

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RAFAEL ORTIZ KRACIZY

**AVALIAÇÃO DE UM ADSORVENTE COMERCIAL DE MICOTOXINAS EM
DIETAS PARA O CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO (*Litopenaeus vannamei*)**

PALOTINA

2017

RAFAEL ORTIZ KRACIZY

**AVALIAÇÃO DE UM ADSORVENTE DE MICOTOXINAS EM DIETAS PARA O
CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO (*Litopenaeus vannamei*)**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Luís Cupertino Ballester
Coorientador: Dr. Fabrício Martins Dutra

PALOTINA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

K89 Kracizy, Rafael Ortiz
 Avaliação de um adsorvente comercial de micotoxinas em dietas para o camarão branco do pacífico (*Litopenaeus vannamei*) / Rafael Ortiz Kracizy.
-- Palotina, 2017
 33f.

 Orientador: Eduardo Luis Cupertino Ballester
 Coorientador: Fabrício Martins Dutra
 Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável.

 1. Carcinicultura. 2. Histologia. 3. Bentonita. I. Ballester, Eduardo Luis Cupertino. II. Dutra, Fabrício Martins. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDU 639.3



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor PALOTINA
Programa de Pós-Graduação AQUICULTURA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

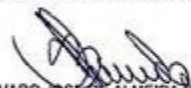
TERMO DE APROVAÇÃO

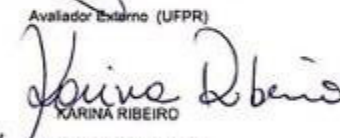
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AQUICULTURA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de RAFAEL ORTIZ KRACIZY intitulada: **AVALIAÇÃO DE UM ADSORVENTE COMERCIAL DE MICOTOXINAS EM DIETAS PARA O CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO (*Litopenaeus vannamei*)**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Palotina, 28 de Julho de 2017.


EDUARDO LUIS CUPERTINO BALLESTER
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)


ALVARO JOSÉ DE ALMEIDA BICUDO
Avaliador Externo (UFPR)


KARINA RIBEIRO
Avaliador Externo (UFRN)

AGRADECIMENTOS

A minha família: Eliseu Kracizy, Maria Isabel Ortiz, Bruna Ortiz Kracizy e Teodora Kracizy e por todo amor e apoio oferecido nesses anos.

A Claudia Caramelo Brazão por todo amor, dedicação e companheirismo em cada etapa deste trabalho.

Ao professor Dr. Eduardo Luis C. Ballester pela oportunidade, orientação, amizade e por todos os ensinamentos.

Ao amigo Fabrício Martins Dutra pela Coorientação.

A professora Karina Ribeiro e ao professor Álvaro Jose de Almeida Bicudo por aceitarem participar como banca nesse trabalho.

Ao grupo de trabalho do Laboratório de Carcinicultura por toda ajuda fornecida, em especial aos colegas Alisson Dias de Carvalho, Ana Paula Oliveira, Estevan Luiz da Silveira, Evelyny Calgaro, Leandro Pêgas de Brito Maurenente e Matheus Coelho Gomes Rodrigues.

As professoras Aline de Marco Viott e Karina Ribeiro, ao prof. Milton Rönnau e ao amigo Luan Andrade pela ajuda com a histologia deste trabalho.

A toda equipe do Laboratório de qualidade de água pelas análises realizadas.

A Luciana Helena Kowalski e a Impextraco® por toda ajuda com a realização do trabalho.

Aos funcionários da Universidade Federal do Paraná.

A CAPES pela bolsa fornecida.

“Competência é uma ave rara
nesta floresta, que eu sempre aprecio
quando vejo.”

(Frank J. Underwood)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de um adsorvente de micotoxinas em dietas para juvenis de *Litopenaeus vannamei* ($5,97 \pm 0,45$ cm e $1,29 \pm 0,42$ g) alimentados com dietas contaminadas por micotoxinas. O experimento teve duração de 42 dias, sendo o delineamento inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos com quatro repetições: (CONT – dieta sem adição de micotoxinas e/ou adsorvente; CETX – dieta com adição de adsorvente ELITOX[®]; AFLA – dieta com adição de Aflatoxina; FUMO – dieta com adição de Fumonisina; AETX – dieta com adição de Aflatoxina e ELITOX[®]; FETX – dieta com adição de Fumonisina e ELITOX[®]). As repetições foram distribuídas ao acaso em 24 aquários com volume útil de 40 litros sendo os aquários dotados de filtros biológicos individuais. A qualidade de água foi monitorada a cada três dias para temperatura, pH, oxigênio dissolvido, e semanalmente para produtos nitrogenados, alcalinidade, dureza e salinidade. Todas as variáveis monitoradas, exceto a alcalinidade, ficaram dentro dos intervalos considerados adequados para a biologia de *L. vannamei* e sem diferenças estatísticas ($p > 0,05$). Ao final do experimento os camarões foram contados, pesados e medidos para determinar sobrevivência (%), comprimento total final (cm), peso final (g), ganho de biomassa (g) e taxa de crescimento específico (%). Amostras de hepatopâncreas foram coletadas de 16 animais por tratamento, a fim de realizar avaliação histopatológica. A sobrevivência ficou acima de 90% para todos os tratamentos e não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre eles. Para comprimento o maior resultado foi observado no tratamento FETX, apresentando valor de $6,43 \pm 0,62$ cm, sendo estatisticamente semelhante ($p > 0,05$) ao tratamento AETX ($6,21 \pm 0,61$ cm) e CETX ($6,07 \pm 0,57$ cm). O tratamento FUMO apresentou menor crescimento ($5,62 \pm 0,60$ cm) sendo estatisticamente semelhante ($p > 0,05$) aos tratamentos CONT ($5,95 \pm 0,67$ cm) e AFLA ($5,85 \pm 0,60$ cm). Os resultados de peso final seguiram a tendência encontrada para comprimento, sendo os maiores resultados para FETX ($2,52 \pm 0,68$ g) e AETX ($2,29 \pm 0,56$ g) e os menores para FUMO ($1,69 \pm 0,52$ g) e AFLA ($1,87 \pm 0,49$ g). Para ganho de biomassa o maior resultado foi encontrado em FETX (12,90 g), sendo estatisticamente semelhante ($p > 0,05$) ao tratamento AETX (10,91 g). O menor ganho de biomassa ocorreu no tratamento FUMO (3,57 g) que não diferiu ($p > 0,05$) de AFLA (4,61 g). A taxa de crescimento específico apresentou os maiores valores em FETX ($1,44 \pm 0,13\%$) e AETX ($1,26 \pm 0,22\%$), sendo semelhantes estatisticamente ($p > 0,05$). Os menores valores são encontrados nos tratamentos FUMO ($0,49 \pm 0,13\%$) e AFLA ($0,61 \pm 0,20\%$), estatisticamente semelhantes ($p > 0,05$). Os tratamentos CONT ($0,95 \pm 0,18\%$) e CETX ($0,93 \pm 0,13\%$) foram semelhantes a AFLA e AETX ($p > 0,05$). Danos histológicos foram observados em todos os tratamentos com inclusão de micotoxinas, contudo os danos foram reduzidos nos tratamentos onde houve adição do adsorvente. Os resultados encontrados mostram que o produto ELITOX[®] é eficaz como adsorvente de micotoxinas nas condições experimentais avaliadas.

Palavras-chave: Carcinicultura. Histologia. Bentonita.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the efficiency of a mycotoxin adsorbent in diets for juveniles of *Litopenaeus vannamei* fed different diets contaminated with mycotoxins. The trial lasted 42 days, with a completely randomized design consisting of six treatments with four replicates per treatment: (CONT - diet without addition of mycotoxins or adsorbent, CETX - diet with addition of ELITOX[®] adsorbent, AFLA - diet with addition of Aflatoxin, FUMO - diet with addition of Fumonisin, AETX - diet with addition of Aflatoxin and ELITOX[®]; FETX - diet with addition of Fumonisin and ELITOX[®]). The replicates were randomly distributed into 24 aquariums with a useful volume of 40 liters, the aquariums were equipped with individual biological filters. Water quality was monitored every three days for temperature, pH, dissolved oxygen and weekly for nitrogen products, alkalinity, hardness and salinity. All parameters, except alkalinity, were within the suitable ranges for *L. vannamei* biology and without statistical differences ($p > 0.05$). At the end of the experiment all animals were weighed and measured to determine survival (%), final total length (cm), final weight (g), biomass gain (g) and specific growth rate (%). Hepatopancreas of 16 animals per treatment were collected to perform histopathological evaluation. Comparing survival we observed that, among the treatments, there was no statistical difference ($p > 0.05$), presenting survival above 90%. For length, the highest result was observed in the FETX treatment, presenting a value of 6.43 ± 0.62 cm, being statistically similar ($p > 0.05$) to the AETX treatment (6.21 ± 0.61 cm) and CETX (6.07 ± 0.57 cm). The FUMO treatment presented the lowest final length (5.62 ± 0.60 cm), being statistically similar ($p > 0.05$) to CONT (5.95 ± 0.67 cm) and AFLA (5.85 ± 0.60 cm). The final weight results followed the tendency found for length, with the highest results for FETX (2.52 ± 0.68 g) and AETX (2.29 ± 0.56 g) and the lowest for FUMO (1.69 ± 0.52 g) and AFLA (1.87 ± 0.49 g). For biomass gain the highest result was found in FETX (12.90 g), being statistically similar ($p > 0.05$) to AETX treatment (10.91 g). The lowest biomass gain occurred in the FUMO treatment (3.57 g), which was statistically similar ($p > 0.05$) to AFLA (4.61 g). The specific growth rate presented the highest values in FETX (1.44 ± 0.13 %) and AETX (1.26 ± 0.22 %), being statistically similar. The lowest values were found in the treatment FUMO (0.49 ± 0.13 %) that did not differ of AFLA (0.61 ± 0.20 %), ($p > 0.05$). The treatments CONT (0.95 ± 0.18) and CETX (0.93 ± 0.13) were similar to AFLA and AETX treatments ($p > 0.05$). Histological damages were observed in all treatments with inclusion of mycotoxins, although the damages were reduced in the treatments where there was addition of the adsorbent. The results show that the ELITOX[®] is effective as an adsorbent of micotoxins under the experimental conditions evaluated.

Key-words: Shrimp Culture. Histology. Bentonite.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- APHA - American Public Health Association
- CAST - Council for Agricultural Science and Technology
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations
- NRC - National Research Council
- PUC - Pontifícia Universidade Católica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
1.1 OBJETIVOS.....	11
1.1.1 OBJETIVO GERAL.....	11
1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	15
3.2 MONITORAMENTO DA QUALIDADE DE ÁGUA	16
3.3 DIETAS	16
3.4 PRODUÇÃO, INCLUSÃO E ANÁLISE DAS MICOTOXINAS NAS DIETAS.	17
3.5 MANEJO DOS ANIMAIS E AVALIAÇÕES	18
3.6 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA.....	18
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	20
4 RESULTADOS	21
4.1 QUALIDADE DE ÁGUA.....	21
4.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO	22
4.3 HISTOLOGIA	24
5. DISCUSSÃO	27
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

A produção mundial em cativeiro de peixes, crustáceos e moluscos apresentou elevado crescimento desde a década de 1980, enquanto os desembarques de organismos aquáticos capturados permaneceram estáveis desde o final desta mesma década. Entre as espécies produzidas pela atividade de aquicultura, o camarão branco do pacífico (*Litopenaeus vannamei*) apresenta grande destaque comercial, sua produção mundial no ano de 2014 foi de 3,6 milhões de toneladas, o que representa aproximadamente 50% de toda produção de crustáceos em cativeiro (FAO, 2016). A produção de *L. vannamei* iniciou-se na década de 1970 nas Américas do Sul e Central. Com o desenvolvimento de técnicas de reprodução e criação intensiva, a produção dessa espécie estendeu-se à América do Norte e posteriormente ao continente Asiático. Características como rusticidade, rentabilidade, crescimento elevado, boa conversão alimentar e grande aceitação no mercado internacional, fazem com que a espécie seja a principal utilizada em sistemas de produção (FAO, 2016).

Nos sistemas de produção de camarões, requisitos básicos devem ser atendidos em relação ao manejo alimentar (DE QUEIROZ, 2013). Estudos mostram que a dieta fornecida a um organismo aquático influencia no comportamento, na integridade estrutural, na saúde, nas funções fisiológicas, na reprodução e crescimento (ANATER *et al.*, 2016). Sendo assim, podemos afirmar que o objetivo primário em nutrição de organismos aquáticos é proporcionar uma mistura nutricionalmente equilibrada de ingredientes para suportar a manutenção, crescimento, desempenho reprodutivo, produzir uma carne de qualidade e manter a saúde dos animais a um custo aceitável para posterior comercialização (NRC, 2011).

Considerando o elevado custo de matérias primas de origem animal, cada vez mais faz-se necessário o uso de ingredientes vegetais nas dietas, entretanto estes ingredientes estão sujeitos a contaminação por fungos e conseqüentemente por micotoxinas (CAST, 2003). Portanto, o fornecimento de uma matéria prima de qualidade é essencial. Micotoxinas são metabólitos químicos produzidos por uma diversificada gama de fungos que contaminam culturas agrícolas antes da colheita ou durante o armazenamento pós-colheita (ZYCHOWSKI *et al.*, 2013). Dentre os fungos produtores de micotoxinas, os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* são os que merecem maior atenção, devido a produção de aflatoxinas e

fumonisinias, que são as micotoxinas mais encontradas nas dietas e que representam maiores problemas para os organismos que as consumirem (CALVET *et al.*, 2015). Massocco (2016), relata que as aflatoxinas atuam diminuindo a síntese de proteínas, modificam o metabolismo lipídico e a via respiratória mitocondrial e, por fim, atuam debilitando o sistema imunológico do animal deixando-o mais suscetível à infecções oportunistas. Já a fumonisina tem como mecanismo de ação interferir na biossíntese de esfingolipídios, conseqüentemente desencadeando problemas à atividade celular pois, essas moléculas são substâncias essenciais para a composição da membrana, para a comunicação célula-célula e para fatores de crescimento (PEREIRA; SANTOS, 2011).

A ingestão de aflatoxinas por *L. vannamei* pode causar anormalidades no hepatopâncreas, bem como redução do crescimento (Ostrowski-Meissner *et al.*, 1995). Alterações no hepatopâncreas do *L. vannamei* também podem ser observadas devido ao consumo de fumonisina (MEXÍA-SALAZAR *et al.*, 2008). O estudo do hepatopâncreas faz-se necessário pois nesse órgão, ocorre a concentração de funções relacionadas a síntese de enzimas digestivas (ICELY e NOTT, 1992), absorção de nutrientes, estoque de reservas e excreção (GIBSON e BARKER, 1979; JOHNSTON *et al.*, 1999; SOUSA e PETRIELLA, 2000).

A presença de aflatoxinas e fumonisinias em dietas é algo provável devido às condições de colheita e manutenção das dietas e, previamente, de seus ingredientes, desta forma a utilização de um aditivo alimentar adsorvente pode auxiliar na redução dos danos causados pela presença de micotoxinas em dietas. O Elitox[®] é um aditivo adsorvente utilizado para aglutinar e desativar a ação das micotoxinas nas dietas e no aparelho digestivo do animal. Dentre os seus componentes encontra-se a bentonita, uma argila com uma grande variedade de empregos industriais (SANTOS, 1992). As argilas apresentam alta viabilidade técnico-econômica decorrente do seu potencial de adsorção, que associado à sua disponibilidade abundante, as tornam adsorventes de baixo custo, tornando-a alvo de pesquisas (RODRIGUES *et al.*, 2004).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar *in vivo* a eficiência de um adsorvente de micotoxinas em dietas para *L. vannamei* contaminadas com aflatoxina e fumonisina.

1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o desempenho zootécnico e histopatologia do hepatopâncreas de juvenis de *L. vannamei* alimentados com dietas contaminadas com aflatoxina ou fumonisina;
- Avaliar o desempenho zootécnico e histopatologia do hepatopâncreas de juvenis de *L. vannamei* alimentados com dietas contendo um adsorvente comercial de micotoxinas;

2 REVISÃO DE LITERATURA

No processo de formulação de uma dieta leva-se em conta o fornecimento de uma matéria prima de alta qualidade, isso porquê boa parte dos ingredientes – milho, soja e outros produtos de origem vegetal - utilizados na composição das rações podem ser substratos ideais para o crescimento de fungos, que sob condições positivas, favorecem a síntese de micotoxinas (CAST, 2003).

Considerando os potenciais riscos das micotoxinas, diversos estudos foram realizados para investigar a presença de micotoxinas em dietas para a atividade de aquicultura. Em um estudo realizado por Hashimoto *et al.* (2003), os autores encontraram em 42 amostras pertencentes a cinco marcas comerciais diferentes uma incidência de contaminação de 61,9% para aflatoxinas e 76,2% fumonisinas. Buck (2005), encontrou uma incidência de 21% de aflatoxinas num total de 100 amostras analisadas. Em 22 amostras de dietas para camarões Calvet *et al.* (2009) encontraram uma incidência de 22,7% de aflatoxinas. No estudo realizado por Barbosa *et al.* (2013), os autores encontraram incidência de 55% de aflatoxinas e 98% de fumonisinas num total de 60 amostras testadas.

Estudos para determinar a presença de micotoxinas nas matérias primas utilizadas na produção de dietas também foram realizadas. Sabino *et al.* (1989), analisaram a ocorrência natural de aflatoxinas presentes no milho. Gloria, Fonseca e Souza (1997) estudaram a ocorrência de micotoxinas no milho entregue à indústria de alimentos no Brasil. No trabalho de Machinski Jr e Valente Soares (2000), os autores analisaram 81 amostras de milho e encontram 44 amostras contaminadas com fumonisinas. Kawashima e Soares (2006) analisaram produtos derivados de milho e detectaram a presença de fumonisina em 71 das 74 amostras.

Além dos estudos citados acima, com enfoque na presença de micotoxinas nas dietas e nos produtos que constituem sua matéria prima, outros autores estudaram os efeitos negativos das micotoxinas para os camarões. Em camarões, o hepatopâncreas atua como um importante órgão, nele ocorre a concentração de funções relacionadas a síntese de enzimas digestivas (ICELY e NOTT, 1992), absorção de nutrientes, estoque de reservas e excreção (GIBSON e BARKER, 1979; JOHNSTON *et al.*, 1999; SOUSA e PETRIELLA, 2000). Neste órgão são encontrados cinco tipos celulares: embrionária (E), reabsortiva (R), fibrilar (F),

vesicular (B) e basal (M) (JACOBS, 1928; HIRSCH e JACOBS, 1928; VOGT, 1985; FRANCESCHINI-VICENTINI *et al.*, 2009 e RIBEIRO *et al.*, 2014).

Sendo assim, a análise histológica dos hepatopâncreas é uma importante ferramenta, pois por meio do estudo deste órgão, podemos observar a resposta do animal às mais diferentes formas de estresse. Alterações histológicas no hepatopâncreas e em outros tecidos de camarões da espécie *L. vannamei* são descritas por Lightner *et al.* (1982) que utilizaram na alimentação dosagens de 53000 a 300000 ppb de aflatoxina por 25 dias. Alterações no hepatopâncreas e nos tecidos da glândula antenal para *L. vannamei* também foram observados por Ostrowski-Meissner *et al.* (1995) após duas semanas de alimentação com aflatoxina à 50 ppb. Os mesmos autores encontraram mortalidade de 100% em menos de duas semanas no tratamento com inclusão de 15.000 ppb. Bautista *et al.* (1994) realizaram um estudo com inclusão de diferentes níveis de aflatoxinas na dieta de *Penaeus monodon* e observaram a partir do trigésimo dia redução no ganho de peso dos animais alimentados com rações contaminadas por aflatoxina em níveis iguais ou acima de 73,8 ppb. Nesse mesmo estudo, os autores encontraram alterações histológicas no hepatopâncreas nos indivíduos alimentados a partir de 26,5 ppb. Ghaednia *et al.* (2013) alimentaram *Fenneropenaeus indicus* com rações contendo aflatoxinas e observaram que nos tratamentos com 1.600, 800 e 400 ppb houve redução do crescimento e descoloração pelo corpo e cauda. Nesses tratamentos também foram registrados menores valores de peso final, ganho de peso diário, taxa de crescimento específico e sobrevivência. Alterações no hepatopâncreas foram observadas com o aumento das concentrações e do tempo que os animais foram expostos, sendo valores acima de 200 ppb suficientes para observar as primeiras alterações.

Para determinar os danos causados por Fumonisina, Mexía-Salazar *et al.* (2008) conduziram um experimento de 18 dias com níveis entre 500 e 1000 ppb para *L. vannamei* alimentados com as dietas contaminadas. Estes observaram deformação dos túbulos do hepatopâncreas após 8 dias quando comparado com o tratamento controle, as lesões extremamente severas foram observadas em camarões alimentados com 1000 ppb de fumonisina. Juvenis de *L. vannamei* expostos às dietas contendo fumonisina com níveis de 200 a 2000 ppb por 30 dias, onde foi observado que o crescimento é afetado nos tratamentos com concentrações maiores que 600 ppb (García-Morales *et al.*, 2015).

Quanto ao uso de adsorventes, pouco se sabe, pois são escassos os estudos sobre o tema. O Elitox[®], é um adsorvente comercial que utiliza em sua formulação uma argila denominada bentonita. Lopes *et al.* (2006) utilizaram bentonita sódica como adsorvente de aflatoxinas em rações para frango de corte e constataram que a adição de 0,3% de bentonita foi suficiente para reduzir os danos causados pela presença de aflatoxina nas rações testadas. Pasha *et al.* (2007), também obtiveram melhores resultados quando utilizaram 0,5% de bentonita em adição às rações contaminadas com aflatoxinas.

Em atividades de aquicultura, outros tipos de adsorventes foram testados para algumas espécies de produção. Soonngam e Hutacharoen (2007) testaram dois diferentes tipos de adsorventes (vermiculite e aluminossilicato de cálcio e sódio hidratado) em dietas para *P. monodon* contaminadas com aflatoxina e os dois tratamentos com adsorventes apresentaram taxa de crescimento, porcentagem de sobrevivência final, ganho de peso diário, conversão alimentar final e eficiência final da proteína maior do que os camarões alimentados com 500 ppb de aflatoxina sem adição de adsorvente. Lopes *et al.* (2009), testaram aluminossilicato de cálcio e sódio como adsorvente no desempenho de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com rações contendo níveis crescentes de aflatoxina. Nesse estudo, os autores descrevem que os níveis testados de adsorvente na dieta não diminuíram os efeitos das aflatoxinas no desempenho dos peixes, e ainda diminuíram a aceitação da ração, em virtude da palatabilidade do produto estudado. Selim, El-Hofy e Khalil (2014) utilizaram três diferentes produtos (aluminossilicato de cálcio e sódio hidratado, *Saccharomyces cerevisiae* e glucomamano estereificado) como adsorvente de micotoxinas para rações de juvenis de tilápia contaminadas com aflatoxinas e para os três adsorventes obtiveram significativa melhora em parâmetros zootécnicos e higidez quando comparados com o tratamento sem adição de adsorvente. Braga *et al.* (2017) utilizaram a bentonita em dietas contendo uma micotoxina denominada zearalenona para alevinos de jundiá (*R. quelen*), observando que níveis crescente da micotoxina causaram diminuição de crescimento e ganho de peso. Neste trabalho a adição de 0,1% do adsorvente auxiliou no desenvolvimento dos alevinos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O trabalho experimental foi realizado no Laboratório de Carcinicultura da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, durante 42 dias. Foram utilizados 288 juvenis de *L. vannamei* ($5,97 \pm 0,45$ cm – Comprimento total e $1,29 \pm 0,42$ g – peso vivo) divididos em seis tratamentos (TRAT) compostos por quatro repetições. Para todos os tratamentos utilizou-se uma dieta basal, a qual foram adicionadas micotoxinas e/ou adsorvente comercial. O adsorvente comercial escolhido foi o Elitox[®], um aditivo adsorvente utilizado para aglutinar e desativar a ação das micotoxinas. Dentre os seus componentes encontra-se a bentonita, uma argila com uma grande variedade de empregos industriais. Os tratamentos foram denominados como: tratamento controle (CONT) sem adição de micotoxinas e/ou adsorvente na dieta; tratamento controle com adição de adsorvente ELITOX[®] (CETX); tratamento com adição de aflatoxina (AFLA); tratamento com adição de fumonisina (FUMO); tratamento com adição de aflatoxina e ELITOX[®] (AETX); tratamento com adição de fumonisina e ELITOX[®] (FETX), como pode ser visualizado na tabela 1. As repetições foram distribuídas ao acaso em 24 unidades experimentais com volume útil de 40 litros de água a 15 ppm, sendo os aquários dotados de filtros biológicos individuais com volume de dois litros.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos experimentais.

TRAT	INCLUSÃO DO PRODUTO		MICOTOXINAS	
	ELITOX [®]	AFLATOXINA (ppb)	FUMONISINA (ppb)	
CONT	-	-	-	-
CETX	0,25%	-	-	-
AFLA	-	627,8	-	-
FUMO	-	-	-	1035,7
AETX	0,25%	627,8	-	-
FETX	0,25%	-	-	1035,7

Fonte: O Autor (2017).

3.2 MONITORAMENTO DA QUALIDADE DE ÁGUA

A qualidade de água foi monitorada a cada três dias para as variáveis de temperatura (termômetro, digital Inconterm), pH (pHmetro Luca, 210) e oxigênio dissolvido (oxímetro ALFAKIT, AT160). Semanalmente monitorou-se a salinidade (refratômetro BIOBRIX, 211), os compostos nitrogenados segundo as metodologias descritas em APHA (2005) e alcalinidade e dureza de acordo com as metodologias de Macedo (2003). Nos dias 22 e 42 do experimento foram coletadas amostras de todas as unidades experimentais para verificar a presença de micotoxinas na água pela metodologia de cromatografia líquida, as análises foram realizadas no laboratório comercial SAMITEC - SP. Diariamente reposições de água foram feitas para manter os níveis perdidos por evaporação e sifonagem.

3.3 DIETAS

As dietas foram formuladas com base nas exigências da espécie para fase de juvenil, com níveis de 35% de proteína bruta, 6% de lipídeos e 3.600 kcal/kg de energia bruta (Tabela 2). O atendimento das exigências nutricionais foi feito com base nos níveis de garantia mínimos na formulação de dietas comerciais com o objetivo de simular as mesmas condições de alimentação utilizadas em sistemas de produção comercial. Os ingredientes utilizados para formulação das dietas foram inicialmente misturados e após isso foi adicionado 50% do peso da dieta em água quente a 60°C para dar consistência aos ingredientes, sendo que os mesmos foram novamente misturados após a adição de água. Realizado esse procedimento, as dietas foram processadas individualmente em um peletizador (C.A.F Máquinas) numa temperatura entre 55 e 60°C, passando por cerca de 30 segundos no canhão do equipamento, num total de uma hora para que toda dieta fosse peletizada individualmente. Após isso cada dieta foi colocada para secagem em estufa de circulação/renovação de ar (LUCADEMA – LUCA – 82/150) por 24 horas a 55°C. Após a secagem, fez-se a homogeneização do tamanho do pellet com auxílio de uma peneira de 1 mm.

3.4 PRODUÇÃO, INCLUSÃO E ANÁLISE DAS MICOTOXINAS NAS DIETAS

As dietas contaminadas foram produzidas a partir da inclusão de uma matriz contendo fumonisina e aflatoxina. A matriz de micotoxinas foi produzida no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal da PUC-PR. A fumonisina foi produzida pela fermentação de *Fusarium verticillioides* em grãos de milho pelo período de seis semanas à 30°C (adaptado de ALBERTS *et al.*, 1990). A aflatoxina foi produzida pela fermentação de *Aspergillus parasiticus* em grãos de arroz por 10 dias à 30°C (adaptado de WEST *et al.*, 1973). As matrizes foram previamente analisadas no laboratório Eurofins-ALAC, para quantificação das micotoxinas pela metodologia de cromatografia líquida. Após confirmado os níveis de micotoxinas na matriz, o material foi moído e adicionado à dieta experimental, sendo inserido 627,8 ppb de aflatoxina e 1035,7 ppb de fumonisina nos tratamentos com micotoxina. A extração e quantificação de fumonisina e aflatoxina na dieta foi realizada pela Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) acoplado a um espectrômetro de massa/massa, onde através dos cromatogramas foi possível quantificar as micotoxinas presente nas dietas no laboratório Eurofins-ALAC.

Tabela 2. Descrição da composição alimentar utilizada na formulação das dietas para cada tratamento.

Ingredientes (g/kg)	CONT	CETX	AFLA	FUMO	AETX	FETX
Farelo de soja	350	350	350	350	350	350
Farinha de peixe	264	264	264	264	264	264
Milho moído	150	150	150	150	150	150
Inerte	93,98	91,48	93,98	93,98	91,48	91,48
Farelo de trigo	80	80	80	80	80	80
Óleo de peixe	16	16	16	16	16	16
Óleo de soja	16	16	16	16	16	16
Fosfato Bicálcico	20	20	20	20	20	20
Sup. vitam. e mineral	10	10	10	10	10	10
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
ELITOX		2,5			2,5	2,5
AFLA*			0,00066		0,00066	
FUMO**				0,001		0,001
QUANTIDADE TOTAL	1000	1000	1000	1000	1000	1000

Fonte: O Autor (2017).

3.5 MANEJO DOS ANIMAIS E AVALIAÇÕES

As dietas foram fornecidas quatro vezes ao dia (09:00, 13:00, 17:00 e 21:00 horas), sendo que a taxa de arraçoamento e os ajustes da quantidade foram feitos diariamente para cada unidade experimental. Ao início do experimento, 50 animais de um lote pertencente ao mesmo grupo utilizado no experimento foram pesados e medidos para obter os valores médios de peso úmido e comprimento total. Ao final do experimento, todos os animais foram contados, pesados e medidos para determinar sobrevivência, comprimento médio final, peso médio final, ganho de biomassa (biomassa final – biomassa inicial) e taxa de crescimento específico (TCE - fórmula 1).

Fórmula 1:

$$\text{TCE (\%/dia)} = \frac{(\ln) \text{ PMF} - (\ln) \text{ PMI}}{\text{Tempo de experimento (dias)}} \times 100$$

Onde,

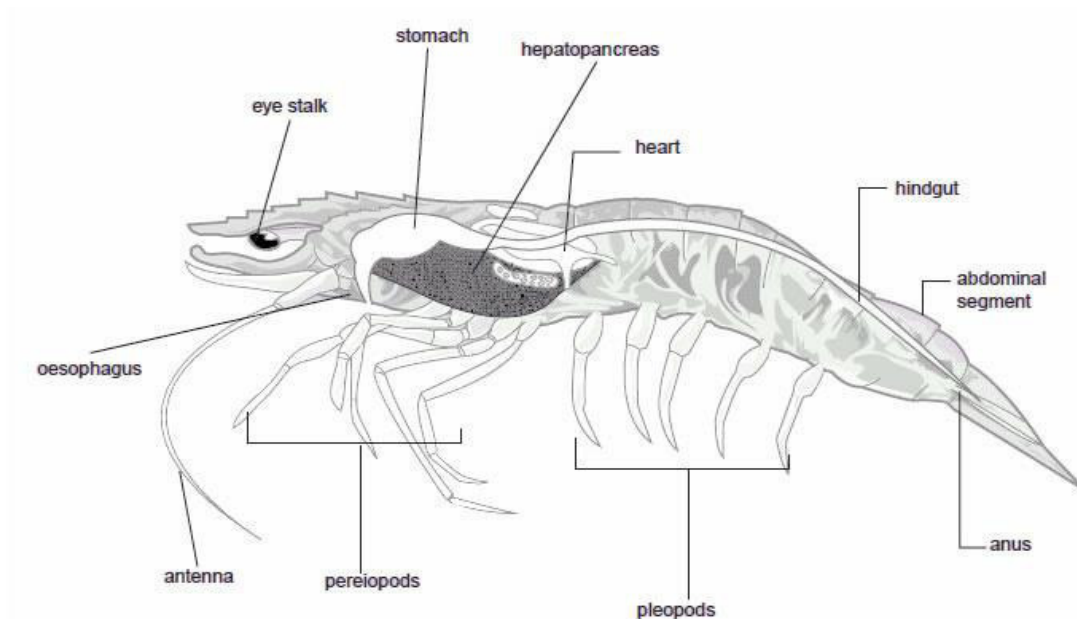
ln = logaritmo neperiano

PMF = Peso médio final

PMI = Peso médio inicial

3.6 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Para avaliação histológica, amostras de hepatopâncreas foram coletadas de 16 animais por tratamento. Juvenis de *L. vannamei* foram abatidos por termonarcose (ASHLEY, 2007) e preservados em solução Davidson (335 mL de água destilada, 330 mL de álcool etílico, 220 mL de formol 100% e 115 mL de ácido acético glacial) por 48 horas. Posteriormente os animais foram encaminhados para rotina de preparação histológica, realizada no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, PR. Inicialmente, cada indivíduo foi dissecado para remoção da glândula digestiva (Figura 1).



Fonte: <http://www.fao.org>

Figura 1. Anatomia do sistema digestório de camarões peneídeos.

Para a realização do corte histológico, os hepatopâncreas foram desidratados, diafanizados e embebidos em parafina para confecção dos blocos histológicos. Para finalizar essa etapa do processo, foram realizadas secções de 5 μm de espessura com uso de micrótomo automático (Leica Biosystems - RM2245). As secções obtidas foram distendidas em água, colocadas sobre lâminas embebidas em albumina de Mayer e levadas para remoção do excesso de parafina em estufa a 60 °C por 12 horas. Logo após, os cortes foram submetidos a rotina de coloração por Hematoxilina/Eosina (HE) (BANCROFT e GAMBLE, 2008).

As lâminas com os cortes histológicos do hepatopâncreas foram preservados até o momento da captura de imagens pela preparação de lâmina permanente. As secções histológicas obtidas foram foto documentadas digitalmente com auxílio do microscópio OLYMPUS CX21 e do microscópio (Leica DM1000) acoplado à sistema de captura de imagens e tela de vídeo. Foram montadas oito lâminas histológicas por tratamento, cada lâmina com 4 cortes histológicos. A partir destes cortes foram capturadas imagens para a identificação da estrutura morfológica básica do hepatopâncreas de *L. vannamei* e dos possíveis danos encontrados no hepatopâncreas dos camarões.

A análise dos cortes histológicos obtidos foi realizada com base na completa descrição do hepatopâncreas para camarões da ordem Decapoda, realizada por Caceci *et al.* (1988) para *L. vannamei*; Franceschini-Vicentini *et al.* (2009) e Ribeiro *et al.* (2014) para *Macrobrachium amazonicum*.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados zootécnicos foram coletados ao final do experimento e a verificação dos pressupostos de normalidade e homogeneidade foram realizados por meio dos testes de Shapiro e Wilks e Levene (Sokal, 2012). Após verificado estes pressupostos os dados foram submetidos a análise de variância de uma via (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 QUALIDADE DE ÁGUA

As variáveis de qualidade de água monitoradas ficaram dentro dos intervalos considerados adequados para a produção de *L. vannamei* em cativeiro, exceto para alcalinidade que esteve um pouco abaixo do intervalo recomendado (Van Wyk e Scarpa, 1999). Valores médios de temperatura, pH, oxigênio dissolvido, amônia, nitrito, alcalinidade e dureza estão apresentados na tabela 3. A salinidade foi controlada e mantida em aproximadamente 15‰. Os tratamentos não apresentaram diferença estatística entre si ($p > 0,05$).

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão das variáveis de qualidade de água nos diferentes tratamentos.

TRATAMENTO	QUALIDADE DE ÁGUA						
	Temperatura (°C)	pH	Oxigênio Dissolvido (mg/L)	Amônia (mg/L)	Nitrito (mg/L)	Alcalinidade (mg/L de CaCO ₃)	Dureza (mg/L de CaCO ₃)
CONT	25,5 ± 1,2	7,4 ± 0,3	6,82 ± 0,45	0,01 ± 0,03	0,94 ± 1,13	62 ± 11,31	2722 ± 540,93
CETX	25,4 ± 1,3	7,5 ± 0,3	6,80 ± 0,52	0,01 ± 0,03	0,69 ± 0,57	43 ± 4,94	2640 ± 65,76
AFLA	25,5 ± 1,3	7,5 ± 0,3	6,81 ± 0,48	0,01 ± 0,03	0,74 ± 0,67	41 ± 4,24	2525 ± 80,61
FUMO	25,5 ± 1,2	7,5 ± 0,3	6,80 ± 0,50	0,01 ± 0,02	0,69 ± 0,87	44 ± 4,94	2716 ± 235,46
AETX	25,7 ± 1,3	7,5 ± 0,3	6,85 ± 0,48	0,01 ± 0,02	0,64 ± 0,58	43 ± 7,77	2902 ± 199,40
FETX	25,6 ± 1,3	7,5 ± 0,4	6,96 ± 0,45	0,01 ± 0,02	0,56 ± 0,25	49 ± 2,12	2706 ± 67,88

Fonte: O Autor (2017).

4.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

Ao comparar sobrevivência, observamos que entre os tratamentos não houve diferença estatística ($p > 0,05$), apresentando valores acima de 90% para todos os tratamentos, variando entre 90 ± 4 (AFLA) a $96 \pm 8\%$ (AETX). Observa-se que o maior resultado para comprimento final foi observado no tratamento FETX, apresentando valor de $6,43 \pm 0,62$ cm, sendo estatisticamente semelhante ($p > 0,05$) ao tratamento AETX ($6,21 \pm 0,61$ cm) e CETX ($6,07 \pm 0,57$ cm). O tratamento FUMO foi o que apresentou menor crescimento ($5,62 \pm 0,60$ cm), sendo estatisticamente semelhantes ($p > 0,05$) aos tratamentos CONT ($5,95 \pm 0,67$ cm) e AFLA ($5,85 \pm 0,60$ cm). Os resultados de peso final seguem a tendência encontrada para comprimento, tendo os maiores resultados para FETX ($2,52 \pm 0,68$ g) e AETX ($2,29 \pm 0,56$ g) ($p > 0,05$) e os menores para FUMO ($1,69 \pm 0,52$ g) e AFLA ($1,87 \pm 0,49$ g).

Para ganho de biomassa o maior resultado foi encontrado em FETX (12,90 g), sendo estatisticamente semelhante ($p > 0,05$) ao tratamento AETX (10,91 g). Os tratamentos CONT (7,68 g) e CETX (7,42 g) foram estatisticamente semelhantes ao tratamento AETX ($p > 0,05$). O tratamento AFLA (4,61 g) foi estatisticamente semelhante à CONT e CETX ($p > 0,05$), o menor valor ocorreu no tratamento FUMO (3,57 g) que foi estatisticamente semelhante à AFLA ($p > 0,05$).

A taxa de crescimento específico apresentou os maiores valores em FETX ($1,44 \pm 0,13\%$) e AETX ($1,26 \pm 0,22\%$), sendo estatisticamente semelhantes ($p > 0,05$). Os menores valores são encontrados nos tratamentos FUMO ($0,49 \pm 0,13\%$) e AFLA ($0,61 \pm 0,20\%$), estatisticamente semelhantes ($p > 0,05$). Os tratamentos CONT ($0,95 \pm 0,18\%$) e CETX ($0,93 \pm 0,13\%$) foram semelhantes a AFLA e AETX ($p > 0,05$). Todos os resultados encontrados para desempenho zootécnico estão apresentados na tabela 04.

Tabela 04. Resultados zootécnicos de cada tratamento.

TRATAMENTO	DESEMPENHO ZOOTÉCNICO				
	Comprimento (cm)	Peso (g)	Ganho de Biomassa (g/g)	TCE (%)	Sobrevivência (%)
CONT	5,95±0,67 ^{bc}	2,11±0,70 ^{bc}	7,68 ^{bc}	0,95±0,18 ^{bc}	92±10
CETX	6,07±0,57 ^{ab}	2,13±0,54 ^{bc}	7,42 ^{bc}	0,93±0,13 ^{bc}	90±8
AFLA	5,85±0,60 ^{bc}	1,87±0,49 ^{cd}	4,61 ^{cd}	0,61±0,20 ^{cd}	90±4
FUMO	5,62±0,62 ^c	1,69±0,52 ^d	3,57 ^d	0,49±0,13 ^d	94±4
AETX	6,21±0,61 ^{ab}	2,29±0,56 ^{ab}	10,91 ^{ab}	1,26±0,22 ^{ab}	96±8
FETX	6,43±0,62 ^a	2,52±0,68 ^a	12,90 ^a	1,44±0,13 ^a	94±8

*Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Fonte: O Autor (2017).

4.3 HISTOLOGIA

Os resultados obtidos nas imagens das lâminas de hepatopâncreas permitiram a identificação da estrutura morfológica básica do hepatopâncreas de *L. vannamei*. Observou-se a presença dos 5 tipos celulares e dos danos encontrados (figura 2).

No tratamento CONT (Figura 2-A) e CETX (Figura 2-B) os 5 tipos celulares são evidentes e podem ser facilmente identificados. Os túbulos apresentam conformação descrita na literatura com lúmen em formato de estrela. Nos tratamentos AFLA (Figura 2-C) e FUMO (Figura 2-D) os ductos encontram-se envoltos por infiltrações, apresentam deformidades como: vaso dilatação, deformação dos túbulos não representando o formato típico em estrela, aumento do tamanho dos vacúolos, perda de vacúolos e deslocamento das paredes dos túbulos. Nestes tratamentos são encontradas células B e R em maior quantidade. Já nos tratamentos AETX (Figura 2-E) e FETX (Figura 2-F), apesar de observarmos infiltrações os danos encontrados são em menor número e intensidade. Notamos que o tratamento FETX demonstra menos injúrias que AETX por estar com ductos íntegros e as células dos diferentes tipos encontram-se com maior clareza que em AETX.

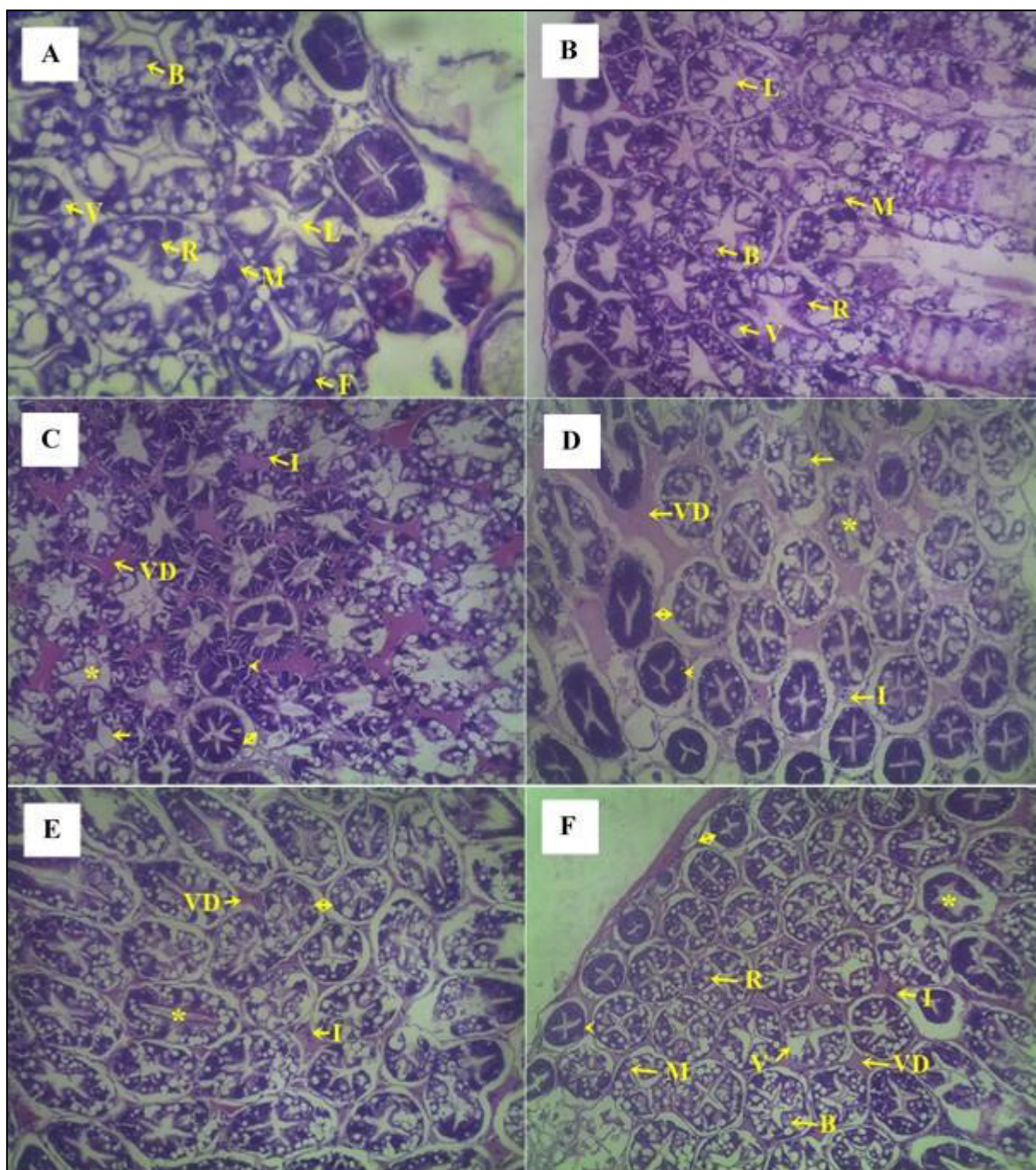


Figura 2. Hepatopâncreas de juvenis de *L. vannamei* alimentados com diferentes dietas contaminadas ou não com micotoxinas e na presença ou ausência de um adsorvente. Células “R” (R); células “F” (F); Células “B” (B); células “M” (M); Vacúolo (V); Lúmen (L); Infiltração (I); Vaso dilatação (VD); Deformação dos túbulos (*); Aumento do tamanho dos vacúolos (←); Perda de vacúolos (<); Deslocamento das paredes dos túbulos (↔). **A)** Hepatopâncreas de camarões alimentados com a dieta do tratamento CONT (400x, HE). **B)** Hepatopâncreas de camarões alimentados com a dieta do tratamento CETX (200x, HE). **C)** Hepatopâncreas de camarões alimentados com a dieta do tratamento AFLA (200x, HE). **D)** Hepatopâncreas de camarões alimentados com a dieta tratamento FUMO (200x,

HE). **E)** Hepatopâncreas de camarões alimentados com a dieta do tratamento AETX (200x, HE). **F)** Hepatopâncreas de camarões alimentados com a dieta do tratamento FETX (200x, HE).

Fonte: O Autor (2017).

5. DISCUSSÃO

Os resultados encontrados no monitoramento de qualidade de água não diferiram estatisticamente entre os tratamentos e, com exceção à alcalinidade, encontram-se dentro do recomendado para a espécie segundo Van Wyk e Scarpa, (1999). Apesar da alcalinidade estar mais baixa do que o recomendado, os valores de pH foram estáveis, indicando que a baixa alcalinidade não influenciou negativamente nos resultados. Piérri, *et al.* (2015) em estudo com *L. vannamei* descrevem que valores de alcalinidade entre 40 e 160 mg.L⁻¹ de CaCO₃ não comprometem os resultados zootécnicos. Embora a temperatura estivesse ideal para biologia da espécie, os valores estavam abaixo do recomendado por Van Wyk e Scarpa, (1999) para sistemas produtivos, o que nos leva a crer que os resultados zootécnicos poderiam ser melhores se a temperatura estivesse entre 28 e 32°C.

A sobrevivência não diferiu estatisticamente entre os tratamentos e foi superior à 90%, tais valores são explicados considerando os níveis de aflatoxina e fumonisina presente nas dietas, que eram suficientes para causar danos e reduzir desempenho, mas não eram capazes de levar uma mortalidade expressiva do plantel.

Os melhores resultados de desempenho zootécnicos foram observados nos tratamentos onde há a inclusão do produto como adsorvente de micotoxinas, e os piores onde não há contaminação por micotoxinas, porém sem a utilização de um produto adsorvente. A presença de aflatoxinas e fumonisinas nas dietas resultou em redução do desempenho - menor ganho de peso, comprimento e taxa de crescimento específico. Resultados semelhantes para danos causados pela presença de aflatoxina também foram encontrados por Ostrowski-Meissner *et al.* (1995), Bautista *et al.* (1994) e Ghaednia *et al.* (2013). Os trabalhos citados acima corroboram com os resultados encontrados no presente trabalho, onde observamos redução no desempenho zootécnico dos camarões alimentados com rações contendo 627,8 ppb de aflatoxina. Com relação a fumonisina, o trabalho de García-Morales *et al.* (2015) também mostra que o crescimento é afetado pela presença de fumonisina. Da mesma forma, pode-se observar que, no presente experimento, níveis de 1035,7 ppb de fumonisina reduziram o desempenho dos camarões alimentados com as dietas contaminadas.

Na avaliação histológica do hepatopâncreas pode-se observar danos histológicos em todas as dietas onde houve a inclusão de micotoxinas. Contudo, nas dietas onde também houve a inclusão do produto adsorvente, os danos, que estavam presentes ocorreram em menor grau e não foram suficientes para influenciar o desempenho zootécnico dos animais. As células R são responsáveis pela absorção de nutrientes no lúmen e fazem o armazenamento de lipídeos e glicogênio. Observa-se que nas lâminas dos tratamentos AFLA e FUMO as células R quase não são observadas corroborando com Ghaednia *et al.* (2013). As células M são quase que inexistentes nestes tratamentos e por serem responsáveis em armazenar material proteico provenientes da hemolinfa ou das células R não estão envolvidas com o ciclo digestivo do animal. Estas células estão correlacionadas com o período de intermuda, pois o material é utilizado durante pré e pós muda. O uso do adsorvente demonstra que os túbulos do hepatopâncreas mantiveram sua configuração normal. Entretanto observamos infiltrações entre os túbulos, evidenciando que o órgão não manteve seu formato estrutural adequado. Fato que explica as menores taxas de crescimento específico.

Os resultados apresentados por Soonngam e Hutacharoen (2007); Selim, El-Hofy e Khalil (2014); Braga *et al.* (2017); Lopes *et al.* (2006) e Pasha *et al.* (2007), mostram que esses autores também obtiveram melhores resultados quando utilizaram algum tipo de adsorvente frente a dietas contaminadas com micotoxinas. Esses estudos corroboram com os resultados obtidos nesse trabalho, quando há a presença de adsorvente nas dietas, os danos causados pela presença de micotoxinas são reduzidos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados de desempenho zootécnico mostram que o produto Elitox[®] é eficaz como adsorvente de micotoxinas. Os resultados de histologia mostram que mesmo com o uso do produto, os animais apresentam alguns danos nas estruturas do hepatopâncreas, entretanto, estes danos aconteceram em menor grau e as alterações encontradas não foram suficientes para que o desempenho dos camarões fosse afetado, demonstrando assim a sua eficiência nas condições experimentais avaliadas.

REFERÊNCIAS

- ALBERTS, J. F., GELDERBLOM, W. C., THIEL, P. G., MARASAS, W. F., VAN SCHALKWYK, D. J., e BEHREND, Y. Effects of temperature and incubation period on production of fumonisin B1 by *Fusarium moniliforme*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 6, p. 1729-1733, 1990.
- ANATER, A., MANYES, L., MECA, GIUSEPPE., FERRER, EMILIA., LUCIANO, F. B., PIMPÃO, C. T., FRONT, G, 2016. Mycotoxins and their consequences in aquaculture: A review. **Aquaculture** 451, 1-10.
- APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21th ed. Washington D.C.: APHA., 2005.
- ASHLEY, PAUL J. Fish welfare: current issues in aquaculture. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 104, n. 3, p. 199-235, 2007.
- BANCROFT, JOHN D.; GAMBLE, MARILYN (Eds.). Theory and practice of histological techniques. Elsevier Health Sciences, 2008.
- BARBOSA, T. S., PEREYRA, C. M., SOLEIRO, C. A., DIAS, E. O., OLIVEIRA, A. A., KELLER, K. M., SILVA, P. P. O., CAVAGLIERI, L.R., e ROSA, C. A. Mycobiota and mycotoxins present in finished fish feeds from farms in the Rio de Janeiro State, Brazil. **International Aquatic Research**, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2013.
- BAUTISTA, M. N., LAVILLA-PITOGO, C. R., SUBOSA, P. F., e BEGINO, E. T. Aflatoxin B1 contamination of shrimp feeds and its effect on growth and hepatopancreas of pre-adult *Penaeus monodon*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 65, n. 1, p. 5-11, 1994.
- BRAGA, L. C., LOPES, P. R. S., FIGUEIRÓ, R. P., BORGES, J. L. A., DA SILVA, L. T. B., e CORREA, G. F. Utilização de bentonita em dietas contendo zearalenona para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 8, n. 2, 2017.
- BUCK, E.L. **Micotoxinas em ração comercial para peixes**. 2005. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina, Paraná.
- CACECI, T., NECK, K. F., LEWIS, D. D. H., e SIS, R. F. Ultrastructure of the hepatopancreas of the pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 68, n. 02, p. 323-337, 1988.
- CAST, Council for Agricultural Science and Technology (CAST), 2003. Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems. CAST, Ames, Iowa, USA, p. n139.
- CALVET, R. M., MURATORI, M. C. S., PEREIRA, M. M. G., ROSA, C. A. R., COSTA, A. P. R., e DALCERO, A. M. Aflatoxinas B1 em ração de camarão cultivados no litoral do Piauí. In: **II Congresso Latino-Americano de Analistas de Alimentos, VIII Encontro Nacional de Analistas de Alimentos**. 2009
- CALVET, R. M.; PEREIRA, M. M. G.; COSTA, A. P. R.; TORRES, A. M., e MURATORI, M. C. S. Toxicogenic mycobiota and mycotoxins in shrimp feed. **Ciência Rural**, v. 45, n. 6, p.

1021-1026, 2015. DE QUEIROZ, J. F. Boas práticas aquícolas (BPA) em viveiros garantem sucesso da produção. **Aquicultura**, p. 36, 2013.

FAO, Food and Agriculture Organization of The United Nations. 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome, 200p.

FAO, FAO, Food and Agriculture Organization of The United Nations. 2016. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_vannamei/en#tcNA00D9>. Acesso em: 27 jun. 2017.

FRANCESCHINI-VICENTINI, I. B., RIBEIRO, K., PAPA, L. P., MARQUES JUNIOR, J., VICENTINI, C. A., e VALENTI, P. M. C. M. Histoarchitectural Features of the Hepatopancreas of the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*. **International Journal of Morphology**, Temuco, v. 27, n. 1, 2009.

GARCÍA-MORALES, M. H., PÉREZ-VELÁZQUEZ, M., GONZÁLEZ-FELIX, M. L., BURGOS-HERNÁNDEZ, A., CORTEZ-ROCHA, M. O., BRINGAS-ALVARADO, L., e EZQUERRA-BRAUER, J. M. Effects of fumonisin B1-containing feed on the muscle proteins and ice-storage life of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 24, n. 4, p. 340-353, 2015.

GHAEDNIA, B., BAYAT, M., SOHRABI HAGHDOOST, I., MOTALLEBI, A. A., SEPAHDARI, A., MIRBAKSHI, M., e MEHRABI, M. R. Effects of aflatoxin B1 on growth performance, health indices, phagocytic activity and histopathological alteration in *Fenneropenaeus indicus*. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v. 12, n. 4, p. 813-826, 2013.

GIBSON, RAY; BARKER, P. L. The decapod hepatopancreas. **Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.**, v. 17, p. 285-346, 1979.

GLORIA, E. M.; FONSECA, H.; SOUZA, I. M. Occurrence of mycotoxins in maize delivered to the food industry in Brazil. **Tropical Science**, v. 37, n. 1, 107-110, 1997.

HASHIMOTO, E. H., DO SANTOS, M. A., ONO, E. Y. S., HAYASHI, C., BRACARENSE, A. P. F. R. L., e HIROOKA, E. Y. Bromatologia e contaminação com fumonisina e aflatoxina em rações utilizadas na piscicultura da região de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 1, p. 123-132, 2003.

HIRSCH, G. C.; JACOBS, W. Der Arbeitsrhythmus der Mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. Teil: Methodik und Technik, 1928. – In: HARRISON, F. W. (Ed.). **Microscopic Anatomy of Invertebrates**. New York: Wiley-Liss, 1992. p. 147-201.

ICELY, J. D.; NOTT, J. A. Digestion and absorption: digestive system and associated organs. **Microscopic anatomy of invertebrates**, v. 10, p. 147-201, 1992.

JACOBS, W. Untersuchungen über die Cytologie der Seretbildung in der mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. 1928 In: ICELY, J. D.; NOTT, J. A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. **Microscopic Anatomy of Invertebrates**. Decapod Crustacea, 1992. p. 147-201.

JOHNSTON, DANIELLE J.; ALEXANDER, CHRISTOPHER G. Functional morphology of the mouthparts and alimentary tract of the slipper lobster *Thenus orientalis* (Decapoda: Scyllaridae). **Marine and freshwater research**, v. 50, n. 3, p. 213-223, 1999.

KAWASHIMA, L. M., e SOARES, L. M. V. Incidência de fumonisina B1, aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, ocratoxina A e zearalenona em produtos de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 516-521, 2006.

LIGHTNER, D. V., REDMAN, R. M., PRICE, R. L., e WISEMAN, M. O. Histopathology of aflatoxicosis in the marine shrimp *Penaeus stylirostris* and *P. vannamei*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 40, n. 2, p. 279-291, 1982.

LOPES, J. M., RUTZ, F., MALLMANN, A. C, E DE TOLEDO, G. S. P. Adição de bentonita sódica como adsorvente de aflatoxinas em rações de frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, 2006.

LOPES, P. R. S., POUHEY, J. L. O. F., ENKE, D. B. S., MALLMANN, C. A., KICH, H. A., e SOQUETTA, M. B. Utilização de adsorvente em rações contendo aflatoxina para alevinos de jundiá. **R. Bras. Zootec**, v. 38, n. 4, p. 589-595, 2009.

MACEDO, J. A. B. Métodos Laboratoriais de Análises Físico-Químicas e Microbiológicas - 2ª. Edição. Belo Horizonte: CRQ-M.G. 450p., 2003.

MACHINSKI JR, M.; VALENTE SOARES, L. M. Fumonins B1 and B2 in Brazilian corn-based food products. **Food Additives and Contaminants**, v. 17, n. 10, p. 875-879, 2000.

MASSOCCO, Marina Martinês. **Ocorrência de fungos toxigênicos e aflatoxinas em pisciculturas do Estado de São Paulo: rações e espécies comerciais do pescado de cultivo**. 2016. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Ciências da Engenharia de Alimentos, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, 2016.

MEXÍA-SALAZAR, A. L., HERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., BURGOS-HERNÁNDEZ, A., CORTEZ-ROCHA, M. O., CASTRO-LONGORIA, R., e EZQUERRA-BRAUER, J. M. Role of fumonisin B 1 on the immune system, histopathology, and muscle proteins of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Food chemistry**, v. 110, n. 2, p. 471-479, 2008.

NRC, National Research Council. Nutrient requirements of fish and shrimp. National academies press, 2011.

OSTROWSKI-MEISSNER, H. T., LEAMASTER, B. R., DUERR, E. O., e WALSH, W. A. Sensitivity of the Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*, to aflatoxin B 1. **Aquaculture**, v. 131, n. 3, p. 155-164, 1995.

PASHA, T. N., FAROOQ, M. U., KHATTAK, F. M., JABBAR, M. A., e KHAN, A. D. Effectiveness of sodium bentonite and two commercial products as aflatoxin absorbents in diets for broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 132, n. 1, p. 103-110, 2007.

PEREIRA, Kelly Cristina; SANTOS, Carlos Fernando dos. MICOTOXINAS E SEU POTENCIAL CARCINOGENÉTICO. **Ensaio e Ciêncienciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, Brasília, v. 15, n. 4, p.147-165, 2011. Mensal. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/260/26022135011/>>. Acesso em: 16 ago. 2017.

PIÉRRI, V., VALTER-SEVERINO, D., GOULART-DE-OLIVEIRA, K., MANOEL-DO-ESPÍRITO-SANTO, C., NASCIMENTO-VIEIRA, F., E QUADROS-SEIFFERT, W. Cultivation of marine shrimp in biofloc technology (BFT) system under different water alkalinities. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 3, p. 558-564, 2015.

RIBEIRO, K., PAPA, L. P., VICENTINI, C. A., e FRANCESCHINI-VICENTINI, I. B.. The ultrastructural evaluation of digestive cells in the hepatopancreas of the Amazon River prawn, *Macrobrachium amazonicum*. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 04, p. 1251–1259, 2014.

RODRIGUES, M.G.F., et al. Caracterização da argila bentonítica para utilização na remoção de chumbo de efluentes sintéticos. **Cerâmica**, v. 50, p. 190-193, 2004.

SABINO, M.; PRADO, G.; INOMATA, E. I.; PEDROSO, M. O., GARCIA, R. V. Natural occurrence of aflatoxins and zearalenone in maize in Brazil. Part II. **Food Additives and Contaminants**, v. 6, n. 3, p. 327-331, 1989.

SANTOS, P. de S.; **Ciência e Tecnologia de Argilas**. Edgar Blücher Ltda, v. 1, 2a ed. São Paulo 1992.

SELIM, K. M.; EL-HOFY, H; KHALIL, R. H. The efficacy of three mycotoxin adsorbents to alleviate aflatoxin B1-induced toxicity in *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture International**, v. 22, n. 2, p. 523-540, 2014.

SOKAL, R.R., ROLHF, F.J., 2012. **Biometry: Principle and practices of statistics in biological research**, fourth ed. W.H. Freeman e Company, New York.

SOONNGAM, C. A. L., e HUTACHAROEN, R. Vermiculite and hydrated sodium calcium aluminosilicates as the agent of aflatoxin B1 absorption for black tiger shrimp diets. **Environ. Nat. Resour. J**, v. 5, p. 50-58, 2007.

SOUSA, LILIANA G.; PETRIELLA, ANA MARIA. Histology of the hepatopancreas of the freshwater prawn *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Caridea). **Biocell: official journal of the Sociedades Latinoamericanas de Microscopia Electronica... et. al**, v. 24, n. 3, p. 189-195, 2000.

VAN WYK, Peter; SCARPA, John. Water quality requirements and management. **Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems**, p. 128-138, 1999.

VOGT, G., STORCH, V., QUINTIO, E. T., e PASCUAL, F. P. Midgut gland as monitor organ for the nutritional value of diets in *Penaeus monodon* (Decapoda). **Aquaculture**, v. 48, n. 1, p. 1-12, 1985.

WEST, S., WYATT, R. D., e HAMILTON, P. B. Improved yield of aflatoxin by incremental increases of temperature. **Applied microbiology**, v. 25, n. 6, p. 1018-1019, 1973.

ZYCHOWSKI, K.E., HOFFMANN, A.R., LY, H.J., PONHLENZ, C., BUENTELLO, A., ROMOSER, A., GATLIN, D.M., PHILLIPS, T.D., 2013. The effect of aflatoxin-B1 on red drum (*Sciaenops ocellatus*) and assessment of dietary supplementation of NovaSil for the prevention of aflatoxicosis. **Toxins** 5, 1555–1573.