DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

EFEITOS DAS AFLATOXINAS SOBRE O CRESCIMENTO E DEPOSIÇÃO RESIDUAL NOS ALEVINOS DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen*

PAULO RODINEI SOARES LOPES

PPGZ

SANTA MARIA, RS, BRASIL

2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Centro de Ciências Rurais

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

EFEITOS DAS AFLATOXINAS SOBRE O CRESCIMENTO E DEPOSIÇÃO RESIDUAL NOS ALEVINOS DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen*

Elaborada por
Paulo Rodinei Soares Lopes

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
MESTRE EM ZOOTECNIA

COMISSÃO EXAMINADORA:

_____
Prof. Dr. João Radünz Neto
(Presidente/Orientador)

_____
Prof. Dr. Juvêncio Luis Osório Fernandes Pouey

_____
Profa. Dra. Vânia Lúcia Pimentel Vieira

Santa Maria, 06 de fevereiro de 2004.

EFEITOS DAS AFLATOXINAS SOBRE O CRESCIMENTO E DEPOSIÇÃO RESIDUAL NOS ALEVINOS DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen*

Por

PAULO RODINEI SOARES LOPES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Área de Concentração Produção Animal em Piscicultura, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM,RS) como requisito parcial para obtenção do grau de **MESTRE EM ZOOTECNIA.**

PPGZ

Santa Maria, RS, Brasil

2004

DEDICO

Dedico este trabalho em especial, a uma MULHER, possuidora de uma força extraordinária e um coração exemplar, que com muito carinho, amor, honestidade ensinou a mim e a meus irmãos que estamos aqui para aprender e crescermos como seres humanos. Obrigado minha QUERIDA MÃE, agradeço pela imensa felicidade de ser seu filho.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradeço ao Prof. Dr. João Radünz Neto, pela orientação segura, competência e sabedoria. Por estar sempre disposto a auxiliar a qualquer momento. Pelo apoio incondicional a todos os momentos da minha passagem por Santa Maria, E por demonstrar confiança em mim.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, pela a oportunidade de conviver mais uma vez com pessoas que me ajudaram a enfrentar minha nova jornada.

Agradeço aos colegas e estagiários do setor de piscicultura que me ajudaram nessa jornada, não medindo esforços, sacrificando finais de semana e feriado, o meu muito abrigado: Maria, Mario, Marcus, Ronaldo, Giovani, André, Viviani e Andréia.

Ao colega Rafael Lazzari pela valiosa colaboração na análise estatística e na execução dos experimentos.

Aos estagiários Fabio e Catia pela colaboração exemplar no auxílio da execução dos experimentos.

Ao colega Jorge Filipetto pela ajuda na aquisição de material para os experimentos e apoio constante.

Aos meus colegas de pós-graduação pelo apoio e pelo excelente convívio durante esse período, o qual nos proporcionou uma grande amizade.

Ao colega e amigo Henrique pelo apoio nas horas difíceis. A colega Raquel pela amizade e carinho.

A Olirta que sempre esteve pronta para solucionar qualquer dúvida, com extrema competência.

Aos professores Zé Henrique, Zanella, Bernardo, Lovatto, Felipe, Éster que com sua competência, sabedoria e disposição, contribuíram muito na minha formação, o meu sincero agradecimento.

Também acredito para que toda essa nova etapa da minha vida profissional tenha dito êxito, devido a minha formação base, agradeço aos meus professores da PUC-RS-CampusII-Uruguaiana-RS.

Agradeço a meus amigos José Fernando, Antonio Camargo, Lourenço, Marcus Vinicius pelo apoio constante.

Agradeço a Professora Vânia Pimentel Vieira pela valiosa colaboração nas análises hematológicas.

Ao Prof. Dr. Carlos Augusto Mallmann pela colaboração e auxílio na elaboração do experimento, por ter doado as micotoxinas utilizadas e realização das análises dos experimentos.

Aos meus irmãos que sempre estiveram ao meu lado, depositando confiança e carinho.

Agradeço a Gladis Ferreira Corrêa pelo carinho, compreensão, e o incentivo incondicional, nessa reta final.

A CAPES pelo apoio financeiro para execução dos experimentos.

Ao Frigorífico Silva pela doação da farinha de Carne para elaboração das rações experimentais.

A Piscicultura Palma na pessoa do Senhor Fausto Ferreira Fialho e Nancy Fialho pela doação dos alevinos de jundiá e por acreditar num profissional recém formado, dando a chance do meu primeiro emprego, e com eles aprendi muito, que certamente me auxiliaram na minha trajetória profissional e pessoal.

Ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria pela oportunidade de realizar esse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS..... ix
LISTA DE QUADROS..... x
LISTA DE FIGURAS..... xi
LISTA DE GRÁFICOS..... xii
RESUMO..... xiii
ABSTRACT..... xv
1. **INTRODUÇÃO**..... 1
2. **ESTUDO BIBLIOGRÁFICO**..... 4
2.1 Metabolismo das aflatoxinas..... 4
2.2 Características das aflatoxinas..... 6
2.3 Fatores que favorecem o crescimento de fungos e sua produção de metabólitos de aflatoxinas..... 6
2.4 Experimentação animal..... 8
2.5 Efeito da aflatoxina em outros animais..... 15
2.6 Características hematológicas..... 18
3. **MATERIAL E METODOLOGIA**..... 20
3.1 Local e Período..... 20
3.2 Instalações..... 20
3.3 Animais..... 21
3.4 Unidades experimentais..... 22
3.5 Dietas experimentais..... 22
3.6 Tratamentos e dosagens 24
3.7 Parâmetros limnológicos da água..... 25
3.8 Avaliação do desempenho e crescimento..... 25
3.9 Análise da carcaça..... 26
3.10 Análises de parâmetros hematológicos..... 27
3.11 Parâmetros produtivos avaliados..... 28
3.12 Fator de condição (FC)..... 28

3.13 Quantificação de Aflatoxina no fígado e na carcaça..... 28
3.14 Delineamento experimental..... 29
3.15 Análise estatística..... 29
4. **RESULTADOS E DISCUSSÃO**..... 30
4.1 Parâmetros limnológicos da água dos experimentos..... 30
4.1.1 Temperatura..... 31
4.2 Desempenho produtivo dos alevinos no experimento “A”..... 31
4.2.1 Desempenho até os 22 dias..... 31
4.2.1 Desempenho até os 45 dias..... 34
4.3 Desempenho produtivo dos alevinos no experimento “B”..... 40
4.2.1 Desempenho até os 21 dias..... 40
4.2.1 Desempenho até os 35 dias..... 42
5. **CONCLUSÕES**..... 48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS..... 49

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Formulação da ração experimental..... 23

TABELA 2 - Desempenho dos alevinos de jundiá alimentados com diferentes níveis de AFs (ppb) aos 22 dias no experimento “A”..... 32

TABELA 3 - Desempenho dos alevinos de jundiá alimentados com diferentes níveis de AFs (ppb) aos 45 dias no experimento “A”..... 35

TABELA 4 - Valores de hematócrito e hemoglobina em jundiá (Rhamdia quelen) alimentados com rações contendo diferentes níveis de inclusão de aflatoxinas..... 39

TABELA 5 - Resultados obtidos aos 21 dias no experimento “B” com alevinos de jundiá alimentados com rações contendo diferentes níveis de aflatoxinas (ppb)..... 41

TABELA 6 - Resultados obtidos aos 35 dias no experimento “B” com alevinos de jundiá alimentados com rações contendo diferentes níveis de aflatoxinas (ppb)..... 43

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Análise bromatológica da ração experimental..... 24
QUADRO 2 - Composição percentual do Pool de Afs nos experimentos de acordo com resultados de análises feitas no LAMIC-UFSM..... 24
QUADRO 3 - Níveis de inclusões de toxinas nos tratamentos de ambos experimentos..... 25
QUADRO 4 - Parâmetros limnológicos da água aferidos no experimento “A”..... 30
QUADRO 5 - Parâmetros limnológicos da água aferidos no experimento “B”..... 31
QUADRO 6 - Resultados de deposição de resíduo de AFB1 no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá alimentados por 45 dias..... 38
QUADRO 7 - Resultados de deposição de resíduo de AFB1 no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá alimentados por 35 dias no experimento “B”..... 44

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Metabolismo da aflatoxina B1 no fígado..... 5

FIGURA 2 - Sistema de recirculação d'água utilizados nos experimentos (vista A) – A - Unidade Experimental..... 21

FIGURA 3 - Sistema de recirculação d'água utilizados nos experimentos (vista B) – A – Reservatório, B – Biofiltro.... 21

FIGURA 4 - Ictiômetro utilizado para medição dos alevinos em ambos os experimentos..... 26

FIGURA 5 - Carcaça de alevino de jundiá sem vísceras e brânquias.. 27

FIGURA 6 - Coleta de sangue dos alevinos do experimento "A"..... 27

FIGURA 7 - Alevino de jundiá infestado de parasita (Ichthyophthirius multifilis) no experimento "B"..... 44

FIGURA 8 - Fígado de alevinos alimentado com níveis elevados de AFs..... 45

FIGURA 9 - Fígado de alevinos alimentados com níveis elevados de AFs..... 45

FIGURA 10 - Fígado de alevinos alimentados com dieta sem inclusão de AFs..... 46

LISTA DE GRAFICOS

GRAFICO 1 - Relação entre o PI e o PF dos alevinos aos 22 dias no experimento “A”..... 33
GRAFICO 2 - Relação entre o CT e o CP aos 22 dias no experimento “A”..... 33
GRAFICO 3 - GMD dos alevinos de jundiá aos 22 dias experimentais..... 34
GRAFICO 4 - Peso final dos alevinos alimentados com diferentes níveis de AFs aos 45 dias experimentais..... 35

RESUMO

EFEITOS DAS AFLATOXINAS SOBRE O CRESCIMENTO E DEPOSIÇÃO RESIDUAL NOS ALEVINOS DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen*

Autor: Paulo Rodinei Soares Lopes
Orientador: Prof. Dr. João Radünz Neto

O presente trabalho foi desenvolvido no Setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria, realizando-se dois experimentos. O experimento “A” conduzido no período de janeiro a fevereiro de 2003, com duração de 45 dias, e o segundo experimento de março a abril de 2003, com duração de 35 dias experimentais. Foram utilizados 960 alevinos de jundiá, para os experimentos “A” e “B” com peso inicial de 3,05g e 4,96g, respectivamente. Os alevinos foram distribuídos em 16 unidades experimentais de um sistema com recirculação de água com capacidade individual de 280 litros, utilizando 30 alevinos por unidade em cada experimento. Nos experimentos “A” e “B” os tratamentos constituíram-se de dietas isoprotéicas (35,13% de proteína bruta) e isocalóricas (4799 kcal/kg de energia bruta), preparadas no setor de piscicultura utilizando formulação descrita por COLDEBELLA & RADÜNZ NETO (2000). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições. Os dados foram submetidos a análise de variância, teste F e as médias comparadas pelo teste Tukey, ambos em nível de 5% de significância. Os resultados obtidos no experimento “A” indicam que a aflatoxina possui efeito negativo sobre o crescimento de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) demonstrando diferença significativa

(P<0,05) para peso final, comprimento total, comprimento padrão e ganho médio diário. Foram observados através do equipamento de Colorometria Liquida de Alta Eficiência (CLAE) os resíduos de AFB1 na carcaça dos peixes, com os níveis testados de 90 e 204ppb/kg de AFs, não sendo detectado resíduo nos fígados. Para a realização do segundo experimento utilizou-se como referência o nível de inclusão mais elevado do experimento anterior, não sendo demonstrado para todos os parâmetros analisados nenhum efeito significativo (P>0,05). Após análises (CLAE) foram detectados resíduos de AFB1 no fígado e na carcaça dos alevinos com os diferentes níveis de inclusão. Também observou-se o efeito imunossupressor da AFB1 sobre a sanidade dos alevinos.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Autor: Paulo Rodinei Soares Lopes
Orientador: Prof. Dr. João Radünz Neto
Título: **Efeitos das aflatoxinas sobre o crescimento e deposição residual nos alevinos de jundiá *Rhamdia quelen***
Dissertação de Mestrado em Zootecnia
Santa Maria, fevereiro de 2004.

ABSTRACT

EFFECT OF AFLATOXIN ON THE GROWTH AND DEPOSITION IN FINGERLINGS OF JUNDIA (*Rhamdia quelen*)

Author: Paulo Rodinei Soares Lopes
Advisor: Prof. Dr. João Radünz Neto

The present work was developed in the Section of Fish Farming of the Department of Zootecnia of Santa Maria Federal University, taking place two experiments. The experiment "A" accomplished in the period of January to February of 2003, with duration of 45 days, and the second I try from March to April of 2003, with duration of 35 experimental days. Were used 960 jundiá fingerlings, for the experiments "A" and "B" with initial weight of 3,05g and 4,96g, respectively. The fingerlings were distributed in 16 experimental units of a system with re-circulation of water with individual capacity of 280 liters, using 30 fingerlings for unit in each experiment. The experiments "A" and "B" the treatments were constituted of diets with 35,13% of crude protein and 4799 kcal/kg of crude energy, prepared in the fish farming section using formulation described by COLDEBELLA & RADÜNZ NETO (2000). The results obtained in the experiment "A" that the aflatoxina possesses negative effect on the growth of jundiá fingerlings (*Rhamdia quelen*) demonstrating significant difference (P <0,05) for final weight, total length, standard length and daily medium gain. They were observed through the equipment of Hight Performance Liquid Chromatography (HPLC) the residues of AFB1 in the carcass of the fish, with the tested levels of 90 and 204ppb/kg of AFs, not being detected residue in the livers. For the accomplishment of the second experiment it was used as reference the higher inclusion level of the previous

experiment, not being demonstrated for all the analyzed parameters any significant effect (P>0,05). After analyses (HLPC) residues of AFB1 were detected in the liver and in the carcass of the fingerlings with the different inclusion levels. The effect imunossupressor of AFB1 was also observed about the sanity of the fingerlings. The treatments using a completely randomized design with four treatments and four repetitions. The data were submitted the variance analysis, test “F” and the averages compared by the test Tukey, both in level of 5% of significance.

SANTA MARIA FEDERAL UNIVERSITY
POS-GRADUATE COURSE OF ZOOTECNIA
Author: Paulo Rodinei Soares Lopes
Advisor: Prof. Dr. João Radünz Neto
Título: **Effect of aflatoxin on the growth and deposition in fingerlings of jundia (*Rhamdia quelen*)**
Thesis Master Degree in Zootecnia
Santa Maria, february of 2004.

1. INTRODUÇÃO

A piscicultura brasileira evoluiu muito na última década e o seu crescimento é decorrente, sobretudo, dos avanços nutricionais, genéticos e de manejo nas diferentes fases de vida dos peixes. Em um sistema que busca aprimoramento nas formulações e composições de uma ração devidamente equilibrada em energia e proteína, qualquer fator que afete negativamente a produção, determina enormes prejuízos. Desta forma, deve-se ressaltar a importância dos contaminantes naturais de rações, como as micotoxinas, as quais podem acarretar perdas consideráveis na criação de peixes.

Algumas micotoxinas podem apresentar várias manifestações toxicológicas e efeitos sobre o sistema imunológico, enquanto outras são consideradas teratogênicas, mutagênicas e/ou carcinogênicas em certas espécies de animais, estando também associadas a várias doenças crônicas e agudas em animais domésticos, tais como, aves, suínos e peixes (LINDNER, 1995; MILLER & TRENHOLM, 1997, HALVER, 1988).

As micotoxinas são agentes químicos resultantes da atividade metabólica secundária de fungos em crescimento. Dentre as principais micotoxinas encontradas em produtos alimentícios e grãos têm-se: aflatoxina, tricotecenos, zearalenona e ocratoxinas. As aflatoxinas (AFs) constituem um grupo de toxinas produzidas pelo fungo *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* e são identificadas como B1, B2, G1 e G2. Sendo que as letras B e G devem-se ao fato destas apresentarem fluorescência azulada e esverdeada, respectivamente, quando observadas sob luz ultravioleta. Conforme MALLMANN *et al.* (1994), existem atualmente mais de 400 micotoxinas que causam severos prejuízos, principalmente no setor avícola e suinícola. Sendo que no grupo das aflatoxinas o componente mais potente é a aflatoxina B1.

Os fungos toxigênicos podem contaminar os alimentos nas diferentes fases de produção e beneficiamento, desde o cultivo até o

transporte e armazenagem. As micotoxinas apresentam de modo geral, grande estabilidade química. O que permite a sua persistência no alimento mesmo após a remoção dos fungos, pelos processos usuais de industrialização e embalagem.

As enfermidades causadas pelas micotoxinas são denominadas micotoxicoses e são caracterizadas por síndromes difusas, porém, com predomínio de lesões em determinados órgãos, como fígado, rins, tecido epitelial e Sistema Nervoso Central, dependendo da toxina (ROSMANINHO *et al.* 2001)

De acordo com SILVA (1997) quanto aos efeitos, a aflatoxina é extremamente tóxica e cancerígena. Destaca que os animais jovens apresentam redução de consumo de ração, redução de crescimento bem como perda de peso.

O cultivo do jundiá (*Rhamdia quelen*) vem crescendo progressivamente no sul do Brasil. Esta é uma espécie nativa de grande representatividade e interesse econômico, aparentemente bem adaptada a diferentes ambientes e amplamente utilizada em viveiros de piscicultura. Além disso, possui boa aceitação no mercado consumidor (GOMES *et al.,* 2000).

Devido à carência de estudos na área de piscicultura na região sul e no Brasil e o fato de que os ingredientes utilizados nas rações podem apresentar níveis elevados de toxinas, torna-se necessária a avaliação do seu efeito em peixes. De acordo com o LAMIC (2004), os grãos analisados no ano de 2003 apresentaram uma media de 17ppb de aflatoxina, com uma positividade amostral de 50% das análises.

Várias pesquisas vêm sendo realizadas na tentativa de avaliar os efeitos da aflatoxina em peixes exóticos, principalmente com tilápia e truta arco-íris.

Entretanto, visando à utilização de uma espécie nativa e adaptada às condições climáticas da região sul do estado do Rio Grande do Sul. Considerando a escassez de artigos sobre crescimento e

deposição de resíduos em peixes da ictiofauna brasileira, o presente estudo foi realizado com o objetivo de testar diferentes níveis de concentrações de aflatoxina na dieta de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) contaminada artificialmente.

2. ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

2.1 Metabolismo das aflatoxinas

Segundo OGA (1996) as aflatoxinas são primeiramente biotransformadas pelo sistema oxidase mista no fígado. A detoxificação das aflatoxinas ocorre por hidroxilação, permitindo ser conjugada pelo ácido glicorônico.

Conforme a ORGANISACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (1983) a absorção ocorre no trato digestivo, atravessando a membrana celular por meio de transporte químico e a passagem ocorre devido à alta lipossolubilidade das aflatoxinas.

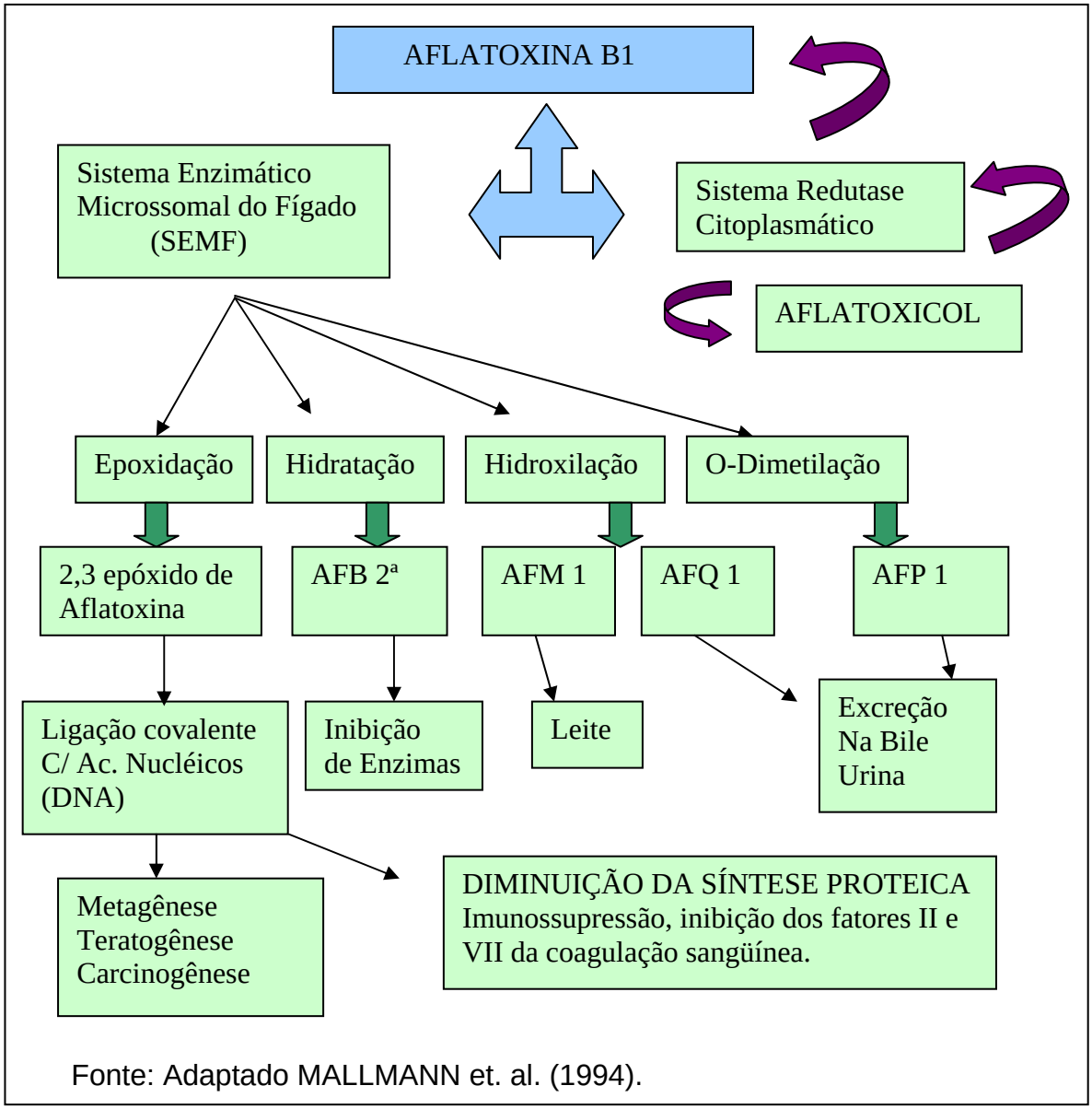
Ao ser absorvida a AFB1 é imediatamente ligada de forma reversível à albumina e também em menor escala a outras proteínas. Formas de AFs ligadas e não ligadas a proteínas séricas distribuem-se pelos tecidos, especialmente o fígado (WYATT, 1991).

Segundo LINDNER (1995) as toxinas atacam o fígado e os rins, produzindo hepatomas e tumores renais. De acordo com o mesmo autor o principal local de ataque da aflatoxina são os ácidos nucléicos, DNA e RNA. Os metabólitos de aflatoxina B1 se unem ao ácido desoxirribonucléico (DNA), principalmente no nitrogênio 7 da guanina, dificultando a transcrição e diminuindo a síntese do ácido ribonucléico (RNA). Sendo então a ação cancerígena da aflatoxina explicada pela obstrução da síntese do DNA, diminuindo a síntese de proteínas e outros processos metabólicos como a síntese de ácidos graxos (ORGANISACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, 1983).

Existe atualmente consenso entre grande número de especialistas, de que a AFB1 é na realidade um pró-cancerígeno, o qual requer ativação metabólica para manifestar seus efeitos tóxicos (BIEHL & BUCK, 1987).

A forma ativada da AFB1 é o composto identificado como 8,9-óxido de AFB1 ou AFB1-epóxido (Figura 1), anteriormente denominado AFB1–2,3-epóxido, originado através da epoxidação da dupla ligação do éter

vinílico, presente na estrutura bi-furanóide da molécula de AFB1 (BIEHL & BUCK, 1987).



Fonte: Adaptado MALLMANN et. al. (1994).

FIGURA 1 - Metabolismo da aflatoxina B1 no fígado.

Este composto, altamente eletrofílico, é capaz de reagir rapidamente, através de ligações covalentes, com sítios nucleofílicos de macromoléculas, como do ácido desoxirribonucléico (DNA), ácido ribonucléico (RNA) e proteínas. Estas ligações determinam à formação de

aductos, os quais representam à lesão bioquímica primária produzida pelas aflatoxinas (OLIVEIRA & GERMANO, 1997).

Segundo SILVA (1997), a intoxicação é chamada de aflatoxicose. Na qual se trata da falha do fígado devido à destruição das células parenquimatosas, o que pode ser acompanhado de hemorragias e alterações das funções nervosas em combinação com espamos.

2.2 Características das aflatoxinas

Segundo GIRONA (1994) a AFB1 apresenta peso molecular (PM) de 312g e ponto de fusão (PF) de 268-269ºC; a AFB2 apresenta um PM de 314g e PF de 287-289ºC; a AFG1 possui PM de 328g e PF de 244-256ºC; para a AFG2 o PM é de 330g e PF de 237-240ºC.

De acordo com a ORGANISACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (1983), as aflatoxinas exibem uma intensa fluorescência quando expostas a luz ultravioleta de ondas longas a 365nm; as aflatoxinas B1 e B2 apresentam fluorescência de cor azul enquanto as aflatoxinas G1 e G2 apresentam fluorescência esverdeada. Elas são solúveis em clorofórmio e benzeno e são estáveis por muitos anos quando mantidas em lugares escuros e frios. Podem ser destruídas por aquecimento em autoclave e na presença de amoníaco com hipoclorito.

2.3 Fatores que favorecem o crescimento de fungos e sua produção de metabólitos de aflatoxinas

De acordo com SMITH & HENDERSON (1991), a estrutura anatômica fúngica associa-se a produção de micotoxinas, adaptando-se a substratos complexos sendo susceptível a fatores extrínsecos como temperatura, atividade de água e pH.

HILL *et al.* (1985) publicaram um estudo sobre o efeito da temperatura e a atividade de água (a_w) no crescimento e produção de aflatoxinas, citando como valores ótimos para crescimento 36ºC e a_W de

0,95, enquanto que a temperatura ótima para a produção de aflatoxinas foi de 33ºC com a_w de 0,99.

De acordo com BOBBIO & BOBBIO (1984) o valor máximo da atividade da água é de 1, na água pura. Nos alimentos ricos em água corresponde a valores acima de 0,90, podendo então formar soluções diluídas com componentes do alimento onde os microorganismos podem desenvolver-se. Alimentos nessas condições sofrem facilmente contaminação microbiológica. Segundo os mesmos autores, os efeitos da variação da água não só estão ligados ao crescimento de microorganismos ou a deteriorização química; além dos efeitos texturais e modificações químicas o aumento da atividade da água acima dos limites críticos pode ter como conseqüência o rápido crescimento de microorganismos o que, por sua vez, obriga ao uso de preservativos químicos para evitar a deteriorização do alimento.

Conforme relatado por SABINO *et al.* (1988), o Brasil, por apresentar um clima tropical, propicia condições ideais para a proliferação dos fungos responsáveis pela produção de aflatoxinas. Além disso, sendo um país em desenvolvimento as condições inadequadas de plantio, colheita, secagem, transporte e armazenamento de produtos agrícolas favorecem o crescimento fúngico.

Também JARVIS (1971) relatou que a produção de aflatoxinas em um substrato natural, como o milho, é dependente de fatores físicos como: temperatura, aeração, luz, danos mecânicos, tempo de armazenamento e regiões quentes na massa de alimentos; e fatores químicos como: composição do substrato, pH, uso de agentes fungistáticos, concentração de O_2 e CO_2 do ambiente e fatores biológicos como: linhagem toxigênica, quantidade de esporos viáveis, competição microbiana, degradação microbiana e presença de insetos.

2.4 Experimentação animal

Segundo MARAS *et al.* (1967), para a truta arco-íris a concentração letal com intoxicação com fungos *Fusarium tricinctum* está próxima de 6 mg/kg de peso corporal.

Entretanto, POSTON *et al.* (1983) alimentando truta arco-íris com alimento contaminado com *Fusarium tricinctum* encontraram dosagem de 15 mg/kg na dieta, a qual reduziu o consumo alimentar, o crescimento e a hemoglobina sangüínea.

Trabalhando com truta arco-íris, WOODWARD *et al.* (1983) observaram uma alta sensibilidade para vomitoxin produzido pelo *Fusarium* ocorrendo redução da ingestão alimentar com a concentração de vomitoxin de 1 para 13μg/g na dieta, sendo que a concentração de vomitoxin de 20μg/g reduziu o consumo alimentar.

Segundo HALVER (1988) peixes alimentados com dietas com níveis elevados de toxinas com 80ppb de aflatoxina ou mais, na dieta, sofrem uma síndrome tóxica aguda, necrose hepática severa, edema branquial e generalização de hemorragia nas células de truta arco-íris.

Ao estudar a inclusão de *Fusarium moniliforme* na dieta de bagre de canal *Ictalurus punctatus*, LUMLERTDACHA *et al.* (1995) testaram as doses de 0,3 (controle), 20, 80, 320 e 720mg de fumonisina B_1 na dieta num período de 10 e 14 semanas. A maior mortalidade (70%) ocorreu com inclusão de 320 e/ou 720mg de FB1/kg na dieta, em relação ao tratamento controle e no tratamento com 20mg de FB1/kg na dieta onde ocorreu uma sobrevivência de 100%, mas menor ganho de peso em relação à dieta controle. As lesões no fígado apareceram com níveis acima de 80mg de FB1/kg na dieta.

CARLSON *et al.* (2001) estudaram o comportamento de truta arco-íris em laboratório, alimentadas com uma dieta contendo 0, 3,2, 23 e 104ppm de *Fusarium moniliforme* (FB1) num total de 34 semanas. Após 4 semanas de alimentação com a dieta com inclusões de FB1 os peixes não cresceram e apresentavam baixa mortalidade; não foram observados

tumores em qualquer tecido. Ao final do experimento de 34 semanas, observaram aparecimento de lesões no fígado ao incluir aflatoxina B1 na dieta dos peixes.

O efeito da aflatoxina em peixes foi avaliado por JANTRAROTAI & LOVELL (1991) quando encontraram lesões no fígado e no rim do bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) alimentados com uma dieta com concentração de 10mg/kg de aflatoxina B_1 por 10 semanas, o que ocasionou a redução da taxa de crescimento e hematócrito, mas não ocorrendo mortalidade.

Alimentos contaminados com o fungo *Aspergillus flavus* são as maiores causas de hepatomas no fígado de truta arco-íris segundo WOLF & JACKSON (1963).

O bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) apresenta relativa resistência à toxicidade aguda de AFB1, não sendo encontrado valores para DL_{50}. Esse resultado indica a variabilidade na sensibilidade dos peixes à toxicidade aguda de aflatoxina B1. Concentrações menores, para algumas espécies como o bagre de canal e o salmão exposto a doses moderadas podem causar mortalidade bem como a sua susceptibilidade a toxidez relativa, conforme HALVER (1988).

TUAN *et al.* (2002) investigaram a resposta a diferentes níveis de concentração de aflatoxina B_1 em condições de laboratório usando alevinos de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (com peso inicial de 2,7g) testando dietas semipurificadas com a inclusão de 0 (controle), 0,25; 2,5; 10 e 100mg de AFB1/kg por 8 semanas. Observaram que no tratamento com 100mg de AFB1/kg na dieta ocorreu a maior mortalidade e reduzido ganho de peso e com o nível de 0,25mg AFB1/kg não obtiveram diferença significativa para ganho de peso e mortalidade em relação ao tratamento controle.

ROBERTS & SOMMERVILLE (1982) citado por CONROY (2000), descreveram que tilápias alimentadas com altos níveis de aflatoxinas B1 e B2 apresentaram baixo crescimento, síndrome hemorrágica caracterizada por hemorragias severas dentro da musculatura branquial, na abertura opercular e ampla hemorragias internas.

Ao avaliar duas dietas comerciais diferentes para tilápia vermelha, num período de 135 dias, CONROY (2000) observou que o fígado apresentou áreas de necrose de coagulação aguda, particularmente, nas zonas entre o fígado e o pâncreas; no rim necrose epitelial aguda formando cilindros protéicos abundantes, e o baço, estômago e intestino apresentaram também alterações diversas. Ainda o mesmo autor considera que tilápias devem consumir níveis inferiores a 5ppb de aflatoxinas no alimento, por considerar que níveis superiores a este valor são prejudiciais aos peixes, causando baixo desempenho de crescimento.

Ao analisar o efeito da aflatoxina B1 na carpa indiana (*Labeo rohita*) SAHOO & MUKHERJEE (2001), utilizaram diferentes níveis de AFB1 purificada (0; 1,25; 5,0mg/kg de peso corporal) injetados intraperitonealmente (i.p) em alevinos (30±5g), observados por um período de 90 dias, demonstrado que os alevinos de *Labeo rohita* tem resistência a AFB1 em dose igual ou mais baixa do que 1,25mg de toxina por kg de peso corporal por tratamento de toxina, e que doses superiores são prejudiciais aos peixes.

PLAKAS *et al.* (1991) estudaram o efeito da administração oral da solução de aflatoxina com 250μg/kg sobre a composição corporal de bagre de canal *(Ictalurus punctatus*), com peso entre 300 a 500g e observaram que após o período de 2 horas de administração da dosagem aos peixes, os mesmos apresentaram os seguintes resíduos: para o músculo de 19±3μg e para o fígado de 246±87μg. Observaram também após 4 horas e encontraram resíduos de 40±7μg e 421±59μg para o músculo e fígado, respectivamente.

DIAB *et al.* (2000) determinaram os efeitos da aflatoxina B1 no desempenho reprodutivo da tilápia (*Oreochromis niloticus* e *Oreochromis aureus*) utilizando 600 peixes, com peso médio inicial de 30g (sendo 150 fêmeas e 150 machos por cada espécie) divididos em cinco tratamentos iguais. Os peixes foram alimentados com ração peletizada contendo 0, 1 e 3mg/kg de aflatoxina B1 para o tratamento controle, tratamento 1 e tratamento 2, respectivamente. No tratamento 3 e no tratamento 4 foram alimentados com a mesma ração contendo 1 e 3mg/l de aflatoxina B1 e mais 1% de carvão ativado, respectivamente. As amostras foram feitas a cada duas semanas durante um período de 12 semanas experimentais. O sangue foi retirado do pedúnculo caudal, heparinizado e centrifugado. Também foi coletado o fígado para estimar o índice gonadossomático (IGS). Para a estimativas do volume espermático e níveis de hormônios foi utilizado o modelo “Radioimmunoassay”(RIA) para testosterona e estradiol-17b. Onde os autores concluíram que as fêmeas de *Oreochromis niloticus* e *O. aureus* do tratamento 1 e tratamento 2 (1 e 3mg/kg de aflatoxina B1) diminuíram significativamente ($P<0,01$) o índice gonadossomático (IGS). E que a inclusão de carvão ativado a 1% de inclusão na dieta das espécies citadas reduziu significativamente ($P<0,01$) a toxidez da aflatoxina no tratamento 3, mas não para o tratamento 4. A aflatoxina B1 diminui significativamente ($P<0,01$) o número de ovos por grama do ovário e a concentração de estradiol-17b em ambas as espécies em nível de 3mg/l

ARANAS *et al.* (2002) estudaram o efeito da aflatoxina B1 sobre o crescimento de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), usando 120 diplóides e 120 triplóides de ambos os sexos com um peso médio de 8g. Os peixes foram separados por tratamentos: diplóides e triplóides alimentados com ração comercial sem aflatoxina B1 e diplóides e triplóides alimentados com ração comercial com 80 ppb de aflatoxina B1. A análise comparativa do crescimento indicou diferença significativa ($P<0,01$) entre trutas diplóides do grupo controle em relação ao grupo

tratado com aflatoxina B1 na dieta, demonstrando que a inclusão de 80ppb de aflatoxina B1 afeta significativamente o crescimento de trutas diplóides; em trutas triplóides não foram observadas diferenças entre o grupo controle e o tratado com aflatoxina B1.

NGETHE *et al.* (1992), analisaram a deposição de aflatoxina nos tecidos de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) com peso médio de 100±15g mantidos separados em aquários com capacidade de 260L (32‰ de salinidade e temperatura de 8ºC), com água oriunda do mar. Os peixes foram separados em dois grupos: um recebeu dose intravenosa com única aplicação de 15,6μg/kg de peso vivo correspondendo a 1mCi/ml e o outro grupo com dose oral por aplicação via inserção do tubo estomacal (15,6μg/kg de peso vivo a 1mCi/kg). Os peixes foram sacrificados com uma "overdose" de benzocaína e foram analisados após 5 minutos, 1h, 6h, 1d, 2d, 4d e 8 dias após a administração da dosagem intravenosa, onde apresentou resíduos no fígado e no músculo através de análise via radioatividade: de 9.076 a 3.204 dpm/mg e a partir de 301 até 2dpm/mg respectivamente. O grupo de peixes com administração oral apresentou resíduos no fígado e músculo através da análise de radioatividade, após 5 horas, 1d, 2d, 4d e 8 dias: 20.839, 11.077, 20.389, 6.347 e 1572dpm/mg e 106, 51, 54, 1 e 2dpm/mg respectivamente.

Em outro trabalho NGETHE *et al.* (1993) comparam duas espécies diferentes truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*) com peso médio de 200 ± 20g, colocados em tanque de vidro com capacidade de 500 litros com circulação de água de 1l/mim a 20ºC, alimentados com uma dieta comercial para salmão, contendo 30% de proteína bruta e 25% de extrato etéreo, adaptados por 3 semanas. As tilápias foram submetidas à ingestão oral via tubo estomacal com uma dosagem final de 0,17μci/μl (1 mCi/kg de peso vivo) a mesma dosagem utilizada para truta arco-íris no estudo anterior (NGETHE *et al.*, 1992), sendo dessa forma foi possível à comparação entre espécies. Observaram diferenças metabólicas das macromoléculas hepáticas de

aflatoxina B1 e seus prováveis efeitos nas diferentes espécies do metabolismo. O presente trabalho indicou que o fígado de tilápia pode ser exposto a uma concentração de AFB1 mais baixa do que o fígado de truta em relação à mesma dose, e que após 5 horas, 1d, 2d e 3 dias apresentaram resíduos no fígado de: 4019dpm/mg, 1267dpm/mg, nada constou, e 652dpm/mg respectivamente através da análise por radioatividade.

O efeito da inclusão de aflatoxina na ração de alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) foi avaliada por CHÁVEZ-SÁNCHEZ *et al.* (1994) usando rações peletizadas com granulometria de 0,84mm, mantidos em sacos plásticos a uma temperatura de 4ºC. Os níveis de aflatoxina testados nas rações foram: ração controle (0), 0,94, 1,88, 3,75, 7,52, 15 e 30mg/kgAFB1. As inclusões de AFB1 demonstraram que durante os primeiros 25 dias com a administração da dieta experimental ocorreu a diminuição do consumo alimentar, sendo mais marcante durante os 8 dias nas dieta contendo 7,52, 15 e 30mgAFB1/kg na ração. Não foram observadas mortalidades até aos 25 dias para as dietas experimentais. O ganho de peso do tratamento controle representa 20 vezes mais do que o peso inicial ($P<0,01$). Os autores concluem que a ingestão de diferentes níveis de aflatoxina causa redução na taxa de crescimento, causando mortalidade e uma redução no consumo alimentar, também causando tumores no fígado de alevinos de tilápia.

NÚÑEZ *et al.* (1989) testaram diferentes níveis de AFB1 em embriões de truta com 21 dias onde foram expostos a uma solução de água estática contendo 0,005, 0,025 e 0,125ppm de AFB1 por 30 minutos. Após 2 meses dois grupos de alevinos de cada dose de AFB1 foram alimentados com uma dieta contendo 20 ppm E2 (17β estradiol), apresentaram redução significativa ($P<0,05$) para peso em ambos os tratamentos, mas aumentou significativamente o peso do fígado ($P<0,001$) nos grupos expostos a 0,025 e 0,125ppm de AFB1.

Ao analisarem dez tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) adultas alimentadas com uma ração contendo 6,3ppb/kg de AFB1, SOUZA *et al.* (2000) verificaram a presença de líquido na cavidade abdominal, estômago e intestinos sem conteúdo alimentar e alterações no fígado tais como; palidez amarelada, aspecto tigrado e consistência friável; microscopicamente observaram degeneração gordurosa e necrose de hepatócitos.

Alevinos de tilápia-do-Nilo (O*reochromis niloticus*) com peso médio inicial de 8,4±0,1g, estocados em aquários com capacidade de 95L, alimentados com uma dieta isoprotréica com 40% de proteína bruta e isoenergética com 15.1kj.g^{-1}, não demonstraram anormalidade morfológica e não ocorrendo mortalidade ao final de 12 semanas experimentais. As tilápias alimentadas com dietas sem aflatoxina obtiveram maior ganho de peso ($P< 0,05$), em relação ao tratamento com inclusões de 75μg/kg e 100μg/kg de AF na dieta, não demonstrando nenhuma diferença entre os tratamentos contaminados (LIM *et al.*, 2001).

TROXEL *et al.* (1997) trabalharam com adultos de zebrafish (*Danio rerio*) (machos e fêmeas) onde foram testadas as seguintes dosagens: 0, 50, 100, 200 e 400μg/kg do peso vivo de AFB1. Concluíram que adultos de “zebrafish” podem metabolizar rapidamente e excretar o potente hepatocarcinogêncio AFB1 após injeção intraperitoneal. Mas *in vivo* e *in vitro* estudos verificam que esta espécie tem capacidade de bioatividade da AFB1 nas reações intermediárias. Demonstrando uma sensibilidade à toxicidade da AFB1 na ação sobre o DNA, sendo contraditório no que se refere à habilidade aparente de metabolizar em administrações diárias de AFB1.

Conforme MANNING *et al.* (2003) observaram, para juvenil de catfish alimentados com uma dieta contendo 1,0 a 8,0mg de Ocratoxinas (OA)/kg, obtiveram respostas positivas à toxicidade provocada. Sendo estas, significativas para a redução de ganho de peso para os peixes alimentados com 1,0mg AO/kg até 8,0mg/AO/kg na dieta até a oitava

semana. Também foi observada a redução na taxa de hematócrito. Severas lesões foram encontradas no fígado e nos rins dos peixes quando alimentados com dietas contendo 4,0 a 8,0 mg AO/kg e lesões mais leves com níveis mais baixos (1,0 e 2,0mg OA).

Segundo TUAN *et al.* (2003) ao observarem a ação do *Fusarium moniliforme* e seus metabólitos (Moniliforme (MON) e Fumonisina (FB1)) em alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentados três vezes ao dia com uma dieta peletizada num período de 8 semanas, os alevinos alimentados com dietas contaminadas com 70 e 150mg/MON/kg apresentaram diminuição no ganho de peso e redução da taxa de hematócrito em relação ao tratamento controle ($P<0,05$). Não sendo observados nesse período anormalidades no fígado, rim e estômago. Para o metabólito de fumonisina B1, foi observado um decréscimo no ganho de peso para o nível de 70 e 150mg/FB1/kg na dieta ($P<0,05$), a taxa de hematócrito apresentou diferença significativa ($P<0,05$) ao nível de 150mg/FB1/kg em relação ao tratamento sem inclusão de toxinas.

SAHOO & MUKHERJEE (2003) trabalharam com alevinos de Rohu (*Labeo rhoita*) pesando de 30 a 55g, durante 60 dias experimentais, alimentados com uma dieta comercial e suplementados com vitamina C, na dosagem de 500mg/kg. Injetaram, intraperitonealmente, uma dose de 1,25mg AFB1/kg de peso vivo. A exposição dos peixes a aflatoxina B1 associada com a vitamina C nesse período não demonstrou efeito significativo ($P<0,05$) para crescimento e ganho de peso.

2.5 Efeito da aflatoxina em outros animais

Segundo relatos de WOGAN (1992) a dose efetiva de AFB1 ingerida para a indução de tumores hepáticos variou amplamente entre as espécies, de modo similar ao que ocorre em relação à toxicidade aguda em peixes, as aves também são extremamente sensíveis e a dose efetiva para a indução de hepatomas situa-se entre 10-30μg/kg de AFB1 na

dieta. Contudo, em outras espécies, a sensibilidade é particularmente variável entre os roedores, sendo que os ratos respondem nos níveis de 15-1.000μg/kg de AFB1 na dieta, enquanto que certas cepas de camundongos não apresentam nenhuma resposta em doses até 150.000μg/kg.

Ao estudarem a inclusão da aflatoxina na dieta de coelhos e a ação da bentonita sódica natural como adsorvente DE TOLEDO *et al.* (1998), observaram que doses reduzidas de aflatoxina (60ppb) são capazes de causar uma diminuição no desempenho de coelhos com idade a partir dos 35 dias de vida e que a utilização de bentonita sódica natural como adsorvente neutraliza os efeitos negativos da aflatoxina B1.

As aflatoxinas também exercem efeitos sobre o sistema imune. Entre os efeitos da imunossupressão, demonstrados em aves domésticas e outros animais de experimentação, destacam-se aplasia do timo e da bursa de Fabricius, redução do número e da atividade de células T, diminuição da resposta de anticorpos, redução dos componentes humorais e imunoglobulinas (PESTKA & BONDY, 1990) Todas estas alterações contribuem para a ocorrência de infecções concomitantes, sobretudo por agentes virais e bacterianos, associados à exposição dos animais às rações contaminadas com aflatoxinas (ROSMANINHO *et al.*, 2001).

De acordo com GHOSH *et al.* (1990) 300μg/kg de AFB1 na ração de frangos de corte produzem imunossupressão sem efeitos clínicos aparentes, podendo acarretar no plantel morbidades e ou mortalidades devido a infecções secundárias. Os sinais observados nos animais intoxicados incluíram diminuição de linfócitos T, albuminas e globulinas.

A administração de aflatoxina B1 para frangos diminui significativamente o ganho de peso com dietas contendo 3 a 6mg/kg de AFB1 injetados intraperitonealmente, segundo ADAV & GOVINDWAR (1997).

Estudando a espécie de camarão tigre preto (*Penaeus monodon* FABRICIUS) BOONYARATPALIN *et al.* (2001), observaram que após oito semanas experimentais, os camarões alimentados com concentração alta de aflatoxina (2500ppb/kg) demonstraram um crescimento lento, apresentando uma coloração avermelhada sobre a cabeça e a carapaça, em relação aos demais tratamentos. Os mesmos autores também relatam à diminuição do peso corporal, ganho de peso e sobrevivência, onde apresentam diferença significativa aos peixes alimentados com concentrações moderadas de aflatoxina. Altas concentrações de aflatoxina no alimento, tem correlação altamente negativa para peso médio, ganho de peso e sobrevivência (r= -0,99; -0,96; -0,95 P<0,05) respectivamente. No período de até 4 semanas, observaram resíduos de aflatoxina no músculo: 4,1; 13,0; 14,2; 10,6; 8,4 e 7,4ppb, respectivamente nos tratamentos: 0 (controle), 50, 100, 500, 1000 e 2500ppb/kg na dieta.

Os efeitos das aflatoxinas sobre as respostas histológicas estão diretamente correlacionadas com as concentrações de aflatoxina e o período de alimentação. Tanto quanto nível baixo ou alto de aflatoxina nos alimentos observou-se modificações em todas as análises, afetando diretamente o fígado, com atrofia dos túbulos hepatopancreáticos seguidos de necrose e infiltração de tecido fibroso (BOONYARATPALIN *et al.*, 2001).

Conforme OSTROWSKI-MEISSNER *et al.* (1995), a avaliação do crescimento e sobrevivência de juvenis de camarão (*Penaeus vannamei*) foram testados diferentes níveis de aflatoxina B1 na ração onde no primeiro experimento utilizaram 0, 50, 250, 1500 e 3000ppb de AFB1 diluído em solução de clorofórmio, durante um período de 3 semanas de alimentação; no segundo experimento outros níveis foram utilizados: 15, 20, 60, 300, 400 e 900 ppb de AFB1, com duração de oito semanas. Os resultados para o primeiro experimento foram: sobrevivência: 86,7%, 80,7%, 73%, 80% e 0%, respectivamente e para

crescimento foi de: 0,30g, 0,24g, 0,19g, 0,07g, –0,07g, respectivamente. Dosagens de AFB1 mais moderadas foram administradas no segundo experimento, quando verificaram que para sobrevivência não houve efeito significativo dos níveis de AFB1 (0-900 ppb P> 0,05), para crescimento o peso final variou significativamente entre os níveis de AFB1 (P<0,001) e que o peso médio final no tratamento com 400ppb foi significativamente menor do que aqueles com concentrações mais baixas, mas foi significativamente maior do que aqueles obtidos com 900ppb (P<0,01). Também não houve significância entre peso final obtido para os níveis de 0 a 300 ppb de AFB1 testados na ração experimental.

2.6 Características hematológicas

A padronização dos parâmetros hematológicos de peixes auxilia na determinação de influências de dietas, de enfermidades e de outras situações de estresse ambiental (SILVEIRA & RIGORES, 1989).

Utilizando juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) obtidos no setor de piscicultura da UFSM-RS, com peso médio de 44,0g e tamanho médio de 16,0cm, alimentados com ração comercial contendo 34% de proteína bruta, TAVARES-DIAS *et al.* (2002) observaram os seguintes valores médios para hemoglobina e hematócrito: 6,73±1,15g/dL e 26,50±5,30%, respectivamente.

TAVARES-DIAS *et al.* (2000a) estudaram as variáveis hematológicas e o fator de condição do piauçu (*Leporinus macrocephalus*) criado em cativeiro. E onde encontraram os seguintes valores médios e desvio padrão: 1,00±0,03; 9,4±2,6g/dL; 34,1±6,8%, respectivamente para fator de condição, hemoglobina e hematócrito.

Investigando as características hematológicas de tilápia (*Oreochromis niloticus*), revertidas sexualmente e alimentadas com ração comercial em viveiros escavados TAVARES-DIAS *et al.* (2000b), observaram os seguintes resultados para as variáveis biológicas: fator de

condição relativo (1,00±0,18), hemoglobina (9,3±3,4g/dL) e hematócrito (28,6±7,3%).

Estudando outra espécie (*Tilápia rendalli*), alimentada duas vezes ao dia com ração contendo 22% de proteína bruta e mantida em viveiros utilizada para pesca esportiva. Observaram os seguintes resultados para hemoglobina e hematócrito: 7,3±4,0g/dL e 29,2±6,9%, respectivamente. Os autores, concluem que o hematócrito é um bom indicador de efeitos para os diversos fatores ambientais a que os peixes estão sujeitos, pois é o índice do eritrograma com menor coeficiente de variação. A concentração de hemoglobina varia inter e intra-espécie, sendo que tais variações podem ser atribuídas a fatores exógenos como a temperatura, concentrações de oxigênio dissolvido na água, ciclo sazonal, estresse e a fatores endógenos como o sexo, estádio de maturação gonadal, estado nutricional e doenças (TAVARES-DIAS & MORAES, 2003).

De acordo com TAVARES-DIAS *et al.*, (1999a) os parâmetros sanguíneos do matrinxã (*Bryncon cephalus*) criado em tanques medindo 200m^2, com profundidade mínima de 1,0m e máxima de 1,5m, paredes revestidas em alvenaria e fundo de terra e alimentados com ração comercial contendo 32% de proteína bruta foram os seguintes: 10,9±1,2g/dL; 39,0±8,7%, respectivamente para hemoglobina e hematócrito.

TAVARES-DIAS *et al.* (1999b) ao observarem a influência do parasitismo sobre a hemoglobina (HB), taxa de hematócrito (HT) e fator de condição (FC) em peixes adultos de piauçu (*Leporinus macrocephalus*) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) infectados por monogenea e por outros parasitas, constataram as seguintes médias e desvio padrão dos parâmetros hematológicos e fator de condição: Piauçu: HB 7,4±1,2g/dL; HT 36,3±11.1%; FC 1,0±0,1 e para Pacu: HB 9,1±2,2g/dL; HT 30,0±5,8%; FC 0,99±0,08.

3. MATERIAL E METODOLOGIA

3.1 Local e Período

O trabalho foi realizado no setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria, onde foram conduzidos dois experimentos. O experimento “A” foi realizado no período de janeiro a fevereiro de 2003, com duração de 45 dias e o experimento “B” no período de março a abril de 2003, com duração de 35 dias.

3.2 Instalações

Foram utilizadas 16 caixas de polipropileno com capacidade de 320 litros cada, abastecidos com 280 litros de água em sistema de criação com recirculação de água. As caixas foram dispostas em 3 séries de 6 unidades cada, dotadas de um sistema de entrada e saída de água individual (Figura 2). O abastecimento foi realizado por torneiras de ½ polegada e a saída da água através de um cano de 32 mm, que vai do centro até o fundo da caixa, retirando água do fundo e mantendo o nível. A recirculação da água nas unidades experimentais foi mantida com um volume de 2,4 litros por minuto, durante as 24 horas do dia. No sistema ainda estão acoplados dois biofiltros compostos em seu interior por pedra britada, onde recebem a água de drenagem que é novamente bombeada a um reservatório elevado, com capacidade de 2000 litros, que permite o abastecimento das unidades por gravidade (Figura 3). A temperatura da água foi controlada através de um aquecedor provido de resistência elétrica e termostato. O sistema tem capacidade de 8000 litros de água, abastecida através de um reservatório externo com água proveniente de um poço artesiano.

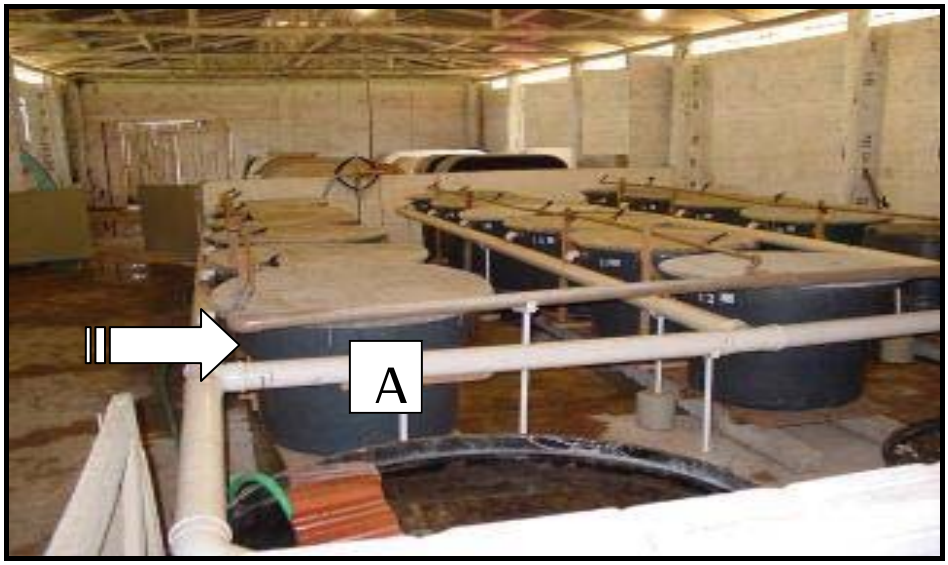


FIGURA 2 - Sistema de recirculação d'água utilizado nos experimentos (vista A). A – Unidade experimental.

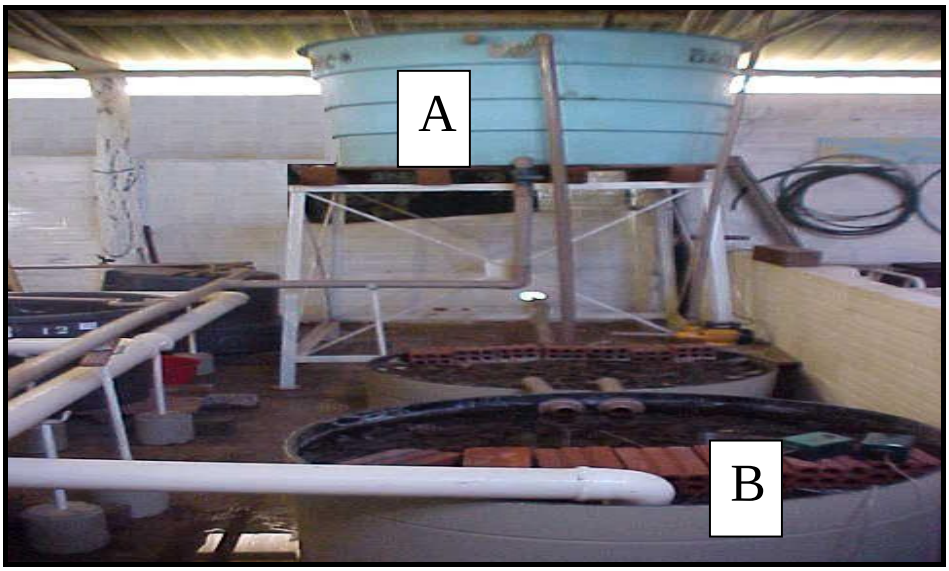


FIGURA 3 - Sistema de recirculação d'água utilizado nos experimentos (vista B). A – Reservatório; B – Biofiltro.

3.3 Animais

No experimento "A", os alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) foram obtidos através de reprodução induzida a partir de matrizes do próprio setor e criados em tanque de terra, alimentados com ração comercial

contendo 45% de proteína bruta, além do plâncton originado pela adubação. Os peixes selecionados foram estocados nas unidades experimentais por um período de adaptação de 1 semana onde, no primeiro dia ocorreu um jejum forçado e a partir do segundo dia receberam a mesma alimentação até a seleção para formar as unidades experimentais.

No experimento “B”, os alevinos de Jundiá (*Rhamdia quelen*) foram fornecidos pela Estação de Piscicultura da Palma de São Gabriel-RS, sendo o manejo semelhante ao experimento “A”.

3.4 Unidades experimentais

Foram utilizados em cada experimento 480 alevinos de Jundiá (*Rhamdia quelen*), onde foram colocados 30 alevinos por unidade experimental com um peso médio no experimento “A“ de 3,21g e de 4,73g no experimento “B” (um alevino para 9,33 litros de água), perfazendo um total de 960 alevinos nos dois experimentos.

A alimentação foi ministrada 2 vezes ao dia (9 e 17 horas), na proporção de 5% da biomassa total. O ajuste da taxa de arraçoamento foi feito no 22º dia, utilizando uma amostragem de 10% dos peixes por unidade experimental com reposição dos mesmos.

Diariamente foi efetuada a limpeza das unidades experimentais, através de sifão, retirando-se os resíduos existentes nas mesmas.

No final do período experimental os peixes foram submetidos à biometria, pesagem (após jejum de 24h) visando obter o peso total dos peixes de cada unidade experimental para calcular a média do ganho de peso, comprimento padrão médio e comprimento total médio.

3.5 Dietas experimentais

A ração foi preparada no Setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da UFSM. A matéria prima que compôs as dietas foram moídas, peneiradas, pesadas e misturadas, objetivando sua completa

homogeneização. A inclusão da aflatoxina nas diferentes dietas experimentais foi através de uma pré-mistura na fração do milho e gradualmente incorporado aos demais ingredientes da ração, tentando dessa forma, obter uma melhor homogeneização da toxina com os ingredientes.

Após o preparo, foi adicionada água (±30% do volume preparado) e foram peletizadas em máquina de moer carne e levadas à estufa de ar forçado por 48 horas a 50ºC e novamente moídas até obter-se grânulos de 1 mm.

A dieta dos peixes foi baseada na fórmula descrita na tabela 1, na qual foram incluídas as dosagens de aflatoxina de acordo com os tratamentos. As dietas experimentais foram isoprotéicas e isocalóricas, contendo 35,13% proteína bruta e 4799 kcal/Kg de energia bruta (calculada). A formulação da ração experimental foi descrita por COLDEBELLA & RADÜNZ NETO (2002).

TABELA 1- Formulação da ração experimental

Ingredientes	**%**
Farinha de carne e ossos	35,00
Farelo de soja	24,01
Milho triturado (grãos)	19,21
Farelo de trigo	7,00
Óleo de canola	13,03
Sal comum iodado[1]	1,00
Premix vitamínico e mineral[2]	0,75
Total	100

1 - Segundo LUCHINI (1990);
2 - Composição do premix vitamínico e mineral (por kg): Vit .A: 140.000. UI; Vit. D3: 10.000 UI; Vit. E: 2.000mg; Vit. K3: 100 mg; Ác. Pantotênico: 600 mg; Vit. B12: 400 mcg; Vit. B1 200 mg; Vit. B2 4000 mg; Vit. B6 160 mg; Vit. C 5.000 mg Ác. Fólico: 50 mg; Ac. Nicotínico 2.200 mg; Cálcio 215 g; cobalto 30 mg; cobre 300 mg; Colina 17,5 g; Ferro: 450 mg; Flúor (Max.) 700 mg; Fósforo 70 g; Iodo: 20 mg; Lisina 5,8 g; Magnésio 4,3 g; Manganês: 550 mg; Selênio: 45 mg; Treonina 2.900 mg; Zinco 800 mg.

A ração utilizada em ambos experimentos foi submetida à análise bromatológica, obtendo-se os seguintes resultados (QUADRO 1):

QUADRO 1 – Análise bromatológica da ração experimental

Parâmetro analisado	
Umidade (%)	7,20
Proteína Bruta (%)	35,13
Matéria Mineral (%)	11,84
Extrato Etéreo (%)	17,63
Cálcio (%)	3,20
Fósforo (%)	1,87
Rancidez	Negativa
Acidez	4,71
Digestibilidade Protéica (%)	87,61

3.6 Tratamentos e Dosagens

As AFs utilizadas nos experimentos foram produzidas no Laboratório de Análises Micotoxicológicas - LAMIC-UFSM, apresentando o fracionamento nas composições de acordo com o quadro 2.

QUADRO 2 – Composição percentual do *Pool* de AFs nos experimentos de acordo com resultados de análises feitas no LAMIC-UFSM

	AFLATOXINA			
	B1 (%)	B2 (%)	G1 (%)	G2 (%)
Experimento “A”	90	2	7	1
Experimento “B”	85	2	12	1

Os tratamentos testados foram diferentes níveis de aflatoxina produzidas no LAMIC-UFSM, onde foi incluída numa dieta base, para os dois experimentos. Essas toxinas foram incluídas na ração nas dosagens descritas no quadro 3.

QUADRO 3 - Níveis de inclusão de toxinas nos tratamentos de ambos experimentos

Experimento “A”	Experimento “B”
T1- ração	T1- ração
T2- ração + 41ppb AF/kg	T2- ração + 350ppb AF/kg
T3- ração + 90ppb AF/kg	T3- ração + 757ppb AF/kg
T4- ração + 204ppb AF/kg	T4- ração + 1177ppb AF/kg

O tratamento controle foi uma dieta sem inclusão das aflatoxinas, analisada previamente para verificar a presença de toxinas nos ingredientes, onde após muitas tentativas encontrou-se ingrediente livre de toxinas. A inclusão das aflatoxinas foi feita nas dosagens indicadas nos tratamentos acima. A aflatoxina foi incluída na preparação da ração no início de cada experimento. As rações foram acondicionadas em sacos plásticos e conservadas a uma temperatura de -18ºC, evitando-se dessa forma, o aparecimento e a proliferação de outros fungos. A aflatoxina nos experimentos foi analisada no LAMIC através do método analítico usando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

3.7 Parâmetros limnológicos da água

Em ambos os experimentos, procedeu-se análise dos parâmetros físico-químicos da água do sistema de criação, utilizando-se um “kit” laboratorial (Alfa Tecnoquímica) onde se determinou pH, amônia, nitrito e alcalinidade, cujas análises foram realizadas no período da manhã entre 9 e 10 horas. A temperatura e o oxigênio dissolvido foram medidos pela manhã, às 9h, utilizando um oxímetro digital.

3.8 Avaliação do desempenho e crescimento

Para peso médio inicial utilizou-se uma amostra de 10 alevinos. Para o ganho médio de peso nos períodos de 22 e 21 dias, para experimento “A” e “B” respectivamente, foram avaliados 10 peixes por

unidade experimental e no peso médio final foram utilizados todos os peixes dos tratamentos. As aferições de peso durante os experimentos foram realizadas individualmente.

O comprimento total e padrão inicial foram tomados a partir de uma amostra de 10 alevinos. Para as medidas finais, foi utilizado o total dos peixes de cada repetição utilizando um ictiômetro milimetrado (Figura 4). Para realizar as pesagens utilizou-se uma balança de precisão digital com duas casas decimais.

Figura 4 - Ictiômetro utilizado para medição dos alevinos em ambos os experimentos.

3.9 Análise da carcaça

Para a avaliação do rendimento de carcaça foi retirada uma amostra de 10 alevinos de cada repetição no final dos experimentos. Para esta determinação utilizou-se faca de frigorífico, bisturi e tesoura, sendo que o corte para a retirada das vísceras foi feito em toda linha ventral, retirando-se as vísceras e brânquias (Figura 5). O rendimento da carcaça foi determinado através do cálculo do peso total dos peixes menos o peso das vísceras, expresso em percentagem, conforme descrito por MELO (2000).

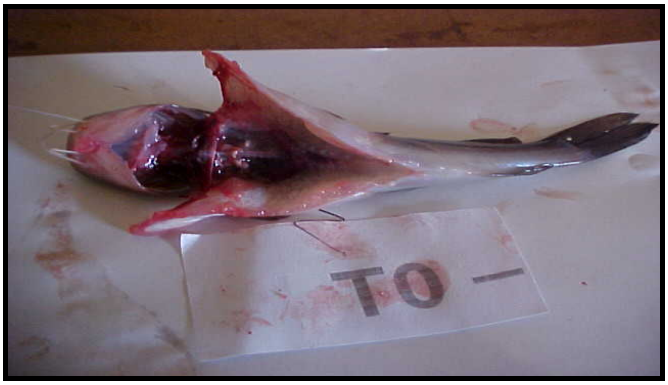


Figura 5 - Carcaça de alevino de jundiá sem vísceras e brânquias.

3.10 Análises de parâmetros hematológicos

Decorrido o período experimental (45 dias de alimentação) 10 peixes foram capturados aleatoriamente de cada tratamento, puncionados na veia caudal para coleta de sangue total para avaliar os parâmetros hematológicos. O hematócrito foi determinado pela técnica de centrifugação de microhematócrito. A concentração de hemoglobina foi determinada espectrofotometricamente pelo método de Drabkin. O plasma foi obtido por centrifugação a 1000 x g por 5 minutos. Os peixes foram sacrificados através da punção cerebral (Figura 6).

FIGURA 6 - Coleta de sangue dos alevinos do experimento “A”.

3.11 Parâmetros produtivos avaliados

As variáveis analisadas durante os experimentos foram: Peso final (PF), calculado através da diferença entre os pesos médios das parcelas inicial e final; ganho médio diário (GMD), obtido através da diferença entre o peso médio inicial, peso médio final e número total de indivíduos de cada tratamento, divididos pelo número de dias dos experimentos; comprimento total (CT), medida entre a parte anterior da cabeça até o final da nadadeira caudal; comprimento padrão (CP), compreendendo a medida entre a região anterior da cabeça até o início da nadadeira caudal; sobrevivência (SOB), obtida pela diferença entre as contagens final e inicial nos tratamentos.

3.12 Fator de condição (FC)

Outro parâmetro avaliado foi o fator de condição, que expressa a relação entre comprimento e peso do animal (JOBLING *et al.*, 1994), obtido através da fórmula:

$$FC = \frac{100 \times p}{L^3}$$

Onde: **p** = peso expresso em gramas e **L** = comprimento total (cm).

STEFFENS (1987) expressa esse parâmetro como fator de corpulência corporal ou fator de estado, sendo relativamente constante nas diversas espécies. As oscilações dependem do grau de repleção do canal digestivo, desenvolvimento sexual e estado de nutrição do peixe.

3.13 Quantificação de aflatoxina no fígado e carcaça

Após o término dos experimentos todos os alevinos que restaram foram capturados e eviscerados. Os fígados foram etiquetados e

armazenados a uma temperatura de -2ºC. Para a análise das carcaças, principalmente foram retiradas as vísceras e brânquias, sendo levadas à estufa com ar forçado por um período de 48 horas a 65ºC. Após esse período, foram passadas num moedor, colocadas em sacos plásticos e encaminhadas ao LAMIC, para análise de aflatoxina B1 através do método analítico usando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Esse método químico apresenta as seguintes fases básicas: extração, eliminação de lipídeos, clarificação e quantificação, segundo a ORGANISACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (1983).

3.14 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 4 repetições para os dois experimentos.

3.15 Análise estatística

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância, teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ambos ao nível de 5% de significância. As análises foram realizadas utilizando-se o Pacote Estatístico SAS (SAS, 1997).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Parâmetros limnológicos da água dos experimentos

Durante todo o período experimental foram aferidos diariamente os parâmetros físico-químicos da água, para os dois experimentos desenvolvidos, os quais se encontram no Quadro 4 e 5.

Destaca-se que as condições ambientais foram uniformes entre os tratamentos de cada experimento, tendo em vista a utilização do sistema de recirculação fechado, permitindo que a mesma água seja circulada em todas as unidades experimentais. Devido a essas observações pode-se afirmar que as variáveis aferidas nos resultados não influenciaram no experimento “A” e que possivelmente pode ter influenciado no experimento “B”, devido à falta de energia elétrica, a qual ocasionou a queda de temperatura durante a noite no 26º dia do experimento, permanecendo sem aquecimento e circulação de água durante 22 horas.

QUADRO 4 - Parâmetros limnológicos da água aferidos no experimento “A”

Parâmetros	Mínimo	Máximo	Média
Temperatura da água (ºC)	25	27,8	26,6
pH	7,0	7,5	7,25
Oxigênio dissolvido (mg/L)	4,02	6,10	5,42
Amônia total (mg/L)	>0,2	0,4	0,2
Nitrito (mg/L)	>0,05	0,06	0,05
Alcalinidade (mg/L) $CaCo_3$	30	80	49

QUADRO 5 - Parâmetros limnológicos da água aferidos no experimento “B”

Parâmetros	Mínimo	Máximo	Média
Temperatura da água (ºC)	16,2	28,3	23,6
pH	7,0	8,5	7,32
Oxigênio dissolvido (mg/L)	4,26	7,40	5,27
Amônia total (mg/L)	0,2	0,6	0,28
Nitrito (mg/L)	0,04	0,08	0,05
Alcalinidade (mg/L) $CaCo_3$	34	90	51,77

4.1.1 Temperatura

A temperatura da água no experimento “A”, oscilou entre 25ºC e 27,8ºC, ficando a média em 26,6ºC. No experimento “B”, observou-se uma menor estabilidade da temperatura, decorrente de alguns dias com temperaturas ambiente em declínio no início do experimento e a falta de energia elétrica, oscilando entre 16,2ºC e 28,3ºC, ficando a média em 23,6ºC, apenas 3ºC inferior à do experimento “A”.

Os valores dos experimentos são semelhantes aos obtidos por MELO (2000) e COLDEBELLA (2000) em trabalho realizado com alevinos de jundiá (*R. quelen*) nas mesmas instalações experimentais. Conforme LUCHINI (1990), a faixa ótima para melhor crescimento do jundiá (*Rhamdia sapo*), situa-se entre 24 e 30ºC.

4.2 Desempenho produtivo dos alevinos no experimento “A”

4.2.1 Desempenho até os 22 dias

Os resultados de desempenho produtivo médio, com a inclusão de diferentes níveis de aflatoxina, dos alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) até os 22 dias, estão descritos na Tabela 2.

Observa-se que os resultados da análise estatística indicam que houve diferença significativa entre os tratamentos, exceto no fator de condição, ganho médio diário e sobrevivência.

TABELA 2 - Desempenho dos alevinos de jundiá alimentados com diferentes níveis de AFs (ppb) os 22 dias no experimento "A"

Variáveis	T1 (0)	T2 (41)	T3 (90)	T4 (204)	CV	P
PI (g)	3,05[a]	3,20[a]	3,23[a]	3,38 [a]	9,48	0,54
PF (g)	7,36[a]	6,90[a]	7,29[a]	5,61[b]	13,11	0,009
CP (cm)	8,25[a]	7,92[a]	7,92[a]	7,36[b]	4,75	0,005
CT (cm)	9,82[a]	9,55[a]	9,38[a]	8,78[b]	4,31	0,002
FC	0,76[a]	0,79[a]	0,88[a]	0,83[a]	7,94	0,180
GMD (g)	0,20[a]	0,16[a]	0,18[a]	0,10[a]	29,33	0,299
SOB (%)	100[a]	100[a]	100[a]	100[a]	-	-

Médias seguidas por letras diferentes, na linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey

PI=Peso Inicial, PF=Peso Final, CP=Comprimento Padrão, CT=Comprimento Total, FC= Fator de Condição, GMD=Ganho Médio Diário e SOB=Sobrevivência

As inclusões de aflatoxina na dieta de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) demonstraram diferença significativa ($P<0,05$) aos 22 dias entre o tratamento controle T1 e o tratamento T4, para peso final (PF) (Gráfico 1), e para comprimento total (CT), comprimento padrão (CP) (Gráfico 2).

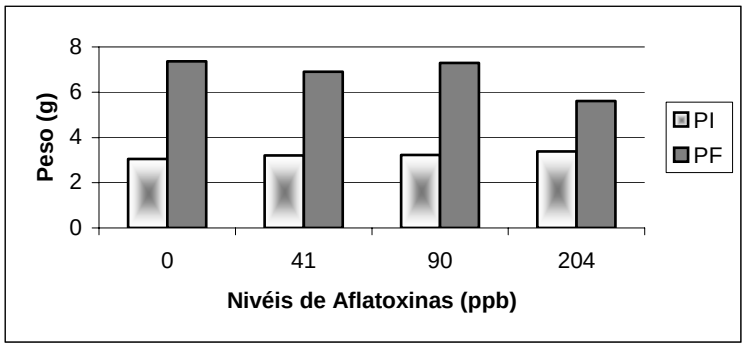


GRÁFICO 1 - Relação entre o PI e o PF dos alevinos aos 22 dias no experimento “A”

Verifica-se no tratamento T4 que o CT de 8,78cm e CP de 7,36cm com inclusão de 204ppb de aflatoxina na ração, apresentam um menor desempenho em relação ao tratamento T1, evidenciando o efeito da aflatoxina sobre o crescimento dos alevinos de jundiá.

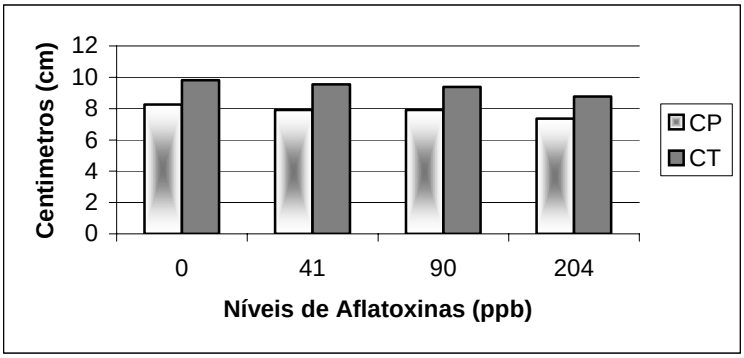


GRÁFICO 2 - Relação entre o CT e o CP dos alevinos aos 22 dias no experimento “A”.

Para o parâmetro FC e sobrevivência não houve diferença significativa (P>0,05) entre os tratamentos, demonstrando que os níveis de aflatoxina nas dietas não interferiram, e que para essa mesma variável

MELO (2000) e COLDEBELLA (2000) não obtiveram diferença significativa em alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas isoprotéicas e isoenergética sem a presença de aflatoxina.

Verificou-se que não houve diferença significativa (P>0,05) para GMD entre o tratamento controle e os demais tratamentos com níveis de inclusões de aflatoxinas, devido a uma grande variação de peso entre os tratamentos até os 22 dias experimentais (Gráfico 3).

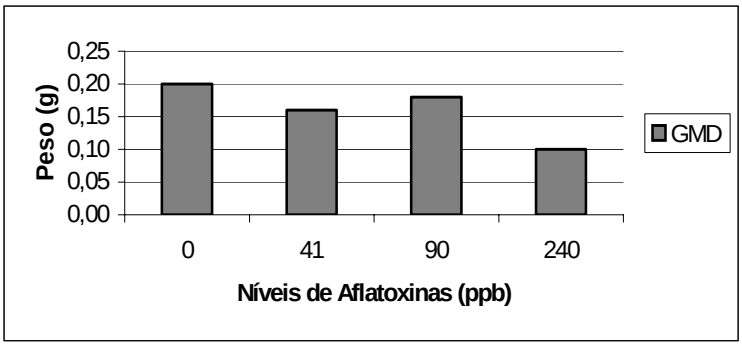


GRÁFICO 3 – GMD dos alevinos de jundiá aos 22 dias experimentais.

4.2.2 Desempenho até os 45 dias

Os resultados de desempenho produtivo médio, com a inclusão de diferentes níveis de aflatoxina, até os 45 dias, estão descritos na Tabela 3. Observa-se que os resultados das análises estatísticas indicaram que houve diferença significativa entre o tratamento T4 e os demais, exceto, para o rendimento de carcaça, fator de condição e sobrevivência.

TABELA 3 - Desempenho dos alevinos de jundiá alimentados com diferentes níveis de AFs (ppb) os 45 dias no experimento "A"

Variáveis	T1 (0)	T2 (41)	T3 (90)	**T4** (204)	CV	P
PF (g)	13,23 [a]	13,01 [a]	12,21 [a]	8,35 [b]	9,08	0,0001
CP (cm)	9,46 [a]	9,41 [a]	9,34 [a]	8,38 [b]	2,71	0,0001
CT (cm)	11,40 [a]	11,43 [a]	11,15 [a]	10,12 [b]	2,60	0,0001
RC (%)	79,14 [a]	79,47 [a]	79,92 [a]	82,16 [a]	6,14	0,5216
FC	0,89 [a]	0,87 [a]	0,88 [a]	0,80 [a]	7,05	0,6523
GMD (g)	0,23 [a]	0,22 [a]	0,20 [a]	0,11 [b]	12,83	0,0001
SOB (%)	100 [a]	100 [a]	100 [a]	100 [a]	-	-

Médias seguidas por letras diferentes, na linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey

PF=Peso Final, CP=Comprimento Padrão, CT=Comprimento Total, FC= Fator de Condição, RC=Rendimento de carcaça, GMD=Ganho Médio Diário e SOB=Sobrevivência

Verifica-se que houve uma redução de peso altamente significativa (P<0,0001) no tratamento T4 com 204ppb/AB em relação aos demais (Gráfico 4).

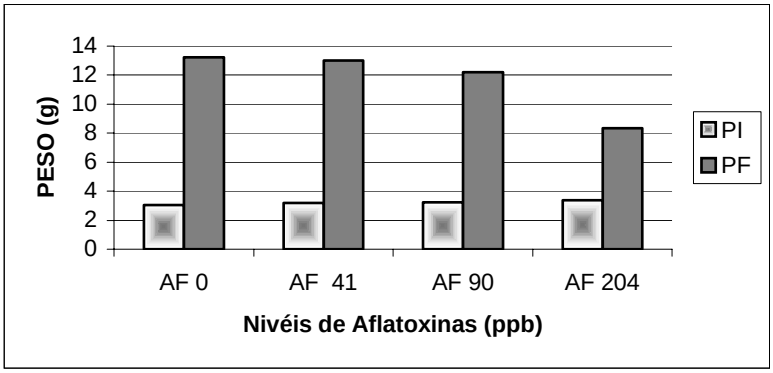


GRÁFICO 4 - Peso final dos alevinos alimentados com diferentes níveis de AFs, aos 45 dias experimentais.

A inclusão de aflatoxina na dieta de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) demonstrou diferença altamente significativa (P<0,001)

aos 45 dias entre o tratamento controle T1 e o tratamento T4, para peso final (PF), comprimento total (CT), comprimento padrão (CP). Até o nível de inclusão de 90ppb não houve diferença do tratamento T1 em relação ao demais tratamentos.

Para os parâmetros de FC e SOB não houve diferença significativa entre os tratamentos (P>0,05).

A redução observada de crescimento dos alevinos de jundiá alimentados com 204ppb de aflatoxina na ração nesse experimento, esta de acordo com ROBERTS & SOMMERVILLE (1982) citado por CONROY (2000), quando descreveram que tilápias alimentadas com níveis acima de 100ppb de aflatoxinas B1 e B2 apresentaram crescimento reduzido.

Resultados semelhantes foram encontrados por TUAN *et al.* (2002) com tilápia onde observaram que no tratamento com 100mg de AFB1/kg na dieta ocorreu a maior mortalidade e reduzido ganho de peso, e com o nível de 0,25mg AFB1/kg não houve diferença significativa para ganho de peso e mortalidade em relação ao tratamento controle.

Segundo ARANAS *et al.* (2002) ao estudarem o efeito da aflatoxina B1 sobre o crescimento de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), observaram que a análise comparativa do crescimento indicou diferença significativa (P<0,01) entre trutas diplóides do grupo controle em relação ao grupo tratado com aflatoxina B1 na dieta, demonstrando que a inclusão de 80ppb de aflatoxina B1 afeta significativamente o crescimento de trutas diplóide.

De acordo com CHÁVEZ-SÁNCHEZ *et al.* (1994) que analisaram a inclusão de aflatoxina na ração de alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) as inclusões de AFB1 demonstraram que o ganho de peso do tratamento controle (sem inclusão de AF) representa 20 vezes mais do que o peso inicial (P<0,01) em relação ao tratamento com 15ppb AF/kg na dieta.

Entretanto CONROY (2000) também observou que as tilápias devem consumir níveis inferiores de 5ppb de aflatoxinas no alimento, por

considerar que níveis superiores a este valor são prejudiciais aos peixes, causando baixo desempenho de crescimento.

O efeito da aflatoxina em peixes foi avaliado por JANTRAROTAI & LOVELL (1991) observado que *Ictalurus punctatus* alimentados com uma dieta com concentração de 10mg/kg de aflatoxina B_1 por 10 semanas apresentaram redução da taxa de crescimento.

O bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) apresenta relativa resistência à toxicidade aguda de AFB1, não sendo encontrado valores para DL_{50}. Esses resultados indicam a variabilidade e a sensibilidade dos peixes à toxicidade aguda de aflatoxina B1.Concentrações menores, para algumas espécies como: catfish e salmão exposto a doses moderadas podem causar mortalidade bem como a sua susceptibilidade à toxidez relativa, conforme HALVER (1988).

Os valores de rendimento de carcaça (82,16%) no tratamento T4 observados no presente trabalho estão próximos aos encontrados por MELO (2000) o qual obteve os melhores resultados com inclusão de 5% de lipídios em rações à base de fígado de aves e levedura de cana para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) obtendo rendimento médio de 82,93% e COLDEBELLA (2000), que obteve 82,59% com ração contendo 36,4% de farelo de soja mais levedura de cana.

A taxa de sobrevivência no experimento “A” do presente trabalho não apresentou efeito significativo ($P<0,05$) para as inclusões de aflatoxina na dieta dos alevinos no período experimental. Resultados semelhantes foram encontrados por LUMLERTDACHA *et al.* (1995) ao estudarem a inclusão de *Fusarium moniliforme* na dieta de bagre de canal *Ictalurus punctatus*, testaram as doses de 0,3 (controle), 20, 80, 320 e 720mg de fumonisina B_1 na dieta num período de 10 e 14 semanas. A maior mortalidade (70%) ocorreu com inclusão de 320 e/ou 720 mg de FB1/kg na dieta, em relação ao tratamento controle e no tratamento com 20 mg de FB1/ kg na dieta onde ocorreu uma sobrevivência de 100%, mas menor ganho de peso em relação à dieta controle.

Os resultados de deposição de resíduos na carcaça e no fígado dos alevinos de jundiá alimentados com aflatoxina B1 estão descritos no quadro 6.

QUADRO 6.- Resultados de deposição de resíduo de AFB1 no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá alimentados por 45 dias

	T1 (ppb)	T2 (ppb)	T3 (ppb)	T4 (ppb)
Fígado	Nd	Nd	Nd	Nd
Carcaça	Nd	Nd	1,0	6,1

Nd: Não detectado.

Demonstram os resultados, neste experimento, que o jundiá alimentado com uma dieta contaminada com aflatoxina num período total de 45 dias, não acumulou resíduos no fígado com os níveis utilizados na ração experimental, mas apresentou resíduos na carcaça para o tratamento T3, com 90ppb AFB1/kg na ração e tratamento T4, 204ppb de AFB1/kg na ração.

Conforme PLAKAS *et al.* (1991), ao estudarem a composição corporal de bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) observaram que após 2 horas da administração oral da solução de aflatoxina com 250μg/kg, apresentaram os seguintes resíduos para o músculo de 19±3μg/kg e para o fígado de 246±87μg/kg, após esse período, observaram também após 4 horas, e encontraram 40±7μg/kg e 421±59μg/kg para o músculo e fígado, respectivamente.

NGETHE *et al.* (1992) analisaram a deposição de aflatoxina nos tecidos de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e observaram resíduos no fígado e músculo através da análise de radioatividade, após 5 horas, 1d, 2d, 4d e 8 dias: 20.839, 11.077, 20.389, 6.347 e 1572dpm/mg e 106, 51, 54, 1 e 2dpm/mg, respectivamente.

A comparação de duas espécies diferentes truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*) foi feita por

NGETHE *et al.* (1993) e observaram que o fígado de tilápia pode ser exposto a mais baixa concentração de AFB1 do que o fígado de truta em relação à ingestão da mesma dose, e que após 6 horas, 1d, 2d e 3 dias apresentaram resíduos no fígado de: 4019 dpm/mg, 1267dpm/mg, nada constou, e 652dpm/mg respectivamente através da análise por radioatividade.

Os resultados da coleta de sangue dos alevinos de jundiá para análise de hematócrito e hemoglobina após o período de 45 dias experimentais, do experimento "A" alimentados com uma dieta com diferentes níveis de inclusão de aflatoxina, estão descritas na tabela 4.

TABELA 4 - Valores de hematócrito e hemoglobina em jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com rações contendo diferentes níveis de inclusão de aflatoxinas

Tratamentos	Hematócrito (%)	Hemoglobina (g/dL)
T1 – Controle	$24,51 \pm 1,51^{a}$	$8,2 \pm 0,5^{a}$
T2 – 41 ppb/kg	$13,16 \pm 1,47^{b}$	$5,5 \pm 0,3^{b}$
T3 – 90 ppb/kg	$11,75 \pm 0,41^{b}$	$4,0 \pm 0,3^{b}$
T4 - 204 ppb/kg	$11,16 \pm 0,88^{b}$	$3,5 \pm 0,2^{b}$

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P< 0.01$) n=10.

Foi observado nesse experimento que os seguintes resultados para taxa de hematócrito para o tratamento controle foram igual a 24,51% e 8,2g/dL para hemoglobina.

Resultados semelhantes foram encontrados por TAVARES-DIAS *et al.* (2002), quando analisam amostras de sangue de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) encontrando para hematócrito 26,50% em media e 6,73g/dL para hemoglobina.

Investigando as características hematológicas de tilápia (*Oreochromis niloticus*), TAVARES-DIAS *et al.* (2000b), observaram os

seguintes resultados para as variáveis biológicas: hemoglobina (9,3±3,4g/dL) e hematócrito (28,6±7,3%).

Estudando outra espécie (*Tilápia rendalli)* os autores observaram os seguintes resultados para hemoglobina e hematócrito: 7,3±4,0g/dL e 29,2±6,9%, respectivamente e concluem que o hematócrito é um bom indicador de efeitos para os diversos fatores ambientais a que os peixes estão sujeitos, pois é o índice do eritrograma com menor coeficiente de variação em *Oreochromis niloticus*. (TAVARES-DIAS & MORAES, 2003).

Valores mais altos foram observados por TAVARES-DIAS *et al.* (2000a) para o piauçu (*Leporinus macrocephalus*), onde encontraram os seguintes valores médios e desvio padrão: 9,4±2,6g/dL; 34,1±6,8%, respectivamente para hemoglobina e hematócrito

Afirmam TAVARES-DIAS *et al.*, (1999a) que os parâmetros sanguíneos do matrinxã (*Bryncon cephalus*). Foram os seguintes: 10,9±1,2g/dL; 39,0±8,7%, respectivamente para hemoglobina e hematócrito.

Conforme TAVARES-DIAS *et al.* (1999b) ao observarem a influência do parasitismo sobre a hemoglobina (HB), taxa de hematócrito (HT) em piauçu (*Leporinus macrocephalus*) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) infectado por monogenea e por outros parasitas, constataram as seguintes médias e desvio padrão dos parâmetros hematológicos: Piauçu: HB 7,4±1,2g/dL; HT 36,3±11,1%; e para Pacu: HB 9,1±2,2g/dL; HT 30,0±5,8%.

Segundo SILVEIRA & RIGORES (1989), a padronização dos parâmetros hematológicos de peixes auxilia na determinação de influências de dietas, de enfermidades e de outras situações de estresse ambiental.

Entretanto, POSTON *et al.* (1983) alimentando truta arco-íris com alimento contaminado com *Fusarium tricinctum* observaram que a dosagem de 15 mg/kg na dieta diminuiu a hemoglobina sangüínea.

O efeito da aflatoxina em *Ictalurus punctatus* avaliado por JANTRAROTAI & LOVELL (1991), alimentados com uma dieta com 10mg/kg de aflatoxina B_1 por 10 semanas, ocasionou a redução da taxa de hematócrito.

4.3 Desempenho produtivo no experimento "B"

4.3.1 Desempenho até os 21 dias

Para realização do experimento "B", utilizou-se como base o nível de inclusão de aflatoxina mais alto do experimento "A" (tratamento T4), o qual apresentou efeito significativo (P<0,001), cujos resultados de desempenho produtivo médio, estão expressos na Tabela 5.

TABELA 5 - Resultados obtidos aos 21 dias no experimento "B" com alevinos de jundiá alimentados com rações contendo diferentes níveis de aflatoxina (ppb).

Variáveis	T1 (0)	T2 (350)	T3 (757)	T4 (1177)	CV	P
PI (g)	4,96	4,86	4,44	4,67	7,36	0,2077
PF (g)	8,68	8,76	8,32	8,69	8,34	0,8749
CP (cm)	7,54	7,69	7,46	7,79	3,35	0,2996
CT (cm)	9,22	9,17	9,15	9,40	4,10	0,7764
FC	1,03	1,17	1,28	1,04	18,78	0,3656
GMD (g)	0,13	0,19	0,22	0,19	30,64	0,1832
SOB (%)	100	100	100	100	-	-

PI=Peso Inicial, PF=Peso Final, CP=Comprimento Padrão, CT=Comprimento Total, FC= Fator de Condição, GMD=Ganho Médio Diário e SOB=Sobrevivência

As inclusões de aflatoxina na dieta de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) não demonstraram diferença significativa (P> 0,05) entre os tratamentos aos 21 dias, para peso final (PF), comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), fator de condição (FC), ganho médio diário (GMD) e sobrevivência (SOB). Os níveis de inclusão na dieta até essa fase não demonstraram efeito aparente para crescimento.

O peso final dos alevinos até aos 22 dias experimentais não apresentou efeito significativo (P>0,05) entre os tratamentos,

apresentando um PF para o tratamento T1 de 8,68g e para o tratamento T4 de 8,69.

Para os parâmetros de FC, GMD e SOB não houve diferença significativa (P>0,05) entre os tratamentos.

Os resultados encontrados não diferiram significativamente entre os tratamentos, demonstrando que valores mais elevados de inclusão de aflatoxina na ração de alevinos de jundiá podem ter influenciado negativamente todos os parâmetros citados inclusive no tratamento testemunha. Conforme DILKIN (2002), a micotoxicose crônica é mais freqüente e ocorre quando existe um consumo de doses mais moderadas a baixa. Nestes casos, os animais apresentam um quadro caracterizado pela redução de eficiência reprodutiva, diminuição da conversão alimentar, taxa de crescimento e ganho de peso.

4.3.2 Desempenho até os 35 dias

As inclusões de aflatoxina na dieta de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) não demonstraram diferença significativa (P> 0,05) aos 35 dias experimentais entre os tratamentos, para peso final (PF), comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), fator de condição (FC), ganho médio diário (GMD) e sobrevivência (SOB). Os diferentes níveis de inclusões nas dietas nessa fase não demonstraram efeito para crescimento (Tabela 6).

TABELA 6 - Resultados obtidos aos 35 dias no experimento “B” com alevinos de jundiá alimentados com rações contendo diferentes níveis de aflatoxina (ppb).

Variáveis	T1 (0)	T2 (350)	T3 (757)	T4 (1177)	CV	P
PF (g)	8,76	9,50	8,98	9,14	8,09	0,6219
CP (cm)	7,67	8,22	7,74	8,19	4,33	0,0813
CT (cm)	9,26	9,81	9,43	9,43	3,53	0,0573
RC (%)	82,89	81,48	81,71	81,27	8,06	0,9472
FC	1,10	1,01	1,19	1,08	11,73	0,5455
GMD (g)	0,11	0,15	0,11	0,14	23,75	0,3834
SOB (%)	88,33	94,16	83,33	85,83	10,40	0,7906

PF=Peso Final, CP=Comprimento Padrão, CT=Comprimento Total, FC= Fator de Condição, GMD=Ganho Médio Diário, SOB=Sobrevivência e RC=Rendimento de carcaça.

O peso final dos alevinos até aos 35 dias experimentais não apresentou diferença significativa (P>0,05) entre os tratamentos, apresentando um PF para o tratamento T1 de 8,76g e para o tratamento T4 de 9,14g.

A partir dos 22 dias experimentais os alevinos de jundiá começaram a demonstrar uma baixa capacidade de resistência a doenças. Observou-se aparecimento de parasitas como *Ichthyophthirius multifilis* e a infestação bacteriana, identificada como *Aeromonas hydrophila*. Essas doenças estão relacionadas a uma queda brusca de temperatura de 26ºC a 16,2ºC ficando sem circulação de água no sistema por 22 horas, além do estresse ocasionado pelo manejo nesse período (Figura 7). Os alevinos de jundiá não apresentavam a mucosidade característica no final do experimento.

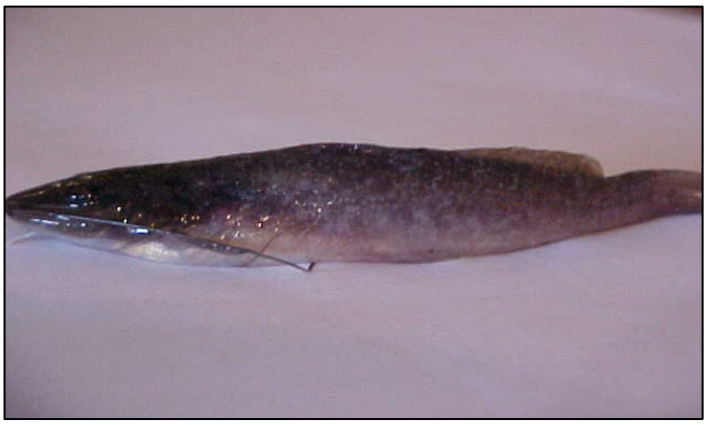


FIGURA 7 - Alevino de jundiá infestado de parasita (*Ichthyophthirius multifilis*) no experimento “B”.

Conforme ROSMANINHO *et al.* (2001) tais alterações contribuem para a ocorrência de infecções concomitantes, sobretudo por agentes virais e bacterianos, associados à exposição dos animais às rações contaminadas com aflatoxinas. Os fígados coletados após o abate dos alevinos sobreviventes no experimento “B”, alimentados com níveis mais elevados em relação ao experimento “A”, apresentaram resíduos após análise do método analítico (CLAE).

Os resultados de deposição de resíduos na carcaça e no fígado dos alevinos de jundiá alimentados com diferentes níveis de AFs (ppb) do experimento “B” estão descritos no quadro 7.

QUADRO 7 - Resultados de deposição de resíduos de AFB1 no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá alimentados por 35 dias no experimento “B”

	T1 (ppb)	T2 (ppb)	T3 (ppb)	T4 (ppb)
Fígado	Nd	1,6	4,0	12,9
Carcaça	Nd	1,8	3,1	6,7

Nd: Não detectado.

Os fígados coletados apresentavam uma coloração pálida com áreas esbranquiçadas, uma vesícula biliar bem desenvolvida e amarelada (Figuras 8 e 9), comparados com fígados que apresentaram aparência relativamente normal (Figura 10).

FIGURA 8 - Fígado de alevinos alimentados com níveis elevados de AFs.

FIGURA 9 - Fígado de alevinos alimentados com níveis elevados de AFs.

FIGURA 10 - Fígado de alevinos alimentados com dieta sem inclusão de AFs.

Resultados semelhantes foram encontrados por SOUZA *et al.* (2000) ao trabalharem com tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) adultas alimentadas com uma ração contendo 6,3ppb/kg de AFB1, sendo níveis mais baixos daqueles utilizados nesse experimento, onde apresentaram na necropsia a presença de líquido na cavidade abdominal, estômago e intestinos sem conteúdo e alterações no fígado tais como palidez amarelada, aspecto tigrado e consistência friável; microscopicamente observaram degeneração gordurosa e necrose de hepatócitos.

O efeito da inclusão de aflatoxina na ração de alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) foi avaliado por CHÁVEZ-SÁNCHEZ *et al.* (1994) os autores observaram que a ingestão de diferentes níveis de aflatoxina causa também tumores no fígado de alevinos de tilápia.

De acordo com CONROY (2000), o fígado de tilápia apresentou áreas de necrose de coagulação aguda, particularmente, nas zonas entre o fígado e o pâncreas, o rim apresentou necrose epitelial aguda formando cilindros protéicos abundantes, sendo que o baço, estômago e intestino apresentaram também alterações diversas, com dosagens superiores a 100ppb de AFB1 e B2/kg.

A inclusão de *Fusarium moniliforme* na dieta de bagre de canal *Ictalurus punctatus*, causou lesões no fígado com níveis acima de 80mg de FB1/kg na dieta, (LUMLERTDACHA *et al.* (1995). Já CARLSON *et al.* (2001) descreveram que truta arco-íris, alimentada com uma dieta contendo 104ppm de *Fusarium moniliforme* (FB1) apresentou lesões no fígado, no final de 34 semanas experimentais.

JANTRAROTAI & LOVELL (1991) encontraram lesões no fígado e no rim de bagre de canal *Ictalurus punctatus* alimentados com uma dieta com concentração de 10mg/kg de aflatoxina B_1 por 10 semanas.

Segundo WOLF & JACKSON (1963) alimentos contaminados com o fungo *Aspergillus flavus* são as maiores causas de hepatomas no fígado de truta arco-íris, ao avaliar duas dietas comerciais para tilápia vermelha num período de 135 dias. Segundo HALVER (1988) peixes alimentados com dietas com níveis elevados de toxinas com 80ppb de aflatoxina ou mais, na dieta, desenvolvem uma síndrome tóxica aguda com necrose hepática severa em truta arco-íris.

5. CONCLUSÕES

- As concentrações de 41, 90 e 240ppb de aflatoxinas na dieta de provocam significativa redução na taxa de hematócrito e hemoglobina até os 45 dias experimentais.

- Os níveis de até 204ppb/kg de AFs na dieta por 45 dias experimentais causam redução no crescimento dos alevinos.

- As concentrações de 350, 757 e 1177ppb de aflatoxinas na dieta de alevinos de jundiá provocam alterações macroscópicas no fígado.

- Os níveis mais elevados de aflatoxinas na dieta (≥350ppb) provocam deposição residual no fígado e na carcaça.

- Níveis mais elevados de Afs na dieta não demonstraram efeito sobre crescimento, mas aparentemente favorecem o aparecimento de doenças.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAV, S. S. & GOVINDWAR, S. P. Effects of aflatoxin B1 on liver microssomal enzymes in different strains of chickens. **Comparative Biochemech Physiology.** V. 118C, n. 2, p. 185-189, 1997.

ARANAS, S.; TABATA, Y. A.; SABINO, M.; *et alii*. Differential effect of chronic aflatoxin B1 intoxication on the growth performance and incidence of hepatic in triploid and diploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Archives Medical Veterinary,** v. 34 n. 2, p.253-263, 2002.

BIEHL, M. L. & BUCK, W. B. Chemical contaminants: their metabolism and their residues. **Journal Food Protection**, v. 50, p. 1058-1073, 1987.

BOBBIO, P. A. & BOBBIO, F. O. Química do processamento de Alimentos. **Fundação Gargill**. 232 p., 1984.

BOONYARATPALIN, M.; VERAKUNPIRIYA, V.; SUPRASERT, D. Effects of aflatoxin B1 on growth performance, blood componentes, immune function and histopathological chances in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). **Aquaculture Research,** v. 32 (suppl. 1), p. 388-398, 2001.

BOYD, C. E. **Water quality management for pond fish culture** Developments in aquaculture and fisheries science, v. 9, 318 p, 1982.

CARLSON, D. B.; WILLIANS, E. D.; SPITSBERGEN, J. M.; *et alii*. Fumonisin B1 promotes aflatoxin B1 and *N*-Methyl-*N*'- nitro-nitrosoguanidine-limitiated liver tumors in Rainbow Trout. **Toxicology and Applied Pharmacology**. v. 172, p. 29-36, 2001.

CARNEIRO, J. D. **Níveis de proteína e energia na alimentação do pacu** (*Colossoma mitrei*). Jaboticabal: UNESP, 56 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista, 1993.

CHÁVEZ-SÁNCHEZ, M. C.; MARTÍNEZ PALACIOS, C. A; OSORIO MORENO, I. Pathological effects of feeding Young Orechromis niloticus diets supllemented with different levels of aflatoxin B1. **Aquaculture**, v. 127, p. 49-60, 1994.

COLDEBELLA, I. & RADÜNZ NETO, J. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n.3, p. 499-503, 2002.

COLDEBELLA, I. J. **Avaliação de fontes protéicas no crescimento de alevinos de jundiá** (*Rhamdia quelen*). Santa Maria: UFSM, 53 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, 2000.

CONROY, G. Alteraciones asociadas con dos alimentos comerciales en tetrahibridos de tilápia roja cultivados en Venezuela. ASSOCIACION AMERICANA DE SOYA**. Boletin Informativo**. Caracas-Venezuela. 33 p., 2000.

DIAB, A. S.; ABUZEAD, S. M. M.; EL MAGD, M. M. Effects of aflatoxin B1 on Reproductive Traits in *Oreochromis niloticus* and *Oreochromis aureus* and its Control. **Tilápia aquaculture**. In the 21ª century. 5ª ISTA. Rio de Janeiro-Brasil. v. 2 p.465-473, 2000.

DILKIN, P. Micotoxicose suína: aspectos preventivos, clínicos e patológicos. **Biológico**. São Paulo, v. 64, n.2, p. 187-191, 2002.

DE TOLEDO, G. P.; SANTURIO, J. M.; WALDROW, N. C. A.; *et alii*. Uso da bentonita sódica natural em rações de coelhos intoxicados experimentalmente com aflatoxina. In: **Anais...** XXXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Botucatu-São Paulo, p. 219-220,1998.

GIRONA, A J. R. Prevención de los efectos cancerígenos de las aflatoxinas y la zearalenona mediante el empleo de compuestos adsorbente nos nutritivos. Estudios *In vitro*. 223p., **Tese**. Valencia. Espanha, 1994.

GHOSH, R. C.; CHAUHAN, V. H. S.; ROY, S. Immunosupression in broilers under experimental aflatoxicosis. **Brazil Veterinary Journal,** v 146, p. 457-462, 1990.

GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI, J. I.; CHIPPARI GOMES, A. R.; *et alii*. BIOLOGIA DO JUNDIÁ *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, v. 30 (1) p. 179-185, 2000.

HALVER, E. J. **Fish Nutrition**. 2ª Ed. Editora Academic Press. USA. 693 p., 1988.

HILL, R. A, WILSON, D. M., McMILLAN, W. W. Ecology on the *Aspergilus flavus* group and aflatoxin formation in maize and groundnut. In: **Trichotecenes and other mycotoxins**, p. 49, 1985.

JANTRAROTAI, W. & LOVELL, B. T. Subchronic toxicity of aflatoxin B1 to channel catfish. **Journal Aquat. Animal Health**. v. 2, p. 248-275, 1991.

JARVIS, B. Factors affecting the production of mycotoxins. **Journal Applied Bacteriology,** v. 34, p. 199-213, 1971.

JOBLING, M., MELOY, O. H., SANTOS, J.; *et alii.* The compensatory growth response of the atlantic cod: effects of nutritional history. **Aquaculture International,** n. 2, p. 75-90, 1994.

LAMIC – UFSM **– Media de aflatoxina por ano (n=173488)**. Disponível em: < http://wwww.lamic.ufsm.br/medanual.html> 11 jan 2004.

LIM, H. A; NG, W. K.; LIM, S. L.; *et alii*. Contamination of palm kernel meal with *Aspergillus flavus* its nutritive value in pelleted feed for tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Research**, v. 32, p. 895-905, 2001.

LINDNER, E. **Toxicologia de los alimentos**. 2ª Ed. Editora Acribia, S.A. Saragoza-Espanha, 251 p, 1995.

LUCHINI L. **Manual para el cultivo del bagre sudamericano (*Rhamdia sapo*)**. Santiago do Chile. FAO, 63 p., 1990.

LUMLERTDACHA, S.; LOVELL, R. T.; SHELBY, R. A.; LENZ, S. D.; KEMPPAINEN, B. W. Growth, hematology, and histophatology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed toxins from *Fusarium moniliforme*. **Aquaculture**. v. 130, p. 201-218, 1995.

MALLMANN, A G.; SANTURIO, J. M.; WENTZ I. Aflatoxinas – Aspectos clínicos e toxicológicos em suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 24, n. 3, p. 635-643, 1994.

MANNING, B. B.; ULLOA, R. M.; LI, H. M.; *et alii*. Ochratoxin A fed to channel catfish (*Ictalurus punctatus*) causes reduced growth and lesions of hepatopancreatic tissue. **Aquaculture**, v. 219, p.739-750, 2003.

MARAS, W. F. O; SMALLEY, E. B.; DEGURSE, P. E.; *et alii*. Acute toxicity to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) of a metabolity produced by the fungus *Fusarium tricinctum*. **Nature,** v. 214, p.817-818, 1967.

MARCHIORO, M. I. **Sobrevivência de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) Quoy & Gaimard, 1824, Pisces, Pimelodidae à variação de pH e salinidade da água de cultivo**. Santa Maria: UFSM, 65 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, 1997.

MELO, J. F. **Efeito da utilização de diferentes fontes e níveis de lipídios na composição corporal e desenvolvimento de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*).** Santa Maria: UFSM, 63p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, 2000.

MILLER, J. D. & TRENHOLM, H. L. **Mycotoxins In Grain – Compounds Other Than Aflatoxin**. Editora Eagan Press. Minnesota-USA, 552p.,1997.

NGETHE, S.; HORSBERG, T. E.; INGEBRIGTSEN, K. The disposition of ^{3}H-Aflatoxin B1 in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after oral and intravenous administration. **Aquaculture,** v. 108. p. 323-332, 1992.

NGETHE, S.; HORSBERG, T. E.; INGEBRIGTSEN, K. Species differents in hepatic concentration of orally administered ^{3}H-AFB1 between rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and tilápia (*Oreochromis niloticus*) . **Aquaculture,** v. 114p. 335-358, 1993.

NÚÑEZ, O.; HENDRICKS, J. D.; ARBOGAST, D. N.; *et alii*. Promotion of aflatoxin B1 hepatocarcinogenesis in rainbow trout by 17 β estradiol. **Aquatic Toxicology,** v. 15, p. 289-302, 1989.

OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. Ed. Atheneu, São Paulo, 515p, 1996.

OLIVEIRA, C. A F. de & GERMANO, P. M. L. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. **Revista Saúde Pública**. V. 31 n. 4, p. 417-424, 1997.

ORGANISACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. **Critérios de salud ambiental 11: Mictoxinas**.O.P.S., Cidade do México, Publicacion Cientifica, nº 453, 131 p, 1983.

OSTROWSKI-MEISSNER, H. T.; LEA MASTER, B. R.; DUERR, E. Q.; *et alii*. Sensitivity of the pacific whrite shrimp (*Penaeus vannamei*) to aflatoxin B1. **Aquaculture**, v. 131 p. 155-164, 1995.

PETSKA, J. J. & BONDY, G. S. Alteracion of immune function following dietary mycotoxin exposure. **Canadian Journal Physiology Pharmacology,** v. 68, p.1009-1026, 1990.

PLAKAS, S. M.; LOVESLAND, P. M.; BAILEY, G. S.; *et alii*. Tissue disposition and excretion of 14 C-Labelled aflatoxin b1 after oral administration in Channel catfish**. Food Chimechal. Toxicology,** v. 29, nº 12, p. 805-808, 1991.

POSTON, H. A. Biological effects of dietary T2 toxins on rainbow trout. **Aquatic Toxicologyc**, v. 2, p. 79-88, 1983.

ROSMANINHO, J. F. OLIVEIRA, C. A F.; BITTENCOURT, A B. F. Efeitos das micotoxicoses crônicas na produção avícola. **Arquivo Instituto Biologico,** São Paulo, v. 68, n. 2, p. 107-114, 2001.

SABINO, M., LAMARDO, L. C. A; INOMAT, G.; *et alii*. Ocorrência de aflatoxina B1 em produtos alimentícios e rações animais, consumidos no Estado de São Paulo e em várias outras regiões do Brasil, no período de 1980 a 1987. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. V. 48, n. 1 e 2, p. 81-85, 1988.

SAHOO, P. K. & MUKHERJEE, S. C. Immunosuppressive effects of aflatoxin B1 in Indian major carp *Labeo rohita*. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Disease**. v. 24, p. 143-149, 2001.

SAHOO, P. K. & MUKHERJEE, S. C. Immunomodulation by dietary vitamin c in healthy and aflatoxin B1-induced immunocompromised Rohu *Labeo rohita*. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Disease**. v. 26, p. 64-76, 2003.

SAS – Statistical Analisys System. User's Guide. Versão 6, SAS INSTITUTE INC. 4. ed. North Caroline: **SAS INSTITUTE INC**, 846 p. 1997.

SILVA, L. C. **Fungos e Micotoxinas em Grãos Armazenados. Universidade Estadual do oeste do Paraná**.1997. Disponível em: < http://www.unioeste.br/agais/fungos/fungos.html > 14/julho/2003.

SILVEIRA, R. & RIGORES, C. Características hematológicas normales de *Oreochromis aureus* em cultivo. **Revista Latina Acuicultura**, v. 39, p. 54-56, 1989.

SMITH, J. E. & HENDERSON, R. S. **Mycotoxins and animal food**/ Editors, Boca Raton, Boston, 874 p., 1991.

SOUZA, S. M. G.; BARCELLOS, L. J. G.; BARCELLOS, *et alii*. Comparação macro e microscópica de fígados de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dieta contaminada com aflatoxina B1 e exclusivamente com plâncton. CD-Rom, **SIMBRAq,** 5p., 2000.

STEFFENS, W. **Principios fundamentales de la alimentacion de los peces,** Zaragoza, Espanha, ed. Acribia, S. A., 285 p. 1987.

TAVARES, L. H. S. **Limnologia aplicada à aqüicultura.** Boletim Técnico n.1, UNESP, Jaboticabal-SP, 71 p., 1995.

TAVARES-DIAS, M.; FRASCÁ-SCORVO, C. M. D.; CAMPOS-FILHO, E.; *et alii*. Características hematológicas de teleósteos brasileiros IV. Parâmetros eritroleucométricos, trombométricos e glicemia do Matrinxã *Bryncon cephalus* Gunther, 1869 (ANOSTOMIDAE). **ARS VETERINARIA**, v. 15(3), p. 149-153, 1999a.

TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S. H. C.; MARTINS, M. L.; *et alii*. Hematologia de teleósteos brasileiros com infecção parasitária I. Variáveis do *Leporinus macrocephalus* Garavelo e Britski, 1988 (Anostomidae) e *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Characidae). **Acta Scientiarum**, v. 21(2), p. 337-342, 1999b.

TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M. L.; MORAES, F. R. Características hematológicas de teleósteos brasileiros V - Variáveis do piauçu *Leporinus macrocephalus* GARAVELLO & BRITSKI, 1988 (ANOSTOMIDAE). **Naturalia**, São Paulo, v. 25, p. 39-52, 2000a.

TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S. H. C.; MARTINS, M. L.; *et alii*. Características hematológicas de *Oreochromis niloticus* (OSTEICHTHYES: CICHLIDAE) cultivadas intensivamente em “Pesque-Pague” do município de Franca, São Paulo, Brasil. **ARS VETERINÁRIA**, v. 16(2), p. 76-82, 2000b.

TAVARES-DIAS, M.; MELO, J. F. B.; MORAES, G.; *et alii*. Características hematológicas de teleósteos brasileiros IV - Variáveis do jundiá *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n.4 p. 693-698, 2002.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. Características hematológicas *Tilápia rendalli*- Boulenger, 1896 (OSTEICHTHYES: CICHLIDAE) capturada em “Pesque-Pague” de Franca, São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**. v. 19, n.1, p. 103-110, Jan/Abr, 2003.

TROXEL, C. M.; REDDY, A P.; O’ NEAL, P. E.; *et alii*. In vivo aflatoxin B1 metabolism and hepatic DNA Adduction in Zebrafish (*Danio rerio*). **Toxicology and applied Pharmacology**. V. 1443, p. 213-220, 1997.

TUAN, A N.; GRIZZLE, J. M.; LOVELL, R. T.; *et alii*. Growth and hepatic lesions of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* fed diets containing aflatoxin B_1**. Aquaculture**. v. 212, p. 311-319, 2002.

TUAN, A N.; GRIZZLE, J. M.; MANNING, B. B.; *et alii*. Response of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* fed diets containing differents concentrations of moniliformin or fumonisin B_1**. Aquaculture**. v. 217, p. 515-528, 2003.

WOGAN, G. N. Aflatoxin carcinogenisis: interspecies potency differences and relevance for human risk assessment. **Clinical Biology Research** v. 374: p.123-137, 1992.

WOLF, H. & JACKSON, E. W. Hepatomas in rainbow trout: Descriptive and experimental epidemiology. **Science**, v. 142, p.676-678, 1963.

WOODWARD, B.; YOUNG, L. G.; LUN, A. K. Vomitoxin in diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Aquaculture**, v. 35, p.93-101, 1983.

WYATT, R. D. **Poultry. *In:* Mycotoxins and Animal Foods**. Smith J. E. and Henderson, R. S. Ed. CRC Press, Chapter 24, p. 553-605, 1991.