoxin-An update. Pharmacology and Therapeutics, Oxford, v.65, n.2, p.163-192, 1995.
- MORRIS, M. P. Survey: ascites in broilers. Broiler Industry, Mt Morris, v.55, n.9, p.38-45, 1992.

- ROSTAGNO, H. S; SILVA, J. D; COSTA, P. M. A; SOARES, P. R; PEREIRA, J. A. A. A; SILVA, M. A. Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos. (tabelas brasileiras), Viçosa: UFV, 1994, 48p.
- SALINAS, A. E; WONG, M. G: Glutathione s-transferases- A review. Current Medical-Chemistry, Schipol, v.6, n.4, p.279-309 Apr. 1999.
- SCHULTZ, M; DUTRA, S; TEW, K. D: Inhibitors of glutathione s-transferases as therapeutics agents. Advanced Drug Delivery Reviews, Amsterdam, v.26, n.2-3, p.91-104, Jul. 1997.
- SHEWEITA, S. A: Heavy metal-induced changes in glutathione levels and glutathione reductase/ glutathione s-transferase activities in the liver of male mice. International Journal of Toxicology, New Delhi, v.17, n.4, p.383-392, Jul. 1998.
- VENDITTI, P; DANIELE, C. M; BALESTRIERI, M; DI MEO, S: Protection against oxidative estresse in liver of four different vertebrates. Journal of Experimental Zoology, New York, v.284, n.6, p.610-616, Nov. 1999.
- VENDITTI, P; DI MEO, S: Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats. International Journal of Sports Medicine, Stuttgart, v.18, n.7, p.497-502, Oct. 1997.
- WANG, S. Y; BOTTJE, W; MAYNARD, P; DIBNER, J; SHERMER, W: Effect of santoquimn ® and oxidized fat on liver and intestinal glutathione in broilers. Poultry Science, Champaign, v.76, n.7, p.961-967, Jul 1997.
- WHITE, A. R; COLLINS, S. J; MAHER, F; JOBLING, M. F; STEWART, L. R; THYER, J. M; BEYRENTHER, K; MASTERS, C. L; CAPPAL, R: Prion protein-deficient neurons reveal lower glutathione reductase activity and increased susceptibility to hidrogen peroxide toxicity. American Journal of Pathology, Bethesda, v.155, n.5, p.1723-1730, Nov. 1999.

WIDEMAM Jr, ROBERT, F. Patogenia da ascite em frango de corte O que sabemos? Ascite em aves. In: UBA, XI CONGRESSO BRASILEIRO DE AVICULTURA, 1989, p.99-100.

WIDEMAM, R. F; FRENCH, H: Broiler breeder survivors of chronic unilateral pulmonary artery occlusion produce progeny resistant to pulmonary hypertension syndrome (ascites) induced by cool temperatures. Poultry Science, Champaign, v.78, n.3, p.404-411, Mar. 1999.

ANEXOS

ANEXO A	Página
TABELA 1A	Análise de variância e coeficiente de variação para peso vivo aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade (experimento 2) 106
TABELA 2 A	Análise de variância e coeficiente de variação para ganho de peso aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade (experimento 2) 107
TABELA 3A	Análise de variância e coeficiente de variação para consumo de ração aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade (experimento 2) 108
TABELA 4 A	A: Análise de variância e coeficiente de variação para conversão alimentar aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade (experimento 2) 109
TABELA 5 A	Atividade enzimática da glutathione peroxidase (GSH-Px) em fígados de frangos de corte, criados de 1 a 42 dias de idade (experimento 2). 110
TABELA 6 A	Atividade enzimática da glutathione redutase (GSHR) em fígados de frangos de corte, criados de 1 a 42 dias de idade (experimento 2). 111
TABELA 7 A	Atividade enzimática da glutathione s-transferase (GST) em fígados de frangos de corte, criados de 1 a 42 dias de idade (experimento 2). 112
TABELA 8 A	Análise de variância e coeficiente de variação para a atividade enzimática da GST, GSH-Px e GSHR em frangos de corte aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade (experimento 2). 113

ANEXO B

Página

TABELA 1 B	Análise de variância e coeficiente de variação para a atividade enzimática da glutathione peroxidase em frangos de corte aos 7, 21 e 42 dias de idade (Experimento 1).	114
TABELA 2 B	Análise de variância e coeficiente de variação para ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) aos 21 e 42 dias de idade (experimento 1).	115

TABELA 1A: Análise de variância e coeficiente de variação para peso vivo aos 7, 14, 21,28, 35 e 42 dias de idade (experimento 2).

Fontes de Variação	G.L	IDADES											
		7		14		21		28		35		42	
		Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F
Ração	1	351.1	0.049	1596.1	0.097	4632.0	0.189	8385.1	0.285	33217.5	0.131	138732.7	0.019
Sexo	1	190.1	0.139	0.1	0.985	657.0	0.620	25.56.1	0.556	195.0	0.901	2227.7	0.745
Tratamentos	3	160.7	0.151	291.2	0.6569	2988.9	0.342	6238.6	0.539	5896.9	0.729	22735.7	0.381
Rac. x Sexo	1	91.1	0.301	153.1	0.602	603.7	0.634	2211.1	0.584	1069.5	0.776	6526.5	0.589
Rac. x Trat.	3	149.7	0.173	280.7	0.669	185.0	0.972	2508.2	0.781	851.2	0.977	4519.3	0.883
Sexo x Trat.	3	80.3	0.416	593.2	0.368	2666.7	0.391	911.5	0.938	11229.1	0.506	8689.0	0.745
Rac.x Sex. x Trat.	3	80.0	0.418	328.3	0.613	1563.1	0.611	9462.7	0.284	3449.6	0.854	14394.2	0.572
Resíduo	16	79.8		526.6		2496.2		6860.2		13349.4		20797.3	
C.V (%)		6.62		7.12		7.16		7.23		7.11		6.96	

TABELA 2A: Análise de variância e coeficiente de variação para ganho de peso aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade (experimento 2).

Fontes de Variação	G.L	IDADES											
		7		14		21		28		35		42	
		Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F
Ração	1	331.5	0.051	1596.1	0.097	4632.0	0.189	8352.7	0.285	33217.5	0.131	137288.0	0.019
Sexo	1	132.0	0.205	0.13	0.985	657.0	0.620	2574.0	0.554	195.0	0.901	2145.1	0.750
Tratamentos	3	156.2	0.148	291.2	0.656	2988.9	0.342	6553.4	0.541	5896.9	0.729	22702.0	0.383
Rac. x Sexo	1	94.5	0.283	153.1	0.602	603.7	0.634	2194.5	0.585	1069.5	0.776	6272.0	0.597
Rac. x Trat.	3	149.2	0.161	280.7	0.669	185.0	0.972	2494.3	0.782	851.2	0.977	4694.7	0.877
Sexo x Trat.	3	70.6	0.545	593.2	0.368	2666.7	0.391	912.2	0.938	11229.1	0.506	8981.2	0.737
Rac.x Sex. x Trat.	3	71.9	0.553	328.3	0.613	1563.1	0.611	9436.9	0.285	3449.6	0.854	14281.2	0.577
Resíduo	16	76.6		526.6		2496.2		6850.0		13349.4		20889.2	
C.V (%)		9.52		8.22		7.63		7.51		7.30		7.12	

TABELA 3A: Análise de variância e coeficiente de variação para consumo de ração aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade (experimento 2).

Fontes de Variação	G.L	IDADES											
		7		14		21		28		35		42	
		Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F
Ração	1	12.5	0.543	9112.5	0.0009	5618.0	0.133	0.017	0.174	0.008	0.640	0.133	0.504
Sexo	1	300.1	0.007	72.0	0.712	760.5	0.578	0.017	0.174	0.075	0.159	2.673	0.006
Tratamentos	3	60.4	0.165	3359.5	0.0044	10933.1	0.014	0.005	0.592	0.114	0.047	0.103	0.776
Rac. x Sexo	1	0.50	0.896	50.0	0.756	2278.1	0.665	0.0007	0.776	0.013	0.553	0.042	0.701
Rac. x Trat.	3	33.0	0.398	570.5	0.372	2774.1	0.337	0.013	0.256	0.207	0.006	0.500	0.188
Sexo x Trat.	3	176.4	0.008	415.5	0.507	6951.0	0.058	0.005	0.624	0.064	0.180	0.274	0.572
Rac x Sex x Trat.	3	20.0	0.605	1584.4	0.055	9983.7	0.019	0.045	0.010	0.045	0.310	0.317	0.363
Resíduo	16	31.4		511.4		2286.9		0.008		0.034		0.278	
C.V (%)		3.48		4.17		3.94		4.61		5.80		10.97	

TABELA 4A: Análise de variância e coeficiente de variação para conversão alimentar aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade (experimento 2).

Fontes de Variação	G.L	IDADES											
		7		14		21		28		35		42	
		Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F
Ração	1	0.091	0.159	0.002	0.757	0.008	0.566	0.001	0.794	0.035	0.598	0.302	0.050
Sexo	1	0.003	0.789	0.001	0.817	0.001	0.804	0.002	0.718	0.033	0.589	0.914	0.002
Tratamentos	3	0.037	0.519	0.038	0.301	0.054	0.107	0.019	0.360	0.035	0.535	0.056	0.504
Rac. x Sexo	1	0.009	0.648	0.012	0.536	0.0001	0.933	0.011	0.576	0.001	0.983	0.025	0.556
Rac. x Trat.	3	0.043	0.412	0.006	0.880	0.004	0.887	0.018	0.390	0.081	0.196	0.159	0.116
Sexo x Trat.	3	0.046	0.385	0.012	0.730	0.020	0.536	0.001	0.961	0.028	0.615	0.020	0.834
Rac x Sex x Trat.	3	0.046	0.385	0.008	0.836	0.002	0.947	0.006	0.758	0.006	0.935	0.044	0.601
Resíduo	16	0.042		0.029		0.023		0.016		0.046			
C.V (%)		11.78		8.76		8.16		7.00		10.54		11.23	

TABELA 5 A : Atividade enzimática da glutathiona peroxidase (GSH-Px) em fígados de frangos de corte, criados de 1 a 42 dias de idade.

FONTES DE VARIAÇÃO		IDADE (DIAS)						MÉDIAS
RAÇÕES	TRATAMENTOS	7	14	21	28	35	42	
R N C	CONTROLE	6.51	17.91	9.67	17.88	22.81	16.21	15.16 A
	SELÊNIO	10.19	15.67	11.48	16.01	21.32	20.27	15.83 A
	MYCOSORB	10.31	15.93	11.03	19.73	22.46	21.48	16.82 A
	ASCITEC	9.11	13.35	10.92	16.40	20.75	20.48	15.17 A
R C	CONTROLE	10.68	20.46	7.90	17.71	19.81	18.53	15.86 A
	SELÊNIO	10.06	14.90	10.65	16.80	17.04	19.24	14.78 AB
	MYCOSORB	7.57	15.53	11.06	10.39	16.69	17.39	13.10 B
	ASCITEC	8.89	16.41	11.49	12.61	17.61	15.63	13.77 AB
MÉDIAS		9.17c	16.27b	10.52c	15.94b	19.82a	18.66a	
R N C		9.03A	15.71A	10.77A	17.51A	21.83A	19.61A	15.75 A
RC		9.30A	16.82A	10.27A	14.38B	17.81B	17.70A	14.38 B
C. V (%)								

Médias seguidas de letras minúsculas iguais nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey (P>0.05)

C. V (%) Coeficiente de Variação

TABELA 6 A: Atividade enzimática da glutathiona redutase (GSHR) em fígados de frangos de corte, criados de 1 a 42 dias de idade.

FONTES DE VARIAÇÃO		IDADE (DIAS)						MÉDIAS
RAÇÕES	TRATAMENTOS	7	14	21	28	35	42	
R N C	CONTROLE	9.68Ac	24.83Abc	27.75Ab	30.16Aab	45.93Aa	24.15Abc	27.08 A
	SELÊNIO	11.74Ac	27.50Abc	36.01Aab	25.95Abc	47.64Aa	18.23Ac	27.84 A
	MYCOSORB	25.22Aa	33.37Aa	35.26Aa	26.10Aa	36.90Aba	19.60Aa	29.40 A
	ASCITEC	19.82Ab	35.74Aab	41.57Aa	29.82Aab	27.17Bab	26.78Aab	30.15 A
R C	CONTROLE	20.08Ab	28.20Aab	35.72Aab	29.95Aab	41.75Ba	24.87Aab	30.09 A
	SELÊNIO	25.06Ab	22.68Ab	28.46Ab	22.75Ab	60.29Aa	21.93Ab	30.19 A
	MYCOSORB	15.44Ac	19.48Abc	36.94Aab	28.09Abc	48.16Aba	26.67Abc	29.13 A
	ASCITEC	17.17Ab	27.65Ab	29.58Ab	25.05Ab	51.31ABa	29.70Ab	30.08 A
MÉDIAS		18.03d	27.43c	33.91b	27.23c	44.90a	23.99cd	
R N C		16.62Ad	30.36Abc	35.15Aab	28.01Abc	39.41Ba	22.18Acd	28.62 A
RC		19.43Ac	24.50Abc	32.67Ab	26.46Abc	50.37Aa	25.79Abc	29.87 A
C. V (%)								

Médias seguidas de letras minúsculas iguais nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey (P>0.05)

C. V (%) Coeficiente de Variação

TABELA 7 A: Atividade enzimática da glutathione s-transferase (GST) em fígados de frangos de corte, criados de 1 a 42 dias de idade.

FONTES DE VARIAÇÃO		IDADE (DIAS)						MÉDIAS
RAÇÕES	TRATAMENTOS	7	14	21	28	35	42	
R N C	CONTROLE	85.29Ac	168.21Aa	82.84Ac	126.80Ab	100.46Abc	113.41Abc	112.90 A
	SELÊNIO	80.49Ab	127.88Ba	110.49Aab	107.65Aab	130.91Aa	130.30Aa	114.62 A
	MYCOSORB	107.15Aa	114.24Ba	100.68Aa	117.41Aa	133.27Aa	105.86Aa	113.10 A
	ASCITEC	103.34Aa	125.43Ba	96.87Aa	132.85Aa	134.07Aa	118.87Aa	118.57 A
R C	CONTROLE	98.37Ab	143.27Aa	98.21Ab	90.27Ab	115.20Aab	105.77Aab	108.63 A
	SELÊNIO	88.77Aab	113.91Aab	82.75Ab	119.43Aab	123.93Aa	112.10Aab	106.81 A
	MYCOSORB	92.47Aa	115.13Aa	91.29Aa	123.25Aa	128.90Aa	93.93Aa	107.49 A
	ASCITEC	103.48Aa	116.40Aa	98.26Aa	96.59Aa	118.31Aa	125.03Aa	109.68 A
MÉDIAS		94.92c	128.11a	95.18c	114.37b	123.13ab	113.16b	
R N C		94.07A	134.04A	97.72A	121.18A	124.68A	117.11A	114.80 A
RC		95.77A	122.18A	92.63A	107.56A	121.58A	109.21A	108.15 B
C. V (%)								

Médias seguidas de letras minúsculas iguais nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey (P>0.05)

C. V (%) Coeficiente de Variação

TABELA 8 A: Análise de variância e coeficiente de variação para a atividade enzimática da GST, GSH-Px e GSHR em frangos de corte aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade (experimento 2).

Fontes de Variação	G.L	ENZIMAS					
		GST		GSH-Px		GSHR	
		Q.M	PROB. > F	Q.M	PROB. > F	Q.M	PROB. > F
Idade	5	6165.9012	0.00001	2736.1592	0.00001	596.3672	0.00001
Ração	1	2120.1648	0.01386	75.3518	0.31366	89.5167	0.00141
Tratamentos	3	151.7170	0.73004	19.7545	0.84889	9.9458	0.29434
Idade x Ração	5	259.3911	0.59018	279.3817	0.00322	31.9796	0.00229
Idade x Trat.	15	1048.2217	0.00048	117.5600	0.07989	14.3352	0.03987
Ração x Tart.	3	52.4359	0.92803	33.5779	0.71663	39.5331	0.00302
Idade x Ração x Trat.	15	607.8927	0.04642	154.4793	0.01270	10.7418	0.18188
Resíduo	144	346.3099		73.4189		7.9760	
C.V (%)		16.69		29.29		16.69	

TABELA 1 B: Análise de variância e coeficiente de variação para a atividade enzimática da glutatona peroxidase em frangos de corte aos 7, 21 e 42 dias de idade (Experimento 1).

FONTES DE VARIACÃO	G.L	Q.M	PROB. > F
Fontes de Se	1	0.2661067	0.89989
Idades	2	84.5547612	0.01546
Níveis de Se	5	312.0687047	0.00001
Fontes x Idades	2	112.8128879	0.00501
Fontes x Níveis	5	92.8655206	0.00147
Idades x Níveis	10	214.2007334	0.00001
Font. x Idades x Nív.	10	122.3387322	0.00004
Resíduo	36	18.1064811	
C.V (%)		25.43	

TABELA 2 B: Análise de variância e coeficiente de variação para ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) aos 21 e 42 dias de idade (experimento 1).

Fontes de Variação	G.L	IDADES											
		GP				CR				CA			
		21		42		21		42		21		42	
		Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F	Q.M	Prob.>F
Fontes de Se	1	0.013	0.002	0.050	0.042	0.001	0.634	0.097	0.236	0.119	0.050	0.006	0.528
Níveis de Se	5	0.001	0.155	0.001	0.983	0.007	0.023	0.081	0.328	0.060	0.106	0.029	0.166
Fontes x Níveis	5	0.001	0.306	0.002	0.946	0.004	0.104	0.015	0.931	0.036	0.288	0.003	0.937
Resíduo	12	0.008		0.009		0.001		0.062		0.025		0.015	
C.V (%)		5.78		5.30		4.75		6.51		9.11		6.08	