

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Maria Helena Souza de Aguiar

ZEARALENONA (ZEA) E SEUS EFEITOS NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS

Curitibanos

2021

Maria Helena Souza de Aguiar

ZEARALENONA (ZEA) E SEUS EFEITOS NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Médica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Vitor Braga Rissi.

Curitibanos

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Aguiar, Maria Helena Souza de
ZEARALENONA (ZEA) E SEUS EFEITOS NA REPRODUÇÃO DE
BOVINOS / Maria Helena Souza de Aguiar ; orientador,
Vitor Braga Rissi, 2021.
40 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos, Graduação em Medicina Veterinária,
Curitibanos, 2021.

Inclui referências.

1. Medicina Veterinária. 2. Micotoxinas. 3.
zearalenona. 4. hiperestrogenismo. 5. bovinos. I. Rissi,
Vitor Braga. II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

Maria Helena Souza de Aguiar

ZEARALENONA (ZEA) E SEUS EFEITOS NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Bacharelado em Medicina Veterinária aprovado em sua forma final pela seguinte banca:

Curitibanos, 29 de setembro de 2021.

Prof. Dr. Malcon Andrei Martinez Pereira
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Vitor Braga Rissi
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

M.V. Mariana Vieira Souza
Avaliadora

Prof. Dr. Marcos Henrique Barreta
Avaliador
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, força, saúde, proteção e por me dar a oportunidade de vivenciar tão grande experiência.

Agradeço a minha mãe Suzana, a qual é meu maior exemplo e a quem devo tudo, se sou uma mulher hoje e futura profissional sempre terei a senhora como exemplo de garra, força e determinação! A meu pai (*in memoria*) Alcides, por ter sempre dito que sonhos são feitos para serem realizados, e que eu seria capaz de me graduar como Médica Veterinária. A minha irmã Karina, por ser exemplo de profissional, e por todos os momentos de dúvida ser firme e me amparar a continuar, e meu irmão Lauro, por me incentivar. A minha tia, Roseli, por toda ajuda e suporte durante essa etapa.

Ao meu noivo Claudinei, por ser meu amigo, confidente, suporte e por incentivar cada um de meus passos. Você é exemplo de superação e garra! Serei eternamente grata por todas as etapas de vida vivenciadas juntos, por me oportunizar crescer como ser humano ao seu lado, por cuidar da Belinha, Cecília e Max, e agora do nosso maior presente, nossa Pietra. À minha filha Pietra, que durante o estágio foi a melhor companhia que poderia ter e por me oportunizar essa experiência.

Aos amigos que tornaram o caminho mais leve e animado, em especial a Sylvia, Bárbara e Letícia que estiveram juntas nos momentos mais difíceis e proporcionaram tanto aprendizado, crescimento e momentos inesquecíveis.

À equipe CVE, Cinthya, Adriane, Patrícia, Fábio, Rudson e a todos os demais, vocês mostraram que amizade, companheirismo, conhecimento e conquista de metas são a mistura perfeita, e minha amiga e professora Marcy, que fez essa equipe conquistar tantas metas, e me proporcionou muito crescimento pessoal e profissional, foi minha orientadora de vida acadêmica. Ao meu orientador professor Vitor, que me apoiou e incentivou neste período tão importante da graduação, minha gratidão é eterna a você e meu supervisor de estágio Bruno, que compartilharam seu conhecimento e me deram a oportunidade de realizar o estágio final mesmo frente a imprevistos. O incentivo de vocês foi fundamental.

À todos os professores e profissionais, por compartilharem seu conhecimento.

À UFSC pelo ensino e suporte durante a graduação.

*Tudo começou de um sonho.
A gente faz o sonho,
as pessoas acreditam,
aí é só continuar e confiar.*

“João Batista Sérgio Murad”

RESUMO

As micotoxinas são metabólitos secundários de fungos e por trazerem prejuízos à saúde humana e animal vêm sendo amplamente estudadas. Estes metabólitos encontram-se frequentemente em grãos de cereais e rações, possuindo distribuição mundial. As micotoxinas possuem diferentes formas de atuação negativas no organismo, sendo uma delas a influência na fisiologia dos hormônios responsáveis pelo ciclo estral de bovinos e conseqüente acometimento do sistema reprodutivo. A micotoxina Zearalenona (ZEA) é um metabolito secundário de fungos da família *Fusarium spp.* e é responsável pelo hiperestrogenismo, entre outros efeitos negativos na reprodução e produção animal. O controle do crescimento de fungos em substratos é complexo e deve ser adotado de forma consciente. A realização de análises que identifiquem e quantifiquem possíveis micotoxinas presentes na silagem contribuem na escolha de manejos adequados, buscando prevenir o crescimento de microrganismos entre estes os fungos.

Palavras-chave: Micotoxinas, zearalenona, hiperestrogenismo, bovinos.

ABSTRACT

Mycotoxins are secondary metabolites of fungi, because they cause harm to human and animal health, and have been widely studied. These metabolites are often found in cereal grains and rations worldwide. Mycotoxins have different forms of negative action in the body, one of which is the influence on the physiology of hormones responsible for the estral cycle of cattle and consequent involvement of the reproductive system, being the mycotoxin Zearalenone (ZEA), secondary metabolite of fungi of the family *Fusarium* spp. responsible for hyperestrogenism among other negative effects on reproduction and animal production. The control of fungal growth in substrates is complex and should be adopted consciously. The performance of analyses that identify and quantify possible mycotoxins present in silage contribute to the choice of appropriate managements, seeking to prevent the growth of microorganisms among these fungi.

Keywords: Mycotoxins, zearaleone, hyperestrogenism, cattle.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da micotoxina zearalenona (ZEA) e seus metabólitos α -zearalenol (α -ZEL) β - zearalenol (β -ZEL). Fonte: Adaptado de YANG et al., 2020 e BETINA, 1989.....	20
Figura 2 - Estrutura química dos estrógenos naturais. Fonte: Adaptado de REIS FILHO et al., 2005.	20
Figura 3 - A) Cisto folicular; B) Cisto luteal, ambos observados via US transretal durante ECOMV. Fonte: Acervo pessoal.	23
Figura 4 - A) Silo com marcas da retirada de alimento diária, superior a 12,9 cm; B) Vacas se alimentando da silagem fornecida durante ECOMV. Fonte: Acervo pessoal.	26
Figura 5 - A) Silos com lonas plásticas de proteção dupla face; B) Silos selados; C) Lado direito contendo lona dupla face e lona de barreira para entrada de oxigênio; D) Diferença entre parte do silo contendo as duas lonas de proteção de trocas gasosas e parte contendo apenas lona de proteção dupla face, de silos observados em uma das propriedades atendidas durante ECOMV. Fonte: Acervo pessoal.	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Categoria animal, dose de zearalenona e os efeitos da ingestão de dietas contaminadas em fêmeas bovinas. Fonte: ELIANA, 2018.	24
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
E1	Estrona
E2	17 β -estradiol
E3	Estriol
ECOMEV	Estágio Curricular Obrigatório em Medicina Veterinária
HSDs	Didroxiesteroides Desidrogenases
Kg	Quilograma
MS	Matéria Seca
REs	Receptores Estrogênicos
UDFGT	Uridina Difosfato Glucuronil Transferase
ZAE	Zearalanona
ZEA	Zearalenona
α -ZEL	α -Zearalenol
β -ZEL	β -Zearalenol
α -ZAL	α -Zearalanol
β -ZAL	β -Zearalanol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 OBJETIVOS.....	14
1.1.1 OBJETIVOS GERAIS	14
1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Ciclo estral na fêmea bovina	15
2.2 Micotoxinas e seus efeitos na reprodução animal	15
2.3 Zearalenona	18
2.3.1 Mecanismo de ação	20
2.3.2 Efeitos e sinais clínicos da ZEA	21
2.3.4 Métodos de determinação de micotoxinas.....	27
3 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

As micotoxinas vem sendo estudadas amplamente (KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1987; HUSSEIN & BRASEL, 2001; KRSKA & JOSEPHS, 2001; ZAIN, 2011; BERTHILLER *et al.*, 2012; PARMEGGIANI, 2018; YANG *et al.*, 2020), por trazerem prejuízos à saúde humana e animal, sendo mundialmente encontradas em grãos de cereais e rações (PLACINTA *et al.*, 1999). A globalização da comercialização de commodities agrícolas contribuiu para aumentar discussões dos riscos destas à saúde humana e animal (BINDER *et al.*, 2007). As micotoxinas possuem diferentes formas de atuação negativa no organismo, sendo uma delas a influência na fisiologia dos hormônios responsáveis pelo ciclo estral de bovinos e conseqüente acometimento do sistema reprodutivo. A micotoxina Zearalenona (ZEA) é um metabolito secundário de fungos da família *Fusarium spp.* (KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1987; D'MELLO & MACDONALD, 1997; MILLER, 1995; KUMAR *et al.*, 2008). A ZEA é uma micotoxina estrogênica (MITTERBAUER *et al.*, 2003; KUMAR *et al.*, 2008), sendo responsável pelo hiperestrogenismo (KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1987; D'MELLO & MACDONALD, 1997) entre outros efeitos negativos na reprodução e produção animal.

O conhecimento dos efeitos tóxicos provenientes de alguns fungos é conhecido a séculos, mas foi em 1850 que metabólitos de fungos foram correlacionados a riscos para saúde humana, por meio do fungo *Claviceps purpurea* infectando o centeio. Em 1960 se teve conhecimento das propriedades hepatotóxicas e carcinogênicas de linhagens de *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* (YANG, 2020). Os limites máximos tolerados de contaminação por micotoxinas nos alimentos é estabelecido no Brasil (BRASIL, 2017), Estados Unidos da América (EUA), União Europeia (UE) (ANUKUL *et al.*, 2013; LEE & RYU, 2017) e demais países com indústrias agrícolas desenvolvidas. Ter conhecimentos acerca da presença destes metabólitos de fungos e seus efeitos traz clareza para que se busque formas de diagnosticar, tratar e prevenir, evitando e reduzindo perdas econômicas e prejuízos na saúde humana e animal.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho objetiva abordar micotoxinas que influenciam na fisiologia dos hormônios responsáveis pelo ciclo reprodutivo de bovinos com consequente acometimento do sistema reprodutivo, tendo maior ênfase na micotoxina Zearalenona (ZEA), que é metabolito secundário de fungos da família *Fusarium spp.* Por meio de uma revisão de literatura, buscou-se evidenciar dados sobre as micotoxinas com relevância na reprodução animal, especificamente na espécie bovina, a fim de elencar quais os principais mecanismos que desencadeiam micotoxicose, sinais clínicos associados, formas de tratamento e prevenção, bem como os métodos utilizados na determinação de micotoxinas nos alimentos.

1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elencar as principais micotoxinas que resultam em problemas reprodutivos na espécie bovina;
- Dar ênfase a micotoxicose causada pelo metabolito secundário do fungo *Fusarium spp.*, Zearalenona (ZEA), abordando forma de contaminação, mecanismo de ação, sinais clínicos, tratamento e prevenção;
- Discorrer métodos de determinação de micotoxinas;

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ciclo estral na fêmea bovina

Fêmeas da espécie bovina são poliéstricas anuais, ou seja, possuem ciclos estrais durante todo ano e os intervalos entre cada ciclo variam de 18 a 24 dias, com média de 21 dias (MORAES, 2002). No entanto, por mais que as fêmeas bovinas demonstrem estro na puberdade (MORAN *et al.*, 1989), elas chegam à maturidade sexual quando há completa atividade reprodutiva (BYERLEY *et al.*, 1987), ciclo estral ativo, idade, tamanho e peso corporal adequado.

O ciclo estral é comandado primariamente pelo eixo hipotalâmico-hipofisiário-gonadal e envolve a interação neuroendócrina de diferentes hormônios. Os principais são o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), o hormônio folículo estimulante (FSH), o hormônio luteinizante (LH), o estrógeno (E2), a progesterona (P4) e a prostaglandina (PGF). O ciclo estral pode ser didaticamente dividido em fases folicular e luteal, a fase folicular pode ser subdividida proestro e estro, e a fase luteal em metaestro e diestro (HANSEL & CONVEY, 1983; MORAES, 2002).

No proestro temos a regressão do corpo lúteo (CL), associada a queda dos níveis séricos de P4 e aumento dos níveis de E2 circulante, em função do folículo em desenvolvimento, tal etapa ocorre no intervalo de tempo de 3 dias. Durante o estro (duração de 12 a 24 horas) os níveis séricos de E2 se encontram elevados estimulando o hipotálamo a produzir pulsos de GnRH, estimulando a adenohipófise, resultando no pico pré-ovulatório de LH, levando a ovulação dentro do período de 24 a 30 horas. A ovulação ocorre na fase de metaestro do ciclo, nessa mesma fase inicia-se a formação do CL. Na fase de diestro, o CL se encontra produzindo P4, sendo considerado jovem até seu 10º dia, deste dia em diante é considerado maduro. Entre o 16º e 17º dia do ciclo estral ocorre luteólise e os níveis de P4 circulante terão uma queda progressiva, assim o *feedback* negativo cessa, e uma nova onda folicular tem seu início, até que o folículo chegue em seu estágio pré-ovulatório.

2.2 Micotoxinas e seus efeitos na reprodução animal

A séculos se sabe que fungos produzem metabólitos com efeitos tóxicos, mas foi em 1850 que riscos para saúde humana foram atribuídos a eles, por meio do fungo

Claviceps purpurea infectando centeio. O conhecimento das propriedades hepatotóxicas e carcinogênicas de linhagens de *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, ocorreu em 1960 (YANG, 2020) e desde então estes metabólitos reconhecidos como micotoxinas vêm sendo estudados mundialmente (KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1987; HUSSEIN & BRASEL, 2001; KRŠKA & JOSEPHS, 2001; ZAIN, 2011; BERTHILLER *et al.*, 2012; PARMEGGIANI, 2018; VEDOVATTO *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2020). Atualmente há descrição de 18000 metabólitos secundários de fungos. As micotoxinas são encontradas em alimentos, grãos de cereais e rações em todos os estágios da cadeia alimentar (PLACINTA *et al.*, 1999). As dietas fornecidas aos animais de fazenda possuem maior concentração de micotoxinas que os alimentos consumidos por humanos devido ao seu grau de processamento (RODRIGUES & NAEHRER, 2012). O consumo de dietas contendo micotoxinas leva a efeitos estrogênicos, imunossupressores e carcinogênicos. A ingestão de forma crônica pelos rebanhos induz a perda de peso, aumento de casos de distúrbios reprodutivos e doenças em resposta a baixa imunidade (D'MELLO *et al.*, 1999; LINDEMANN *et al.*, 1993; VEDOVATTO *et al.*, 2020).

Cabe ressaltar que nem todos os metabólitos secundários de fungos geram micotoxicose, e sua toxicidade varia conforme alimento, mudanças em suas propriedades fisiológicas após consumo e concentração da micotoxina (YANG 2020) e geralmente a exposição se dá a duas ou mais micotoxinas simultaneamente (KLARIC *et al.*, 2009). A dimensão da metabolização é dependente do tipo de micotoxina ingerida, idade do animal, sexo, raça, dieta, espécie e no caso dos ruminantes, dos microrganismos que se encontram no rúmen (UPADHAYAYA *et al.*, 2009). Micotoxinas são invisíveis e indetectáveis pelo olfato e paladar. No entanto, geram perdas significativas no desempenho animal (BINDER, 2007).

As micotoxinas exercem efeito mais grave em monogástricos (SANTURIO, 2007) sendo os suínos e aves as espécies mais suscetíveis e sensíveis às micotoxicoses, gerando perdas econômicas significativas e risco a saúde animal e humana. Os metabólitos secundários produzidos por fungos se acumulam em tecidos animais e estão presentes no sangue e no leite de bovinos, levando a preocupação de seus efeitos na saúde de pessoas que consomem carnes e produtos lácteos (YANG, 2020). Ruminantes precisam de concentrações maiores de micotoxinas para apresentarem sinais clínicos de intoxicação (REISINGER *et al.*, 2019) e isso se deve ao fato de que no rúmen algumas micotoxinas podem ser total ou parcialmente degradadas pelos microrganismos ali

presentes (VEDOVATTO *et al.*, 2020). No entanto nem todas as micotoxinas são biodegradadas e por dispor de efeito antimicrobiano interferem negativamente na fermentação ruminal (FINK-GREMMELS, 2008; REISINGER *et al.*, 2019). Os metabólitos secundários aflatoxinas, tricotocenos e zearalenona, estão entre os mais estudados na atualidade (VEDOVATTO *et al.*, 2020).

Os gêneros de fungos que produzem esses metabólitos secundários são: *Aspergillus spp.* (aflatoxinas) e *Fusarium spp.* (tricotocenos e zearalenona), cada uma tem mecanismo de ação, alterações metabólicas e sinais clínicos distintos. Elas estão entre as espécies de fungos com maior presença na contaminação de alimentos, e que se encontram antes, durante e após a colheita de cultivares e grãos em virtude do inadequado armazenamento (BINDER, 2007). As micotoxinas podem estar presentes na ausência de seu fungo produtor e a intoxicação pode se dar de forma aguda ou crônica (PARMEGGIANI, 2018; VEDOVATTO *et al.*, 2020), sendo determinada por dose, tempo de exposição (VEDOVATTO *et al.*, 2020), tipo de micotoxina ingerida, idade do animal, sexo, raça, dieta, espécie e no caso dos ruminantes, dos microrganismos que se encontram no rúmen (UPADHAYAYA *et al.*, 2009).

O gênero *Aspergillus spp.* possui como metabólitos secundários a ocratoxina A e a aflatoxina. As aflatoxinas são pouco degradadas no rúmen (UPADHAYAYA *et al.*, 2009), tem sua metabolização no fígado e podem passar por dois tipos de reação: hidroxilação e epoxidação. A hidroxilação forma diferentes tipos de aflatoxinas, entre as quais estão as tipo M1 e Q1. A reação de hidroxilação torna estes metabólitos solúveis em água pela presença do agrupamento hidroxila na molécula, tornando possível sua excreção via bile, urina e leite (OLIVEIRA & GERMANO, 1997; NIDHINA *et al.*, 2017). Já na reação de epoxidação há formação de compostos ativados (8,9-óxido de AFB1 e o AFB1-2,3 epóxido) capazes de reagir com DNA, RNA e proteínas. Tal ligação gera modificações na estrutura e atividade biológica do DNA e proteínas, resultando em mutação, que conseqüentemente gera lesões bioquímicas, inativação de macromoléculas essenciais e morte celular, resultando na intoxicação (OLIVEIRA & GERMANO, 1997). As alterações metabólicas implicam em hepatotoxicidade, afetando diretamente estruturas dos hepatócitos (núcleo e retículo endoplasmático) (DEGEN & NEWMANN, 1978). A nível ruminal AFB1 é convertida em aflatoxicol, altamente tóxico às bactérias do rúmen (AUERBACH *et al.*, 1998), levando a sinais clínicos de forma crônica tais como: redução na produção de leite, redução no consumo de matéria

seca, elevação das enzimas hepáticas e bilirrubina, dores abdominais e cólicas, diarreia e tenesmo podendo resultar em prolapso de reto, imunossupressão (VEDOVATTO *et al.*, 2020), inapetência, diminuição no ganho de peso e má aparência geral (SANTURIO, 2007). Em aves se relata que a AFB1 leva a redução na produção de ovos de poedeiras (TRUCKSESS *et al.*, 1983). Em perus a AFB1 está relacionada à alguns fatores, entre eles, fatores carcinogênicos (MONSON *et al.*, 2015). Em suínos a AFB1 interfere na maturação de oócitos e aumenta a apoptose destes (LIU *et al.*, 2015).

O gênero de fungo *Fusarium spp.* produz os metabólitos secundários tricotocenos e zearalenona. Os tricotocenos por sua vez, após serem degradados no rúmen dão origem a compostos menos tóxicos: nivalenol (KUMAR *et al.*, 2008; MULLER, 1995), deoxinivalenol, toxina-T2 e diacetoxiscirpenol (FINK-GREMMELS, 2008). Estudos demonstraram que a capacidade do rúmen em degradar esta micotoxina pode estar relacionada à dieta fornecida aos bovinos, já que a alimentação interfere na microbiota ruminal (NIDERKORN *et al.*, 2006). Por meio do fornecimento de trigo contaminado com metabólitos secundários de *Fusarium spp.* (10 mg deoxinivalenol e 0,76 mg zearalenona por kg de MS) foi observada redução de 24% na síntese de proteína microbiana e 25% menor o fluxo de proteínas totais para o duodeno, comprovando a capacidade tóxica para alguns microrganismos e alterando de forma significativa o metabolismo ruminal (DANICKE *et al.*, 2002). O mecanismo de ação desta micotoxina interfere negativamente em diversos fatores fisiológicos, reduzindo diferenciação e crescimento celular, sendo capaz de levar a apoptose e supressão da resposta imune. Os sinais clínicos observados na intoxicação por tricotocenos envolvem salivação, desconforto abdominal, diarreia, vômito, anorexia, conseqüente redução de ganho de peso devido a diminuição da ingestão de alimentos (PESTKA *et al.*, 2004).

2.3 Zearalenona

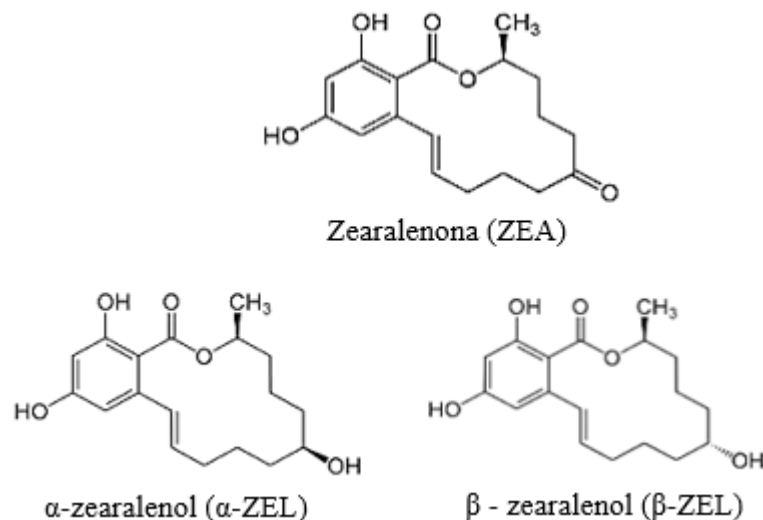
Como já mencionado, a Zearalenona (ZEA) é uma micotoxina proveniente do metabólito secundário de diferentes espécies de fungo *Fusarium* (SANTURIO, 2007; PARMEGGIANI, 2018; YANG *et al.*, 2020), principalmente *Fusarium graminearum* (GERLACH & NIREMBERG, 1982; PLACINTA *et al.*, 1999; HUSSEIN & BRASEL, 2001; MOSTROM & JACOBSEN, 2011; KRIZOVÁ *et al.*, 2012). Os micélios e esporos desta micotoxina produzem pigmentos avermelhados ou *pink*. A Zearalenona pode ser encontrada em muitos alimentos como: arroz, cevada, milho, trigo e feno,

sendo mais importante no milho e farinha de milho. A temperatura que favorece o crescimento para este fungo é entre 20° e 25°C, no entanto temperaturas entre 8° e 14°C resultam na ótima produção de Zearalenona (SANTURIO, 2007) associada a alta umidade (PLACINTA *et al.*, 1999; HUSSEIN & BRASEL, 2001; MOSTROM & JACOBSEN, 2011; KRIZOVÁ *et al.*, 2012).

A biotransformação da zearalenona no rúmen, duodeno e fígado (KALLELA e *et al* VASENIUS, 1982; KIESSLING *et al.*, 1984; MALEKINEJAD., 2006; OLSEN, 1989; WINKLER *et al.*, 2014) tem como resultado os seguintes metabólitos: α -ZEL, β -ZEL, α -ZAL, β -ZAL e ZAE (EFSA, 2011). Os fungos que têm como metabólito secundário a ZEA também são capazes de formar estes metabólitos em doses inferiores comparadas a sua biotransformação no organismo (ZINEDINE *et al.*, 2007). A biotransformação da ZEA pode ocorrer em duas fases. Fase 1 onde ocorre hidroxilação e Fase 2 ocorrendo conjugação. Na hidroxilação a ZEA é catalisada pelas enzimas 3 α e 3 β hidroxisteroides desidrogenases (HSDs). Já na conjugação, a ZEA e seus metabólitos são conjugados com ácido sulfônico ou ácido glucurônico, em seguida são catalizados pela enzima uridina difosfato glucuronil transferase (UDFGT), tornando ZEA e seus metabólitos mais solúveis (OLSEN, 1989). Bovinos convertem majoritariamente ZEA em β -ZEL, sendo este metabólito encontrado em fluídos (soro, bile, fezes, urina e leite). O metabólito mais estrogênico (α -ZEL) é convertido em menor quantidade em bovinos, no entanto a α -ZEL tem menor absorção (SEELING *et al.*, 2005), o que pode justificar a maior resistência de bovinos a esta micotoxina (FINK-GREMMELS, 2008).

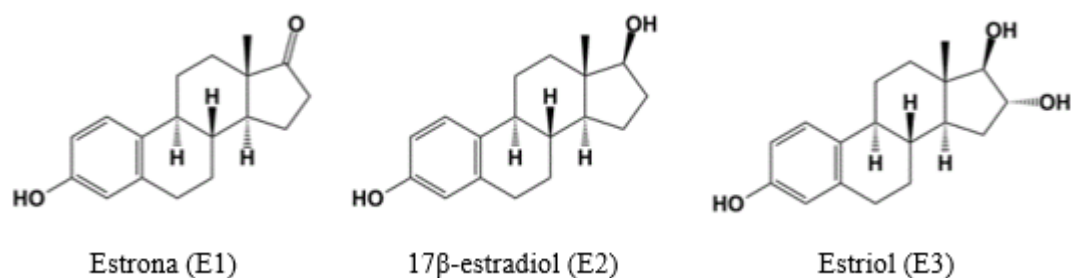
A estrutura da ZEA e seus metabólitos (Figura 1) são flexíveis, semelhante aos estrógenos naturais (17 β -estradiol, estriol e estrona) demonstrados na Figura 2, resultando na ligação competitiva nos receptores estrogênicos (REs) (DIEKMAN e GREEN, 1992; FRIZZELL *et al.*, 2011; MARCZUK *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2013; SHIER *et al.*, 2001). Existem dois subtipos de receptores estrogênicos: REs- α e REs- β , aos quais a ZEA, o α -zearalenol e o β -zearalenol possuem diferentes graus de afinidade. O metabólito α -zearalenol é o que possui maior afinidade aos REs (FINK GREMMELS, 2008; GAJECKI, 2002; UPADHAYA *et al.*, 2010) e sua afinidade chega a ser 10-20 vezes superior quando comparado a ZEA e 100 vezes superior que a afinidade entre REs e β -zearalenol (KATZENELLENBOGEN *et al.*, 1979; FITZPATRICK *et al.*, 1989).

Figura 1 - Estrutura química da micotoxina zearalenona (ZEA) e seus metabólitos α -zearalenol (α -ZEL) β - zearalenol (β -ZEL).



Fonte: Adaptado de YANG et al., 2020 e BETINA, 1989.

Figura 2 - Estrutura química dos estrógenos naturais.



Fonte: Adaptado de REIS FILHO *et al.*, 2005.

2.3.1 Mecanismo de ação

A exposição à ZEA se dá basicamente através da ingestão oral da dieta contaminada (KUMAR *et al.*, 2008). Após ser biotransformada no rúmen, duodeno e fígado (KALLELA & VASENIUS, 1982; KIESSLING *et al.*, 1984; MALEKINEJAD *et al.*, 2006; OLSEN, 1989; WINKLER *et al.*, 2014) produz seus metabólitos: α -ZEL, β -ZEL, α -ZAL, β -ZAL e ZAE (EFSA, 2011). Há estudos demonstrando que a conversão de ZEA pelos microrganismos ruminais em α -ZEL chega a aproximadamente 90%, e em menor quantidade ela é convertida em β -ZEL (KENNEDY *et al.*, 1998), e como a absorção de α -ZEL é menor (SEELING *et al.*, 2005), explica a maior tolerância

a essa toxina pelos ruminantes (FINK-GREMMELS, 2008). No entanto recentemente se fala que há predominância na conversão de ZEA em β -ZEL (EFSA, 2017) por parte dos bovinos. A interação entre ZEA, seus metabólitos e os REs, ocorre de forma passiva e alcança hipotálamo, hipófise, útero e glândula mamária (KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1987; MINERVINI *et al.*, 2001). Então ocorre a formação do complexo receptor-micotoxina que é transportado ao núcleo celular e este se liga aos receptores nucleares, levando a ativação da expressão gênica, que tem como resultado aumento de ácido ribonucleico (RNA) específico e da atividade polimerase, e consequente síntese de novas proteínas (FINK-GREMMELS & MALEKINEJAD, 2007; KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1987). A intensidade da micotoxicose terá variação quanto ao mecanismo de ação conforme tempo de permanência no núcleo (GAUMY *et al.*, 2001). Tal interação tem como consequências alteração na secreção de células endometriais, síntese de proteínas locais e aumento no volume de órgãos reprodutivos (MELO, 2016).

A zearalenona e seus metabólitos também interagem de forma competitiva com as enzimas 3α -HSDs e 3β -HSDs em seus receptores, tais enzimas fazem parte da síntese e metabolismo de hormônios esteroides (E2, P4, testosterona e cortisol) (FINK-GREMMELS & MALEKINEJAD, 2007; FRIZZELL *et al.*, 2011; KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1987), e estes receptores podem ser encontrados no intestino, fígado, rins, hipotálamo, hipófise, ovário, testículo e próstata (OLSEN, 1989).

A principal atividade da ZEA é a estrogenicidade (SANTURIO, 2007; EFSA, 2017), levando a alterações funcionais e morfológicas dos órgãos reprodutivos (DIEKMAN & GREEN, 1992; FINK-GREMMELS & MALEKINEJAD, 2007; KLEINOVA *et al.*, 2002; KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1987; MINERVINI & DELL'AQUILA, 2008; SHIER *et al.*, 2001). Além disso, interfere na síntese e metabolismo dos hormônios esteroides (FRIZZELL *et al.*, 2011), sendo capaz de reduzir níveis séricos de GnRH, FSH e LH (RADOSTITS *et al.*, 1994).

2.3.2 Efeitos e sinais clínicos da ZEA

A zearalenona é uma micotoxina com efeito estrogênico, proveniente do metabolismo secundário de diferentes espécies de *Fusarium*. Possui toxicidade relativamente baixa e em ratos sua DL_{50} é de 2-10 g/Kg de peso vivo corporal

(FLANNIGAN, 1991). Seu efeito disruptor endócrino e gonadotóxico é conhecido em machos e fêmeas de diferentes espécies (PFOHL-LESZKOWICZ *et al.*, 1995).

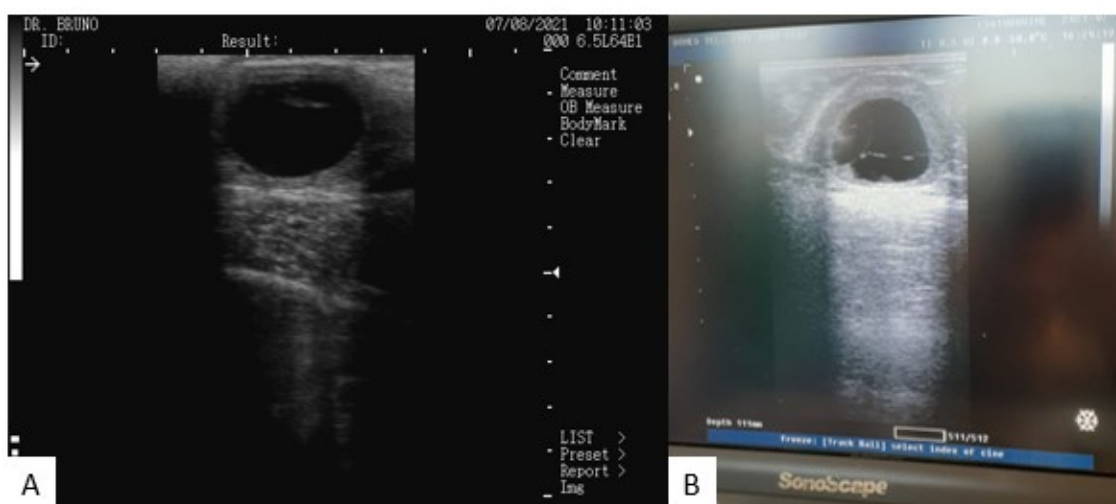
Em leitoas intoxicadas na dose de 200 µg/Kg de ZEA houve apresentação de sinais clínicos de cio e hiperemia de vulva quatro dias após intoxicação (ZWIERZCHOWSHI *et al.*, 2006). O hiperestrogenismo em leitoas sexualmente imaturas causado por intoxicação com milho mofado teve seu primeiro relato no ano de 1928 (MCNUTT *et al.*, 1928), sendo caracterizado por edema e avermelhamento vulvar, prolapso vaginal em leitoas, atrofia testicular em machos e aumento dos mamilos em ambos os sexos. Em células da granulosa suína, a ZEA induz a morte celular mediada pela caspase-3 e caspase-9 (ZHU *et al.*, 2012). Nas matrizes se observou retorno ao cio, aborto, aumento da mortalidade embrionária e “*splay-leg*” (condição a qual leitões recém-nascidos são incapazes de manter seus membros juntos) (ETIENNE & DOURMAD, 1994). Em suínos machos a intoxicação por ZEA pode induzir feminilização, supressão de libido, redução dos níveis séricos de testosterona, peso testicular, bem como a espermatogênese pode ser comprometida (D’MELLO *et al.*, 1999). Ainda na espécie suína a administração de ZEA na dose de 1 mg/kg de ração diminui a integridade do folículo e aumenta síntese de REs nas porcas em lactação (SCHOEVERS *et al.*, 2012).

A espécie bovina tem necessidade de maiores concentrações de micotoxinas para que estas exerçam seus efeitos negativos, isso se deve aos microrganismos ruminais, que degradam de forma parcial ou total, os metabólitos secundários (VEDOVATTO, 2020; YANG *et al.*, 2020). A dieta de bovinos contendo micotoxinas pode levar à intoxicação de forma aguda ou crônica, com efeitos imunossupressores, carcinogênicos, teratogênicos e estrogênicos. O aumento na ocorrência de doenças, a redução no consumo de matéria seca, baixa conversão alimentar, redução do ganho de peso e redução do desempenho reprodutivo, podem estar relacionados ao consumo de dietas contaminadas (BINDER *et al.*, 2007).

Ainda entre os principais efeitos observados pela micotoxicose derivada da ZEA em bovinos se encontram: o retorno ao estro em intervalos irregulares, formação de cistos ovarianos (Figura 3) (KUIPER-GOODMAN *et al.*, 1987; SAEGER *et al.*, 2003), edema de glândula mamária, vaginite, edema uterino, edema vulvar, secreção vaginal, prolapso uterino, prolapso vaginal, prolapso de reto (AGAG, 2004; SAEGER *et al.*,

2003; DIEKMAN & GREEN, 1992), redução na produção leiteira (AGAG, 2004; D' MELLO *et al.*, 1999; DIEKMAN & GREEN, 1992; MINERVINI & DELL'AQUILA, 2008; WEAVER *et al.*, 1986b; ZINEDINE *et al.*, 2007), comprometimento de maturação oocitária, ovulação, implantação embrionária e gestação, aumento na morte embrionária e aborto (FINK-GREMMELS & MALEKINEJAD, 2007; KALLELA & ETTALA, 1984; ZINEDINE *et al.*, 2007), redução da fertilidade, comprometendo a eficiência do rebanho (AGAG, 2004; D' MELLO *et al.*, 1999; DIEKMAN & GREEN, 1992; FINK-GREMMELS & MALEKINEJAD, 2007; MINERVINI & DELL'AQUILA, 2008; WEAVER *et al.*, 1986). Outros efeitos resultantes da micotoxicose por ZEA podem ser observados na tabela 1 (ELIANA, 2018). Em bovinos, altas concentrações de ZEA interferem na metáfase I dos oócitos, mas não na taxa de fertilização e desenvolvimento (TAKAGI *et al.*, 2008).

Figura 3 - A) Cisto folicular; B) Cisto luteal, ambos observados via US transretal durante ECOMV.



Fonte: Acervo pessoal.

Tabela 1 - Categoria animal, dose de zearalenona e os efeitos da ingestão de dietas contaminadas em fêmeas bovinas.

Categoria animal	Dose de ZEA (mg/kg)	Efeitos	Referências
Vacas + Novilhas	14 (feno) n=150	Infertilidade e aumento no número de inseminações (de 1,2 para 4)	MIROCHA et al., 1968
Vacas	3,19-9,55 (ração) n=21	Infertilidade, falso cio, edema de vulva e vaginal com secreção	ROINE et al., 1971
Novilhas virgens	sem dados de [] (ração) n=20	Edema de glândula mamária com atividade secretora em 2 animais (8 e 12 meses)	BLOOMQUIST et al., 1982
Novilhas virgens	250 mg/dia 3 ciclos estrais n=36	Redução da taxa de concepção (de 87% nas novilhas controle para 62% nas novilhas tratadas)	WEAVER et al., 1986 ^a
Vacas	500 mg/dia 2 ciclos estrais n=18	A concentração de progesterona não foi afetada e não houve alterações comportamentais e no trato genital	WEAVER et al., 1986 ^b
*	>10	Disfunção reprodutiva, ninfomania, repetição de cio, hipertrofia uterina, secreções vaginais, aborto e perda de peso	FRASER, 1996
Novilhas	<10	Infertilidade, redução da taxa de concepção, repetição de cio e edema da glândula mamária	OSWEILER, 1998
Vacas	>10	Infertilidade, redução da taxa de concepção, repetição de cio, vaginite e secreções vaginais	OSWEILER, 1998
*	1,5-3	Efeitos hiperestrogênicos	D' MELLO et al., 1999
Novilhas	1,5-5	Vaginite, edema de glândula mamária e atraso na puberdade	BRIDGES et al., 2010
Vacas cíclicas	>10	Redução da taxa de concepção	BRIDGES et al., 2010
Vacas prenhes	20	Morte embrionária e aborto	BRIDGES et al., 2010

Nota: *Categoria animal não especificada.

Fonte: ELIANA, 2018.

2.3.3 Tratamento e prevenção

Certamente o melhor método para evitar as micotoxinas se encontra na prevenção do crescimento de fungos nos substratos (BINDER, 2007; SANTURIO, 2007; GALLO *et al.*, 2015). Para que isso seja realizado é possível tomar atitudes estratégicas desde a escolha do cultivar, manejos adotados durante plantio, colheita, ensilagem até remoção diária para o trato dos animais (BINDER, 2007; JOUANY, 2007; GALLO *et al.*, 2015; VEDONATTO, 2020).

As estratégias para reduzir a contaminação podem iniciar pela rotação de culturas, escolha de cultivares menos susceptíveis ao crescimento de *Fusarium*, quantidade de fertilizantes utilizados, uso de fungicida, escolha da data de plantio,

controle de insetos, controle de ervas daninhas e insetos. Pela determinação da quantidade de fertilizante utilizado temos alteração na taxa de crescimento da planta, taxa de decomposição de resíduos, estrutura e atividade microbiana do solo. Ao determinar de forma estratégica a data do plantio pode ser reduzida a taxa de contaminação, pois esta aumenta quando a floração ocorre ao mesmo tempo que a liberação de esporos. Já o uso de fungicidas deve ser feito de forma racional, para que sejam altamente letais a *Fusarium spp.*, do contrário podem estimular a produção de micotoxinas. No controle biológico, pode ser adotado pulverização com antagonistas microbianos como *Bacillus subtilis* no período floração para inibir crescimento fúngico. O controle de insetos auxilia a evitar danos externos aos grãos e tecidos das plantas, porque por meio dessas fissuras há penetração das hifas dos fungos e acesso direto aos nutrientes da planta, além disso os insetos podem carrear os esporos dos fungos (JOUANY, 2007).

O controle no período de plantio é importante porque o gênero *Fusarium* tem a capacidade de infectar a espiga do milho em seus primeiros estágios de desenvolvimento, resultando na produção de metabólitos secundários que aumentam com o desenvolvimento e maturação dos grãos, logo colheitas tardias tem maior contaminação. Outros fatores que determinam a concentração final de micotoxinas são: regulagem da colheitadeira, temperatura durante armazenamento e umidade dos grãos (JOUANY, 2007; GALLO *et al.*, 2015).

Durante a produção da silagem manejos podem ser adotados com a finalidade de reduzir a produção de micotoxinas, iniciando pelo tamanho do silo, que deve ser estratégico de forma que a remoção do alimento na parte frontal seja de no mínimo 12,9 cm diariamente (Figura 4). O teor de umidade da planta no momento da ensilagem, em silos tipo trincheira deve estar entre 65 e 70% e o preenchimento do silo, compactação e fechamento devem ocorrer no menor intervalo de tempo possível. Ainda pode ser feita utilização de aditivos para melhorar fermentação e diminuição de pH, para reduzir o crescimento de fungos, e os fungicidas podem ser adicionados antes da vedação do silo na parte externa. Outra opção é fazer uso destes após a retirada diária do alimento na parte frontal do silo (JOUANY, 2007). Tais práticas tem como objetivo evitar permanência e entrada oxigênio no silo, que ajuda no crescimento de microrganismos anaeróbicos entre os fungos (GALLO *et al.*, 2015). Todas essas precauções podem ser adotadas a fim de evitar micotoxinas na silagem do milho, que pode conter entre muitos

metabólitos secundários as aflatoxinas, tricotocenos e zearalenona (OGUNADE *et al.*, 2017).

Figura 4 - A) Silo com marcas da retirada de alimento diária, superior a 12,9 cm; B) Vacas se alimentando da silagem fornecida durante ECOMV.



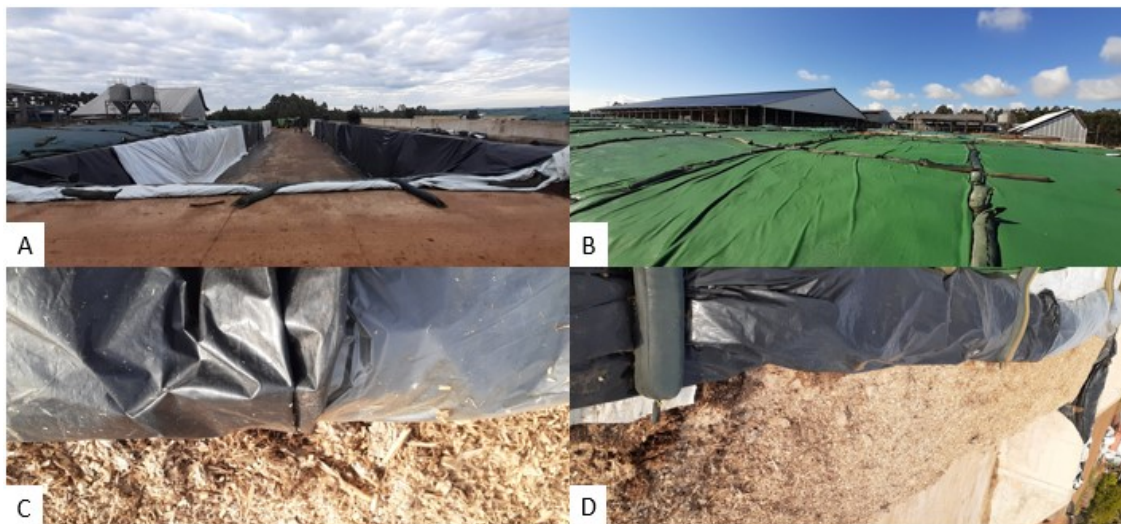
Fonte: Acervo pessoal.

Casos de micotoxicose gerados pela ZEA são tratadas de forma paliativa e a regressão dos sinais clínicos e recuperação das funções do sistema reprodutivo se dá entre uma e quatro semanas após suspensão completa da dieta contaminada (FRASER, 1996). Mesmo fazendo uso de todos os manejos para prevenir este metabólito secundário a ausência completa é difícil, logo, buscando garantir a segurança alimentar dos bovinos, a contaminação na dieta total não deve ultrapassar 250 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (AGAG, 2004; ERFANI *et al.*, 2014; LAMIC, 2018). Durante o ECOMV entre as dezoito propriedades acompanhadas uma delas realizava contratação de empresa especializada na colheita e fabricação da silagem (preenchimento, compactação e selamento dos silos). Outra propriedade além de trabalhar com rebanho de bovinos leiteiros fornecia trabalho de colheita e fabricação de silagem, as demais propriedades fabricavam sua própria silagem. Mesmo nas propriedades com conhecimento da colheita e fabricação de silagem, os efeitos indesejados das micotoxinas eram observados no período de abertura dos silos. Entre os efeitos se observava reabsorção fetal, aborto, redução na produção de leite, queda na taxa de concepção e cistos ovarianos.

A presença da micotoxina zearalenona na silagem de milho foi confirmada na propriedade que realizava contratação de empresa especializada na colheita e fabricação da silagem, por meio de análise laboratorial de micotoxinas (Anexo 3). Os efeitos deste metabólito secundário eram minimizados devido ao uso de inoculantes durante a preparação da silagem, cuidados na preparação de silos, como por exemplo uso de lonas dupla face tendo exterior preto e interior branco, e outra lona de barreira para entrada de oxigênio (Figura 5). Todos os efeitos observados podem ter diferentes causas, porém, os

produtores relatavam que tais sinais clínicos eram recorrentes no período de uso da silagem resultante da abertura do silo e que tem como principal suspeita a micotoxicose como causa de tais sinais clínicos.

Figura 5 - A) Silos com lonas plásticas de proteção dupla face; B) Silos selados; C) Lado direito contendo lona dupla face e lona de barreira para entrada de oxigênio; D) Diferença entre parte do silo contendo as duas lonas de proteção de trocas gasosas e parte contendo apenas lona de proteção dupla face, de silos observados em uma das propriedades atendidas durante ECOMV.



Fonte: Acervo pessoal.

2.3.4 Métodos de determinação de micotoxinas

A detecção de micotoxinas na silagem pode ser realizada por meio de testes imunoenzimáticos e técnicas cromatográficas. O teste imunoenzimático conhecido como teste ELISA é muito comum na detecção de micotoxinas, e tais testes já estão disponíveis comercialmente para detecção de aflatoxina, deoxinivalenol, fumonisinas, ocratoxinas e zearalenona. Este teste geralmente envolve a competição da micotoxina de interesse com uma micotoxina rotulada, para um número limitado de anticorpos específicos em sítio de ligação, onde a presença da micotoxina se dá pela ausência de cor (APS, 2021).

As técnicas de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE/HPLC) e Cromatografia gasosa/Espectrometria massa (CG-EM/GC-MS) requerem equipamentos caros e suporte técnico, mas oferecem um limite de detecção inferior a 0,5 ppm para muitas micotoxinas. Na técnica CLAE/HPLC há separação dos componentes da amostra

numa coluna estacionária usando um solvente (metanol ou acetonitrilo), o que detecta as micotoxinas e as quantifica é o tempo que levam para passar pelo detector específico. No entanto, a técnica CG-EM/GC-MS utiliza um gás (hélio), que separa os componentes dentro da coluna estacionária, e por meio de um espectrômetro de massa as micotoxinas são detectadas e quantificadas (APS, 2021).

A realização de análises das micotoxinas presentes seja na ração, silagem e demais alimentos é imprescindível para garantir a segurança alimentar de humanos e animais. Assegurando que os níveis de micotoxinas estejam dentro dos estabelecidos por lei. Laboratórios que fornecem essas análises são importantes e devem estar regulamentados para fornecer tais dados. Entre os laboratórios que realizam tais análises de forma fidedigna, padronizada e se encontram dentro dos padrões estabelecidos por lei no Brasil, estão: LAMIC da Universidade Federal de Santa Maria, Instituto SAMITEC, ambos no estado do Rio Grande do Sul, a empresa SGS com filiais em vários estados do Brasil, entre outras.

3 CONCLUSÃO

As micotoxinas estão presentes em substratos fundamentais à alimentação humana e animal, a prevenção total de sua ocorrência é difícil. No entanto as micotoxicoses levam a perdas econômicas significativas na produção animal, tornando manejos que buscam pela prevenção de fungos em substratos essencial. Se fazem necessários estudos voltados aos efeitos da zearalenona na reprodução de bovinos.

REFERÊNCIAS

- ANUKUL, N. et al. Significance of regulation limits in mycotoxin contamination in Asia and risk management programs at the national level. *J. Food Drug Anal.* 21, 227–241. 2013.
- APS (The American Phytopathological Society). *Mycotoxins in Crops (Crops, pt): A Hazard to Human and Domestic Animal Health. Detection of contamination with mycotoxins.* 2021. Disponível em: <https://www.apsnet.org/edcenter/disimpactmngmnt/topc/Micotoxinas/Pages/DetectionPort.aspx>. Acesso em: 03 de setembro de 2021.
- AGAG, B. I. Mycotoxins in foods and feeds 3-zearalenone. *Assiut University Bulletin for Environmental Researches*, v. 7, n. 2, p. 169-176, 2004.
- AUERBACH, H. et al. Incidence of *Penicillium roqueforti* and roquefortine C in silages, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 76, pp. 565–572. 1998.
- BERTHILLER, F.; et al. Masked mycotoxins: a review. *Molecular Nutrition & Food Research*, [S.L.], v. 57, n. 1, p. 165-186, 10 out. 2012.
- BETINA, V. Structure-activity relationships among mycotoxins. *Chemico-Biological Interactions*, [S.L.], v. 71, n. 2-3, p. 105-146, 1989.
- BINDER, E. M. et al. Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. *Animal Feed Science And Technology*, [S.L.], v. 137, n. 3-4, p. 265-282, out. 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377840107002192>. Acesso em: 20 de agosto de 2021.
- BRASIL. RDC Nº 138, DE 8 DE FEVEREIRO DE 2017. Altera a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011, que dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos, para alterar os LMT da micotoxina desoxinivalenol (DON) em trigo e produtos de trigo prontos para oferta ao consumidor e os prazos para sua aplicação. Brasília, DF: Presidência da República, 2017. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/20794568/do1-2017-02-09-resolucao-rdc-n-138-de-8-de-fevereiro-de-2017-20794496. Acesso em: 15 de agosto de 2021.

BYERLEY, D. J. et al. PREGNANCY RATES OF BEEF HEIFERS BRED EITHER ON PUBERAL OR THIRD ESTRUS. *J. Anim. Sci.*. Miles City, p. 645-650. jun. 1987. Disponível em: . Acesso em: 20 de agosto de 2021.

DANICKE, S. et al. Effects of Fusarium toxin contaminated wheat and of a detoxifying agent on performance of growing bulls, on nutrient digestibility in wethers and on the carry over of zearalenone, *Archiv fur Tierernahrung*, vol. 56, pp. 245–261. 2002.

D'MELLO, J.P.F.; MACDONALD, A.M.C. Mycotoxins. *Animal Feed Science And Technology*, [S.L.], v. 69, n. 1-3, p. 155-166, Elsevier BV, nov. 1997. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377840197816306>. Acesso em: 20 de agosto de 2021.

D'MELLO, J. P. F. et al. *Fusarium* mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Animal Feed Science and Technology*, v. 80, n. 3, p. 183-205, 1999.

DEGEN, G. H.; NEWMANN, H. G. The major metabolite of aflatoxin B1 in the rat is a glutathione conjugate. *Chemical Biological Interactions*. 22: 239-55. 1978.

DANICKE, S. et al. 'Effects of Fusarium toxin contaminated wheat and of a detoxifying agent on performance of growing bulls, on nutrient digestibility in wethers and on the carry over of zearalenone', *Archiv fur Tierernahrung*, vol. 56, pp. 245–261. 2002.

DIEKMAN, M. A.; GREEN, M. L. Mycotoxins and reproduction in domestic livestock. *Journal of Animal Science*, v. 70, n. 5, p. 1615-1627, 1992.

EFSA (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain). Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of zearalenone in food. *EFSA Journal*, v. 9, n. 6, p. 1-124, 2011.

ERFANI, S. et al. Effect of zearalenone on estrogen receptor, IGF-I and IGF-II genes expression in bovine oviduct epithelial cell culture. *Scientific Journal of Animal Science*, v. 3, n. 5, p. 139-146, 2014.

ETIENNE, M.; DOURMAD, J. Y. Effects of zearalenone or glucosinolates in the diet on reproduction in sows – a review. *Livest Prod Sci* 40, 99–113. 1994.

FINK-GREMMELS, J. Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review. *Food Additives and Contaminants*, v. 25, n. 2, p. 172-180, 2008.

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

FITZPATRICK, D.W. et al. Measurement of the relative binding affinity of zearalenone, a-zearalenol and b-zearalenol for uterine and oviduct estrogen receptors in swine, rats and chickens: An indicator of estrogenic potencies. *Comparative Pharmacology and Toxicology C*. 94: 691-694. 1989.

FLANNIGAN, B. Mycotoxins. In: *Toxic Substances in Crop Plants*. The Royal Society of Chemists, pp.226-257. 1991.

FRASER, C. M. Manual Merck de veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário. 7. ed. São Paulo: Roca, 2119p. 1996.

FRIZZELL, C. et al. Endocrine disrupting effects of zearalenone, alpha-and beta-zearalenol at the level of nuclear receptor binding and steroidogenesis. *Toxicology Letters*, v. 206, n. 2, p. 210-217, 2011.

GALLO, A. et al. 'Review on mycotoxin issues in ruminants: Occurrence in forages, effects of mycotoxin ingestion on health status and animal performance and practical strategies to counteract their negative effects', *Toxins*, vol. 7, pp. 3057-3111. 2015.

GAUMY, J. L. et al. Zearalenone: proprietes and toxicite experimentale. *Revue de Médecine Vétérinaire*, v. 152, n. 3, p. 217-234, 2001.

GERLACH, W.; NIREMBERGH, H. The genus *Fusarium* – Pictorial Atlas. Paul Parey Ed., Berlin. 406 p. 1982.

HUSSEIN, S. H.; BRASEL, J. M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, v. 167, n. 2, p. 101-134, 2001.

HANSEL, W.; CONVEY, E. M. PHYSIOLOGY OF THE ESTROUS CYCLE. *Journal Of Animal Science*. Ithaca, p. 404-424. fev. 1983. Disponível em:

https://academic.oup.com/jas/article-abstract/57/suppl_2/404/4665387?redirectedFrom=PDF. Acesso em: 20 de agosto de 2021.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística da Produção Pecuária. Out. – Dez. 2020. 2021. Disponível em: < https://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_202004caderno.pdf >. Acesso em: 15 de ago. 2021.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Trimestral de Leite – Principais Resultados, 2021. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9209-pesquisa-trimestral-do-leite.html?=&t=destaques>>. Acesso em: 15 de ago. 2021.

JOUANY, J. P. 'Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds', *Animal Feed Science and Technology*, vol. 37, pp. 342-362. 2007.

KALLELA, K.; ETTALA, E. The oestrogenic *Fusarium* toxin (zearalenone) in hay as a cause of early abortions in the cow. *Nordisk Veterinaer Medicin*, v. 36, n. 9, p. 305-309, 1984.

KALLELA, K.; VASENIUS, L. The effects of rumen fluid on the content of zearalenone in animal fodder. *Nordisk Veterinaer Medicin*, v. 34, n. 10, p. 336-339, 1982.

KATZENELLENBOGEN, B. S. et al. Zearalenones: characterization of the estrogenic potencies and receptor interactions of a series of fungal β -resorcylic acid lactones. *Endocrinology*, v. 105, n. 1, p. 33-40, 1979.

KENNEDY, D. G. et al. Zeranone is formed from *Fusarium spp.* toxins in cattle in vivo. *Food Additives and Contaminants*, v. 15, n. 4, p. 393-400, 1998.

KIESSLING, K. H. et al. Metabolism of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, and three trichothecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa, and rumen bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 47, n. 5, p. 1070-1073, 1984.

KLARIC, M. S. et al. Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A, fumonisins, and zearalenone in cereals and feed, determined by competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay and thin-layer chromatography. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 60, 427–434. 2009.

KRIZOVÁ, L. et al. The fate of feedborne mycotoxin zearalenone (ZEA) in dairy cows - a review, *Vyzkum v chovu skotu/ Cattle Research*, vol. 3. 2012.

KRSKA, R.; JOSEPHS, R. The state-of-the-art in the analysis of estrogenic mycotoxins in cereals. *Fresenius' Journal Of Analytical Chemistry*, [S.L.], v. 369, n. 6, p. 469-476, 15 mar. 2001.

KUIPER-GOODMAN, T. et al. Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. *Regulatory Toxicology And Pharmacology*, [S.L.], v. 7, n. 3, p. 253-306, Elsevier BV, set. 1987. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0273230087900377>. Acesso em: 20 de agosto de 2021.

KUMAR, V. et al. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. *Crop Protection*, [S.L.], v. 27, n. 6, p. 891-905, Elsevier BV, jun. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S026121940700333X>. Acesso em: 20 de agosto de 2021.

LAMIC. Laboratório de Análises Micotoxicológicas, Santa Maria, RS, Brasil. Tabela de recomendações para os limites máximos toleráveis de micotoxinas em alimentos de algumas espécies de animais domésticos, 2018. Disponível em: <https://www.lamic.ufsm.br/site/>. Acesso em: 02 de setembro de 2021.

LINDEMANN, M. D. et al. Potential ameliorators of aflatoxicosis in weanling growing swine. *J. Anim. Sci.* 71, 171–178. 1993.

LEE, H. J., RYU, D. Worldwide occurrence of mycotoxins in cereals and cereal-derived food products: public health perspectives of their co-occurrence. *J. Agric. Food Chem.* 65, 7034–7051. 2017.

LIU, J. et al. Aflatoxin B1 is toxic to porcine oocyte maturation. *Mutagenesis* 30, 527–535. 2015.

MALEKINEJAD, H. et al. Species differences in the hepatic biotransformation of zearalenone. *The Veterinary Journal*, v. 172, n. 1, p. 96-102, 2006.

MARCZUK, J. et al. Zearalenone and deoxynivalenol mycotoxicosis in dairy cattle herds. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, v. 15, n. 2, p. 365-372, 2012.

MCNUTT S. H. et al. Vulvovaginitis in swine. *Journal of American Veterinary Medicine Association*. 73: 484. 1928.

MELO, M. M. Micotoxinas e micotoxicoses. *Revista Leite Integral: Revista Técnica da Bovinocultura de Leite*, v. 84, n. 10, p. 16-20, 2016.

MILLER, J. D. Fungi and mycotoxins in grain: implications for stored product research. *Journal of Stored Products Research*, v. 31, n. 1, p. 1–16, 1995.

MINERVINI, F. et al. Toxic effects of the mycotoxin zearalenone and its derivatives on in vitro maturation of bovine oocytes and 17 β -estradiol levels in mural granulosa cell cultures. *Toxicol In Vitro*;15:489–95. 2001.

MINERVINI, F.; DELL'AQUILA, M. E. Zearalenone and reproductive function in farm animals. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 9, n. 12, p. 2570-2584, 2008.

MITTERBAUER, R. et al. A Sensitive and Inexpensive Yeast Bioassay for the Mycotoxin Zearalenone and Other Compounds with Estrogenic Activity. *Applied And Environmental Microbiology*, [S.L.], American Society for Microbiology, v. 69, n. 2, p. 805-811, fev. 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC143629/>. Acesso em: 20 de agosto de 2021.

MONSON, M. S. et al. Modulation of the spleen transcriptome in domestic turkey (*Meleagris gallopavo*) in response to aflatoxin B1 and probiotics. *Immunogenetics* 67, 163–178. 2015.

MORAES, J. C. F. Controle do Estro e da Ovulação em Bovinos e Ovinos. In: GOLSALVES, P. B. D. Biotécnicas aplicas à reprodução animal. São Paulo: Varela, p. 25-56. 2002.

MORAN, C. et al. Puberty in heifers: a review. *Animal Reproduction Science*, [S.L.], v. 18, n. 1-3, p. 167-182, fev. 1989.

MOSTROM, M. S, JACOBSEN, B. J. Ruminant Mycotoxicosis, *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, vol. 27, pp. 315-344. 2011.

NIDERKORN, V. et al. 'Binding of Fusarium mycotoxins by fermentative bacteria in vitro', *Journal of Applied Microbiology*, vol. 101, pp. 849–856. 2006.

NIDHINA, N. et al. 'Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in rumen liquor and its implications', *Food Control*, vol. 71, pp. 26–31. 2017.

OGUNADE, I. M. et al. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and bacterial diversity in corn silage contaminated with the pathogen and treated with chemical or microbial additives, *Journal of Dairy Science*, vol.100, pp. 1780–1794. 2017.

OLIVEIRA, C. A. F, GERMANO, P. M. L. 'Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular', *Revista de Saúde Pública*, vol. 31, no. 4, pp. 417-424. 1997.

OLSEN, M. Metabolism of zearalenone in farm animals. In: Chelkowski, J. *Fusarium: mycotoxins, taxonomy, pathogenicity*. Volume 2 in *Topics in Secondary Metabolism*. Amsterdam: Elsevier, Cap. 9, p. 167-177. 1989.

PARMEGGIANI, E. B. ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA REPRODUÇÃO DE NOVILHAS SUBMETIDAS A DIETAS CONTENDO ZEARALENONA COM E SEM ADITIVO ANTI-MICOTOXINA. 32 f. Tese (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018. 2018.

PESTKA, J. J. et al. 'Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes: unraveling a paradox', *Toxicology Letters*, vol. 153, pp.61-73. 2004.

PFOHL-LESZKOWICZ, A. et al. Genotoxicity of zearalenone, an estrogenic mycotoxin: DNA adduct formation in female mouse tissues. *Carcinogenesis*. 16: 2315-2320. 1995.

PLACINTA, C. M. et al. 'A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins', *Animal Feed Science and Technology*, vol. 78, pp. 21-37. 1999.

RADOSTITS, O. M. et al. *Veterinary Medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. 8. ed. London: Bailliere Tindall, 1763p. 1994.

REISINGER, N. et al. 'Mycotoxin Occurrence in Maize Silage—A Neglected Risk for Bovine Gut Health? ', *Toxins*, vol. 11, pp. 1 – 17. 2019.

RODRIGUES, I.; NAEHRER, K. A three-year survey on the worldwide occurrence of mycotoxins in feedstuffs and feed. *Toxins*, v. 4, n. 9, p. 663-675, 2012.

SAEGER, S. et al. Analysis of zearalenone and α -zearalenol in animal feed using high-performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, v. 487, n. 2, p. 137-143, 2003.

SANTOS, R. R. et al. Mycotoxins and female reproduction: in vitro approaches. *World Mycotoxin Journal*, v. 6, n. 3, p. 245-253, 2013.

SANTURIO, J. M. Micotoxinas e micotoxicoses nos suínos. *Acta Scientiae Veterinarian*, Santa Maria, v. 9, n. 2, p. 1-8, ago. 2007.

SEELING, K. et al. On the effects of *Fusarium* toxin-contaminated wheat and the feed intake level on the metabolism and carry over of zearalenone in dairy cows. *Food Additives and Contaminants*, v. 22, n. 9, p. 847-855, 2005.

SHIER, W. T. et al. Structure-activity relationships for human estrogenic activity in zearalenone mycotoxins. *Toxicon*, v. 39, n. 9, p. 1435-1438, 2001.

SCHOEVERS, E. J. et al. Transgenerational toxicity of Zearalenone in pigs. *Reprod. Toxicol.* 34, 110–119. 2012.

TAKAGI, M. et al. Detection of zearalenone and its metabolites in naturally contaminated follicular fluids by using LC/MS/MS and in vitro effects of zearalenone on oocyte maturation in cattle. *Reproductive Toxicology*, [S.L.], v. 26, n. 2, p. 164-169, Elsevier BV. out. 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18790045/>. Acesso em: 20 de agosto de 2021.

TRUCKSESS, M. W. et al. Aflatoxicol and Aflatoxin-B1 and Aflatoxin-M1 in eggs and tissues of laying hens consuming aflatoxin-contaminated feed. *Poultry Sci.* 62, 2176–2182. 1983.

UPADHAYA, S. D. et al. Comparative study on the aflatoxin B1 degradation ability of rumen fluid from Holstein steers and Korean native goats', *Journal of Veterinary Science*, vol. 10, pp. 29–34.

UPADHAYA, S. D. et al. Mycotoxins and their biotransformation in the rumen: a review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, v. 23, n. 9, p. 1250-1260, 2010.

VEDOVATTO, M. G. et al. Micotoxinas na dieta de bovinos de corte: revisão. *Archivos de Zootecnia*, [S.L.], v. 69, n. 266, p. 234-244, 15 jan. 2020. Disponível em: <https://www.uco.es/ucopress/az/index.php/az/article/view/5119>. Acesso em: 20 de agosto de 2021.

WEAVER, G. A. et al. Effect of zearalenone on dairy cows. *American Journal of Veterinary Research*, v. 47, n. 8, p. 1826-1828, 1986.

WINKLER, J. et al. Residues of zearalenone (ZEN), deoxynivalenol (DON) and their metabolites in plasma of dairy cows fed *Fusarium* contaminated maize and their relationships to performance parameters. *Food and Chemical Toxicology*, v. 65, n. 1, p. 196-204, 2014.

YANG, C. et al. Effects of mycotoxin-contaminated feed on farm animals. *Journal Of Hazardous Materials*, [S.L.], v. 389, p. 122087, Elsevier BV, maio 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030438942030073X>. Acesso em: 20 de agosto de 2021.

ZAIN, M. E. Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal Of Saudi Chemical Society*, [S.L.], v. 15, n. 2, p. 129-144, abr. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319610310000827#b0285>. Acesso em: 20 ago. 2021.

ZINEDINE, A. et al. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology*, v. 45, n. 1, p. 1-18, 2007.

ZHU, L. et al. Zearalenone induces apoptosis and necrosis in porcine granulosa cells via a caspase-3- and caspase-9-dependent mitochondrial signaling pathway. *J. Cell. Physiol.* 227, 1814–1820. 2012.

ZWIERZCHOWSKI W. *et al.* The impact of zearalenone on the level of the selected estrogens in blood serum of sexually immature gilts. *Journal of Veterinary Sciences.* 9: 247– 252, 2006.

ANEXO 1

Relatório de Análises



Cliente : ██████████	Contato : ██████████
Endereço :	
Cidade :	Estado : Fone / FAX : (49) 99131-6852
Solicitante : ██████████	Poli-Nutri - PR - Clientes

Amostra : 6060135 Data Coleta : 13/05/2021
 Item : Silagem de Milho ingrediente Data Envio : 13/05/2021
 Fornecedor : ██████████ Data Início : 18/05/2021
 Controle : Data Liberação : 26/05/2021

Análise	Unidade	Valor	Padrão		Status
			Mínimo	Máximo	
Matéria Seca	%	57,07	30,00		
Proteína Bruta	%	8,51	6,50		
Gordura	%	3,18			
Fibra Detergente Neutro	%	38,07	45,00		*****
Fibra Detergente Ácido	%	19,56	20,00		*****
Fibra Bruta	%	14,81			
Cinzas	%	2,15			
Cálcio	%	0,36			
Fósforo	%	0,12			
Amido	%	42,92	20,00		
Aflatoxina Kit	ppb	11,80			
Zearalenona	ppb	675,80			
pH	pH	4,14			
Fumonisina kit	ppm	9,32			

Comentários

Depto. Técnico

Teor de aflatoxina dentro dos limites toleráveis pelo animal (Afla<20ppb). Teores de fumonensina e zearalenona estão acima dos níveis toleráveis pelo animal (fumo<2ppb; zea<250ppm). Recomenda-se descarte desse alimento.

Larissa P.S. Gregório
 Larissa Pereira Frez Gregório
 CRQ N° 09203507