

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



Tese

**Efeito das aflatoxinas e dos adsorventes sobre o
desempenho zootécnico de alevinos e juvenis de jundiá**

Rhamdia quelen

PAULO RODINEI SOARES LOPES

Pelotas, 2008

PAULO RODINEI SOARES LOPES

**Efeito das aflatoxinas e dos adsorventes sobre o
desempenho zootécnico de alevinos e juvenis de jundiá**
Rhamdia quelen

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Produção Animal).

Orientador: Juvêncio Luis Osório Fernandes Pouey

Pelotas, 2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

L864e Lopes, Paulo Rodinei Soares
 Efeito das aflatoxinas e dos adsorventes sobre o desempenho
 zootécnico de alevinos e juvenis de jundiá: *Rhamdia quelen* / Paulo
 Rodinei Soares Lopes. – Pelotas: UFPEL, 2008.
 99f.

 Tese (Doutorado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia,
 Universidade Federal de Pelotas, 2008.

 Orientador: Juvêncio Luis Osório Fernandes Pouey.

 1. Zootecnia. 2. *Rhamdia quelen*. 3. Adsorvente. 4. Aflatoxinas. 5.
 Nutrição. I. Título.

CDD: 636

Banca examinadora:

Prof. Dr. Juvêncio Luis Osório Fernandes Pouey

Prof. Dr^a. Maria Tereza Moreira Osório

Prof. Dr^a. Sabrina Geane Ortiz de Camargo

Prof. Dr. Sergio Renato Noguez Piedras

Prof. Dr. Ricardo Berteaux Robaldo

Dedico

A minha amada esposa Gladis que com muita paciência, amor e carinho esta sempre do meu lado, me apoiando em todos os momentos. Ao meu filho Pedrinho luz de nossas vidas.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer as forças superiores que estiveram junto comigo nessa luta constante, Deus obrigado.

A minha família que em todos os momentos de minha vida, sempre demonstrou ser a família ideal, agradeço a todos pelo apoio incondicional, pelo carinho, pelas palavras de força e incentivo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Juvêncio Luis Osório Fernandes Pouey, pela orientação e pela confiança na execução dos experimentos.

Ao amigo Mauro Kaster Portelinha, pela incansável ajuda durante o período experimental, não medindo esforços para que tudo ocorresse da melhor forma possível, deixando o convívio com a família nos finais de semana para nos auxiliarmos, obrigado pelo companheirismo.

Obrigado, Henrique, Marino, Michele, Aline, Marcela e Isadora, estagiários do laboratório de piscicultura pelo apoio durante a longa jornada, nos experimentos, principalmente nos finais de semanas.

Agradecimento com muito carinho para a colega Dariane Beatriz Schoffen Enke, compartilhamos vários momentos ao longo da nossa jornada, alguns difíceis outros bons, e saímos dessa colega, obrigado pelo apoio em tudo.

Aos queridos amigos e Professores José Carlos Osório e Maria Tereza Osório, tenho muito a agradecer, pelo apoio, palavras de incentivo e carinho, saio dessa instituição renovado e inspirado, e com muita certeza de ter encontrado um espelho de profissional, pela conduta e sabedoria.

Aos professores que colaboraram com minha aprendizagem: Prof. Fernando Rutz e Prof^a Vivian Fisher, e também aqueles que com muito respeito sempre me trataram e que de alguma forma estão presentes nessa tese: prof. Eduardo Xavier, prof. Jerry Zanusso e prof. Lotar Siewerdt.

Durante esse período também aprendi a respeitar e admirar o Prof. Pedro Monks, obrigado pela convivência.

A amiga e prof^a. Carmem Lucia Ribeiro “Calu” pela grande ajuda na reta final da tese.

Aos amigos Rech e Carminha pela amizade em todos os momentos.

A Dra. Sabrina Camargo pela ajuda nos experimentos na coleta do sangue.

Nessa jornada tive prazer de encontrar pessoas que de forma direta e indireta contribuíram com um pedacinho para essa tese, são eles: Roger e *Seu* Mota, sempre incansáveis para ajudar e claro que sempre bem dispostos para um bom churrasco.

A minha querida Mara, exemplar secretária da pós-graduação, pelo auxílio em todos os trames burocráticos, pelos cafezinhos e por estar sempre disposta a contribuir no que for necessário.

Outra pessoa inesquecível, Dona Vera, pela forma sempre gentil e carinhosa que me tratou.

A minha colega Clarice, pela simpatia e dedicação e ao meu colega Bernardo, pelo coleguismo e boas conversas.

Ao Edilson e o Ricardo mais conhecido como *jacu*, muito obrigado pela ajuda na liberação dos alevinos e juvenis de jundiá.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela colaboração, no suporte financeiro ao projeto de pesquisa.

À CAPES, pela concessão da bolsa que permitiu esta realização.

Ao CNPq pela aprovação do projeto e liberação da verba que propiciou a realização desta tese.

Ao laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC) na figura do Prof. Dr. Carlos Augusto Mallmann, pelo apoio na doação das aflatoxinas e diversas análises dos materiais.

À todos aqueles que, de alguma forma, auxiliaram na realização deste trabalho, deixo meu agradecimento e o desejo de sucesso, independente do caminho que tenham escolhido.

Enfim meu muito obrigado de coração...

VIDA

Navegue, descubra tesouros, mas não os tire do fundo do mar, o lugar deles é lá.

Admire a lua, sonhe com ela, mas não queira trazê-la para a terra.

Curta o sol, se deixe acariciar por ele, mas lembre-se de que o seu calor é para todos.

Sonhe com as estrelas, apenas sonhe, elas só podem brilhar no céu.

Não tente deter o vento, ele precisa correr por toda parte, ele tem pressa de chegar sabe-se lá onde.

Não apare a chuva, ela quer cair e molhar muitos rostos, não pode molhar só o seu.

Descubra-se todos os dias, deixe-se levar pelas vontades, mas não enlouqueça por elas.

Procure, sempre procure o fim de uma história, seja ela qual for.

Acelere seus pensamentos, mas não permita que eles o consumam.

Abasteça seu coração de fé, não a perca nunca.

Mergulhe de cabeça nos seus desejos e satisfaça-os.

Procure os seus caminhos, mas não magoe ninguém nessa procura.

Arrependa-se, volte atrás, peça perdão!

Não se acostume com o que não o faz feliz, revolte-se quando julgar necessário.

Alague seu coração de esperanças, mas não deixe que ele se afogue nelas.

Se achar que precisa voltar, volte!

Se perceber que precisa seguir, siga!

Se estiver tudo errado, comece novamente.

Se estiver tudo certo, continue.

Se sentir saudades, mate-a.

Se perder um amor, não se perca!

Se o achar, segure-o!

(Fernando Pessoa)

Resumo

LOPES, Paulo Rodinei Soares. **Efeito das aflatoxinas e dos adsorventes sobre o desempenho zootécnico de alevinos e juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*)**. 2008. 99f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Três experimentos foram conduzidos no laboratório de Ictiologia do Departamento de Zootecnia (UFPel) para avaliar: a)- efeito das aflatoxinas e b)- ação adsorvente de dois adsorventes (aluminosilicato de sódio e cálcio e glucomanano) no crescimento e sobre parâmetros hematológicos em alevinos e juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*), alimentados com dieta contaminada artificialmente. O primeiro experimento foi realizado com 360 alevinos (peso inicial 4 g), durante 90 dias, criados em sistema de recirculação da água- termo regulada. Foram testados doze tratamentos com três repetições, e quatro níveis de inclusão de aflatoxinas na dieta (0, 150, 250 e 350 μgAFkg^{-1}), com e sem adição de adsorvente (aluminosilicato de sódio e cálcio) (0, 0,3 e 0,6%). O efeito negativo das aflatoxinas reduziu significativamente ($P<0,05$) o crescimento e ganho de peso dos alevinos de jundiá, proporcionalmente aos níveis crescentes de aflatoxinas na dieta, sem apresentar mortalidade. Os níveis do adsorvente na dieta, não diminuíram os efeitos das aflatoxinas sobre o desempenho dos peixes. No segundo experimento foi avaliado o efeito das aflatoxinas e de dois adsorventes: aluminosilicato de sódio e cálcio e o glucomanano, sobre o desempenho zootécnico de juvenis de jundiá. Foram utilizados 189 juvenis (peso inicial de 43,13 g), durante 60 dias. Foram testados nove tratamentos com três repetições, três níveis de inclusão de aflatoxinas na dieta (0, 50, 100 μgAFkg^{-1}) e com dois adsorventes (0 e 3%). A ação negativa das aflatoxinas reduziu significativamente o ganho de peso, biomassa final, ganho de peso diário e taxa de crescimento específico dos animais, proporcionalmente aos níveis crescentes de aflatoxinas na dieta, em relação ao tratamento controle, sem apresentar mortalidade. Apenas a adição de glucomanano na dieta neutralizou significativamente ($P<0,05$) os efeitos negativos das aflatoxinas em relação ao grupo contaminado. No terceiro experimento foi avaliado o efeito das aflatoxinas sobre os parâmetros eritrocitários de alevinos de jundiá, alimentados com diferentes concentrações de aflatoxinas na dieta (0, 150, 250 e 350 μgAFkg^{-1}) durante 90 dias, num sistema de criação fechado e termo-regulado. Foi observado que o aumento dos níveis de aflatoxinas na dieta, reduziu significativamente a taxa de hematócrito e hemoglobina. Os alevinos de jundiá alimentados com aflatoxinas na dieta são susceptíveis aos efeitos negativos, ocorrendo perdas no crescimento, ganho de peso e redução dos parâmetros eritrocitários. A adição de 0,3% de glucomanano na dieta diminui a ação das aflatoxinas em juvenis de jundiá.

Palavras-chave: Adsorvente, aflatoxinas, jundiá, nutrição, aluminosilicato, glucomanano.

ABSTRACT

LOPES, Paulo Rodinei Soares. **Aflatoxin and adsorbent effects on jundiá fingerlings and juveniles performance.** 2008. 99f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas

Three experiments were carried out at the Ictyology Laboratory (Departamento de Zootecnia – UFPel) to evaluate: a) - aflatoxin effects and b) - adsorptive action of 2 adsorbents (sodium and calcium aluminum-silicate and glucomanane) on growth and hematologic parameters of jundiá (*Rhamdia quelen*) fingerlings, fed diets artificially contaminated. The first experiment consisted of 360 fingerlings (initial weight 4 g), raised during 90 days in thermo-regulated recirculation water system. Twelve treatments were compared, with 3 replications. Four levels of aflatoxin inclusion in diets (0, 150, 250 e 350 μgAFkg^{-1}), with and without (0, 0.3 and 0.6%) adsorbent addition (sodium and calcium aluminum-silicate). Negative effect of aflatoxins significantly reduced ($P<0.05$) growth and weight gain of fingerlings, proportionately to increasing levels of aflatoxins in diet, without mortality occurrence. Adsorbent levels in diet did not diminish the effect of aflatoxins on fish performance. The second experiment evaluated the effect of aflatoxins and 2 adsorbents (sodium and calcium aluminum-silicate) on performance of 189 jundiá juveniles (initial weight 43.13 g), grown during 60 days. Nine treatments with 3 replications, 3 levels of aflatoxin inclusion in diet (0, 50, 100 μgAFkg^{-1}) and 2 adsorbents (0.3%) were tested. Negative action of aflatoxins significantly reduced fish specific growth rate, proportionately to increasing levels of aflatoxins in diet, without mortality occurrence. Only the addition of glucomanane to diet significantly ($P<0.05$) neutralized the negative effects of aflatoxins, in relation to the contaminated group. The third experiment evaluated aflatoxin effects on erythrocytic parameters of jundiá juveniles fed diets with different concentrations of aflatoxins (0, 150, 250 e 350 μgAFkg^{-1}), during 90 days in a thermo-regulated recirculation water system. It was observed that increment of aflatoxin levels in diet significantly reduced hematocrit rate and hemoglobin. Jundiá juveniles fed diets with aflatoxin are susceptible to negative effects, presenting losses in growth, weight gain and reduction of erythrocytic parameters. Addition of 0.3% of glucomanane in diet diminishes the action of aflatoxins on jundiá juveniles.

Key Words: Adsorbent, aflatoxin, *Rhamdia quelen*, nutrition, aluminum-silicate

Sumario

Resumo.....	9
Abstract.....	10
Sumário.....	11
Lista de Figuras.....	14
INTRODUÇÃO.....	15
REVISÃO DE LITERATURA.....	17
1 A espécie <i>Rhamdia quelen</i> – Jundiá.....	17
2 Mecanismos de toxicidade da Aflatoxina B1.....	19
3 Fatores que interferem na produção de micotoxinas.....	21
4 Ocorrências das aflatoxinas na natureza.....	22
5 Medidas de controle para micotoxinas.....	23
6 Métodos de descontaminação.....	25
6.1 Métodos físicos.....	25
6.2 Métodos químicos.....	25
6.3 Métodos microbiológicos.....	25
7 Utilização de adsorventes no sistema de produção animal.....	26
8 Critérios para seleção de adsorvente.....	26
8.1 Avaliação <i>in vitro</i>	26
8.2 Avaliação <i>in vivo</i>	27
9 Ação dos adsorventes.....	27
10 Efeitos das aflatoxinas nos animais.....	28
10.1 Peixes em experimentação zootécnica.....	30
11 Parâmetros sanguíneos em peixes experimentais.....	33
12 Legislação.....	34
12.1 Brasil – alimentos para consumo humano.....	34
12.2 Alimentos para consumo animal: matérias-primas e rações.....	35
12.3 Mercosul.....	35
LITERATURA CONSULTADA.....	36
	43
ARTIGO 1 - DESEMPENHO DE ALEVINOS DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>) ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO AFLATOXINAS E ALUMINOSILICATO DE CALCIO E SÓDIO HIDRATADO.....	44

Resumo.....	44
Abstract.....	44
Introdução.....	45
Material e Métodos.....	48
Resultados e Discussão.....	52
Conclusões.....	59
Agradecimentos.....	59
Literatura Consultada.....	59

ARTIGO 2 - EFEITO DOS ADSORVENTES SOBRE O DESEMPENHO DE JUVENIS DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>) ALIMENTADOS COM DIETAS CONTAMINADAS COM AFLATOXINAS.....	63
Resumo.....	64
Abstract.....	64
Introdução.....	65
Material e Métodos.....	67
Resultados e Discussão.....	69
Conclusões	73
Agradecimentos.....	73
Referências Bibliográficas.....	74

ARTIGO 3 - EFEITOS DAS AFLATOXINAS SOBRE OS PARÂMETROS ERITROCITÁRIOS DE ALEVINOS DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>).....	81
Resumo.....	82
Abstract.....	82
Introdução.....	83
Material e Métodos.....	85
Resultados e Discussão.....	88
Conclusões.....	90

Agradecimentos.....	90
Referências Bibliográficas.....	91
CONCLUSÕES GERAIS.....	98
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	99

Lista de Figuras

Figura 1- Percentual de aflatoxinas nos ingredientes e na ração animal, a positividade das amostras analisadas e a média de aflatoxinas.....	22
Figura 2 - Índice de aflatoxinas média no milho no ano de 2007 e a positividade das amostras analisadas.....	23

INTRODUÇÃO

Há muito tempo que o tema micotoxinas vem sendo motivo de preocupações na produção animal em nível mundial. O impacto negativo das mesmas sobre o desempenho animal é muito significativo, seja de maneira direta, afetando os órgãos envolvidos nos processos de digestão e absorção de nutrientes ou, de maneira indireta, atuando sobre o sistema imunológico, tornando os animais menos resistentes a doenças.

As micotoxinas são metabólitos tóxicos secundários, produzidos por fungos que contaminam as culturas no campo, no transporte e durante o armazenamento nos silos. A aflatoxina constitui um grupo de toxinas produzidas pelo fungo *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, fungos estes que se adaptam muito bem às nossas condições climáticas. As condições para produção são: atividade de água de 0,82, temperatura de 20 a 35°C, umidade dos grãos de 16%, em um período de 1 a 3 dias. A toxina é muito estável a altas temperaturas e são identificadas como B1, B2, G1 e G2. Sendo que as iniciais B e G devem-se ao fato destas apresentarem fluorescência azulada e esverdeada, respectivamente, quando observadas sob luz ultravioleta.

Estes fungos podem se desenvolver naturalmente nos produtos alimentícios que são destinados diretamente para o consumo animal ou humano, sendo capazes de originar uma ampla variedade de efeitos tóxicos em animais vertebrados, afetando sua saúde, incluindo o homem (OPAS, 1983; COULOMBE, 1991; PRADO et al., 1995).

Já as micotoxinas podem apresentar várias manifestações toxicológicas. Algumas apresentam efeitos sobre o sistema imunológico, enquanto que outras são consideradas teratogênicas, mutagênicas e/ou carcinogênicas em certas espécies de animais e são também associadas a várias doenças crônicas e agudas em animais domésticos, como, aves, suínos e peixes (LINDNER, 1995; MILLER & TRENHOLM, 1997; LOPES et al., 2005).

O termo micotoxina tem origem em uma palavra grega “mykes” (fungo) e uma palavra do latim “toxicum” (toxina). A expressão grego-latina “mykestoxicum” tem o significado de toxina produzida por fungo, ou micotoxina. O termo micotoxina é usado para designar um grupo de compostos altamente tóxicos, produzidos por

determinados fungos, que causam doenças ou a morte, quando ingeridos pelo homem ou animais, através de alimentos contaminados (SABINO & RODRIGUES-AMAYA, 1993; LAZZARI, 1997).

De uma maneira geral, as micotoxinas apresentam grande estabilidade química, permitindo a sua persistência no alimento mesmo após a remoção dos fungos pelos processos normais de industrialização e embalagem, ou seja, mesmo que o alimento seja processado (CHU, 1991). A doença ou síndrome que resulta da ingestão de alimentos contaminados por micotoxinas, denomina-se micotoxicose, e pode causar ao organismo humano ou animal diversos danos no crescimento, prejudicando o metabolismo do organismo e causando o desenvolvimento de tumores (SCUSSEL, 1998; FITZPATRICK, 1990). Essas enfermidades causadas pelas micotoxinas são caracterizadas por síndromes difusas, com predomínio de lesões em determinados órgãos, como fígado, os rins, o tecido epitelial e o sistema nervoso central, dependendo do tipo da toxina (ROSMANINHO et al., 2001). Há também, a possibilidade de ocorrência simultânea de duas ou mais micotoxinas, podendo ocasionar a potencialização de seus efeitos tóxicos sobre o organismo susceptível (KUBENA et al., 1995; POZZI, 2000).

Atualmente, cerca de 300 micotoxinas já foram isoladas, mas as toxinas mais comumente encontradas em alimentos e que comprovadamente têm propriedades tóxicas acentuadas, causando danos ao consumidor, que devem ser estudadas são: aflatoxinas, zearalenonas, ocratoxinas, tricotecenos, fumonisinas, patulina, T-2, deoxinivalenol (DON, que é a vomitoxina) (SCUSSEL, 1998).

De acordo com Silva (1997), a aflatoxina é extremamente tóxica e cancerígena e afeta mais os animais jovens, apresentando menor consumo de ração, diminuindo o crescimento bem como perda de peso. Em todo o mundo, ocorrem problemas com micotoxinas, devido a esses problemas, estudo feito pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, em 1997, no Brasil de 27 a 32% dos grãos estavam contaminados, na Europa 27% e nos Estados Unidos e Canadá 37%. Estima-se que aproximadamente 25% dos grãos do mundo estejam contaminados com aflatoxina, sendo a mais comumente encontrada.

Considerando-se que a presença de fungos é comum, e que pode ocorrer a contaminação dos grãos desde a lavoura até o consumo, uma boa ferramenta de controle é o uso de anti-fúngicos, que também é recomendável em rações. Em relação às micotoxinas, uma vez produzidas, resta apenas a possibilidade de reduzir

o seu impacto sobre o desempenho dos animais mediante o uso de adsorventes de toxinas.

Várias substâncias químicas têm sido testadas e utilizadas como inibidores de fungos, sendo o principal grupo destes anti-fúngicos classificado como ácidos orgânicos (PASTER, 1979; DIXON & HAMILTON, 1981). Outro método utilizado para controle de contaminação por micotoxinas é o uso de materiais inertes na dieta a fim de reduzir a absorção das aflatoxinas pelo trato gastrointestinal dos animais. As substâncias adicionadas à ração são argilas de origem vulcânica, como aluminosilicatos e as bentonitas, sendo que o composto aluminosilicato de sódio e cálcio (ASSCA) tem uma alta afinidade *in vitro* por aflatoxina B1 (SANTURIO, 1995).

O método ideal para detoxificação é aquele que além de reduzir as concentrações da toxina a níveis seguros, não gere produtos de degradação tóxicos aos animais e nem reduza o valor nutritivo dos alimentos tratados (SANTURIO, 1997).

O funcionamento dos adsorventes baseia-se no fato das toxinas se ligarem a estes produtos, através de cargas elétricas, fazendo com que as toxinas, não sejam absorvidas pelos animais, e sejam eliminadas nas fezes. Já está comprovada a eficiência para algumas espécies e fase de vida tanto para suínos e aves, entretanto, alguns ensaios foram feitos para peixes na Europa e Estados Unidos da América, mas ainda existe uma deficiência de trabalhos com espécies da ictiofauna brasileira e em especial com jundiá (*Rhamdia quelen*), o qual possui um grande potencial zootécnico na piscicultura regional e brasileira.

Portanto, o presente estudo teve como objetivo principal avaliar o efeito da aflatoxina e a ação adsortiva do aluminosilicato e da glucomanano no desempenho zootécnico dos alevinos e juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* alimentados com dietas contaminadas artificialmente com aflatoxinas.

REVISÃO DE LITERATURA

1 A espécie *Rhamdia quelen* - Jundiá

O jundiá é uma espécie nativa da região sul do Brasil, tem distribuição neotropical e é encontrado do sudeste do México ao centro da Argentina. Apresenta grande potencial para a criação intensiva, graças à sua facilidade de adaptação a ambientes confinados. Apresenta rápido crescimento e rusticidade, possui carne de

bom sabor e trata-se de uma espécie bastante promissora que vem despertando grande interesse entre os piscicultores.

A espécie *Rhamdia quelen* foi descrita por Quoy e Gaimard em 1824, entretanto, a sistemática do gênero *Rhamdia* é confusa desde o tempo em que foi descrito. Segundo Silfvergrip (1996), o gênero *Rhamdia* é formado por apenas 11 espécies, dentre as quais *Rhamdia quelen* que possui 49 sinonímias. A espécie está contida na classe: Osteichthyes, série: Teleostei, ordem: Siluriformes, família: Pimelodidae.

O jundiá é um peixe de couro, cuja cor varia de marrom-avermelhado claro a cinza, com a parte ventral do corpo mais clara. Um melhoramento genético produziu o chamado jundiá cinza, que segundo alguns criadores, apresenta melhor rendimento para a piscicultura (BALDISSEROTTO & RADÜNZ NETO, 2004). Apresentam uma longa nadadeira adiposa. Os alevinos podem suportar até 9g L⁻¹ de salinidade e um pH na faixa de 8,0 a 8,5. É considerada uma espécie euritérmica, resistindo a grandes oscilações de temperatura, embora o ideal para seu conforto térmico situe-se entre 22-28°C. Suporta níveis baixos de oxigênio dissolvido e sua reprodução ocorre em águas na faixa de temperatura de 22-25°C, coincidindo com o início da primavera (POUEY et al., 1999). Esta espécie é de fácil reprodução, apresentando altas taxas de fecundação. Uma fêmea de jundiá, em bom estado nutricional, produz em média 200.000 ovos/kg de peso vivo (RADÜNZ NETO, 1981).

O hábito alimentar do jundiá é omnívoro, com forte preferência por peixes, crustáceos e insetos. De um modo geral, são encontrados no conteúdo estomacal e intestinal, desta espécie, organismos representativos de diversas comunidades da fauna aquática e não apenas aqueles restritos à comunidade bentônica, sugerindo ser um organismo generalista na escolha do seu alimento (MEURER & ZANIBONI FILHO, 1997).

Segundo Luchini (1990), o jundiá *Rhamdia quelen*, desenvolve-se bem em águas com temperaturas de 20°C apresentando uma conversão alimentar de 1,5 a 1,8 e podendo alcançar 400g em 6 a 7 meses. Quando seu cultivo é realizado em tanques redes a produção pode chegar a 90kg/m³. Segundo Barcellos et al. (2003) num sistema de tanques escavados com densidades de 2 a 4 peixes por m² podem atingir 600 a 800g de massa corporal em apenas 8 meses. Em relação ao rendimento de carcaça, Melo et al. (1999) testaram diferentes fontes de lipídios (óleo

de colza, óleo de fígado de bacalhau e banha suína) com inclusão de 5% na dieta para juvenis em rações experimentais contendo fígado de bovino “in natura” mais levedura de cana, e obtiveram resultados de rendimento médio inicial de 82,42% e rendimentos médios finais de 80,03 a 81,56%. Este rendimento é altamente satisfatório para a espécie. Pouey et al. (1999), avaliaram componentes corporais do jundiá *Rhamdia sp* separados em quatro faixas de peso, onde obtiveram rendimentos de carcaça de 83,24 a 90,06%. A composição química da carne do jundiá pode ser considerada como de alto valor nutricional para o consumo humano quando comparada a outras espécies de peixes, tal como relatado por Melo (2000) que encontrou valores de 12,38 a 15,99% de proteína bruta e 2,17 à 12,28% de lipídios na matéria natural.

2. Mecanismos de toxicidade da Aflatoxina B1

As aflatoxinas são absorvidas no trato gastro-intestinal e biotransformadas primariamente no fígado, por enzimas microsossomais do sistema de funções oxidases mistas. Estas enzimas, pertencentes à superfamília de enzimas do citocromo P-450, constituem parte do processo de detoxificação de uma ampla variedade de xenobióticos no organismo (FORRESTER et al., 1990). A biotransformação da AFB1, em particular, tem sido pesquisada com maior atenção, uma vez que guarda estreita relação com seus mecanismos de ação tóxica. Existe atualmente consenso, entre grande número de especialistas, de que a AFB1 é, na realidade, um pró-carcinógeno, o qual requer ativação metabólica para manifestar seus efeitos tóxicos (WOGAN, 1992; HSIEH & ATKINSON, 1991; BIEHL & BUCK, 1987;). A forma ativada da AFB1 é o composto identificado como 8,9-óxido de AFB1, ou AFB1-epóxido (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. Este composto é altamente eletrofílico e capaz de reagir rapidamente, através de ligações covalentes, com sítios nucleofílicos de macromoléculas, como ácido desoxirribonucleico (DNA), ácido ribonucleico (RNA) e proteínas (BIEHL & BUCK, 1987). Estas ligações determinam a formação de aductos, os quais representam a lesão bioquímica primária produzida pelas aflatoxinas (HSIEH & ATKINSON, 1991). A AFB1-epóxido pode também ser conjugada enzimaticamente com glutathione reduzida, através de glutathione-S-transferases, constituindo importante via de detoxificação deste composto (HAYES,

1991). A ligação da AFB1-epóxido com o DNA modifica a sua estrutura e, conseqüentemente, sua atividade biológica, originando assim os mecanismos básicos dos efeitos mutagênicos e carcinogênicos da AFB1. A formação de aductos ocorre através da ligação com guaninas da molécula de DNA, na posição N7, ao nível do códon 249, do gene supressor de tumores p53 (HSIEH & ATKINSON, 1991). A ocorrência deste tipo de alteração é característica de vários carcinomas no homem, sobretudo o hepático (BRESSAC et al., 1991; HARRIS, 1991; PUISIEUX et al., 1991). Estudos efetuados em fígados de ratos demonstraram que os aductos AFB1-N7-guanina podem ser retirados após a sua formação, deixando sítios apurínicos na molécula de DNA (HSIEH & ATKINSON, 1991). Os sítios vagos tendem a ser preenchidos com adenina, resultando em transversão de guanina para timina, o que origina um ponto de mutação bastante significativo (AGUILLAR et al., 1993). Os aductos de DNA, depois de sofrerem depurinação espontânea, podem ser conjugados e excretados, sobretudo através da urina. O processo de carcinogênese, fundamentado em trabalhos experimentais, envolve, geralmente, duas fases distintas, a iniciação e a promoção do câncer. A fase de iniciação é resultante de alterações mutagênicas nas células, ao passo que a de promoção relaciona-se com a expressão fenotípica das modificações ocorridas na primeira fase (HARRIS, 1991; KALDOR & BOSCH, 1991). Neste contexto, as mutações determinadas pelas aflatoxinas representam alterações genéticas permanentes nas células afetadas, o que possibilita a iniciação do processo cancerígeno (HSIEH & ATKINSON, 1991).

Os aductos de RNA e de proteínas determinam lesões bioquímicas, as quais devem, provavelmente, estar envolvidas com os mecanismos de toxicidade aguda da AFB1, dado que conduzem à morte celular pela inativação de macromoléculas essenciais às células (HSIEH & ATKINSON, 1991). A formação destes aductos inicia-se com a hidrólise da AFB1-epóxido para produzir 8,9-dihidro-8, 9-dihidroxi-B1 (ou B1-diol), o qual reage com amino-grupos primários de proteínas, originando bases de Schiff. Os principais aductos de proteínas são formados com albumina, durante a sua síntese nos hepatócitos (BUSBY & WOGAN, 1984). Além da epoxidação, a biotransformação primária da AFB1 inclui a hidroxilação, para formar as aflatoxinas M1, Q1 e B2a; e, O-demetilação, para formar aflatoxina P1. Todos estes compostos contêm o grupo hidroxila na molécula, o que permite a conjugação com ácido glicurônico ou sulfatos. Conseqüentemente, são bastante solúveis em água, possibilitando sua rápida excreção através da urina ou bile e, em seguida, nas

fezes (BIEHL & BUCK, 1987). Este fato sugere que a formação destes derivados pode constituir parte do processo de detoxificação da AFB1, embora alguns produtos, como a aflatoxina M1, apresentem, também, toxicidade apreciável em modelos experimentais (HSIEH & ATKINSON, 1991).

Diversos autores consideram que a potência dos efeitos da AFB1, bem como de seus derivados, sobre células ou organismos, depende, entre outros fatores, do balanço integrado entre as múltiplas vias, tanto de ativação metabólica, quanto de detoxificação (MCLEAN & DUTTON, 1995; MASSEY et al., 1995; FORRESTER et al., 1990;). Os padrões de biotransformação da AFB1 variam consideravelmente entre as espécies animais e, mesmo entre indivíduos da mesma espécie, o que poderia justificar os diferentes graus de susceptibilidade à AFB1 observados em cada uma delas.

3 Fatores que interferem na produção de micotoxinas

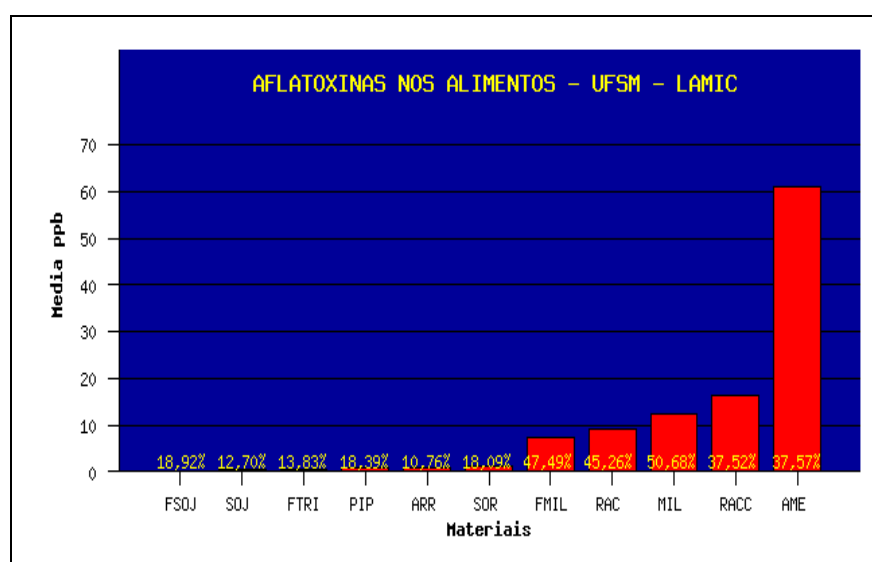
O crescimento fúngico e formação de micotoxinas são dependentes de uma série de fatores, como a umidade, temperatura, presença de oxigênio, tempo para o crescimento fúngico, constituição do substrato, lesões à integridade dos grãos causados por insetos ou dano mecânico/térmico, quantidade de inóculo fúngico, bem como a interação/competição entre as linhagens fúngicas. As características genéticas representam um fator cada vez mais decisivo na solução do problema. Esta gama de fatores demonstra que o controle dos mesmos, no sentido de prevenção, muitas vezes se torna muito difícil em nossas condições tropicais. Por exemplo, as condições climáticas brasileiras no período de colheita dos cereais, em função do regime pluviométrico, não favorecem a secagem dos grãos, especialmente do milho (MALLMANN et al., 2006).

Os sistemas de secagem e armazenagem instalados também contribuem para a evolução do problema em nossas condições. As temperaturas da massa de grãos no interior dos silos, em muitas situações, ultrapassam os 18°C recomendados permitindo um crescimento fúngico intenso, especialmente pela deficiente aeração forçada da maioria das unidades armazenadoras, que mesmo existindo, pelo excesso e má distribuição das impurezas não são efetivas no controle dos pontos de calor dentro do silo. Esta e muitas outras razões proporcionam alta prevalência de micotoxinas como as aflatoxinas como contaminantes rotineiros dos

cereais no Brasil e em países de clima similar (TRISTAN, 2005; MALLMANN et al., 2006).

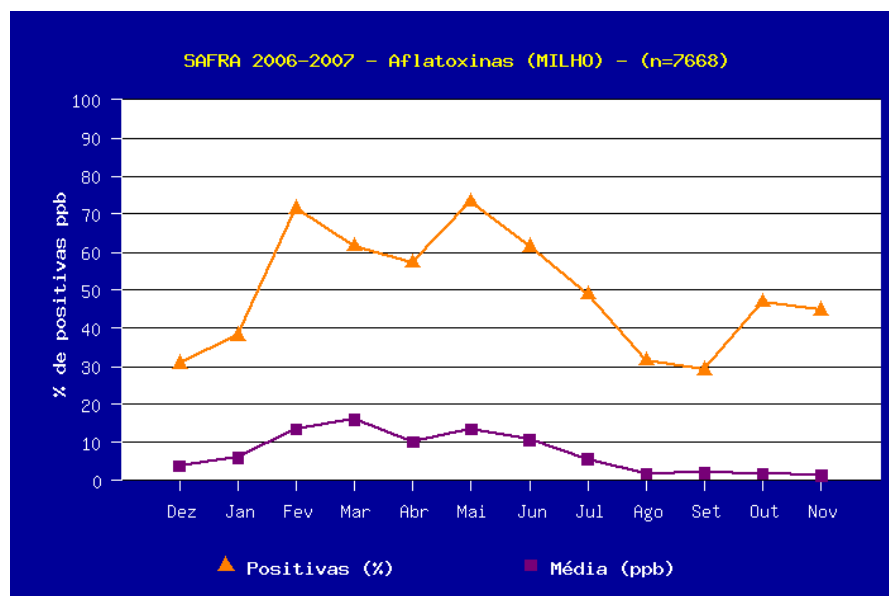
4 Ocorrências das aflatoxinas na natureza

Frequentemente têm-se observado a ocorrência natural de aflatoxinas nos alimentos destinados para consumo humano e animal, como amendoim e derivados, milho, feijão e rações. Geralmente, a microbiota fúngica que predomina nesses produtos, inclui os fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, que englobam as principais espécies de fungos toxigênicos em alimentos (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). Na figura 1, pode-se observar os níveis de ocorrência de aflatoxinas encontrados em ingredientes para rações e nas rações prontas, dados esses obtidos no Laboratório de Análise Micotoxicológicas (LAMIC) da Universidade Federal de Santa Maria-RS. Através desses resultados pode-se observar um alto percentual de amostras positivas, principalmente em rações prontas, descrevendo-se valores de 10,76 a 50,68% para esses produtos (Fig. 2). As concentrações médias de aflatoxinas no milho e em rações tiveram bastante variabilidade, mas foram relatados níveis de 5 a 18µg/kg, de acordo com Sabino (1980), sendo, portanto, potencialmente capazes de causar efeitos negativos na produtividade da maioria das espécies exploradas na avicultura.



Fonte: LAMIC, 2008.

Figura 1- Percentual de aflatoxinas nos ingredientes e na ração animal, a positividade das amostras analisadas e a média de aflatoxinas



Fonte: LAMIC, 2008.

Figura 2 - Índice de aflatoxinas média no milho no ano de 2007 e a positividade das amostras analisadas

Deve-se levar em consideração ainda, que a concentração das aflatoxinas tem a tendência de aumentar ao longo da cadeia de produção e comercialização das rações. Em trabalho de pesquisa, Jones et al. (1982), fizeram análises da matéria-prima, da ração produzida na fábrica e, posteriormente, da mesma ração armazenada nos aviários, encontrando médias de contaminação de 1,2; 6,0 e 8,8µg/kg de aflatoxinas. Neste mesmo experimento, os autores observaram elevada correlação entre o tempo de permanência da ração nos aviários com a frequência e o nível de aflatoxinas encontrados. Também observaram que as ótimas condições encontradas para a produção de aflatoxinas nas rações contidas nos aviários, ocorriam com umidade relativa do ar na faixa de 70 a 89% e temperatura ambiente entre 19 e 27°C.

5 Medidas de controle para micotoxinas

Com a certeza da toxidez das micotoxinas, existe a necessidade de prevenir a contaminação dos alimentos por parte dos fungos toxigênicos e controlar o crescimento já na manipulação do micro-ambiente que se encontra o alimento. Certamente, o melhor método para se controlar a contaminação de micotoxinas em

alimentos é prevenir o crescimento de fungos. É importante que seja feito o uso de práticas, como o plantio de variedades resistentes à contaminação por fungos do gênero *Aspergillus*, além da proteção dos grãos ao ataque de insetos, como carunchos e gorgulhos. Também é essencial que sejam realizados todos os procedimentos para a diminuição da umidade dos grãos colhidos e a armazenagem dentro dos padrões ideais. Como método preventivo, tem sido utilizado inibidores de crescimento fúngicos em grãos armazenados (SANTURIO, 1995).

Outros métodos de controle são utilizados para que a redução da concentração de micotoxinas possa estar em níveis seguros e com a utilização de produtos de degradação não tóxicos, sem que estes processos promovam a diminuição do valor nutritivo dos alimentos descontaminados (MALLMANN, et al., 2006).

Os métodos para controle das micotoxinas podem ser classificados dentro de duas categorias principais:

a) Prevenção da contaminação e do crescimento fúngico:

A prevenção da contaminação por fungos toxigênicos e seu crescimento, pode ser controlada por alguns dos seguintes métodos:

- Melhora das praticas agrícolas;
- Utilização de agentes antifúngicos;
- Engenharia genética e Controle das condições de armazenamento.

b) Detoxificação dos compostos tóxicos produzidos pelos fungos:

O melhor método para controlar a contaminação por micotoxinas dos alimentos é a prevenção, porém quando o produto já esta contaminado e vai ser usado como alimento, é necessário eliminar ou diminuir esta contaminação.

A descontaminação após a produção de micotoxinas refere-se ao tratamento pós-colheita para remover, destruir ou reduzir o efeito tóxico. É difícil impedir a formação de micotoxinas no campo ou na estocagem, entretanto, o monitoramento poderia impedir que as micotoxinas se tornassem uma significativa fonte de riscos à saúde, pois o conhecimento da contaminação permitiria a adoção de medidas estratégicas para minimizar o risco (MALLMANN et al., 2006).

A F.A.O. instituiu uma série de critérios para determinar se o processo de descontaminação pode ser aceito, o qual deve seguir os passos abaixo descritos:

- Destruir, inativar ou eliminar a toxina;

- Não produzir resíduos tóxicos ou carcinogênicos nos produtos finais nem em alimentos obtidos a partir de animais que se alimentaram de uma dieta detoxificada;
- Manter o valor nutritivo e a aceitabilidade do produto, e;
- Destruir todos os esporos e micélios fúngicos para que não possam, em condições favoráveis, proliferar e produzir novas micotoxinas.

6 Métodos de descontaminação

6.1 Métodos físicos

Métodos físicos incluem moagem, que tem apresentado sucesso para deoxinivalenol, e separação por densidade, que em alguns casos reduziu os níveis de tricotecenos e zearalenona. O beneficiamento de grãos vem demonstrando ser capaz de reduzir os níveis tanto fúngicos como de micotoxina, sendo esta redução dependente da espécie fúngica e tipo de toxina (TRISTAN, 2005; MALLMANN et al., 2006).

6.2 Métodos químicos

É a detoxificação de produtos contaminados por inativação através de reações químicas, alta pressão ou extração, usando um solvente orgânico ou uma combinação destes. A degradação de aflatoxinas também pode ocorrer, durante o processamento dos alimentos e pelo uso de aditivos, os quais são compostos relativamente seguros em certos níveis utilizados. A utilização de amônia para descontaminação de produtos agrícolas contaminados por aflatoxinas, têm se demonstrado muito eficiente. É importante evidenciar que micotoxinas existem juntamente com outros compostos em alimentos e rações, que podem interagir entre si, influenciando na sua toxicidade, sendo este efeito favorecido pelo aquecimento (SANTURIO, 1995; MALLMANN et al., 2006).

6.3 Métodos microbiológicos

Outra forma de descontaminação é o processo fermentativo. Durante o processo fermentativo utilizado na produção de pães a partir de grãos de trigo contaminados com deoxinivalenol, são relatadas uma redução dos níveis atribuída à fermentação e ao processo térmico ao qual o produto quando submetido. Esta

descontaminação ocorreu devido à possibilidade da levedura adsorver as toxinas presentes, reduzindo a contaminação.

7 Utilização de adsorventes no sistema de produção animal

O sistema ideal para detoxificar as rações animais deve levar em consideração não somente a redução das micotoxinas, mas também que a substância empregada não cause produtos de degradação tóxica nem tampouco, reduza o valor nutritivo dos alimentos tratados. Com o crescente problema da contaminação por micotoxinas, a adição na dieta de compostos adsorventes nutricionalmente inertes tem sido uma importante ferramenta. Na indústria de alimentação animal, o emprego de argilas selecionadas e processadas está sendo a cada dia mais utilizado para o seqüestro das micotoxinas, com o objetivo de reduzir a absorção das mesmas pelo trato gastrointestinal de aves e suínos.

8 Critérios para seleção de adsorvente

Segundo Mallmann et al. (2006) são considerados dois os critérios para que um produto seja selecionado como adsorvente de micotoxinas do ponto de vista técnico: os resultados de avaliações *in vitro* e *in vivo*. Entretanto, para que um produto seja liberado para comercialização no Brasil, este deve ser devidamente registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). O registro somente é obtido após a realização de uma avaliação *in vivo* do produto que demonstre o seu funcionamento. Para manutenção do registro, é necessário apresentar, anualmente, um laudo de avaliação *in vitro* com resultado satisfatório. Tanto as avaliações *in vivo* como *in vitro* devem ser realizadas em laboratório credenciado pelo MAPA.

8.1 Avaliação *in vitro*

As avaliações *in vitro* de um adsorvente têm por objetivo principal, determinar a capacidade que tal produto tem de adsorver as micotoxinas presentes em um meio líquido e torná-la indisponível. As primeiras metodologias descritas para estes estudos foram desenvolvidas há praticamente 20 anos (PHILLIPS et al., 1988) e utilizavam como veículo para a aflatoxina, uma solução hidroalcoólica. Atualmente, muito se utiliza destas metodologias, no entanto, no organismo animal, o adsorvente

é submetido a situações que não estão presentes em ensaios com solução hidroalcoólica, como variações no pH e presença de enzimas e outras substâncias.

8.2 Avaliação *in vivo*

Para avaliação *in vivo* de um adsorvente, devem-se seguir alguns critérios. O LAMIC possui um protocolo experimental padrão, que é constituído de dois tratamentos controles, um para a micotoxina utilizada e outro para o produto testado, um tratamento livre de micotoxinas e adsorvente (branco) e um tratamento com a micotoxina e o adsorvente testado de acordo com as doses preconizadas. Conforme a necessidade pode-se acrescentar mais tratamentos com diferentes concentrações da micotoxina e adsorvente. Normalmente os parâmetros avaliados são: ganho de peso, conversão alimentar, consumo e peso relativo de órgãos. O período mínimo utilizado para testes com aves é de 21 dias e suínos 28 dias. Outro critério a ser observado é a inocuidade do adsorvente, que deverá apresentar resultado igual ao do grupo controle.

9 Ação dos adsorventes

O método ideal para detoxificação é aquele que além de reduzir as concentrações da toxina a níveis seguros, não gere produtos de degradação tóxicos aos animais e nem reduza o valor nutritivo dos alimentos tratados. Poderiam ser usados adsorventes inertes na dieta, com o objetivo de se reduzir a absorção de aflatoxinas pelo trato intestinal dos animais. Os compostos de aluminossilicato de sódio e cálcio (ASSCA) na concentração de 0,5% na ração têm apresentado um resultado significativo na diminuição dos efeitos adversos de aflatoxinas em galinhas, perus e suínos (KRABE, 2004). Diversos experimentos demonstraram também, que a bentonita sódica é um ótimo adsorvente para aflatoxinas em frangos de corte, da mesma maneira que as ASSCA (SANTURIO, 1997).

Existem adsorventes que são o resultado de uma formulação composta de glucomananas esterificadas extraídas da parede celular de culturas de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026). Estudos relataram a capacidade destes de reduzir significativamente as perdas da produção (ganho de peso, peso corporal, eficiência alimentar) e do sistema imunológico (produção de enzimas e proteínas séricas, produção de anticorpos) que ocorrem devido ao uso de rações

contaminadas com aflatoxinas, quando usados como aditivos com suplementação de 0,05 ou 0,10% (LYONS & JACQUES, 1997).

Segundo Shane (1999), as glucomananos esterificadas são capazes de ligar-se de maneira eficiente a diversas micotoxinas, como aflatoxina, fumonisina e zearalenona, sendo que a ligação com toxina T-2, ocratoxina e citrinina é moderada. A inclusão de 0,05 a 0,10% em ração para aves contaminada de 20 a 200 µg/kg de aflatoxina é capaz de restaurar o ganho de peso.

É importante ressaltar que quase todas as argilas apresentam somente cargas negativas, por isso são polares. Entre as argilas deste tipo se encontram as montmorilonitas: esmectitas, bentonitas além das zeolitas. Tendo a aflatoxina uma forte carga positiva, esta pode ser adsorvida pela argila polar. A capacidade de intercâmbio catiônico é dada em miliequivalentes (meq). A classificação básica das argilas pode ser dividida em caolinitas 0 a 20meq; as ilitas e cloritas de 20 a 60meq; e as bentonitas e zeolitas de 60 a 120meq ou mais. Quanto maior a capacidade de intercâmbio catiônico mais substituições isomórficas (cargas negativas). Isto indica que com as argilas de mais de 60 meq a expansão interlamilar é maior porque se reduz a área de superfície de adsorção devido ao grande deslocamento dos cátions interlaminares que faz com que a adsorção e/ou absorção ocorra dentro dos espaços interlaminares e não na superfície da argila (bentonitas e zeolitas).

As argilas com pH ácido fazem com que a maior parte da adsorção se efetue no intestino grosso. Enquanto que com as argilas com pH alcalino, no intestino delgado, onde se efetua a maior parte da adsorção das micotoxinas, de forma que se capture a micotoxina antes que chegue à corrente sanguínea.

10 Efeitos das aflatoxinas nos animais

A ocorrência de micotoxicoses nos animais de criação e dentre elas as aflatoxicoses é um reflexo do sistema produtivo adotado atualmente pelos produtores. Quanto mais avançado o sistema de produção, em maior quantidade se fará a utilização de alimentos concentrados, formulados à base de grãos, o que amplia a possibilidade de intoxicação por micotoxinas nos animais de criação (HYGINO DA CRUZ, 1996; MOREIRA, 2000).

As aflatoxinas têm uma ampla distribuição entre os produtos agrícolas, representando, portanto um sério risco à saúde humana e animal. Dependendo da sua concentração podem produzir nos animais efeitos agudos apresentando

sintomatologia clínica e/ou alterações patológicas características ou efeitos crônicos, onde a identificação dos sintomas é mais difícil, porque não apresenta um quadro sintomatológico típico, mas evidentes reflexos negativos na saúde animal, com significativas perdas econômicas.

Porém, os efeitos mais comumente observados em intoxicações por aflatoxinas são as diminuições da velocidade do crescimento e a eficiência alimentar, causadas pela redução do metabolismo protéico e absorção de gorduras. Esta influência negativa sobre a produtividade animal é devido à interferência que as aflatoxinas têm sobre diversos sistemas enzimáticos (amilase, pancrease, tripsina, lipase, RNase, DNase), interferindo na digestão de amidos, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Bastante significativo do ponto de vista econômico, porém menos evidente, são as perdas por intoxicações crônicas, tendo como causa baixos níveis de toxinas na ração. Mesmo a níveis baixos as aflatoxinas interferem na resposta imune, o que torna os animais mais susceptíveis às doenças infecciosas e parasitárias, ocasionando também falhas na resposta às vacinações (DILKIN, 2002).

Efeitos patológicos adversos são observados nos animais intoxicados, pois as aflatoxinas causam lesões em diversos sistemas orgânicos. Os sais biliares que têm a função de atuar como redutores da tensão superficial, possibilitando a atividade das lipases no intestino, têm sua produção pelo fígado reduzida pela ação das aflatoxinas. Verificando-se devido a isso, uma importante redução na absorção de gorduras e como consequência uma redução no processo de absorção de vitaminas lipossolúveis (OPAS, 1983).

Ocorrendo uma redução na função de detoxificação de toxinas e drogas, exercida pelo fígado. Provoca uma considerável redução na produção de proteínas plasmáticas, influenciando sobre a produção de hemoglobinas, sobre o mecanismo de coagulação sanguínea e sobre a síntese de importantes sistemas enzimáticos que, associado ao aumento da fragilidade capilar, provoca hemorragias generalizadas. Como principais sinais clínicos verificados em animais intoxicados por aflatoxinas tem-se anorexia, redução do ganho de peso, hemorragias, má qualidade de carcaças, embriotoxicidade e teratogenia (HYGINO DA CRUZ, 1996; MOREIRA, 2000).

Conforme Dilkin (2002), a micotoxicose crônica é mais freqüente e ocorre quando existe um consumo de doses moderadas a baixas. Nestes casos, os animais

apresentam um quadro caracterizado pela redução de eficiência reprodutiva, diminuição da conversão alimentar, da taxa de crescimento e do ganho de peso.

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 e 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).

10.1 Peixes em experimentação zootécnica

Segundo Halver (1988) estudando truta arco-íris, animais 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.

Carlson et al. (2001) estudaram o comportamento de truta arco-íris em laboratório, alimentadas com uma dieta contendo 104ppm de *Fusarium moniliforme* (FB1) num total de 34 semanas. Os peixes apresentaram crescimento e baixa mortalidade, entretanto não foram observados tumores em qualquer tecido. Ao final observaram aparecimento de lesões no fígado ao incluir aflatoxina B1 na dieta dos peixes. Alimentos contaminados com o fungo *Aspergillus flavus* são as maiores causas de hepatomas no fígado de truta arco-íris segundo Wolf e Jackson (1963).

O efeito da aflatoxina em peixes foi avaliado por Jantrarotai e Lovell (1991) quando encontraram lesões no fígado e no rim do *catfish* (*Ictalurus punctatus*) alimentados com uma dieta com concentração de 10mg/kg de aflatoxina B₁ por 10 semanas, o que ocasionou a redução da taxa de crescimento e hematócrito, mas não ocorreu mortalidade. O *catfish* apresenta relativa resistência à toxicidade aguda de AFB1. Esse resultado indica a variabilidade na sensibilidade dos peixes à toxicidade aguda de aflatoxina B1. Concentrações menores, para algumas espécies como *catfish* e o salmão exposto a doses moderadas podem causar mortalidade bem como a sua susceptibilidade a toxidez relativa (HALVER, 1988).

Tuan et al. (2002) investigaram a resposta a diferentes níveis de concentração de aflatoxina B₁, em condições de laboratório, usando alevinos de

tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) observaram que no tratamento com 100mg de AFB1/kg na dieta ocorreu a maior mortalidade e reduzido ganho de peso em relação ao tratamento controle.

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 observou-se 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 e Mukherjee (2001), utilizaram diferentes níveis de AFB1 injetados intraperitonealmente (i.p) em alevinos (30 ± 5 g), observados por um período de 90 dias. Apresentaram resistência a AFB1 em dose igual ou mais baixa do que 1,25mg de toxina por kg de peso corporal e que doses superiores são prejudiciais aos peixes.

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

Aranas et al. (2002) estudaram o efeito da aflatoxina B1 sobre o crescimento de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), alimentados com ração comercial com 80ppb 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.

O efeito da inclusão de aflatoxina na dieta de alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) foi avaliado por Chávez-Sánchez et al. (1994) que observaram durante os primeiros 25 dias, uma diminuição no consumo alimentar,

sendo mais marcante durante nos 8 dias nas dietas 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 ($P < 0,01$). Portanto, os autores concluíram 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.

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 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 (*Oreochromis niloticus*), alimentados com uma dieta contaminada com aflatoxina (isoprotréica com 40% de proteína bruta e isoenergética com $15,1 \text{ kJ g}^{-1}$), não apresentaram anormalidade morfológica e não ocorreu 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 $75 \mu\text{g/kg}$ e $100 \mu\text{g/kg}$ de AF na dieta, não demonstrando nenhuma diferença entre os tratamentos contaminados (LIM et al., 2001).

Troxel et al. (1997) que trabalharam com adultos de zebrafish (*Danio rerio*) onde testaram as seguintes dosagens: 0, 50, 100, 200 e $400 \mu\text{g/kg}$ AFB1 de peso vivo, concluíram que estes podem metabolizar rapidamente e excretar AFB1 após injeção intraperitoneal.

Segundo relatos de Wogan (1992) a dose efetiva de AFB1 ingerida para a indução de tumores hepáticos varia amplamente entre as espécies, de modo similar ao que ocorre em relação a toxicidade aguda em peixes, as aves também são extremamente sensíveis e a dose efetiva para a indução de hepatomas situa-se entre $10\text{-}30 \mu\text{g/kg}$ de AFB1 na dieta.

Lopes et al. (2005) observaram que a inclusão de 90,2 e 203,85ppb de aflatoxinas na dieta para alevinos de jundiá *Rhamdia quelen*, apresentaram resíduo de AFB1 na carcaça de 1 e 6,1ppb AFB1, respectivamente. Também foi observada diminuição no ganho de peso no tratamento que continha 203,85ppb AFB1 ($P < 0,05$),

sendo que as inclusões de AF não influenciaram no rendimento de carcaça dos alevinos.

Ellis et al. (2000), avaliaram a redução da AFB1 em alimentos para truta arco-íris contendo 2% de bentonita sódica. Os animais foram tratados com diferentes dietas (uma dieta contendo aflatoxinas e 2% de bentonita sódica e outra dieta contendo somente aflatoxinas). Após o experimento foi observada uma significativa diminuição nos níveis de contaminação por AFB1 abaixo de 20ppb/kg, nos grupos onde os animais foram alimentados com dieta contendo 2% de bentonita sódica.

11 Parâmetros sanguíneos em peixes experimentais

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 a 1,15g/dL e 26,50 a 17,00%, respectivamente.

De acordo com Vieira et al. (2005) que trabalharam com alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) também observaram valores semelhantes para taxa de hematócrito para o tratamento controle de 24,51% e 8,2g/dL para hemoglobina, porem, quando os tratamentos receberam níveis diferentes de aflatoxinas (41, 90 e 204ppb/AF/kg) apresentaram menor desempenho médio de 11,16% para hematócrito e 3,5g/dL para hemoglobina, o qual demonstra ação negativa sobre os parâmetros hematológicos.

TAVARES-DIAS et al. (2000a) estudaram as variáveis hematológicas e o fator de condição do piauçu (*Leporinus macrocephalus*) criado em cativeiro. E observaram os seguintes valores médios e desvio padrão: $1,00 \pm 0,03$; $9,4 \pm 2,6$ g/dL; $34,1 \pm 6,8\%$, 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 ($1,00 \pm 0,18$), hemoglobina ($9,3 \pm 3,4$ g/dL) e hematócrito ($28,6 \pm 7,3\%$).

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: $7,3 \pm 4,0 \text{ g/dL}$ e $29,2 \pm 6,9\%$, 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, estágio de maturação gonadal, estado nutricional e doenças (TAVARES-DIAS & MORAES, 2003).

De acordo com TAVARES-DIAS et al. (1999a) os parâmetros sanguíneos do matrinxã (*Brycon cephalus*) criado em tanques medindo 200 m^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: $10,9 \pm 1,2 \text{ g/dL}$; $39,0 \pm 8,7\%$, 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 piaçu (*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: Piaçu: HB $7,4 \pm 1,2 \text{ g/dL}$; HT $36,3 \pm 11,1\%$; FC $1,0 \pm 0,1$ e para Pacu: HB $9,1 \pm 2,2 \text{ g/dL}$; HT $30,0 \pm 5,8\%$; FC $0,99 \pm 0,08$.

12 Legislação

12.1 Brasil – alimentos para consumo humano

Ministério da Saúde: Resolução RDC nº 274, da ANVISA, de 15 de outubro de 2002, publicada no Diário Oficial da União, de 16/10/2002:

- Amendoim (com casca, descascado, cru ou tostado), pasta de amendoim (pasta de amendoim ou manteiga de amendoim): aflatoxinas B1+B2+G1+G2 = $20 \mu\text{g/kg}$.

- Milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído, farinhas e sêmolos): aflatoxinas B1+B2+G1+G2 = $20 \mu\text{g/kg}$.

- Leite fluido: aflatoxina M1 = 0,5µg/L.
- Leite em pó: aflatoxina M1 = 5,0µg/L.

Ministério da Agricultura Portaria MAARA nº 183 de 21 de março de 1996, publicada no diário Oficial da União de 25 de março de 1996, Seção I, página 4929: aflatoxinas B1+B2+G1+G2 = 20µg/kg.

Obs: esta portaria tornou internas as normas do MERCOSUL GMC/RES. Nº 56/94.

12. 2 Alimentos para consumo animal: matérias-primas e rações

Ministério da Agricultura Portaria MA/SNAD/ SFA nº 07, de 09/11/1988, publicada no Diário Oficial da União em 09 de novembro de 1988, Seção I, página 21.968, 1988:

Para qualquer matéria-prima utilizada diretamente ou como ingrediente para rações destinadas ao consumo animal: aflatoxinas (máximo) = 50µg/kg.

Obs: O MA não especifica quais metabólitos, mas deduz-se que seja a somatória de B1+B2+G1+G2. O limite é válido para todo e qualquer produto, seja para alimentação direta ou como ingrediente para rações.

12.3 Mercosul

Legislação comum a todos os integrantes - GMC RES/ nº 56/94:

- Leite fluido: aflatoxina M1 = 0,5µg/L
- Leite em pó aflatoxina M1 = 5,0µg/L
- Milho em grão: aflatoxinas B1+B2+G1+G2 = 20µg/kg.
- Farelo de milho: aflatoxinas B1+B2+G1+G2 = 20µg/kg.
- Amendoim em casca e descascado, cru ou torrado: aflatoxinas B1+B2+G1+G2 = 20µg/kg.
- Pastas, cremes e manteiga de amendoim: aflatoxinas B1+B2+G1+G2 = 20µg/kg.

Fonte: Fonseca (2003).

LITERATURA CONSULTADA

AGUILLAR, F.; HUSSAIN, S. P.; CERUTTI, P. Aflatoxin B 1 induces the transversion of G-T in códon 249 of the p53 tumor suppressor gene in human hepatocytes. **Proc. Naional Academic Scenci.**, v. 90, p. 8586-8590, 1993.

ARANA, S.; TABATA, S.; SABINO, M.; RIGOLINO, M. G.; HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F. J. 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.

BARCELOS, L.J.G.; KREUTZ, L.C.; RODRIGUES, L.B.; FIOREZE, I.; QUEVEDO, R.M.; CERICATO, L.; CONRAD, J.; SOSO, A. B.; FAGUNDES, M.; LACERDA, L. A.; TERRA, S. Hematological and biochemical characteristics of male jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard *Pimelodidae*) changes after acute stress. **Aquaculture Research**, v 34, p. 1465-1469, 2003.

BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundiá**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2004. 232p.

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

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.

BRESSAC, B.; KEW, M.; WANDS, J.; OZTURK, M. Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. **Nature**, v. 350, p 429-431, 1991.

BUSBY, W.F.; WOGAN, G.N. Aflatoxins. In: Searle, C.E., ed. *Chemical carcinogens*. 2nd ed. Washington, **American Chemical Society**, v.2, p.945-1136, 1984.

CARLSON, D. B.; WILLIAMS, D. E.; SPITSBERGEN, J. M.;ROSS, P. F.; BACON, C. W.; MEREDITH, F. I.; RILEY, R. T. 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.

CONROY, G. Alteraciones asociadas con dos alimentos comerciales en tetrahíbridos de tilapia roja cultivados en Venezuela. ASOCIACION AMERICANA DE SOYA. **Boletín Informativo**. Caracas-Venezuela, 2000. 33p.

COULOMBE, R. A. Aflatoxins. In: SHARMA, R.P.; SALUNKHE, D.H. **Mycotoxins and phytoalexins**. Ed.Boca Raton: CRC Press, 1991. p. 103-143.

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

CHU, F. S. Mycotoxins: food contamination, mechanism, carcinogenic potential and preventive measures. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 259: p. 291-306, 1991.

DE TOLEDO, G. P.; SANTURIO, J. M.; WALDROW, N. C. A.; FERRUFINO, R. M. 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.

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

DIXON, R. C.; HAMILTON, P. B. Evaluation of some organic acids as mold inhibitors by measuring CO₂ production from feed and ingredients. **Poultry Science**, Champaign, v. 60, p. 2183-2188, 1981.

ELLIS, R. W.; CLEMENTS, M.; TIBBETTS, A.; WINFREE, R. Reduction of the bioavailability of 20µg/kg aflatoxin in trout feed containing clay. **Aquaculture**. v. 183, p. 179-188, 2000.

FITZPATRICK. D. W. Mycotoxins in the food chain: nutritional and toxicological considerations. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, Ottawa, v. 68, p. 979-981, 1990.

FORRESTER, L.M.; NEAL, G.E.; JUDAH, D.J.; GLANCEY, M.J.; WOLF, C.R. Evidence for involvement of multiple forms of cytochrome P-450 in aflatoxin B 1 metabolism in human liver. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 87, p 8306- 8310, 1990.

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

HARRIS, C. C. Chemical and physical carcinogenesis: advances and erspectives for the 1991. **Cancer Research**, v.51(Suppl.), p.5023-5044, 1991.

HAYES, J. D.; JUDAH, D. J.; MCLELLAN, L. I.; NEAL, G. E. Contribution of the glutathione-S-transferases to the mechanisms of resistance to aflatoxin B 1. **Pharmacol. Ther.**, v 50, p 443-472, 1991.

HSIEH, D. P. H.; ATKINSON, D. N. Bisfuranoid mycotoxins: their genotoxicity and carcinogenicity. **Adv. Exp. Med. Biol.**,v. 283, p 525-532, 1991.

HYGINO DA CRUZ, L. C. Micotoxinas: são tão importantes? In: **Micotoxinas: perspectiva latino-americana: seropédica**. UFRJ, 1996. p. 1-12.

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

JONES, F. T.; HAGLER, W. H.; HAMILTON, P. B. Association of low levels of aflatoxin in feed with productivity losses in broiler operations. **Poultry Science**, Champaign, v. 61, p. 861-868, 1982.

KALDOR, J. M.; BOSCH, F. X. Multistage theory of carcinogenesis: the epidemiological evidence for liver cancer. **Bull. Cancer**, v.14, p.163-174, 1991.

KUBENA, L. F.; EDRINGSTON, T. S.; KAMPS-HOLTZAPPLE; HARVEY, R. B.; ELISSALDE, M. H. ROTTINGHAUS, G. E. Effects of feeding fumonisin B1 present in *Fusarium moniliforme* culture material and aflatoxin singly and in combination to turkey poult. **Poultry Science**, Champaign v. 74, p. 1295-1303, 1995.

LAZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2. ed. Curitiba: 148p. 1997.

LIM, H. A.; NG, W. K.; LIM, S. L.; IBRAHIM, C. O. Contamination of palm kernel meal with *Aspergillus flavus* its nutritive value in pelleted feed for tilapia, *Oreochromis mossambicus*. **Aquaculture Research**, v. 32, n.11, p. 895-905, 2001.

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

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

LOPES, P. R. S.; RADÜNZ NETO, J.; MALLMANN, C. A.; LAZARI, R.; PEDRON, F. A.; VAIVERBERG, C. A. Crescimento e alterações no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá alimentados com dietas com aflatoxinas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.10, p.1029-1034, out. 2005.

LYONS, T. P.; JACQUES, K. A. Biotechnology in the feed industry. In: ALLTECH'S SYMPOSIUM, Nottingham. **Proceedings...** Nottingham, 1997. p. 205-215.

MALLMANN, C. A.; GIACOMINI, L. Z.; RAUBER, H. R.; PEREIRA, C. E.; Micotoxinas em Ingredientes para Alimento Balanceado de Aves. In: XX Congresso Latinoamericano de Avicultura, Brasil, 2007, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 2007, p.191-204

MASSEY, T. E.; STEWART, R. K.; DANIELS, J.M.; LIU, L. Biochemical and molecular aspects of mammalian susceptibility to aflatoxin B 1 carcinogenicity. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 208, p 213-227, 1995.

McLEAN, M.; DUTTON, M.F. Cellular interactions and metabolism of aflatoxin: an update. **Pharmacol. Ther.**, . 65, p 163-192, 1995.

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.

MELO, J.F., RADÜNZ NETO, J.R., DA SILVA, J.H.S. Estudos preliminares sobre a utilização de diferentes fontes de lipídios na dieta para o jundiá *Rhamdia quelen* dos 21 aos 45 gramas de peso vivo. In: XXXVI Reunião Anual da Soc. Bras. de Zoot. **Anais...**, Porto Alegre-RS. p.317, 1999.

MEURER, S., ZANIBONI FILHO, E. Hábito alimentar do jundiá *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae, Siluriforme), na Região do Alto do Rio Uruguai . In: XII Encontro Brasileiro de Ictiologia. **Anais...**, São Paulo -SP. p.29, 1997.

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

MOREIRA, J. **Efeito do selênio e aflatoxinas sobre o desempenho e a atividade de oxidase e transferase em frangos de corte normais e ascíticos**. Lavras, 2000. 110 p. (Dissertação) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Lavras.

OPAS - ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Micotoxinas**. Washington, 1983. p.125-135. (Critérios de Salud ambiental, 11).

PASTER, N. A commercial scale study of the efficiency of propionic acid and calcium propionate as fungistats in poultry feeds. **Poultry Science**, Champaign, v. 58, p. 572-576, 1979.

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.; BLAZER, V. S.; WILSON, G. L. 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.

POUEY, J.L.O., MIOTTO, H.C., KUNZ, T.L. Principais componentes corporais do jundiá *Rhamdia sp* cultivado na densidade de um peixe/m² e dividido em quatro faixas de peso. In XXXVI Reunião Anual da Soc. Bras. de Zoot. **Anais...**, Porto Alegre-RS. p.314, 1999.

POZZI, C. R. **Efeitos da administração oral prolongada de fumonisina B1 e aflatoxina B1 em ratos (*Rattus norvegicus*)**. São Paulo, 2000. 118 p. (Tese de Doutorado). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

PRADO, G.; VIEIRA, M. B. C. M.; SANTOS, J. P.; OLIVEIRA, M. S. Ocorrência de micotoxinas em milho pós-colheita e armazenado do Estado de Minas Gerais, safra 1991. **Higiene Alimentar**. Campinas, v.9, n.35, p.24-27, 1995.

PUISIEUX, A.; LIM, S.; GROOPMAN, J.; OZTURK, M. Selective targeting of p53 gene mutational hotspots in human cancers by etiologically defined carcinogens. **Câncer Res.**, v.51, p 6185-6189, 1991.

RADÜNZ NETO, J. **Desenvolvimento de técnicas de reprodução e manejo de larvas e alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*)**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, 77 p. 1981.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Occurrence of mycotoxins and mycotoxinproducing fungi in Latin America. In: KOE, W. J.; SAMSON, R.A.; VAN EGMOND, H. P.; GILBERT, J.; SABINO (Ed.). **Mycotoxins and phycotoxins in perspective at the turn of the millenium**. Wageningen, The Netherlands: W. J. de Koe, 2001. p. 309-320.

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

SABINO, M. Variações de níveis de aflatoxina B1 em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 40, p. 153-158, 1980.

SABINO, M.; RODRIGUES-AMAYA, D. B. Mycotoxin research in Brazil. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 45, p. 359-371, 1993.

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.

SANTURIO, J. M. Antifúngicos e adsorventes de aflatoxinas em grãos: quando usá-los? In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MICOTOXINAS E MICOTOXICOSES EM AVES. Campinas. **Anais...** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1995. p. 97-108.

SANTURIO, J. M. Micotoxinas na produtividade avícola: tipos; seus efeitos; como detectá-las e preveni-las. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1997. Campinas. **Anais...** p. 224-257.

SCUSSEL V. M. Hepato-cellular carcinoma and hepatic disease to consumption of food contaminated by aflatoxin B1 in Santa Catarina state. In:INTERNATIONAL IUPAC SYMPOSIUM ON MYCOTOXIN AND PHYCOTOXIN,10., 2000, Guarujá. **Anais...** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2000. p. 86-88.

SILFVERGRIP, A.M.C. **A sistematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. Departament of zoology, Stockholm University and Departement of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History – Stockholm, 156 p., 1996.

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.

SOUZA, S. M. G.; BARCELLOS, L. J. G. 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.

STEVENS, A. J.; SAUNDERS, C. N.; SPENCE, J. B., NEWHAM, A. C..Investigations into "diseases" of turkey poult. **Veterinary Record**, London, v. 72, n. 31, p. 627-628, 1960.

TAVARES-DIAS, M.; FRASCÁ-SCORVO, C. M. D.; CAMPOS-FILHO, E.; MORAES, F. R. 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.; SILVA, E. D.; MORAES, F. R. Hematologia de teleósteos brasileiros com infecção parasitária I. Variáveis do *Leporinus macrocephalus* Garavento 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 piaçu *Leporinus macrocephalus* GARAVELLO & BRITSKI, 1988 (ANOSTOMIDAE). **Naturalia**, São Paulo, v. 25, p. 39-52, 2000a.57

TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S.H.C.; MARTINS, M.L.; MORAES, F.R. Características hematológicas de *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) cultivadas intensivamente em "pesque-pague" do município de Franca, São Paulo, Brasil. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 16, n. 2, p. 76-82, 2000b.

TAVARES-DIAS, M.; MELO, J. F. B.; MORAES, G.; de MORAES, F. R. 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.

TRISTAN, T. Q.; **Dinâmica toxicológica de aflatoxinas em alimentos de origen animal em Aguascalientes y Querétaro**. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologia. Edicion Comunicación del Centro. Santiago de Querétaro. 2002, 117p.

TROXEL, C. M.; REDDY, A P.; O' NEAL, P. E.; et al. 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.; MANNING, B. B.; ROTTINGHAUS, G. E. et al. Growth and hepatic lesions of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* fed diets containing aflatoxin B1. **Aquaculture**, v. 212, p. 311-319, 2002.

WOGAN, G. N. Aflatoxin carcinogenesis: 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.

Artigo 1

DESEMPENHO DE ALEVINOS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO AFLATOXINAS E ALUMINOSILICATO DE SÓDIO E CALCIO HIDRATADO ¹

¹ Texto formatado conforme normas da Revista Brasileira de Zootecnia.

**DESEMPENHO DE ALEVINOS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)
ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO AFLATOXINAS E
ALUMINOSILICATO DE SÓDIO E CÁLCIO HITRATADO**

Resumo: Neste trabalho foi avaliado o efeito das aflatoxinas e de um adsorvente (Alumíniosilicato de Cálcio e Sódio) no desempenho de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). Foram utilizados 360 peixes com peso inicial de 4g, criados em sistema de recirculação da água termo regulada, durante 90 dias. Doze (12) tratamentos com quatro níveis de inclusão de aflatoxinas na dieta (0, 150, 250 e 350 μgAFkg^{-1}), com e sem adição de adsorventes (0, 0,3 e 0,6%) foram testados. Os resultados demonstraram que o efeito negativo da aflatoxina, reduziu significativamente o crescimento e ganho de peso dos alevinos proporcionalmente aos níveis crescentes de aflatoxinas na dieta, sem apresentar mortalidade. Os níveis de adsorvente na dieta, não diminuíram os efeitos da ação das aflatoxinas sobre o desempenho dos peixes, devido à baixa inclusão e também pela pouca aceitação da ração em relação à palatabilidade do produto. Conclui-se que os alevinos de jundiá alimentados com aflatoxinas na dieta são susceptíveis aos efeitos negativos, com grandes perdas no crescimento e ganho de peso.

Palavra Chave: alevinos, micotoxina, Alumínio Silicato, nutrição, toxina,
crescimento

**PERFORMANCE OF JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) FINGERLINGS FED DIETS
CONTAINING AFLATOXINS AND HYDRATED CALCIUM AND SODIUM
ALUMINUM SILICATE**

Abstract: In this study effects of aflatoxins and one adsorbent (Sodium and calcium aluminum silicate) on jundiá (*Rhamdia quelen*) fingerlings were evaluated. Three

hundred and sixty (360) fish, with initial weight of 4 g, were raised in a thermo-regulated recirculation water system, during 90 days. Twelve (12) treatments with four aflatoxin levels in diet (0, 150, 250 and 350 μgAFkg^{-1}), with and without adsorbents (0, 0.3 and 0.6%) were tested, in 3 replications. Results showed that the negative effect of aflatoxins, significantly reduced growth and weight gain of fingerlings, proportionately to increasing levels of aflatoxin in diet, with mortality occurrence. Adsorbent levels in diet did not diminish the effects of aflatoxin action on fish performance, due to low inclusion and also little acceptance of ration in relation to palatability of the product. It is concluded that jundiá fingerlings fed diets with aflatoxin are susceptible to negative effect, with high losses in growth and weight gain.

Key Words: Fingerlings, micotoxin, aluminum silicate, nutrition, toxin, growth.

Introdução

A piscicultura no estado do Rio Grande do Sul encontra-se em franca expansão e, entre as espécies nativas, o jundiá (*Rhamdia quelen*) apresenta qualidades especiais de cultivo, pois é de fácil reprodução e rápido crescimento, adaptando-se ao consumo de alimentos artificiais.

A constante evolução nos estudos sobre a qualidade dos alimentos destinados à alimentação dos peixes demonstram que qualquer fator que afete a composição nutricional das rações pode ocasionar prejuízos ao produtor. Dessa forma, deve-se ressaltar a importância de contaminantes naturais como as micotoxinas, que podem acarretar perdas consideráveis à criação de peixes (Vieira et al., 2006).

Os custos com a alimentação na aquicultura correspondem à maior parcela dos custos totais de produção nas criações semi-intensivas (Meer et al., 1995), em função

das dietas para peixes possuem elevado teor de proteína, em comparação às dietas para outros animais cultivados (Furuya et al., 1997). Devido a esse elevado custo de produção, a aquisição de ingredientes com alto padrão de qualidade nutricional para a elaboração das dietas para os peixes deve ser levada em consideração, principalmente para os níveis de micotoxinas presentes.

As micotoxinas são metabólitos tóxicos secundários, produzidos por fungos do gênero *Aspergillus*, espécies *A. flavus* e *A. parasiticus* (Yu et al., 2005), que contaminam as culturas no campo, no transporte e durante o armazenamento nos silos. As micotoxinas apresentam, de uma maneira geral, grande estabilidade química, permitindo a sua persistência no alimento mesmo após a remoção dos fungos pelos processos normais de industrialização e embalagem, ou seja, mesmo que o alimento sofra o processamento, a micotoxina ainda estará presente (Tristan, 2002). Os sinais da intoxicação por aflatoxinas dependem principalmente de sua concentração no alimento, do tipo de aflatoxina e do tempo de ingestão (Ogido et al., 2004), sendo caracterizada pela imunodepressão, e por anomalias ósseas, hemorragias, despigmentação e alterações na função hepática (Miazzi et al., 2005).

Atualmente a aflatoxina B1 é considerada uma das mais potentes substâncias carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas e está identificada como fator associado ao câncer hepático, após a ingestão de alimentos contaminados, tanto para animais como para humanos (Ferreira et al., 2006).

Uma forma de controle da ação das micotoxinas é o uso de adsorvente na ração animal, e o método ideal para detoxificação é aquele que além de reduzir as concentrações da toxina em níveis seguros, não gere produtos de degradação tóxicos aos animais e nem reduza o valor nutritivo dos alimentos tratados. Poderiam ser

usados adsorventes inertes na dieta, com o objetivo de se reduzir a absorção de aflatoxinas pelo trato intestinal dos animais.

Desde o início dos anos noventa, estudos têm sido dirigidos para o uso de adsorventes, naturais ou sintéticos, na tentativa de minimizar os efeitos da ingestão de alimento contaminado e da toxicidade da aflatoxina. Segundo OLVER (1997), os adsorventes possuem a habilidade de aderir à aflatoxina e impedir sua absorção pelo trato gastrointestinal, tornando-a inerte e não tóxica para os animais. Dentre os adsorventes que são utilizados comercialmente, estão os alumino silicatos de Ca^{++} e Na^+ , as bentonitas, os componentes da zeolítica, para o controle da aflatoxicose.

A montmorilonita sódica pertence ao grupo das argilas, classificadas como esmectitas, do grupo dos aluminosilicatos, é considerada promissora na absorção das aflatoxinas por reduzir os danos metabólicos (Tristan, 2002).

Os compostos de aluminosilicato de sódio e cálcio (ASSCA) na concentração de 0,5% na ração têm apresentado um resultado significativo na diminuição dos efeitos adversos de aflatoxinas em aves, perus e suínos. Diversos experimentos demonstraram também que a bentonita sódica é um ótimo adsorvente para aflatoxinas em aves, da mesma maneira que as ASSCA (Mallmann et al., 2007).

Devido à grande probabilidade de contaminação dos ingredientes utilizados (LAMIC, 2007) nas rações, que podem apresentar níveis elevados e constantes de toxinas, e pela carência de estudos sobre os efeitos das aflatoxinas e de adsorventes na criação de peixes com relevância a piscicultura torna-se necessária sua avaliação. Portanto o objetivo do presente estudo foi testar diferentes níveis de aflatoxinas (AF) e adsorventes (ADS) em rações para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*), e avaliar seu efeito no desempenho zootécnico.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Ictiologia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas. O experimento foi conduzido no período de maio a agosto de 2007, com duração de 90 dias.

Foram utilizadas 36 caixas de polipropileno com capacidade de 250 L, abastecidos com 200 L de água num sistema de criação fechado e termo regulado. O sistema tem capacidade de 20000 L de água, abastecida através de um reservatório externo com água proveniente de um poço artesiano. A circulação da água nas unidades experimentais foi mantida com um volume de 1,3 L/min, durante as 24 horas do dia.

O experimento utilizou 360 alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) com peso aproximado de 4,5 g, que foram obtidos através de reprodução induzida a partir de matrizes do próprio setor (UFPel) e criados em tanque de terra, alimentados com ração comercial contendo 45% de proteína bruta, além do plâncton originado pela adubação.

Todos os peixes utilizados foram submetidos a um jejum de 24 horas antes de iniciar o experimento. Após este período foram selecionados, para serem realizadas as biometrias iniciais (peso e comprimento). A densidade de estocagem foi de 10 alevinos por unidade experimental.

A alimentação foi ministrada 2 vezes ao dia (9 e 16 horas), na proporção de 5% da biomassa. O ajuste da taxa de arraçoamento foi realizado quando ocorria a biometria mensalmente, pesando todos aos animais por unidade experimental, com reposição dos mesmos. Diariamente foi efetuada a limpeza das caixas, através de sifão, retirando-se os resíduos existentes nas mesmas, sendo contabilizada a eventual mortalidade. A troca diária de água foi na ordem 5%, observando-se a necessidade de sifonagem dos dejetos e resíduos das rações.

A dieta dos peixes foi baseada na fórmula descrita na tabela 1, na qual foram incluídos os níveis de aflatoxinas (AF) e do adsorventes (ADS) de acordo com os tratamentos. O ADS adicionados nas dietas (0, 0,3 e 0,6%) dos alevinos foi o ASSCA. As dietas experimentais foram isoprotéicas e isocalóricas, contendo 35,2% proteína bruta e 3444 kcal kg⁻¹ de energia digestível. A composição da ração experimental foi descrita por Coldebella e Radünz Neto (2002).

TABELA 1. Composição e formulação da ração experimental

Ingredientes		%	
Farinha de Carne e Ossos	35,00	35,00	35,00
Farelo de soja	24,01	24,01	24,01
Milho triturado (grãos)	19,21	19,21	19,21
Farelo de trigo	7,00	6,70	6,4
Óleo de canola	13,03	13,03	13,03
Sal comum iodado ¹	1,00	1,00	1,00
Premix vitamínico e mineral ²	0,75	0,75	0,75
Adsorvente® (ASSCA)	0	0,3	0,6
Total	100	100	100
Composição Bromatológica da Ração Experimental (%)			
Proteína Bruta	35,22		
Materia Seca	90,73		
Cinzas	10,65		
Extrato Etéreo	16,16		
Fibra Bruta	2,54		
Cálcio	3,20		
Fósforo	1,87		
Energia Digestível kcal kg ⁻¹	3444,4		

1 - Segundo LUCHINI (1990);

2- Composição do premix vitamínico (por kg): Vit.A: 6.000.000 UI; Vit. D: 1.000.000 UI; Vit. E: 100.000; Vit. K: 5.000 UI; Riboflavina: 10.000 mg; Ác. Pantotênico: 30.000 mg; Niacina: 60.000 mg; Vit. B12: 20.000mcg; Biotina: 600 mcg; Ác. Fólico: 2.500 mg; Tiamina: 10.000 mg; Piridoxina: 20.000 mg.

3- Composição do premix mineral (por kg): Cobre: 12.001 mg; Ferro: 75.000 mg; Manganês: 99.974 mg; Iodo: 998 mg; Selênio: 250 mg; Zinco: 90.001 mg.

®ASSCA doada pela empresa Vulgel.

As dietas foram preparadas no laboratório de Ictiologia do Departamento de Zootecnia. A matéria-prima que compôs as dietas foram pesadas, moídas e misturadas, objetivando-se sua completa homogeneização. Após o preparo, as mesmas, foram peletizadas em máquina elétrica de moer carne e levadas à estufa por 48 horas a 50°C e novamente moídas até obterem-se grânulos de 1 mm. A alteração da granulometria foi realizada de acordo com o crescimento dos peixes, facilitando a apreensão do alimento.

Os tratamentos atestados incluíam diferentes níveis de aflatoxinas (AF), a qual foi produzida no Laboratório de Análises Micotoxicológicas - LAMIC-UFSM de acordo com a metodologia apropriada, certificado pelo INMETRO e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, através da fermentação de arroz parbolizado com uma cepa do fungo *Aspergillus parasiticus*. O arroz previamente esterilizado, e após ter sido inoculado, foi adicionado a um *erlenmayer* e colocado em agitador orbital com controle de temperatura pelo período de 6 dias. Após esse procedimento o arroz foi moído, tendo sido retirada à alíquota para serem quantificadas as aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2) por meio de cromatografia líquida de alta eficiência CLAE.

Os ingredientes utilizados na ração experimental estavam isentos de contaminação natural e foram analisados no LAMIC-UFSM, somente após rigoroso teste por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), o alimento foi liberado para formulação da dieta experimental. Esse cuidado se explica por tratar-se de inclusão artificial de aflatoxina na dieta sem que haja interferência de toxinas do próprio alimento. O pó de arroz fermentado (contendo aflatoxinas) foi acrescido à ração dos peixes, após uma mistura prévia com farelo de milho; em seguida, foi

misturado aos demais ingredientes da ração em um misturador mecânico com capacidade para 5 kg, logo depois foi peletizada e levada a estufa a 50°C (48 h), após esse período foi mantida em lugar seco, escuro e resfriados para evitar qualquer tipo de aparecimento e proliferação de outros fungos. Logo após, uma fração de cada tratamento foi enviado para o LAMIC para nova análise, para obter-se a confirmação da toxina acrescentada na dieta.

As toxinas e os adsorventes foram incluídos na ração nos seguintes níveis:

Ração sem ADS: (T0-controle; T1-150 μgAFkg^{-1} ; T2-250 μgAFkg^{-1} ; T3-350 μgAFkg^{-1}); Ração + 0,3% ADS: (T0-controle; T1-150 μgAFkg^{-1} ; T2-250 μgAFkg^{-1} ; T3-350 μgAFkg^{-1}); Ração + 0,6% ADS: (T0-controle; T1-150 μgAFkg^{-1} ; T2-250 μgAFkg^{-1} ; T3-350 μgAFkg^{-1}).

Aos 90 dias experimentais, após jejum de 24 h, os peixes foram submetidos à biometria e pesagem, visando obter as seguintes variáveis: - Peso médio final, crescimento (comprimento total e padrão), ganho de peso diário (peso final - peso inicial/período experimental), biomassa (peso médio final - peso médio inicial*número de final de peixes), rendimento de carcaça (peso do peixe eviscerado*100/peso final), fator de condição corporal (peso médio total/comprimento total³x100) e sobrevivência.

Para a avaliação do rendimento de carcaça foi retirada uma amostra de 10 alevinos de cada tratamento no final do experimento. Para esta determinação utilizou-se bisturi e tesoura, sendo que o corte para a retirada das vísceras foi feito em toda linha ventral, retirando-se as vísceras e brânquias. 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 (2002).

Também foram monitoradas diariamente (09:00 e as 16:00 hs) os parâmetros da qualidade da água nas unidades experimentais (O_2D , amônia total, alcalinidade, pH e temperatura) com auxílio de um oxímetro digital e kit colorimétrico.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 níveis de aflatoxinas, com e sem inclusão de adsorventes, com 3 repetições. Os resultados foram submetidos à ANOVA, para comparação entre as médias o teste de Tukey (5%) e análise de contrastes. O pacote estatístico utilizado foi o SAS (1997).

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos para temperatura da água: $24,5 \pm 2,1^\circ C$, oxigênio dissolvido: $5,6 \pm 1,1 \text{ mgL}^{-1}$, amônia total: $0,5 \pm 0,1 \text{ mgL}^{-1}$, alcalinidade: $52 \pm 5,9 \text{ mgL}^{-1}$ e pH $7,5 \pm 0,3$, para a qualidade química da água experimental esta de acordo com Boyd (1997), onde os parâmetros observados encontram-se na faixa de conforto e desenvolvimento para a criação de peixes. Esses valores também estão de acordo com os observados por Chippari-Gomes et al. (2000) e Piedras et al. (2004) para espécie *Rhamdia quelen*.

Os peixes que consumiram nas dietas, aflatoxinas em níveis altos (150, 250 e $350 \text{ } \mu\text{gAFkg}^{-1}$), apresentaram diferença significativa ($P=0,001$) para crescimento (padrão e total) e peso em relação ao tratamento controle, causando redução acentuada do ganho de peso em torno de 42% no maior nível de inclusão da aflatoxina ($350 \text{ } \mu\text{gAFkg}^{-1}$), descritos na Tabela 2.

TABELA 2. Resultados obtidos aos 90 dias experimentais com alevinos de jundiá alimentados com rações contendo diferentes níveis de aflatoxinas e de ASSCA

Tratamentos ($\mu\text{g AFkg}^{-1}$)			Peso inicial (g)	Peso final (g)	CT (cm)	CP (cm)
AFLATOXINA	T0	Controle	$4,6 \pm 0,80^a$	$25,21 \pm 8,2aA$	$14,42 \pm 1,4aA$	$12,40 \pm 1,5aA$
	T1	150	$4,4 \pm 0,70^a$	$14,60 \pm 3,3bA$	$12,26 \pm 0,8bA$	$10,04 \pm 0,7bA$
	T2	250	$4,7 \pm 0,80^a$	$17,28 \pm 3,3bA$	$12,94 \pm 0,9bA$	$11,23 \pm 0,7bA$
	T3	350	$4,9 \pm 0,90^a$	$15,21 \pm 3,7bA$	$12,68 \pm 0,9bA$	$10,50 \pm 0,9bA$
AFLATOXINA + 0,3 ADS	T0	Controle	$4,6 \pm 0,90^a$	$22,6 \pm 6,1aA$	$14,37 \pm 1,1aA$	$11,85 \pm 0,9aA$
	T1	150	$4,4 \pm 0,70^a$	$13,59 \pm 2,7bB$	$12,09 \pm 0,7bA$	$9,90 \pm 0,7bA$
	T2	250	$4,8 \pm 0,60^a$	$13,3 \pm 4,10bB$	$12,02 \pm 1,04A$	$9,92 \pm 0,90bA$
	T3	350	$4,2 \pm 0,70^a$	$10,0 \pm 2,9bB$	$10,86 \pm 1,1bA$	$8,88 \pm 1,02bA$
AFLATOXINA + 0,6% ADS	T0	Controle	$4,8 \pm 0,72$	$18,73 \pm 2,6aB$	$13,60 \pm 0,63aA$	$11,35 \pm 0,50aB$
	T1	150	$4,2 \pm 0,80^a$	$9,38 \pm 1,3bB$	$9,70 \pm 0,7bA$	$8,61 \pm 0,6bA$
	T2	250	$4,3 \pm 0,73^a$	$10,33 \pm 3,4bB$	$10,74 \pm 1,2bA$	$8,9 \pm 1,01bA$
	T3	350	$4,4 \pm 0,80^a$	$9,41 \pm 2,9bB$	$10,62 \pm 1,1bA$	$8,8 \pm 0,89bA$
CV (%)			15,99	26,29	8,30	9,03

CT: comprimento total; CP: comprimento padrão; ADS: adsorvente.

Letras minúsculas diferentes nas colunas, dentro de cada tratamento, apresentam diferença significativa ($P < 0,05$).

Letras maiúsculas diferentes nas colunas, para cada nível entre os tratamentos, apresentam diferença significativa ($P < 0,05$).

Os valores de ganho diário de peso, fator de condição corporal e biomassa também apresentaram diferença significativa ($P = 0,0001$), comparados com o tratamento controle. No entanto, não ocorreu diferença significativa para rendimento de carcaça, e sobrevivência, dentro dos tratamentos (TABELA 3).

TABELA 3. Desempenho zootécnico dos alevinos de jundiá após 90 dias experimentais alimentados com dieta contendo aflatoxinas e ASSCA

Tratamentos ($\mu\text{g AFkg}^{-1}$)			GPD (g)	Biomassa (g)	Rendcar (%)	FCC	Sob (%)
AFLATOXINA	T0	Controle	$0,22 \pm 0,1aA$	616,6aA	$89,98 \pm 9,7aA$	$0,82 \pm 0,13aA$	100
	T1	150	$0,11 \pm 0,03bA$	307,1bA	$88,70 \pm 2,0aA$	$0,78 \pm 0,05bA$	100
	T2	250	$0,13 \pm 0,03bA$	375,3bA	$89,44 \pm 2,3aA$	$0,79 \pm 0,07bA$	100
	T3	350	$0,11 \pm 0,04bA$	308,4bA	$89,19 \pm 1,3aA$	$0,73 \pm 0,04bA$	100
AFLATOXINA + 0,3 ADS	T0	Controle	$0,19 \pm 0,06aA$	538,9aA	$88,81 \pm 1,5aA$	$0,75 \pm 0,05aA$	100
	T1	150	$0,10 \pm 0,03bB$	276,4bB	$87,88 \pm 3,5aA$	$0,74 \pm 0,05aB$	100
	T2	250	$0,09 \pm 0,04bB$	252,9bB	$89,88 \pm 4,1aA$	$0,74 \pm 0,05aB$	100
	T3	350	$0,07 \pm 0,03bB$	174,9bB	$88,61 \pm 1,5aA$	$0,73 \pm 0,05aA$	100
AFLATOXINA + 0,6% ADS	T0	Controle	$0,15 \pm 0,02aB$	416,7aB	$89,98 \pm 0,75 aA$	$0,74 \pm 0,11aA$	100
	T1	150	$0,05 \pm 0,01bC$	155,4bC	$88,42 \pm 4,1aA$	$0,73 \pm 0,15aB$	100
	T2	250	$0,06 \pm 0,04bB$	182,4bB	$89,74 \pm 1,2 aA$	$0,73 \pm 0,07aB$	100
	T3	350	$0,05 \pm 0,03bB$	149,1bB	$89,77 \pm 1,3aA$	$0,72 \pm 0,07aA$	100
CV (%)			38,82	38,82b	5,68	14,48	-

GPD: ganho de peso diário; Rendcar: Rendimento de carcaça; FCC: fator de condição corporal; Sob; sobrevivência; ADS: adsorvente.

Letras minúsculas diferentes nas colunas, dentro de cada tratamento, apresentam diferença significativa ($P < 0,05$).

Letras maiúsculas diferentes nas colunas, para cada nível entre os tratamentos, apresentam diferença significativa ($P < 0,05$).

Resultados semelhantes foram encontrados em alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) por Lopes et al. (2005), onde verificaram a diminuição de ganho de peso, ganho médio diário, comprimento padrão e total, com nível de $204 \mu\text{gAFkg}^{-1}$ na dieta. Também relataram que não houve diferença significativa para rendimento de carcaça e fator de condição corporal, contrastando com o resultado obtido neste experimento, onde este fator apresentou diferença significativa nos tratamento sem adição de adsorventes (0,3 e 0,6%). Tuan et al. (2002) com níveis de inclusão de 100 ppm de aflatoxina B1 kg^{-1} na dieta de alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*), observaram acentuada redução do ganho de peso, porém, apresentaram mortalidade. Aranas et al. (2002) também observou redução de ganho de peso em alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*), com níveis de $80 \mu\text{gAFkg}^{-1}$ na dieta.

Estudos também indicam a susceptibilidade dessa mesma espécie a doses menores de aflatoxina na dieta ($5 \mu\text{g}$) em relação ao crescimento corporal e ganho de

peso (Conroy, 2000). Contudo, Manning et al. (2005) ao alimentarem alevinos de channel catfish (*Ictalurus punctatus*) com $20 \mu\text{gAFkg}^{-1}$ numa dieta prática, observaram que não houve diminuição no ganho de peso, consumo alimentar e demonstrando ser uma espécie resistente a toxina. Resistência à intoxicação por aflatoxina, também foram relatados por Sahoo & Mukherjee, (2002) ao injetarem aflatoxinas intramuscular ($1,25 \text{ mgAFkg}^{-1}$ em cada peixe) por 60 dias em alevinos de rohu (*Labeo rohita*), não observaram mortalidade, entretanto, verificaram redução do ganho de peso.

Quando foram comparados os tratamentos controles, foi possível observar uma ligeira queda no ganho de peso dos alevinos, acredita-se ter sido influenciado pela adição do adsorvente, o qual alterou a palatabilidade da dieta, e desta forma apresentou diferença significativa entre os tratamentos controle (sem aflatoxinas) e o tratamento controle com adição de 0,6% de ADS.

Os valores de ganho de peso diário para os tratamentos sem inclusão de aflatoxinas (com e sem ADS) apresentaram diferença significativa ($P=0,0001$) dentro de cada tratamento, também se observou a diminuição de ganho com o aumento dos níveis de adsorvente na dieta. Valores semelhantes também foram encontrados por Lopes et al. (2005) de 0,23 g de ganho de peso médio diário, no tratamento controle para alevinos de jundiá em 45 dias experimentais, que corroboram com os encontrados por este experimento.

De certa forma o peso corporal dos alevinos de jundiá foi proporcional ao crescimento (padrão e total), onde podemos observar diferença significativa para o fator de condição corporal dentre os tratamentos, onde o tratamento controle sem adsorvente apresentou índice de 0,82, com a inclusão de aflatoxina o FCC baixou até valores de 0,72 (Tabela 2). Sendo esses resultados relativamente inferiores dos

relatados por Lopes et al. (2005) com índice de 0,89 para o tratamento controle, sendo que o maior nível de inclusão de aflatoxina ($204 \mu\text{gAFkg}^{-1}$) obteve índice de 0,80. De acordo com Dilkin (2002), os consumos em doses moderadas à baixas, causam aflatoxicose crônica, desencadeando graves problemas imunossupressivos, perda de ganho de peso e taxa de crescimento.

A biomassa total também apresentou diferença significativa ($P=0,0001$) em relação controle sem aflatoxinas e adsorvente dos demais tratamentos. Resultados de redução de biomassa final foram relatados por Chávez-Sánchez et al. (1994) que observaram o efeito da inclusão de aflatoxinas (7,52, 15 e 30mgAFB1/kg) na dieta de alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) durante os primeiros 25 dias, e verificaram diminuição no consumo alimentar, onde biomassa do tratamento controle representa 20 vezes mais do que o peso inicial ($P<0,01$). Lopes et al. (2005) também observaram redução na biomassa quando submeteram os alevinos de jundiá a dieta com altos níveis de aflatoxinas, por 45 dias.

Os valores observados para rendimento de carcaça entre os tratamentos não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$), ficando em 88,89%. Semelhantes resultados (82,16%) foram descritos por Lopes et al., (2005) com valores de $204 \mu\text{gAFkg}^{-1}$ para alevinos de jundiá num sistema semelhante de criação.

Em relação à sobrevivência no experimento, pode-se afirmar que os jundiás apresentam uma alta tolerância a intoxicação por aflatoxinas. Resultado semelhante foram encontrados por Lopes et al. (2005), com jundiá intoxicados por 35 dias experimentais, com níveis entre 41 a $204 \mu\text{gAFkg}^{-1}$, obtendo 100% de sobrevivência. Embora Chavez-Sanchez et al. (1994), constataram que a inclusão de aflatoxina até 20mgAFkg^{-1} na dieta de alevinos de tilápias após 25 dias experimentais causaram elevada mortalidade. Tuan et al. (2002), também observaram mortalidade de 60% em

alevinos de tilápias alimentados por 8 semanas com 100 mgAFkg^{-1} . Todavia, Farabi et al. (2006) observaram mortalidade de 8,6% quando alimentaram juvenis de *Huso huso* com dieta contaminada com $10 \text{ } \mu\text{gAFkg}^{-1}$, num período de 40 dias.

Foi possível observar ao longo dos 90 dias experimentais a resistência dos alevinos a intoxicação por aflatoxinas, porem, algumas características morfológicas foram observadas, como: despigmentação parcial da pele, próxima a nadadeira caudal, em todos os tratamentos contaminados. Esses resultados indicam à variabilidade da sensibilidade dos peixes a toxicidade aguda a aflatoxina. Sinais de aflatoxicose também foram observados por Farabi et al. (2006) com juvenil de *Huso huso* em dietas contaminadas com aflatoxinas. Entretanto, podem aparecer sinais clínicos, sintomas e um quadro patológico específico, dependendo da micotoxina ingerida, da susceptibilidade das espécies, das condições individuais do organismo e interações ou não com outros fatores.

Os efeitos tóxicos das aflatoxinas são dependentes da dose e do tempo de exposição, determinando, assim, intoxicação aguda e crônica. A síndrome tóxica aguda ocorre pela ingestão de alimento com alta concentração de aflatoxinas, sendo os efeitos observados em curto espaço de tempo. Caracterizado pela rápida deterioração do estado geral do animal, perda de apetite, hepatite aguda, hemorragias e morte (Rosmaninho, et al., 2001).

Quando as micotoxinas são ingeridas os diversos efeitos devem as suas diferentes estruturas químicas, influenciadas pelo fato de serem ingeridas por diferentes organismos animais superiores e também pela diversidade de espécies, raça, sexo, idade, fatores ambientais, manejo, condições nutricionais e outras substâncias (Dilkin, 2002).

Na tabela 2 e 3 os valores de desempenho zootécnicos avaliados quando comparados dentro de cada tratamento não apresentaram diferença significativa em relação ao adsorvente (ASSCA) da dieta, entretanto, quando feita a comparação entre os tratamentos, foi possível observar que o adsorvente apresentou diferença significativa ($P < 0,05$), entre os tratamentos contendo aflatoxina e adsorvente (0,3 e 0,6%), para alguns parâmetros, como, peso, GPD, biomassa e FCC, porém não diferindo do tratamento controle.

Desta forma, pode se afirmar que a adição de ASSCA (0,3 e 0,6%) nas dietas de alevinos prejudicou os índices de desempenho dos alevinos de jundiá. Ellis et al. (2000) testando adsorvente (bentonita sódica) em truta (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas com dietas contendo $20 \mu\text{gAFkg}^{-1}$, afirmaram que a inclusão de 2% de ADS na dieta reduz significativamente a absorção das aflatoxinas pelo organismo animal.

Segundo Ouhida et al. (2000) os benefícios da utilização do adsorvente na ração em relação a ganho de peso e conversão alimentar ainda não são bem definidos, sendo que a necessidade de utilizar níveis de inclusão altos (6%) e que para outros organismos monogástricos, níveis de 2% de bentonita sódica na dieta não foram o suficiente para absorver as micotoxinas. Embora, Tomasevic-Canovic et al. (2003), afirmam que a preparação e o processo de elaboração e inclusão do adsorvente na dieta, influência na absorção das micotoxinas.

Os efeitos negativos na produtividade de peixes causados por aflatoxinas no desenvolvimento dos peixes, observados nesse experimento e a positividade das micotoxinas nos ingredientes (LAMIC, 2007) que compõem as rações, devem ser monitoradas. Sendo importante dar continuidade a esse tipo de investigação para

buscar resultados mais conclusivos, principalmente pela ação do adsorvente no desenvolvimento dos peixes.

Conclusões

Os níveis crescentes de aflatoxinas na dieta causaram redução no crescimento e ganho de peso nos alevinos de jundiá. O adsorvente não beneficiou o desenvolvimento dos alevinos nas concentrações testadas.

Agradecimentos

Aos colegas da pós-graduação, estagiários e ao funcionário do Laboratório de Ictiologia pela ajuda na condução desse trabalho. Ao programa de Pós-graduação e ao Departamento de Zootecnia pelo apoio durante todo esse período. Ao Laboratório de Análise de Micotoxinas pelas micotoxinas e análises. A CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.

Literatura Consultada

- ARANAS, S.; TABATA, Y. A.; SABINO, M.; et al. 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.
- BOYD, C. **Manejo do solo e da qualidade da água em viveiro para aquicultura**. Editora. Mogiana Alimentos S.A., 1997. 55p.
- CHÁVEZ-SÁNCHEZ, M. C.; MARTÍNEZ PALACIOS, C. A; OSORIO MORENO, I. Pathological effects of feeding Young *Oreochromis niloticus* diets supplemented with different levels of aflatoxin B1. **Aquaculture**, v. 127, p. 49-60, 1994.
- CHIPPARI-GOMES, A. R.; GOMES, L. C.; BALDISSEROTTO, B. Lethal temperatures for *Rhamdia quelen* larvae (Pimelodidae). **Ciência Rural**, v. 30, n.6 p. 1069-1071, 2000.
- CONROY, G.; Alteraciones asociadas con dos alimentos comerciales en tetrahíbridos de tilápia roja cultivados en Venezuela. ASSOCIACION AMERICANA DE SOYA. Boletín Informativo. Caracas-Venezuela, 2000. 33p.
- 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.

- DILKIN, P. Micotoxicode suína: aspectos preventivos, clínicos e patológicos. **Biológico**, São Paulo, v. 64, n.2, p. 187-191, 2002.
- ELLIS, R. W.; CLEMENTS, M.; TIBBETTS, A.; WINFREE, R.; Reduction of the bioavailability of 20µg/kg aflatoxin in trout feed containing clay. **Aquaculture**, v. 183, p. 179-188, 2000.
- FARABI, S.M.V., YOUSEFIA, M., HAJIMORADLOO, A. Aflatoxicosis in juvenile *Huso huso* fed a contaminated diet. **Journal Appl. Ichthyol**, v. 22 (suppl. 1), p.234-237, 2006.
- FERREIRA, H., PITTNER, E., SANCHES, H.F., et al. Aflatoxinas: Um risco a saúde animal. **Ambiência**, v2. n.1, p. 113-127, jan/jun 2006.
- FURUYA, V.R.B., HAYASHI, C., FURUYA, W.M. Farelo de canola na alimentação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), durante o período de reversão de sexo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 6, p.1067-1073, 1997.
- LAMIC – Laboratório de Análises Micotoxicológicas – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, Brasil. **Tabelas de resultados**, 2007. Disponível em:<[http:// www.lamic.ufsm.br/resultado_de_qualidade.htm](http://www.lamic.ufsm.br/resultado_de_qualidade.htm)> Acesso em nov. 2007.
- LUCHINI L. **Manual para el cultivo del bagre sudamericano (Rhamdia sapo)**. Santiago do Chile. FAO, 1990. 63p.
- LOPES, P. R. S.; RADÜNZ NETO, J.; MALLMANN, C. A.; et al.; Crescimento e alterações no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá alimentados com dietas com aflatoxinas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.10, p.1029-1034, out. 2005.
- MALLMANN, C. A.; GIACOMINI, L. Z.; RAUBER, H. R.; PEREIRA, C. E.; Micotoxinas em Ingredientes para Alimento Balanceado de Aves. In: XX Congresso Latinoamericano de Avicultura, Brasil, 2007, Porto Alegre. Anais...Porto Alegre, 2007, p.191-204
- MANNING, B. B., LI, M. H., ROBINSON, E.H., Aflatoxins from Moldy Corn Cause No Reductions in Channel Catfish *Ictalurus punctatus* performance. **Journal Of The World Aquaculture Society**, v. 36, n. 1, March 2005.
- MEER, M.B., MACHIELS, M. A. M., VERDEGEM, M.C.J.. The effect of dietary protein level on growth, protein utilization and body composition of *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, v. 26, n. 12, p. 901-909, 1995.
- MELO, J. F. B.; RADÜNZ NETO, J.; DA SILVA, J. H.; TROMBETTA, C. G.; Desenvolvimento e composição de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 323-327, 2002.

- MIAZZO, R. et al. Efficacy of sodium bentonite as a detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin and fumonisin. **Poultry Science**, v.84, p.1–8, 2005.
- OGIDO R. et al. Effects of prolonged administration of aflatoxins B1 and fumonisin B1 in laying japanese quail. **Poultry Science**, v.83, p.1953-1958, 2004.
- OLVER, M.D. Effect of feeding clinoptilolite (zeolite) on the performance of three strains of laying hens. British, **Poultry Science**, v. 38, p.220-222, 1997.
- PIEDRAS, S. R. N.; MORAES, P. R. R.; POUEY, J. L. O. F.; Crescimento de juvenil de jundiá (*Rhamdia quelen*). Boletim do Instituto de Pesca. Sao Paulo, v. 30, n. 2, p. 177-182, 2004.
- UHIDA, I.; PEREZ, J. F.; GASA, J. The effects of sepiolite in broiler chicken diets of high, medium and low viscosity: productive performance and nutritive value. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.85, p.183-194, 2000.
- ROSMANINHO, J. F.; OLIVEIRA, C. A. F.; BITTENCOURT, A. B. F. Efeitos das micotoxicoses crônicas na produção avícola. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v.68, p.107-114, 2001.
- SAHOO, P. K. & MUKHERJEE, S. C., Influence of high dietary a-tocopherol intakes on specific immune response, nonspecific resistance factors and disease resistance of healthy and aflatoxin B1-induced immunocompromised Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). **Aquaculture Nutrition**, v.8; p.159-167, 2002
- SANTÚRIO, J. M. Impacto das aflatoxinas sobre a produção animal. Perspectiva Latino-americana. In: CONFERÊNCIA APINCO 97 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA. p.149-56,1996. Campinas. **Anais...** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1997.
- SAS – Statistical Analysis System. User's Guide. Versão 6, SAS INSTITUTE INC. 4. ed. North Caroline: **SAS INSTITUTE INC**, 1997, 846 p.
- TRISTAN, T. Q.; **Dinâmica toxicológica de aflatoxinas em alimentos de origen animal em Aguascalientes y Querétaro**. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologia. Edicion Comunicación del Centro. Santiago de Querétaro. 2002, 117p.
- TUAN, A N.; GRIZZLE, J. M.; LOVELL, R. T.; et al. Growth and hepatic lesions of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* fed diets containing aflatoxin B₁. **Aquaculture**, v. 212, p. 311-319, 2002.
- TOMASEVIC-CANOVIC, M., DAKOVIC, A., ROTTINGHAUS, et al., Surfactant modified zeolites – new efficient adsorbents for micotoxins. **Microporous and mesoporous materials**, v. 61, p.173-180, 2003.
- VIEIRA, V. L. P., RADUNS NETO, J., LOPES, P. R. S. et al., Alterações metabólicas e hematológicas em jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com rações contendo aflatoxinas. **Ciência Animal Brasileira**, v.7, n.1, p.49-55, jan/mar. 2006.

YU, J., CLEVELAND, T. E., NIERMAN, W. C., BENNETT, J. W. *Aspergillus flavus* genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to diseases. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 22, p. 194-202, 2005.

Artigo 2

EFEITO DOS ADSORVENTES SOBRE O DESEMPENHO DE JUVENIS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADOS COM DIETAS CONTAMINADAS COM AFLATOXINAS²

² Texto formatado conforme normas da Revista Veterinária Notícias.

EFEITO DOS ADSORVENTES SOBRE O DESEMPENHO DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADOS COM DIETAS CONTAMINADAS COM AFLATOXINAS

Resumo

Neste trabalho foram avaliados efeitos das aflatoxinas e de dois adsorvente (ASSCA e GM)) no desempenho zootécnico de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). Foram utilizados 189 peixes com peso inicial de 43,13 g, criados em sistema de recirculação da água termo regulada, durante 60 dias. Nove (9) tratamentos com três níveis de inclusão de aflatoxinas na dieta (0, 50, 100 μgAFkg^{-1}), com dois tipos de adsorvente (ASSCA e GM (0,36%)) foram testados em 3 repetições. Os resultados demonstraram que a ação negativa das aflatoxinas, reduziu significativamente o ganho de peso, biomassa final, ganho médio diário e taxa de crescimento específico dos juvenis de jundiá, proporcionalmente aos níveis crescentes de aflatoxinas na dieta, em relação ao tratamento controle, sem apresentar mortalidade. Conclui-se que os alevinos de jundiá, alimentados com aflatoxinas na dieta, são susceptíveis aos efeitos negativos, com grandes perdas no crescimento e ganho de peso. A adição de 0,3% de glucomanano na dieta neutralizou os efeitos negativos das aflatoxinas.

Palavra Chave: juvenil, micotoxina, aluminossilicato, glucomanano, nutrição, crescimento

ADSORBENTS EFFECT ON JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) JUVENILES FED DIETS CONTAMINATED WITH AFLATOXINS

Abstract

Effects of aflatoxins and two adsorbents (ASSCA and GM) on jundiá (*Rhamdia quelen*) juveniles performance was evaluated. Hundred and eighty nine (189) fish were used, with initial weight of 43.13 g, raised in thermo-regulated recirculation water system during 60 days. Nine treatments with inclusion of three aflatoxin levels in diet (0, 50, 100 μgAFkg^{-1}), with two types of adsorbents (ASSCA and GM)(0.36%) were tested, in 3 replications. Results showed that the negative action of aflatoxins, significantly reduced weight gain, final biomass, daily average gain and specific growth of jundiá juveniles proportionately to increasing aflatoxin levels in diet, in relation to the control treatment, without mortality occurrence. It is concluded that

jundiá juveniles fed diet containing aflatoxins, are susceptible to negative effects, with great losses in growing and weight gain. Addition of 0.3% of glucomane in ration neutralized the negative effects of aflatoxins.

Keywords: juveniles, micotoxin, aluminum silicate, glucomane, nutrition, growth.

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.

As micotoxinas são compostos quimicamente tóxicos produzidos por diversos fungos, particularmente por espécies de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps* e *Alternaria*. As mais comuns são as aflatoxinas, ocratoxina A, tricotecenos, zearalenona e fumonisinas. Foi verificado que a contaminação por micotoxinas pode afetar cerca de 25% da produção de grãos no mundo a cada ano.

O consumo de dietas contaminadas por micotoxinas pode induzir efeitos agudos e crônicos, resultando em teratogênese, carcinogênese, impactos estrogênicos ou imunossupressivos, não somente em animais, mas também no homem, ao passo que usualmente os animais sofrem mais devido ao consumo de grãos de baixa qualidade. Nos animais, as dietas contaminadas por micotoxinas podem levar a outras consequências, como recusa alimentar, piora na conversão alimentar, diminuição de ganho de peso, aumento na incidência de doenças devido a imunossupressão e interferência na capacidade reprodutiva, que são responsáveis por grandes perdas econômicas.

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. Sendo que no grupo das aflatoxinas o componente mais potente é a aflatoxina B1. 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.

Para evitar as micotoxicoses diversas estratégias são investigadas que podem ser divididas em métodos químicos, físicos e biológicos. Mas a melhor forma de evitar a contaminação de micotoxinas nos grãos é prevenindo a sua formação, por exemplo: ceifar o grão em maturidade e com baixa umidade e armazenar em condições refrigeradas e secas. Porém, a execução de tais medidas é difícil em países com clima úmido e quente.

O processo físico, através do uso de adsorventes misturados a rações é o mais utilizado atualmente. Os materiais adsorventes, não nutritivos, se unem à micotoxina no trato gastrointestinal, diminuindo a biodisponibilidade da micotoxina e associações tóxicas. Os adsorventes mais eficientes são aqueles que conseguem adsorver o maior número de micotoxinas diferentes. Dentre todos esses métodos de descontaminação, a utilização de adsorventes ligados a micotoxina, é o caminho mais aplicado para proteger animais contra os efeitos prejudiciais das rações contaminadas com as toxinas fúngicas (HUWIG et al., 2001).

Os compostos de aluminossilicato de sódio e cálcio (ASSCA) na concentração de 0,5% na ração têm apresentado um resultado significativo na diminuição dos efeitos adversos de aflatoxinas em varias espécies. Diversos experimentos demonstraram também que a bentonita sódica é um ótimo adsorvente para aflatoxinas em aves, da mesma maneira que os ASSCA (MALLMANN et al., 2007). O glucomanano (GM), outro adsorvente bastante utilizado, é um polímero extraído da parede celular de leveduras. Estudos realizados por Raymond et al. (2000) e Swamy et al. (2002) investigaram os efeitos do GM adicionado na dieta e observaram um aumento na ingesta e diminuição da atividade da gamaglutamil-transferase, um indicador de danos hepáticos, contudo reduzindo o efeito da toxina para ganho de peso e crescimento. .

O cultivo do jundiá (*Rhamdia quelen*) vem crescendo progressivamente no sul do Brasil, devida ao interesse das instituições de pesquisa. Sendo uma espécie nativa de grande representatividade e interesse econômico, apresenta excelente adaptabilidade a diferentes ambientes, sendo amplamente utilizada em cultivos na piscicultura. Além disso, possui boa aceitação no mercado consumidor (GOMES et al., 2000).

Portanto, 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 de peixes da ictiofauna brasileira, alimentados com dietas contaminadas com aflatoxinas e utilização de adsorventes. O presente trabalho teve como objetivo testar diferentes níveis de aflatoxinas (AFs) e dois tipos de adsorvente (ASSCA e GM) em rações para juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) avaliando seu efeito no desempenho zootécnico.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Ictiologia do Departamento de Zootecnia da faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas. O experimento foi conduzido no período de outubro a dezembro de 2007, com duração de 60 dias.

Foram utilizadas 27 caixas de polipropileno com capacidade de 250 L, abastecidos com 200 L de água num sistema de criação fechado e termo regulado. O sistema tem capacidade de 20000 L de água, abastecida através de um reservatório externo com água proveniente de um poço artesiano. A circulação da água nas unidades experimentais foi mantida com um volume de 1,3 L/min, durante as 24 horas do dia.

O experimento utilizou 189 juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) com peso médio de 43,13 g, que foram obtidos através de reprodução induzida a partir de matrizes do próprio setor (UFPel), criados em tanque de terra, alimentados com ração comercial contendo 45% de proteína bruta, além do plâncton originado pela adubação.

Todos os peixes utilizados foram submetidos a um jejum de 24 horas antes de iniciar o experimento. Após este período foram selecionados, para serem realizadas as biometrias iniciais (peso e comprimento). A densidade de estocagem foi de 7 alevinos por unidade experimental.

A alimentação foi ministrada 2 vezes ao dia (9 e 16 horas), na proporção de 5% da biomassa. O ajuste da taxa de arraçoamento foi realizado quando da realização da biometria mensal por unidade experimental, com reposição dos mesmos. Diariamente foi efetuada a limpeza das caixas, através de sifão, retirando-se os resíduos existentes nas mesmas, sendo contabilizada a eventual mortalidade. A troca diária de água foi na ordem 5%, observando-se a necessidade de sifonagem dos dejetos e resíduos das rações.

A dieta dos peixes foi baseada na fórmula descrita por Coldebella e Radünz Neto (2002), na qual foram incluídos os níveis de aflatoxinas (AFs) e dos adsorventes (ADS) de acordo com os tratamentos (tabela 1). Os ADS adicionados nas dietas dos alevinos foram: Aluminosilicato de cálcio e sódio (ASSCA) e o Glucomanano (GM). As dietas experimentais foram isoprotéicas e isocalóricas, contendo 35,2% proteína bruta e 3444 kcal kg⁻¹ de energia digestível.

As dietas foram preparadas no laboratório de Ictiologia do Departamento de Zootecnia. Após o preparo, as mesmas, foram peletizadas em máquina elétrica de moer carne e levadas à estufa por 48 horas a 50°C e novamente moídas até obterem-se grânulos de 2 mm. A alteração da granulometria foi realizada de acordo com o crescimento dos peixes, facilitando a apreensão do alimento.

Os tratamentos testados incluíam diferentes níveis de aflatoxinas (AFs), as quais foram produzidas no Laboratório de Análises Micotoxicológicas - LAMIC-UFSM de acordo com a metodologia apropriada, certificado pelo INMETRO e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, através da fermentação de arroz parbolizado com uma cepa do fungo *Aspergillus parasiticus*. O arroz previamente esterilizado, e após ter sido inoculado, foi adicionado a um erlenmayer e colocado em agitador orbital com controle de temperatura pelo período de 6 dias. Após esse procedimento o arroz foi moído, tendo sido retirada à alíquota para serem quantificadas as aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2) por meio de cromatografia líquida de alta eficiência CLAE.

Os ingredientes utilizados na ração experimental estavam isentos de contaminação natural e foram analisados no LAMIC-UFSM, somente após rigoroso teste por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), o alimento foi liberado para formulação da dieta experimental. Esse cuidado se explica por tratar-se de inclusão artificial de aflatoxinas na dieta sem que haja interferência de toxinas do próprio alimento. O pó de arroz fermentado (contendo aflatoxinas) foi acrescido à ração dos peixes, após uma mistura prévia com farelo de milho; em seguida, foi misturado aos demais ingredientes da ração em um misturador mecânico com capacidade para 5 kg, logo depois foi peletizada e levada a estufa a 50°C (48 h), após esse período foi mantida em lugar seco, escuro e resfriado para evitar qualquer tipo de aparecimento e proliferação de outros fungos. Uma fração de cada tratamento foi enviado para o LAMIC para nova análise, obtendo a confirmação da toxina acrescentada na dieta. As AFs e os ADS (ASSCA e GM) foram incluídos

nas dietas nos seguintes níveis: dieta sem ADS: (controle; 50 μgAFkg^{-1} ; 100 μgAFkg^{-1}); dieta com 0,3% ADS-GM e/ou ASSCA: (controle; 50 μgAFkg^{-1} ; 100 μgAFkg^{-1}).

Aos 60 dias experimentais, após jejum de 24 h, os peixes foram submetidos à biometria e pesagem visando obter as seguintes variáveis: - Peso médio final, crescimento (comprimento total e padrão), ganho de peso diário (peso final - peso inicial/período experimental), biomassa (peso médio final - peso médio inicial x número de final de peixes), rendimento de carcaça (peso do peixe eviscerado x 100/peso final), taxa de crescimento específico ($100 \times ((\text{In peso final} - \text{In peso inicial})/\text{dias}))$ e sobrevivência.

Para a avaliação do rendimento de carcaça foi retirada uma amostra de 10 alevinos de cada tratamento no final do experimento. Para esta determinação utilizou-se bisturi e tesoura, sendo que o corte para a retirada das vísceras foi feito em toda linha ventral, retirando-se as vísceras e brânquias. 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 et al. (2002).

Também foram monitoradas diariamente (09:00 e as 16:00 h) os parâmetros da qualidade da água nas unidades experimentais (O_2D , amônia total, alcalinidade, pH e temperatura) com auxílio de um oxímetro digital e kit colorimétrico.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três níveis de aflatoxinas, dois adsorventes distintos (ASSCA e GM), e três repetições. Os resultados foram submetidos à ANOVA, para comparação entre as médias o teste de Tukey (5%) e análise de contrastes. O pacote estatístico utilizado foi o SAS (1997).

Resultados e Discussão

Destaca-se que as condições ambientais foram uniformes entre os tratamentos, tendo em vista a utilização do sistema de recirculação fechado termo-regulado. Devido a essas observações pode-se afirmar que as variáveis aferidas nos resultados não influenciaram no experimento. Onde os resultados obtidos para temperatura da água: $23,6 \pm 3,5^\circ\text{C}$, oxigênio dissolvido: $5,4 \pm 1,5 \text{ mgL}^{-1}$, amônia total: $0,5 \pm 0,1 \text{ mgL}^{-1}$, alcalinidade: $55 \pm 6,2 \text{ mgL}^{-1}$ e pH $7,7 \pm 0,8$, estando de acordo com Boyd (1997), para o desenvolvimento dos peixes e por Chippari-Gomes et al. (2000) e Piedras et al. (2004) para a espécie *Rhamdia quelen*.

Os resultados de desempenho de crescimento dos alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*), com a inclusão de diferentes níveis de aflatoxinas e de adsorventes (ASSCA e GM), estão descritos na tabela 2. Observa-se que os resultados da análise estatística indicam que houve diferença significativa dentro dos tratamentos, para peso final ($P=0,0001$) e TCE ($P=0,0004$) em relação ao tratamento controle. Demonstrando que os juvenis de jundiá ao alimentarem-se com uma dieta contendo aflatoxinas (50 e $100 \mu\text{gAFkg}^{-1}$) sem ADS, levou os animais a uma redução gradual do ganho de peso em torno de 26,6% no maior nível de inclusão das aflatoxinas ($100 \mu\text{gAFkg}^{-1}$).

A redução observada de crescimento dos animais alimentados com 50 e $100 \mu\text{gAFkg}^{-1}$ de aflatoxinas na ração nesse experimento, esta de acordo com Roberts e Sommerville (1982 apud CONROY, 2000), quando descreveram que tilápias alimentadas com níveis acima de 100ppb de aflatoxinas B1 e B2 apresentaram crescimento reduzido. Resultados semelhantes também foram encontrados por Tuan et al. (2002) com níveis de inclusão de 100 ppm de aflatoxina B1 kg^{-1} na dieta de alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*), observaram acentuada redução do ganho de peso, porém, apresentaram mortalidade. Aranas et al. (2002), também observaram redução de ganho de peso em alevinos de tilápias (*Oreochromis niloticus*), com níveis de $80 \mu\text{gAFkg}^{-1}$ na dieta. Entretanto, Lopes et al. (2005) ao conduzir experimento com alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) verificaram a diminuição de ganho de peso, com inclusão de $204 \mu\text{gAFkg}^{-1}$ na dieta, por 45 dias experimentais.

Os resultados de biomassa e ganho de peso diário também apresentaram diferença significativa ($P=0,0001$) quando alimentados com dietas contendo aflatoxinas (50 e $100 \mu\text{gAFkg}^{-1}$), comparados com o tratamento controle. Entretanto, não ocorreu diferença significativa para rendimento de carcaça, e sobrevivência, dentro dos tratamentos (tabela 3). Resultados semelhantes foram encontrados em alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) por Lopes et al. (2005), onde verificaram a diminuição de ganho médio diário, com nível de inclusão de $204 \mu\text{gAFkg}^{-1}$ na dieta experimental. Também relatam que não houve diferença significativa para rendimento de carcaça e sobrevivência. Dose menor de aflatoxinas na dieta (5 μg) apresentou efeito negativo sobre o desempenho zootécnico de alevinos de tilápia (CONROY, 2000). Manning et al. (2005) ao alimentarem alevinos de channel catfish (*Ictalurus punctatus*) com $20 \mu\text{gAFkg}^{-1}$ numa dieta prática, observaram que não houve diminuição no ganho de peso, consumo alimentar e demonstrando ser uma espécie resistente a toxina. Resistência à intoxicação por aflatoxina, também foram relatados

por Sahoo e Mukherjee, (2002) ao injetarem aflatoxinas intramuscular (1,25 mgAFkg⁻¹ em cada peixe) por 60 dias em alevinos de carpa indiana (*Labeo rohita*), não observaram mortalidade, entretanto, verificaram redução do ganho de peso. De acordo com Dilkin (2002) os consumos em doses moderadas à baixas, causam aflatoxicose crônica, desencadeando graves problemas imunossupressivos, perda de ganho de peso e taxa de crescimento.

A biomassa também apresentou diferença significativa ($P=0,0001$) em relação ao tratamento controle sem aflatoxina e quando adicionado o ADS com glucomanano na dieta dos juvenis, foi possível observar que houve uma ligeira melhora no desempenho zootécnico dos animais em relação ao ASSCA (tabela 3). Resultados da diminuição de biomassa foram encontrados por Chávez-Sánchez et al. (1994), que observaram durante os primeiros 25 dias, o efeito da inclusão de aflatoxinas (7,52, 15 e 30 mgAFB1 kg⁻¹) na dieta de alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) uma diminuição no consumo alimentar, onde biomassa do tratamento controle representa 20 vezes mais do que o peso inicial ($P<0,01$). Lopes et al. (2005) também observaram queda acentuada na biomassa quando submeteram os alevinos de jundiá a dieta com altos níveis de aflatoxinas.

Os valores observados para rendimento de carcaça entre os tratamentos não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$) para todos os tratamentos propostos, ficando em torno de 79,46%. Semelhantes resultados foram descritos por Lopes et al. (2005) com valores de 204 µgAFkg⁻¹ para alevinos de jundiá num sistema semelhante de criação, encontrando 82,16% no rendimento de carcaça.

Em relação à sobrevivência nesse experimento, pode-se afirmar que os alevinos de jundiás apresentam uma alta resistência a intoxicação por aflatoxinas. Resultado semelhante foram encontrado por Lopes et al. (2005), com jundiá intoxicados por 45 dias experimentais, com níveis entre 41 a 204 µgAFkg⁻¹, obtendo 100% de sobrevivência. Embora Chavez-Sanchez et al. (1994), com inclusão de aflatoxina até 20 mgAFkg⁻¹ na dieta de alevinos de tilápias após 25 dias experimentais, observaram elevada mortalidade. Tuan et al. (2002), também observaram mortalidade de 60% em alevinos de tilápias alimentados por 8 semanas com 100 mgAFkg⁻¹. Entretanto Farabi et al., (2006) observaram mortalidade de 8,6% quando alimentaram juvenis de *Huso huso* com dieta contaminada com 10 µgAFkg⁻¹, num período de 40 dias.

Os tratamentos contaminados com aflatoxinas e com inclusão do adsorvente glucomanano (GM) nas dietas dos juvenis de jundiá, apresentaram diferença significativa para peso final, TCE, biomassa e ganho de peso diário entre os tratamentos quando contrastados por níveis de inclusão semelhante (tabela 3).

Os resultados observados indicam que os tratamentos que continham o adsorvente glucomanano melhorou os índices zootécnicos dos animais em relação aos tratamentos que apresentavam o adsorvente aluminosilicato de sódio e cálcio e também aos tratamentos sem adsorventes, não diferindo com os tratamentos controle (sem AFs e ADS) na dieta. Os tratamentos com 50 μgAFkg^{-1} e 0,3% de GM foi 28,4% ($P<0,05$) melhor do que o que continha ASSCA para peso final, TCE, GPD e biomassa dos animais. Enquanto que os tratamentos com 100 μgAFkg^{-1} e 0,3% de GM também demonstrou-se 17,9% melhor na adsorção das aflatoxinas, contribuindo no desempenho satisfatório dos animais intoxicados ($P<0,05$), para peso final, TCE, GPD e biomassa em relação aos tratamentos com ASSCA, não diferindo do tratamento controle (sem AFs e ADS).

Resultados semelhantes foram encontrados por Swamy et al. (2002) com adição de 0,2% de GM na dieta de suínos contaminadas com micotoxinas do genero *Fusarium*, para peso corporal e crescimento. Ellis et al. (2000) testando adsorvente (bentonita sódica) em juvenis de truta (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas com dietas contendo 20 μgAFkg^{-1} , afirmaram que a inclusão de 2% de ADS na dieta reduz significativamente a absorção da aflatoxina pelo organismo animal.

Segundo Ouhida et al. (2000) os benefícios da utilização do adsorvente na ração em relação ao ganho de peso e conversão alimentar ainda não são bem definidos, sendo que a necessidade de utilizar nível de inclusão alto (6%) e que para outros organismos monogástricos, nível de 2% de bentonita sódica na dieta não foram o suficiente para adsorver as micotoxinas. Embora, Tomasevic-Canovic et al. (2003) afirmam que a preparação e o processo de elaboração e inclusão do adsorvente na dieta, influência na absorção das micotoxinas.

Ao longo dos 60 dias experimentais foram observadas algumas características morfológicas nos juvenis que receberam dieta contaminada (50 e 100 μgAFkg^{-1}) como despigmentação parcial da pele, próximo ao pedúnculo caudal. Sinais de aflatoxicose também foram observados por Farabi et al. (2006) com juvenil de *Huso huso* em dietas contaminadas com aflatoxinas. Entretanto, alevinos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com uma dieta contaminada com aflatoxinas (75

e 100 $\mu\text{gAF kg}^{-1}$), não apresentaram anormalidade morfológica e não ocorreu mortalidade ao final de 12 semanas experimentais (LIM et al., 2001). Embora, podem aparecer sinais clínicos, sintomas e um quadro patológico específico, dependendo da micotoxina ingerida, da susceptibilidade das espécies, das condições individuais do organismo e interações ou não com outros fatores (MALLMANN et al., 2007).

Os efeitos tóxicos das aflatoxinas são dependentes da dose e do tempo de exposição, determinando assim intoxicação aguda e crônica. A síndrome tóxica aguda ocorre pela ingestão de alimento com alta concentração de aflatoxina, sendo os efeitos observados em curto espaço de tempo. Caracterizado pela rápida deterioração do estado geral do animal, perda de apetite, hepatite aguda, hemorragias e morte (Rosmaninho et al., 2001). Quando as micotoxinas são ingeridas os diversos efeitos devem as suas diferentes estruturas químicas, influenciadas pelo fato de serem ingeridas por diferentes organismos animais superiores e também pela diversidade de espécies, raça, sexo, idade, fatores ambientais, manejo, condições nutricionais e outras substâncias (Dilkin, 2002).

Muito são os efeitos negativos na produtividade de peixes causados por aflatoxinas no desenvolvimento dos animais durante o período de cultivo, sendo que a perda ao final é irreparável, contribuindo para o insucesso da criação. Portanto torna-se imperativo a continuidade a esse tipo de investigação para buscar resultados mais conclusivos, principalmente pela ação do adsorvente no desenvolvimento dos peixes.

Conclusões

A ingestão de aflatoxinas na dieta causou perdas no ganho de peso e redução de crescimento nos juvenis de jundiá.

O adsorvente a base de glucomanano reduziu a ação das aflatoxinas satisfatoriamente, contribuindo com o desenvolvimento dos juvenis.

Agradecimentos

Aos colegas da pós-graduação, estagiários e ao funcionário do Laboratório de Ictiologia pela ajuda na condução desse trabalho. Ao programa de Pós-graduação em Zootecnia e ao Departamento de Zootecnia pelo apoio durante todo esse período. Ao Laboratório de Análise de Micotoxinas pelas micotoxinas e análises. A Vulgel e a Alltech pela doação dos adsorventes. À CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Referências Bibliográficas

ARANA, S.; TABATA, S.; SABINO, M.; RIGOLINO, M. G.; HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F. J. 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.

BOYD, C. **Manejo do solo e da qualidade da água em viveiro para aquicultura**. Editora. Mogiana Alimentos S.A., 1997. 55p.

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

CHIPPARI-GOMES, A. R.; GOMES, L. C.; BALDISSEROTTO, B. Lethal temperatures for *Rhamdia quelen* larvae (Pimelodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n.6 p. 1069-1071, 2000.

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.

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

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

ELLIS, R. W.; CLEMENTS, M.; TIBBETTS, A.; WINFREE, R. Reduction of the bioavailability of 20 g/kg aflatoxin in trout feed containing clay. **Aquaculture**, v. 183, p. 179-188, 2000.

FARABI, S.M.V., YOUSEFIA, M., HAJIMORADLOO, A. Aflatoxicosis in juvenile *Huso huso* fed a contaminated diet. **Journal Appl. Ichthyol**, v. 22 (suppl. 1), p.234-237, 2006.

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

LAMIC – Laboratório de Análises Micotoxicológicas – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, Brasil. Tabelas de resultados, 2007. Disponível em: <http://www.lamic.ufsm.br/resultado_de_qualidade.htm> Acesso em nov. 2007.

LIM, H. A.; NG, W. K.; LIM, S. L.; IBRAHIM, C. O. Contamination of palm kernel meal with *Aspergillus flavus* its nutritive value in pelleted feed for tilapia, *Oreochromis mossambicus* **Aquaculture Research**, v. 32, n.11, p. 895-905, 2001.

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

LOPES, P. R. S.; RADÜNZ NETO, J.; MALLMANN, C. A.; LAZARI, R.; PEDRON, F. A.; VAIVERBEG, C. A. Crescimento e alterações no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen* alimentados com dietas com aflatoxinas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.10, p.1029-1034, out. 2005.

MALLMANN, C. A.; GIACOMINI, L. Z.; RAUBER, H. R.; PEREIRA, C. E. Micotoxinas em Ingredientes para Alimento Balanceado de Aves. In: XX Congresso Latinoamericano de Avicultura, Brasil, 2007, Porto Alegre. **Anais...**Porto Alegre, 2007, p.191-204

MANNING, B. B.; LI, M. H. ROBINSON, E. H.; Aflatoxins from Moldy Corn Cause No Reductions in Channel Catfish *Ictalurus punctatus* performance. **Journal Of The World Aquaculture Society**, v. 36, n. 1, March 2005.

MELO, J. F. B.; RADÜNZ NETO, J.; DA SILVA, J. H.; TROMBETTA, C. G. Desenvolvimento e composição de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 323-327, 2002.

PIEDRAS, S. R. N.; MORAES, P. R. R.; POUEY, J. L. O. F. Crescimento de juvenil de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Boletim do Instituto de Pesca**. São Paulo, v. 30, n. 2, p. 177-182, 2004.

UHIDA, I.; PEREZ, J. F.; GASA, J. The effects of sepiolite in broiler chicken diets of high, medium and low viscosity: productive performance and nutritive value. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.85, p.183-194, 2000.

RAYMOND, S. L.; SMITH, T. K.; SWAMY, H. V. L. N. Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on feed intake, serum chemistry, and hematology of horses, and efficacy of a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent. **Journal Animal Scienc**, v. 81, p.2123-2130, 2003.

ROSMANINHO, J. F.; OLIVEIRA, C. A. F.; BITTENCOURT, A. B. F. Efeitos das micotoxicoses crônicas na produção avícola. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v.68, p.107-114, 2001.

SAHOO, P. K. e MUKHERJEE, S. C. Influence of high dietary α -tocopherol intakes on specific immune response, nonspecific resistance factors and disease resistance of healthy and aflatoxin B1-induced immunocompromised Indian major carp *Labeo rohita* (Hamilton). **Aquaculture Nutrition**, v.8; p.159-167, 2002

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

SWAMY, H.; SMITH, T. K.; MACDONALD, E. J.; BOERMANS, H. J.; SQUIRE, E.J. Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on swine performance, brain regional neurochemistry, and serum chemistry and the efficacy of a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent. **Journal Animal Scienc**. v. 80, p.3257-3267, 2002.

TUAN, A. N.; GRIZZLE, J. M.; LOVELL, R. T.; MANNING, B. B.; ROTTINGHAUS, G. E. et al. Growth and hepatic lesions of Nile Tilapia

Oreochromis niloticus fed diets containing aflatoxin B1. **Aquaculture**, v. 212, p. 311-319, 2002.

TOMASEVIC-CANOVIC, M.; DAKOVIC, A.; ROTTINGHAUS, MATIJAEVIC, S.; DURICIC, M. et al. Surfactant modified zeolites – new efficient adsorbents for micotoxins. **Microporous and mesoporous materials**, v. 61, p.173-180, 2003.

Tabela 1. Composição e formulação da ração experimental

Ingredientes	%
Farinha de Carne e Ossos	35
Farelo de soja	24,01
Milho triturado (grãos)	19,21
Farelo de trigo	6,7
Óleo de canola	13,03
Sal comum iodado ¹	1
Premix vitamínico e mineral ²	0,75
Adsorvente® (GM) ¹	0,3
(ASSCA) ²	0,3
Total	100
Composição Bromatológica da Ração Experimental (%)	
Proteína Bruta	35,22
Materia Seca	90,73
Cinzas	10,65
Extrato Etéreo	16,16
Fibra Bruta	2,54
Cálcio	3,2
Fósforo	1,87
Energia Digestível kcal kg ⁻¹	3444,4

Segundo LUCHINI (1990);

2- Composição do premix vitamínico (por kg): Vit.A: 6.000.000 UI; Vit. D: 1.000.000 UI; Vit. E: 100.000; Vit. K: 5.000 UI; Riboflavina: 10.000 mg; Ác. Pantotênico: 30.000 mg; Niacina: 60.000 mg; Vit. B12: 20.000mcg; Biotina: 600 mcg; Ác. Fólico: 2.500 mg; Tiamina: 10.000 mg; Piridoxina: 20.000 mg; Cobre: 12.001 mg; Ferro: 75.000 mg; Manganês: 99.974 mg; Iodo: 998 mg; Selênio: 250 mg; Zinco: 90.001 mg.

®1 (Mycosorb) doado pela empresa Altech

®2 ASSCA doada pela empresa Vulgel.

TABELA 2. Resultados de crescimento obtidos aos 60 dias experimentais com juvenis de jundiá alimentados com rações contendo diferentes níveis de aflatoxinas, aluminosilicato e glucomanano

Tratamentos ($\mu\text{g AFkg}^{-1}$)			Peso inicial	Peso final	TCE	
AFLATOXINA	T0	Controle	42,45 $\pm$ 5,65 ^a A	70,01 $\pm$ 4,11 ^a A	1,71 $\pm$ 0,13 ^a A	
	T1	50	43,29 $\pm$ 5,49 ^a A	54,76 $\pm$ 8,19 ^b B	1,48 $\pm$ 0,34 ^b B	
	T2	100	43,26 $\pm$ 5,01 ^a A	51,39 $\pm$ 11,58 ^b B	1,43 $\pm$ 0,38 ^b B	
AFLATOXINA + 0,3 GM	T0	Controle	40,70 $\pm$ 5,66 ^a A	66,94 $\pm$ 3,64 ^a A	1,57 $\pm$ 0,22 ^a A	
	T1	50	44,66 $\pm$ 5,81 ^a A	63,62 $\pm$ 4,12 ^a A	1,66 $\pm$ 0,28 ^a A	
	T2	100	45,83 $\pm$ 4,99 ^a A	59,79 $\pm$ 5,32 ^b A	1,65 $\pm$ 0,34 ^a A	
AFLATOXINA + 0,3% ASSCA	T0	Controle	41,80 $\pm$ 0,40 ^a A	56,91 $\pm$ 5,41 ^a B	1,36 $\pm$ 0,22 ^a B	
	T1	50	43,48 $\pm$ 5,65 ^a A	49,53 $\pm$ 5,85 ^b C	1,50 $\pm$ 0,26 ^a B	
	T2	100	42,90 $\pm$ 5,96 ^a A	50,70 $\pm$ 7,20 ^b B	1,40 $\pm$ 0,28 ^a B	
CV (%)			-	12,52	11,66	18,9

TCE: taxa de crescimento específico

Letras minúsculas diferentes nas colunas, dentro de cada tratamento, apresentam diferença significativa ($P < 0,05$).

Letras maiúsculas diferentes nas colunas, para cada nível entre os tratamentos, apresentam diferença significativa ($P < 0,05$).

TABELA 3. Desempenho zootécnico dos juvenis de jundiá após 60 dias experimentais alimentados com dieta contendo aflatoxinas, aluminosilicato e glucomanano

Tratamentos ($\mu\text{g AFkg}^{-1}$)			Rendcar	Biomassa	GPD	Sob (%)
AFLATOXINA	T0	Controle	82,82 $\pm$ 7,03 ^a A	578,8 $\pm$ 130,8 ^a A	0,46 $\pm$ 0,10 ^a A	100
	T1	50	78,75 $\pm$ 5,28 ^a A	240,8 $\pm$ 176,5bB	0,19 $\pm$ 0,11 ^b B	100
	T2	100	78,78 $\pm$ 3,59 ^a A	170,8 $\pm$ 278,4bB	0,13 $\pm$ 0,22 ^b B	100
AFLATOXINA + 0,3 ADS-GM	T0	Controle	82,68 $\pm$ 5,16 ^a A	550,9 $\pm$ 128,4 ^a A	0,43 $\pm$ 0,10 ^a A	100
	T1	50	78,04 $\pm$ 6,05 ^a A	398,1 $\pm$ 155,4bA	0,31 $\pm$ 0,12 ^b A	100
	T2	100	75,36 $\pm$ 10,07 ^a A	293,2 $\pm$ 152,3cA	0,23 $\pm$ 0,12 ^b A	100
AFLATOXINA + 0,3% ASSCA	T0	Controle	82,14 $\pm$ 4,72 ^a A	312,3 $\pm$ 140,2 ^a B	0,24 $\pm$ 0,11 ^a B	100
	T1	50	78,78 $\pm$ 3,59 ^a A	127,0 $\pm$ 136,5bC	0,10 $\pm$ 0,10 ^b C	100
	T2	100	78,48 $\pm$ 4,93 ^a A	164,1 $\pm$ 155,5bB	0,13 $\pm$ 0,12 ^b B	100
CV (%)			7,49	54,39	54,89	-

Rendcar: Rendimento de carcaça; GPD: ganho de peso diário; Sob: sobrevivência;

Letras minúsculas diferentes nas colunas, dentro de cada tratamento, apresentam diferença significativa ($P < 0,05$).

Letras maiúsculas diferentes nas colunas, para cada nível entre os tratamentos, apresentam diferença significativa ($P < 0,05$).

Artigo 3

EFEITOS DAS AFLATOXINAS SOBRE OS PARÂMETROS ERITROCITÁRIOS DE ALEVINOS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)³

³ Texto formatado conforme normas da Revista Ciência Rural.

Efeitos das aflatoxinas sobre os parâmetros eritrocitários de alevinos de jundiá
(*Rhamdia quelen*)

Aflatoxin effects on erythrocytic parameters of jundiá (*Rhamdia quelen*)
fingerlings

RESUMO

Para avaliar o efeito das aflatoxinas nos parâmetros eritrocitários dos alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) foram utilizados 12 peixes (peso inicial de 4 g), criados em sistema de recirculação da água termo-regulado, durante 90 dias. Foram testados quatro níveis de inclusão de aflatoxinas (0, 150, 250 e 350 μgAFkg^{-1}) com três repetições. A presença de aflatoxinas na dieta afetou significativamente o hematócrito e hemoglobina, sem interferir nas demais variáveis avaliadas (RBC, VCM, HCM e CHCM). Conclui-se que há redução de até 46% nos níveis de hemoglobina e 52% na taxa de hematócrito, em jundiás alimentados com dietas contaminadas por aflatoxinas.

Palavra Chave: hematologia, peixe de água doce, *Rhamdia quelen*, sangue.

ABSTRACT

To evaluate the effect of aflatoxins on erythrocytic parameters of jundiá (*Rhamdia quelen*) fingerlings, 12 fish (initial weight 4 g) were raised in a thermo-regulated recirculation water system, during 90 days. Four levels (0, 150, 250 e 350 μgAFkg^{-1}) of aflatoxin inclusion in diets, with 3 replications, were compared. The presence of aflatoxins significantly affected hematocrit and hemoglobin, without interfering in the other variables evaluated (RBC, VCM, HCM and CHCM). It is concluded that aflatoxin reduces up to 46% hemoglobin levels and up to 52% hematocrit rate in jundiá fingerlings fed contaminated diets.

Key Words: hematology, freshwater fish, *Rhamdia quelen*, blood.

INTRODUÇÃO

Vários peixes nativos brasileiros já despertaram os interesses dos piscicultores e pesquisadores devido as suas características de crescimento rápido, boa conversão alimentar, facilidade de reprodução induzida e por características apropriadas à pesca esportiva. Dentre esses destaca-se o jundiá (*Rhamdia quelen*) encontrado a partir do golfo do México até o sul da América do Sul, espécie que está sendo cultivado nos três estados do sul do país. Mesmo sendo importante para a aquicultura nacional, pouco se sabe sobre sua fisiologia, especialmente as características sangüíneas.

Os estudos hematológicos das diferentes espécies de peixes são de interesse ecológico e fisiológico, pois auxiliam na compreensão da relação entre as características sangüíneas, a filogenia, o hábitat e a adaptabilidade dos peixes ao ambiente. Verifica-se que as diferentes espécies de peixes mesmo que do mesmo gênero, na maior parte dos casos, apresentam variações quanto aos valores quanto ao número, tamanho e volume dos eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito. Tais variações intra-específicas podem ser atribuídas às diferentes características de comportamento, hábitat, hábito alimentar, clima e outros fatores (TAVARES-DIAS & MORAES, 2004).

Os estudos bioquímicos contribuem para compreensão de variações das características sangüíneas. A variação nas características hematológicas em peixes depende da espécie, idade, sexo, alimentação e ambiente a que estão expostos. Portanto, constitui importante característica a ser analisada quando os animais são expostos a produtos químicos (OMOREGIE, 1998), ao estresse (MARTINS et al., 2004), a infecções (BENLI & YILDIZ, 2004) a parasitos (TAVARES-DIAS et al., 2002) e micotoxinas (VIEIRA et al., 2006).

Segundo SILVEIRA & RIGORES (1989), a padronização dos parâmetros hematológicos dos peixes auxilia na determinação das influências das dietas, de enfermidades e de outras situações de estresse ambiental. O hematócrito é 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 (TAVARES-DIAS & MORAES, 2000).

Hoje estima-se que aproximadamente 25% dos cereais presentes no mundo estão contaminados por micotoxinas, enquanto uma porcentagem ainda maior pode estar contaminada com micotoxinas ainda não identificadas. Nenhuma região no mundo esta livre do impacto negativo na produtividade animal e saúde humana.

A aflatoxina é um metabólito secundário dos fungos *Aspergillus flavus* e *parasiticus*, que apresenta efeitos negativos sobre a produção animal, reduzindo o consumo de ração, conversão alimentar, além de deixar o animal susceptível às doenças por sua ação imunossupressora. As micotoxinas atuam sistemicamente sobre o fígado, rins e determinam efeitos negativos sobre os parâmetros hematológicos. Conforme LUMBERTDACHA et al. (1995), o perfil hematológico dos peixes pode sofrer redução pela ação de toxinas.

A aquicultura intensiva tem necessidade de informações acuradas sobre a identificação e o controle de situações de estresse e/ou de enfermidades, a fim de assegurar a saúde dos peixes. Nesse caso, o estudo das variáveis hematológicas assume importância como meio auxiliar de diagnóstico (TAVARES-DIAS et al., 2000; TAVARES-DIAS & MORAES, 2004).

Devido a todos os fatores supramencionados, o presente trabalho teve como objetivo verificar a influência da dieta contendo aflatoxinas sobre os parâmetros hematológicos dos alevinos de jundiá *Rhamdia quelen*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Ictiologia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas. O experimento foi conduzido no período de maio a agosto de 2007, com duração de 90 dias.

Foram utilizadas 12 caixas de polipropileno com capacidade de 250 L, abastecidos com 200 L de água num sistema de criação fechado e termo regulado. O sistema tem capacidade de 20000 L de água, abastecida através de um reservatório externo com água proveniente de um poço artesiano. A circulação da água nas unidades experimentais foi mantida com um volume de 1,3 L/min, durante as 24 horas do dia.

O experimento utilizou 12 alevinos de jundiá *Rhamdia quelen* com peso médio inicial de 4,5 g, que foram obtidos através de reprodução induzida a partir de matrizes do próprio setor (UFPel) e criados em tanque de terra, alimentados com ração comercial contendo 45% de proteína bruta, além do plâncton originado pela adubação.

Todos os peixes utilizados foram submetidos a um jejum de 24 horas antes de iniciar o experimento. A alimentação foi ministrada duas vezes ao dia (9 e 16 horas), na proporção de 5% da biomassa. Diariamente foi efetuada a limpeza das caixas, através de sifão, retirando-se os resíduos existentes nas mesmas, sendo contabilizada a eventual mortalidade. A troca diária de água foi na ordem 5%, observando-se a necessidade de sifonagem dos dejetos e resíduos das rações.

A dieta dos peixes foi baseada na fórmula descrita por COLDEBELLA & RADÜNZ NETO (2002) (Tabela 1), na qual foram incluídos os níveis de aflatoxinas (AF) de acordo com os tratamentos. As dietas experimentais foram isoprotéicas e isocalóricas, contendo 35,2% proteína bruta e 3444 kcal kg⁻¹ de energia digestível.

As dietas foram preparadas no próprio setor de piscicultura do Departamento de Zootecnia. A matéria prima que compôs a dieta foi pesada, moída e misturada, objetivando-se sua completa homogeneização. Após o preparo, as mesmas, foram peletizadas em máquina de moer carne elétrica e levadas à estufa por 48 horas a 50°C e novamente moídas até obter-se grânulos de 1 mm. A alteração da granulometria foi realizada de acordo com o crescimento dos peixes, facilitando a apreensão do alimento.

Os tratamentos testados incluíam diferentes níveis de aflatoxinas (AF), a qual foi produzida no Laboratório de Análises Micotoxicológicas - LAMIC-UFSM de acordo com a metodologia apropriada, certificado pelo INMETRO e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, através da fermentação de arroz parbolizado com uma cepa purificada do fungo *Aspergillus parasiticus*. O arroz previamente esterilizado, e após ter sido inoculado, foi adicionado a um *erlenmayer* e colocado em agitador orbital com controle de temperatura pelo período de 6 dias. Após esse procedimento o arroz foi moído, tendo sido retirada à alíquota para serem quantificadas as aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2) por meio de cromatografia líquida de alta eficiência CLAE.

Na ração experimental foram utilizados ingredientes comprovadamente isentos de contaminação natural, conforme análise do LAMIC-UFSM. Esse alimento foi liberado para formulação da dieta experimental somente após rigoroso teste com Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), por tratar-se de inclusão artificial de aflatoxinas na dieta sem que haja interferência de toxinas do próprio alimento. O pó de arroz fermentado (contendo aflatoxinas) foi acrescido à ração dos peixes, após uma mistura prévia com farelo de milho; em seguida, foi misturado aos demais ingredientes da ração em um misturador mecânico com capacidade para 5 kg, logo depois foi

peletizada e levada a estufa (48 h), após esse período foi mantida em lugar seco, escuro e resfriado para evitar qualquer tipo de aparecimento e proliferação de outros fungos. Logo após, uma fração de cada tratamento foi enviado para o LAMIC para nova análise, obtendo a confirmação da toxina acrescentada na dieta.

A micotoxinas foram incluídas nas rações nos seguintes níveis para cada tratamento: (T0-controle; T1-150 μgAFkg^{-1} ; T2-250 μgAFkg^{-1} e T3-350 μgAFkg^{-1}). Após os 90 dias experimentais os peixes foram submetidos a jejum de 24 h, para coleta de sangue, quando foram capturados três animais, aleatoriamente, por tratamento. Os animais foram retirados e anestesiados com benzocaína (3g 20mL⁻¹ de álcool/20L de água) e a coleta foi realizada por punção caudal, com auxílio de seringas (3mL) descartáveis contendo EDTA a 10% e agulhas (25x0,7mm). As análises da série eritrocitária foram realizadas por contador manual e incluíram número total de eritrócitos (RBC - 10⁶ μL^{-1}), o hematócrito (HCT- %), a hemoglobina (HGB - g dL⁻¹) e índices eritrocitários ou hematimétricos absolutos: volume corpuscular médio (VCM - fL), hemoglobina corpuscular média (HCM - pg) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM - g dL⁻¹).

Também foram monitorados diariamente (09:00 e as 16:00hs) os parâmetros da qualidade da água nas unidades experimentais (O₂D, amônia total, alcalinidade, pH e temperatura) com auxilio de um oxímetro digital e kit colorimétrico.

O delineamento experimental foi completamente casualizado, com quatro níveis de aflatoxinas e três repetições. Os resultados foram submetidos à ANOVA, para comparação entre as medias o teste de Tukey (5%). O pacote estatístico utilizado foi o SAS (1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nos parâmetros físicos e químicos da água experimental encontram-se na faixa de conforto e desenvolvimento para a criação de peixes (BOYD, 1997). Esses valores descritos abaixo: temperatura da água: $24,5 \pm 2,1^{\circ}\text{C}$, oxigênio dissolvido: $5,6 \pm 1,1 \text{ mgL}^{-1}$, amônia total: $0,5 \pm 0,1 \text{ mgL}^{-1}$, alcalinidade: $52 \pm 5,9 \text{ mgL}^{-1}$ e pH $7,5 \pm 0,3$, estão de acordo com os observados por PIEDRAS et al. (2004) e MELO et al. (2002), para a espécie (*Rhamdia quelen*).

Os valores encontrados neste trabalho para hemoglobina (HGB g/dL) e hematócrito (HCT %) encontram-se descritos na tabela 2. A redução significativa ($P < 0,05$) nos níveis de hematócrito (52%) e hemoglobina (46%) nos tratamentos 1, 2, e 3, foi decorrente dos níveis crescentes das aflatoxinas na dieta (150, 250 e 350 μgAfkg^{-1}) em relação ao tratamento-controle (sem aflatoxinas). Redução significativa dos parâmetros hematológicos também foi constatada por VIEIRA et al. (2006) em alevinos de jundiá, alimentados por 45 dias com aflatoxinas na dieta (0, 41, 91, 204 $\mu\text{gAf/kg}$), com níveis mínimos médios de HCT (11,16%) e HGB (3,5 g/dL). Também foram observados redução na taxa de hematócrito para alevinos de catifsh (*Ictalurus punctatus*) quando submetidos a dieta contaminada com afltoxinas (88 $\mu\text{gAf/kg}$) por 130 dias (MANNING, et al., 2005).

Segundo TUAN et al. (2002) a ingestão de alimentos contaminados com aflatoxinas pelos peixes pode causar redução do crescimento, alterações nos parâmetros hematológicos e supressão do sistema imune dos peixes. O mesmo autor ao testar dietas contaminadas com aflatoxinas, para alevinos tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) pesando 2,7g em sistema fechado, observaram redução significativa nas taxas de hematócrito.

O hematócrito é 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 (TAVARES-DIAS & MORAES, 2000). Os resultados apresentados por este trabalho corroboram também com POSTON et al. (1983) com alevinos de truta arco-íris e JANTRAROTAI & LOVELL (1991) com alevinos de *Ictalurus punctatus*, que observaram redução da taxa de hematócrito e hemoglobina, quando esses animais foram submetidos a dietas intoxicadas com aflatoxinas, além de perda de crescimento.

Os valores médios obtidos no presente trabalho para o tratamento-controle estão próximos aos valores de referência, 6,73 g dL para HGB e 26,50% para HCT, obtidos por TAVARES-DIAS et al. (2002) em juvenis de jundiá, criados em sistema aberto alimentados com dieta comercial (45%PB). Esses resultados ligeiramente superiores são atribuídos ao teor protéico superior ao utilizado nesse experimento.

MELO et al. (2006) ao submeterem juvenis de jundiá a diferentes níveis de proteínas (20, 27, 34, 41 %) também observaram leve tendência do aumento dos parâmetros hematológicos (HCT-32,53% e HGB-9,07 g dL) até 27 % PB. Entretanto, BORGES (2005), encontrou valores mais altos para HCT (43 %), porém semelhantes aos observados no presente trabalho para HGB (8,7 g dL⁻¹), quando alimentou juvenis de jundiá, com dieta comercial.

Os índices hematimétricos VCM, HCM, CHCM e RBC não apresentaram efeitos significativos ($P>0,05$), para os alevinos de jundiá *Rhamdia quelen*, para os tratamentos testados (tabela 3).

Resultados semelhantes a este trabalho foram encontrados por TAVARES-DIAS et al. (2002) com juvenis de jundiá onde encontrou valores de referência a espécie (VCM 139,03 fL e CHCM 25,94 g dL⁻¹). MELO et al. (2006) com juvenis de jundiá alimentados com altos níveis de proteínas na dieta não observou diferença

significativa para esses parâmetros (VCM 127,72 a 144,22 fL e CHCM 28,30 a 31,78 g dL⁻¹) num período de 55 dias experimentais. Mesma tendência foi observada por CAMARGO et al. (2005) quando submeteu juvenis de jundiá a diferentes níveis de proteína nas dietas (30, 40 e 50%), nos parâmetros hematológicos dos animais, por 45 dias. BORGES (2005) alimentando machos de jundiá com peso médio de 198,3 g, por 3 dias com ração comercial, também obteve valores próximos a este trabalho (VCM 120,9 fL, MCH 24,3 pg e CHCM 20,7 g dL⁻¹).

Foram observadas algumas alterações no estado geral dos alevinos durante o período de intoxicação, como, despigmentação próxima ao pedúnculo caudal e diminuição do muco. Já observados por LOPES et al. (2005) com alevinos de jundiá alimentados com dieta contendo diferentes níveis de aflatoxinas (41, 90 e 204 µgAFkg⁻¹), SOUZA et al. (2000) com tilápias alimentadas com 80 µg AF/kg na dieta e FARABI et al (2006) onde observaram em juvenis de *Huso huso* com dietas contaminadas com aflatoxinas (10 µgAf/kg).

CONCLUSÕES

O aumento dos níveis de aflatoxinas na dieta diminuiu gradativamente os valores do hematócrito e os níveis de hemoglobina dos alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*).

AGRADECIMENTOS

Aos colegas da pós-graduação, estagiários e ao funcionário do Laboratório de Ictiologia pela ajuda na condução desse trabalho. Ao programa de Pós-graduação em Zootecnia e ao Departamento de Zootecnia pelo apoio durante todo esse período. Ao Laboratório de Análise de Micotoxinas pelas micotoxinas. À CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENLI, A. C. K.; YILDIZ, H. Y. Blood parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) spontaneously infected with *Edwardsiella tarda*. **Aquatic Research**, Oxford, v. 35, p. 1388-1390, 2004.

BORGES, A. **Valores hematológicos e bioquímicos séricos, efeitos de dose sub-letais da cipermetrina e características físico-químicas do sêmen do jundiá (*Rhamdia quelen*)**. 2005. 175f. Tese (Doutorado em fisiologia) Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Universidade federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS.

CAMARGO, S. O. et al. Parâmetros eritrocitários do jundiá (*Rhamdia quelen*) submetido a dieta com diferentes níveis de proteínas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1406-1441, 2005.

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.

FARABI, S. M. V. et al. Aflatoxicosis in juvenile *Huso huso* fed a contaminated diet. **Journal Appl. Ichthyol.** v. 2, suppl. 1, p. 234-237, 2006.

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

LOPES, P. R. S. et al. Crescimento e alterações no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas com aflatoxinas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.10, p.1029-1034, out. 2005

LUMLERTDACHA, S. et al. Growth, hematology, and histopathology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed toxins from *Fusarium moniliforme*. **Aquaculture**, v. 130, p.201-218, 1995.

MANNING, B. B. et al. Aflatoxins from moldy corn cause no reductions in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) performance. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 36, n. 1, p. 59-67 2005.

MARTINS, M. L. et al. Haematological alterations of *Leporinus macrocephalus* (Osteichthyes: Anostomidae) naturally infected by *Goezia leporini* (Nematoda: Anisakidae) in fish pond. **Arquivo Brasileiro de Medicina, Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, p. 640-646, 2004b.

MELO, J. F. B. et al. Desenvolvimento e composição corporal de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADOS com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.2, p.323-327, 2002.

MELO, J. F. B. et al. Efeito do conteúdo de proteína na dieta sobre os parâmetros hematológicos e metabólicos do bagre sul americano *Rhamdia quelen*. **Revista Ciência Agroambiental**, Tocantins, v. 1, n.1, janeiro a junho de 2006

OMOREGIE, E. Changes in the haematology of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* Trewavas under the effect of crude oil. **Acta Hydrobiologic**, Kracow, v. 40, p. 287-292, 1998.

PIEDRAS, S. R. N.; et al. Crescimento de juvenil de jundiá (*Rhamdia quelen*) em diferentes temperaturas. **Boletim do Instituto de Pesca**. São Paulo, v. 30, n. 2, p. 177-182, 2004.

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

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

SOUZA, S. M. G. et al. 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.

TAVARES-DIAS, M. et al. Haematological characteristics of Brazilian teleosts III. Parameters of the hybrid tambacu (*Piaractus mesopotamicus* x *Colossoma macropomum*)(Osteichthyes:Characidae). **Revista Brasileira de Zoologia** v. 17, p. 899-926, 2000.

TAVARES-DIAS, M. et al. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. IV. Variáveis do jundiá *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria v.32(4), p. 693-698, 2002.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematologia de Peixes Teleósteos**. Ed. Eletrônica e Arte Final. Riberão Preto. SP.144p., 2004.

TUAN, A. N. et al. Growth and hepatic lesions of Nilo Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing aflatoxin B1. **Aquaculture**, v. 212, p. 311-319, 2002.

VIEIRA, V. L. P. et al. Alterações metabólicas e hematológicas em jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com rações contendo aflatoxinas. **Ciência Animal Brasileira**, v.7, n.1, p.49-55, jan/mar. 2006.

TABELA 1. Composição e 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

Composição Bromatológica da Ração Experimental (%)

Proteína Bruta	35,22
Materia Seca	90,73
Cinzas	10,65
Extrato Etéreo	16,16
Fibra Bruta	2,54
Cálcio	3,20
Fósforo	1,87
Energia Digestível kcal kg ⁻¹	3444,4

1 - Segundo LUCHINI (1990);

2- Composição do premix vitamínico e mineral (por kg): Vit.A: 6.000.000 UI; Vit. D3: 530.000 UI; Vit. E: 100.000; Vit. K: 5.000 UI; Riboflavina: 10.000 mg; Ác. Pantotênico: 30.000 mg; Niacina: 60.000 mg; Vit. B12: 20.000mcg; Biotina: 50 mg; Ác. Fólico: 400 mg; Tiamina: 10.000 mg; Piridoxina: 20.000 mg; Vit. C: 25.000 mg; Cobre: 15.000 mg; Ferro: 75.000 mg; Manganês: 23.000mg; Iodo: 700mg; Selênio: 250 mg; Zinco: 40.000 mg; cobalto: 1.500mg.

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão de hemoglobina e da taxa de hematócrito dos alevinos de jundiá

Tratamento	HGB	HCT
Controle:	8,2±0,85 ^a	23,63±1,40 ^a
T1 150 µg Af kg ⁻¹	6,13±0,20 ^b	16,96±1,62 ^b
T2 250 µg Af kg ⁻¹	4,6±0,26 ^b	14±0,95 ^b
T3 350 µg Af kg ⁻¹	4,43±0,66 ^b	11,43±0,83 ^b

HGB: Hemoglobina; HCT: hematócrito

Letras minúsculas diferentes nas colunas apresentam diferença significativa (P<0,05).

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão dos parâmetros hematológicos dos alevinos de jundiá alimentados com diferentes níveis de aflatoxinas na dieta, num período de 90 dias

Tratamento	Variáveis			
	RBC x 10 ⁶ /μL	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (g/dL)
Controle	1,30±0,33 ^a	145,66±11,15 ^a	44,50±1,08 ^a	30,66±1,77 ^a
T1 150 μg AF kg ⁻¹	1,53±0,26 ^a	141,83±4,49 ^a	46,10±6,70 ^a	32,60±5,59 ^a
T2 250 μg AF kg ⁻¹	1,10±1,10 ^a	148,30±0,88 ^a	43,93±1,00 ^a	28,20±0,52 ^a
T3 350 μg AF kg ⁻¹	1,15±0,20 ^a	153,96±2,57 ^a	44,76±1,30 ^a	28,70±0,10 ^a
CV (%)	18,92	4,18	7,79	9,83
P	0,1983	0,1854	0,8888	0,3145

RBC=número total de eritrócitos; VCM=volume corpuscular médio; HCM=hemoglobina corpuscular média; CHCM=concentração de hemoglobina corpuscular média.

Letras minúsculas diferentes nas colunas apresentam diferença significativa (P<0,05).

CONCLUSÕES GERAIS

Os níveis crescentes de aflatoxinas na dieta causaram redução no crescimento e ganho de peso nos alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). O adsorvente aluminosilicato de sódio e cálcio não beneficiou o desenvolvimento dos alevinos nas concentrações testadas.

A ingestão de aflatoxinas na dieta dos juvenis de jundiá causou perdas no ganho de peso e redução de crescimento. O adsorvente a base de glucomanano reduziu a ação das aflatoxinas satisfatoriamente, contribuindo com o desenvolvimento dos peixes.

O aumento dos níveis de aflatoxinas na dieta diminuiu gradativamente os valores do hematócrito e níveis de hemoglobina dos alevinos de jundiá.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante os experimentos foi observado que os alevinos e juvenis de jundiá quando alimentados com dieta contendo adsorvente como aluminossilicato de sódio e cálcio hidratado, consumiam menos a ração. Entretanto, deve-se levar em consideração que a os ingredientes utilizados nas dietas foram da mesma partida para todos os tratamentos e que apenas continha como diferencial o adsorvente, quando comparados entre si ou não.

Dessa forma podemos concluir que a recusa e redução da dieta por esses animais, aparentemente foi o sinergismo do adsorvente, alterando o desempenho desses animais, e dessa forma prejudicando a palatabilidade da dieta. Foi também observado que o glucomanano, adsorvente composto de glucomananos esterificados extraídas da parede celular de culturas de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026), não alterou o desempenho dos animais e até contribuíram para melhoria no desenvolvimento e crescimento dos peixes, quando alimentados com as dietas contaminadas com aflatoxinas.

O fator de condição corporal, que avalia o desenvolvimento uniforme dos animais, levando em consideração o peso total (g) e o comprimento (cm), não apresentou diferença significativa entre os tratamentos testados, apenas para o controle. Esse resultado expressa o fato que os peixes quando alimentados com dietas com aflatoxinas, perdem ou deixam de ganhar peso de forma homogênea, haja vista, que no tratamento com maior nível de inclusão de aflatoxinas houve uma perda de 42% de ganho de peso para os alevinos em relação ao controle, confirmando então a correlação já relatada por vários pesquisadores que a uma relação positiva entre peso total e comprimento total.

Desta forma pode-se corroborar com a afirmação que o sistema ideal para detoxificar as rações animais deve levar em consideração não somente a redução das micotoxinas, mas também que a substância empregada não cause produtos de degradação tóxica nem tampouco, reduza o valor nutritivo dos alimentos tratados e nem tampouco prejudique a palatabilidade do alimento em relação à apreensão dos animais.