

ALTERAÇÕES METABÓLICAS E HEMATOLÓGICAS EM JUNDIÁS (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADOS COM RAÇÕES CONTENDO AFLATOXINAS

VÂNIA LUCIA PIMENTEL VIEIRA¹, JOÃO RADÜNZ NETO², PAULO RODINEI SOARES LOPES³, RAFAEL LAZZARI⁴, MILENE BRAGA DA FONSECA⁵ E CHARLENE CAVALHEIRO MENEZES⁵

1. Bióloga, professor doutor adjunto, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, RS-(e-mail:vaniluc@yahoo.com.br).

2. Engenheiro agrônomo, professor doutor adjunto, Departamento de Zootecnia, UFSM, RS. (e-mail:jradunzneto@smail.ufsm.br).

3 Zootecnista, mestre em Zootecnia.

4 Zootecnista, aluno do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, UFSM.

5 Acadêmicas do curso de Biologia, UFSM.

RESUMO

A presente pesquisa teve por objetivo verificar a influência de diferentes níveis de aflatoxinas sobre alguns parâmetros metabólicos e hematológicos em alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*), utilizando-se peixes com peso inicial de 3,0 gramas, criados em sistema de recirculação de água, durante 45 dias, com quatro tratamentos experimentais, sendo um controle e três níveis de aflatoxinas: 41, 90 e 204 ppb de aflatoxinas/kg de ração. Os resultados obtidos demonstraram redução nos valores de hematócrito, hemoglobina e glicose sanguínea dos peixes, proporcio-

nalmente aos níveis crescentes de incorporação de aflatoxinas na dieta. Quanto aos metabólitos no tecido hepático e muscular, a principal alteração foi a redução nos teores de proteína muscular e hepática em resposta aos níveis adicionados. Conclui-se que, para os níveis de aflatoxinas testados, ocorre diminuição dos parâmetros hematológicos em alevinos de jundiá. Ocorre também utilização da proteína do músculo e do fígado pelos peixes, sendo que as outras alterações metabólicas podem ser consideradas adaptações do peixe em relação à intoxicação.

PALAVRAS-CHAVE: Aflatoxinas, hematócrito, intoxicação, metabólitos, *Rhamdia quelen*.

ABSTRACT

METABOLIC AND HEMATOLOGICAL CHANGES IN JUNDIÁS (*Rhamdia quelen*) FED WITH DIETS CONTAINING AFLATOXINS

The aim of the present study was to verify the influence of different aflatoxins levels on metabolic and hematological parameters in jundiá (*Rhamdia quelen*) fingerlings. Fishes with 3,0 g were rearing in water re-using system, for 45 days. Four experimental diets were used, being a control and more 3 levels: 41, 90 and 204 ppb/aflatoxin/kg. The results demonstrated reduction in hematocrit, hemoglobin and blood glucose of the fish,

proportionally at the increased levels of aflatoxins. The metabolites in the hepatic and muscular tissues decreased the values of muscular and hepatic protein in response to the added aflatoxins levels. In conclusion, the levels of aflatoxin tested, decreased the hematological parameters in jundiá fingerlings. The use of protein of the muscle and liver for the fish, and the other metabolic changes are adaptations in response to the aflatoxin poisoning.

KEY WORDS: Aflatoxins, hematocrit, metabolits, intoxication, *Rhamdia quelen*.

INTRODUÇÃO

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 dos contaminantes naturais como as micotoxinas, que podem acarretar perdas consideráveis à criação de peixes.

As micotoxinas são substâncias produzidas por fungos, de vários gêneros, que crescem em produtos agrícolas antes ou depois da colheita, durante o transporte ou no armazenamento. Tais fungos têm a capacidade de formar substâncias químicas que são venenosas ou tóxicas e causar intoxicações agudas, crônicas, com efeitos mutagênicos, cancerígenos e imunossupressores (CONROY, 2000). Dentre as principais micotoxinas encontradas em produtos alimentícios e grãos, têm-se a aflatoxina, o tricotecenos, a zearalenona e as ocratoxinas.

Segundo MALLMANN et al. (1994), existem, atualmente, mais de quatrocentas micotoxinas que causam severos prejuízos aos animais, principalmente ao setor avícola e suinícola. Os citados autores ainda menciona que os vários trabalhos com micotoxinas em peixes não trazem informações com as espécies brasileiras.

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. Vale destacar que as letras B e G devem-se ao fato de as aflatoxinas apresentarem fluorescência azulada e esverdeada, respectivamente, quando observadas sob luz ultravioleta. Assinale-se que B1 é o componente mais potente no grupo das aflatoxinas.

Os fatores que influenciam a produção de micotoxinas pelos fungos são o pH, a umidade relativa superior a 85% e a temperatura. Trata-se de toxinas que crescem a baixos níveis de oxigênio e desenvolvem-se em meios extremamente ácidos (CONROY, 2000). Em geral, são encontradas em alimentos como grãos de milho, cevada, trigo, farelo de algodão e amendoim, entre outros. O acúmulo de micotoxinas em tecidos de peixes, devido ao con-

sumo de alimento contaminado, pode causar redução do crescimento e do hematócrito e a redução do sistema imune do peixe (ANH TUAN et al., 2002).

O conhecimento dos parâmetros hematológicos dos peixes auxilia na determinação das influências de dietas, enfermidades e de outras situações de estresse ambiental (SILVEIRA & RIGORES, 1989). O perfil hematológico dos peixes pode sofrer redução pela ação de toxinas (LUMBERTDACHA et al., 1995) ou também pelo tipo de alimento empregado na dieta (KLINGER et al., 1996). Peixes como as trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) são extremamente sensíveis a aflatoxinas, sendo que a concentração de 0,5 ppb/kg durante exposição de quatro meses causa sérias lesões e tumores hepáticos (NGETHE et al., 1992). Para camarões (*Penaeus vannamei*), níveis de até 900 ppb/kg na alimentação, durante oito semanas, não causam contaminação para consumo humano (DIVAKARAN & TACON, 2000).

O peixe jundiá (*Rhamdia quelen*), cujo cultivo vem crescendo progressivamente no Brasil, é uma espécie nativa, bem adaptada a diferentes ambientes e amplamente utilizada em viveiros de piscicultura (GOMES et al., 2000). O jundiá suporta temperaturas de inverno e cresce bem no verão, podendo alcançar entre 600 a 800 g de peso em oito meses, quando em densidades de 2–4 peixes/m² (BARCELLOS et al., 2004).

Diante da carência de estudos de piscicultura no Brasil e do fato de que os alimentos utilizados nas rações podem apresentar níveis elevados de toxinas, torna-se necessária a avaliação de seu efeito em peixes. Assim, com esta pesquisa, avaliam-se as alterações em alguns metabólitos hepáticos, musculares e parâmetros hematológicos do jundiá (*Rhamdia quelen*) submetidos a diferentes concentrações de aflatoxinas na ração.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada no Setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria, no período de janeiro a fevereiro de 2003, com a duração de 45 dias.

Os peixes foram obtidos através de reprodução induzida, sendo criados em tanques de terra, alimentados com ração contendo 45,0% de proteína bruta. Os peixes selecionados foram estocados nas unidades experimentais por um período de adaptação de uma semana, sendo que, no primeiro dia, adotou-se jejum forçado, e, a partir do segundo dia, forneceu-se a mesma alimentação até a seleção das unidades experimentais.

Utilizaram-se dezesseis caixas de polipropileno com capacidade de 320 L (280 litros de volume útil), dispostas em um sistema de recirculação de água (2,4 litros por minuto/ 24 horas). Em cada caixa, colocaram-se trinta alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) com peso inicial de 3,0 gramas, cuja densidade era de um alevino para 9,33 litros de água.

A alimentação foi ministrada duas vezes ao dia (9 e 17 horas), na proporção de 5,0% da biomassa total. O ajuste da quantidade de ração fornecida ocorreu no 22º dia, mediante uma amostragem de 10,0% dos peixes de cada unidade experimental. Diariamente efetuou-se a limpeza das caixas, através de sifão, retirando-se os resíduos nelas existentes. Procedeu-se à análise dos parâmetros físico-químicos da água, utilizando-se um *kit* laboratorial (marca Alfa Tecnoquímica), determinando-se o pH, a amônia, o nitrito e a alcalinidade. O oxigênio dissolvido e a temperatura foram medidos com oxímetro digital (Digimed). Os valores obtidos foram: para o oxigênio dissolvido (mg/L) = $5,42 \pm 1,10$; temperatura (°C) = $26,60 \pm 2,80$; pH = $7,25 \pm 0,25$; amônia total (mg/L) = $0,20 \pm 0,005$; nitrito (mg/L) = $0,05 \pm 0,001$; alcalinidade (mg/L CaCO₃) = 49 ± 15 . Durante o período experimental, os parâmetros aferidos se apresentaram dentro dos níveis aceitáveis para o cultivo de peixes, de acordo com BOYD & TUCKER (1992).

Prepararam-se as rações no Setor de Piscicultura da UFSM, sendo a composição adaptada de COLDEBELLA & RADÜNZ NETO (2002). As matérias primas das rações, após misturadas e homogeneizadas, foram peletizadas e levadas à estufa de ar forçado durante 48 horas a 50°C. Os peletes obtidos foram de 1,0 mm. Realizou-se a inclusão da aflatoxina através de pré-mistura na fra-

ção do milho, gradualmente incorporado aos demais ingredientes da ração. Os tratamentos testados referem-se a diferentes níveis de aflatoxinas produzidas no Laboratório de Análises de Micotoxológicas (LAMIC) da UFSM. Na dieta descrita na Tabela 1, incluíram-se as dosagens de um *pool* de aflatoxinas (B1 90,0%, B2 2,0%, G1 7,0%, G2 1,0%). As rações foram acondicionadas em sacos plásticos e conservadas a -18°C até sua utilização, evitando-se o aparecimento e a proliferação de outros fungos.

TABELA 1. Composição da ração utilizada e dos tratamentos do experimento.

| Ingrediente | % |
|--|--------------|
| 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 | 1,00 |
| Suplemento vitamínico e mineral ¹ | 0,75 |
| Total | 100,00 |
| Umidade (%) | 7,20 |
| Proteína bruta (%) | 35,13 |
| Matéria mineral (%) | 11,84 |
| Extrato etéreo (%) | 17,63 |
| Cálcio (%) | 3,20 |
| Fósforo (%) | 1,87 |
| Peróxido (meq) | 3,90 |
| Rancidez | Negativa |
| Acidez | 4,71 |
| Digestibilidade protéica (%) | 87,61 |
| Energia bruta (calculada) | 4799 Kcal/Kg |
| Tratamentos experimentais | |
| Controle = somente ração | |
| T1 = ração + 41ppb AFs/kg | |
| T2 = ração + 90ppb AFs/kg | |
| T3 = ração + 204ppb AFs/kg | |

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

Decorrido o período experimental (45 dias de alimentação), dez peixes foram capturados aleatoriamente, de cada tratamento, puncionados na veia caudal para coleta de sangue, para verificação dos parâmetros hematológicos. Determinou-se o hematócrito pela técnica de centrifugação de micro-hematócrito e a concentração de hemoglobina espectrofotometricamente pelo método de Drabkin. O plasma para dosagem de glicose foi obtido por centrifugação a 1500 x g por cinco minutos.

Sacrificaram-se os peixes através de punção cerebral e removeram-se seu fígado e o músculo congelando-se imediatamente em nitrogênio líquido para as análises dos metabólitos. Os tecidos foram homogeneizados numa proporção de aproximadamente 50 mg/ml de TCA (ácido tricloroacético) 20,0%, utilizando-se um aparelho tipo Potter-Elvehjem a 1000 rpm por três minutos em banho de gelo. Para dosagem dos intermediários metabólicos, empregaram-se as metodologias correspondentes para lactato (HARROWER & BROWN, 1972), glicose (PARK & JOHNSON, 1949), glicogênio (BIDINOTTO et al., 1998) e proteína (LOWRY et al., 1951).

Para exame dos dados obtidos, utilizaram-se análise de variância, seguida pelo teste de Tukey, quando ocorreu diferença significativa entre as médias. Os valores foram expressos como média \pm desvio padrão e as diferenças consideradas significativas a 5,0%, utilizando-se o programa Statistica for Windows, versão 4.5 (STATÍSTICA, 1993).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de hematócrito (HT), hemoglobina (HB) e glicose estão apresentados na Tabela 2. Os valores médios obtidos nos peixes do tratamento-controle para o jundiá estão de acordo com valores de referência obtidos por TAVARES-DIAS et al. (2002). Observou-se redução significativa nos níveis de hematócrito e hemoglobina nos tratamentos 1, 2, e 3, contendo aflatoxinas em relação ao tratamento-controle (sem aflatoxinas). Neste estudo, pode-se observar, também, redução do conteúdo de glicose (Tabela 3). Como nesta pesquisa, a redução nos níveis de HT e HB foi também observada em tilápias (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com aflatoxinas (AHN TUAN et al., 2002) e com infecção por protozoários e fungos (TAVARES-DIAS 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 do peixe (AHN TUAN et al., 2002). A tilápia-do-Nilo (*O. niloticus*) apresentou, além de alterações no hematócrito, redução de peso quando alimentada com dietas contendo 100 ppm de aflatoxina/kg de ração (AHN TUAN et al., 2002). As trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) são extremamente sensíveis às micotoxinas (aflatoxina B1), na concentração de 0,5 ppb na dieta durante quatro a seis meses, conforme documentada como suficiente para gerar tumor no fígado (NGETHE et al., 1992).

TABELA 2. Valores de hematócrito, hemoglobina e glicose em jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com rações contendo diferentes concentrações de aflatoxinas.

| Tratamento | Hematócrito (%) | Hemoglobina (g/dL) | Glicose (mg/dl) |
|-------------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| Controle ⁽¹⁾ | 24.51 \pm 1.51 ^a | 8.2 \pm 0.5 ^a | 45.00 \pm 6.28 ^a |
| T1 ⁽²⁾ | 13.16 \pm 1.47 ^b | 5.5 \pm 0.3 ^b | 36.40 \pm 2.42 ^b |
| T2 ⁽³⁾ | 11.75 \pm 0.41 ^b | 4.0 \pm 0.3 ^b | 24.40 \pm 6.69 ^b |
| T3 ⁽⁴⁾ | 11.16 \pm 0.88 ^b | 3.5 \pm 0.2 ^b | 23.20 \pm 5.93 ^b |

Valores expressos como média \pm desvio padrão.

Médias com letras diferentes, na coluna, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,01).

(1) Controle = somente ração

(2) T1 = ração + 41ppb AFs/kg

(3) T2 = ração + 90ppb AFs/kg

(4) T3 = ração + 204ppb AFs/kg.

TABELA 3. Efeito das aflatoxinas sobre parâmetros metabólicos em *Rhamdia quelen*.

| Tratamentos | Controle ⁽¹⁾ | T1 ⁽²⁾ | T2 ⁽³⁾ | T3 ⁽⁴⁾ |
|------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Fígado | | | | |
| Glicogênio (mmol/glicose/g tecido) | 88.1 ± 6.79 ^c | 117 ± 1.89 ^b | 119 ± 3.38 ^b | 193 ± 7.2 ^a |
| Proteína (mg/mg tecido) | 0.55 ± 0.05 ^a | 0.45 ± 0.08 ^a | 0.35 ± 0.08 ^b | 0.28 ± 0.09 ^b |
| Glicose (mmol/g tecido) | 36.2 ± 3.4 ^b | 27.8 ± 1.8 ^b | 46.6 ± 2.3 ^a | 51.5 ± 2.06 ^a |
| Lactato (mmol/g tecido) | 7.05 ± 0.7 ^b | 4.60 ± 0.4 ^c | 12.2 ± 0.6 ^a | 9.31 ± 0.94 ^a |
| Músculo | | | | |
| Glicogênio (mmol/glicose/g tecido) | 8.23 ± 0.51 ^a | 10.9 ± 0.5 ^a | 12.3 ± 1.11 ^a | 8.4 ± 0.87 ^a |
| Proteína (mg/mg tecido) | 0.35 ± 0.05 ^a | 0.22 ± 0.01 ^b | 0.18 ± 0.05 ^b | 0.2 ± 0.06 ^b |
| Glicose (mmol/g tecido) | 1.13 ± 0.16 ^a | 0.52 ± 0.11 ^b | 0.41 ± 0.04 ^b | 0.43 ± 0.06 ^b |
| Lactato (mmol/g tecido) | 13.9 ± 0.58 ^b | 9.48 ± 0.73 ^b | 11.6 ± 0.48 ^b | 21.6 ± 1.12 ^a |

Valores expressos como média ± desvio padrão;

Médias com letras diferentes, na linha, apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,01).

(1) Controle = somente ração

(2) T1 = ração + 41ppb AFs/kg

(3) T2 = ração + 90ppb AFs/kg

(4) T3 = ração + 204ppb AFs/kg.

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, 2003). Os resultados desta pesquisa concordam com os resultados obtidos por POSTON (1983), ao utilizarem trutas, e com JANTRAROTAI & LOVELL (1991), usando *catfish*. Esses autores também obtiveram alterações hematológicas significativas nos peixes submetidos à intoxicação por aflatoxinas.

A conversão da aflatoxina B₁ em metabólitos mais tóxicos ocorre no fígado, sendo o órgão mais afetado. Neste estudo, pôde-se observar que os fígados dos animais alimentados com altas concentrações de aflatoxinas (T3) estavam pálidos e com sinais de pouca irrigação. Porém, não foi possível realizar análises histológicas para verificar as possíveis alterações. Tilápias juvenis (*O. niloticus*) alimentadas com 3 ppm/Kg de aflatoxina B₁ mostraram vacuolização das células hepáticas, presença de fibroblastos entre as células e perda da arquitetura normal dos hepatócitos em 75 dias de alimentação (CHAVES-SANCHEZ et al., 1994). Na presente pesquisa os resultados obtidos com os metabólitos hepáticos e musculares permitiram verificar que os peixes adotam algumas estratégias para sobrevivência quando submetidos a dietas contendo aflatoxinas.

Os resultados dos metabólitos no fígado e no músculo do *Rhamdia quelen* estão apresentados na Tabela 3. No fígado e no músculo dos jundiás, observou-se redução do conteúdo de proteína, aumento dos teores de glicogênio no fígado. No tecido hepático, o conteúdo de glicose apresentou-se reduzido somente no tratamento com 41 ppb de aflatoxina/kg de ração. Entretanto, observou-se redução significativa nos teores de glicose, no músculo, acompanhada de aumento nos teores de lactato no tratamento com 204 ppb/kg, o que pode significar fermentação da glicose formando lactato, deixando oxigênio disponível para a degradação de proteína. A redução da proteína em ambos os tecidos estudados pode significar preferência dos jundiás intoxicados por aflatoxinas em utilizar as proteínas para suprir suas necessidades energéticas, uma vez que o glicogênio muscular não se altera e o tecido hepático aumenta suas reservas de glicogênio.

A redução da glicose no plasma pode ser justificada, em parte, pelo consumo dos tecidos e para auxiliar na síntese do glicogênio hepático e muscular. De qualquer forma, a alteração mais importante parece estar relacionada à redução da proteína em ambos tecidos, o que pode significar acomodação destes às dietas contendo aflatoxinas. Importante salientar a carência de estudos com aflatoxinas para espécies brasileiras, principalmente relacionadas ao

metabolismo, o que dificulta a comparação de dados, visto que as respostas metabólicas podem variar de espécie para espécie.

CONCLUSÕES

Jundiás alimentados com dietas contendo aflatoxinas sofrem redução no conteúdo de hematócrito, hemoglobina e glicose no sangue. Ocorrem alterações metabólicas em resposta ao aumento dos níveis de aflatoxinas na ração, com preferência pela quebra das proteínas teciduais.

REFERÊNCIAS

- ANH TUAN, N.; GRIZZLE, J.M.; LOVELL, R.T.; MANNING, B.B.; ROTTINGHAUS, G.E. Growth and hepatic lesions of Nilo Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing aflatoxin B₁. **Aquaculture**, v. 212, p. 311-319, 2002.
- BARCELLOS, J.L.G.; KREUTZ, L.C.; QUEVEDO, R.M.; FIOREZE, I.; CERICATO, L.; SOSO, A.B.; FAGUNDES, M.; CONRAD, J.; BALDISSERA, R.K.; BRUSCHI, A.; RITTER, F. Nursery rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. **Aquaculture**, v. 232, p. 383-394, 2004.
- BIDINOTTO, P. M.; MORAES, G.; SOUZA, R.H.S. Hepatic glycogen and glucose in eight tropical freshwater teleost fish. A procedure for field determinations of micro samples. **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, n. 10, p. 53-60, 1998.
- BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. **Water quality and pond soil analyses for aquaculture**. Alabama, USA: Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, 1992. 183 p.
- 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.
- COLDEBELLA, I. J.; 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 tilapia roja cultivados en Venezuela. **Boletín Informativo**, Caracas, Venezuela: Asociacion Americana de Soya. 2000. 33 p.
- DIVAKARAN, S.; TACON, A.G.J. Studies on the toxicity of shrimp (*Penaeus vannamei*) fed diets dosed with Aflatoxin B₁ to humans. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 9, n. 3, p. 115-120, 2000.
- GOMES, L.C.; GOLOMBIESKI, J.I.; CHIPARI GOMES, A.R.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do Jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 179-185, 2000.
- HARROWER, J.R.; BROWN, C.H. Blood lactic acid. A micromethod adapted to field collection of microliter samples. **Journal Applied Physiology**, v. 32, n. 5, p. 224-228, 1972.
- JANTRAROTAI, W.; LOVELL, B.T. Subchronic toxicity of aflatoxin B₁ to channel catfish. **Journal Aquatic Animal Health**, v. 2, p. 248-275, 1991.
- KLINGER, R.C.; BLAZER, V.S.; ECHEVARRIA, C. Effects of dietary lipid on the hematology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 147, p. 225-233, 1996.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with Folin-phenol reagent. **Journal Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.
- LUMLERTDACHA, S.; LOVELL, R. T.; SHELBY, R. A.; LENZ, S. D.; KEMPPAINEN,

- B. W. Growth, hematology, and histopathology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed toxins from *Fusarium moniliforme*. **Aquaculture**, v. 130, p. 201-218, 1995.
- MALLMANN, A.G.; SANTURIO, J. M.; WENTZ I. Aflatoxinas: aspectos clínicos e toxicológicos em suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 24, n. 3, p. 635-643, 1994.
- NGETHE, S.; HORSBERG, T.E.; INGBRIGTSEN, K. The disposition of ³H-aflatoxin B₁ in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after oral and intravenous administration. **Aquaculture**, v. 108, p. 323-332, 1992.
- PARK, J.T.; JOHNSON, M.J. A submicro determination of glucose. **Journal Biological Chemistry**, v. 181, p. 149-151, 1949.
- 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.
- STATÍSTICA FOR WINDOWS 4.5. Statistics II - Tulsa (EUA), v. 3, p. 3001-3911, 1993.
- TAVARES-DIAS, M.; MELO, J. F. B.; MORAES, G.; 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, 2003.

Protocolado em: 02 jun. 2004. Aceito em: 2 mai. 2005.