

Suplementação com DL- α acetato de tocoferila e parasitismo por *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) em *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae)

Marco Antonio de Andrade Belo¹, Jaime Fenerick Junior², Vando Edésio Soares¹ e Flávio Ruas de Moraes^{1,2*}

¹Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. ²Centro de Aqüicultura, Caunesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Unesp, Rod. Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14870-000, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: fruas@fcav.unesp.br

RESUMO. O índice de parasitismo por *Anacanthorus penilabiatus* foi estudado em 126 pacus jovens, *Piaractus mesopotamicus* (peso inicial de $95,71 \pm 24,23$ g e peso final $155,76 \pm 28,62$ g), provenientes de mesma desova, naturalmente parasitados. Os peixes foram distribuídos aleatoriamente em três tratamentos de 42 animais cada e submetidos à suplementação com zero mg, 100 mg e 450 mg de DL- α acetato de tocoferila/kg de ração, alimentados duas vezes ao dia, por 18 semanas. Após este período, as brânquias foram avaliadas quanto à presença do parasito e amostras de sangue coletadas. Apesar de 100% dos pacus analisados apresentarem monogenea, não se observou diferença estatística ($p > 0,05$) quanto ao índice de parasitismo entre os grupos. Todavia, os animais que receberam a vitamina E apresentaram menores contagens de parasitos nas brânquias. Da mesma forma, os peixes alimentados com baixos níveis de vitamina E não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) dos tratados com DL- α acetato de tocoferila (100 mg/kg e 450 mg/kg) quanto à contagem global de eritrócitos, hematócrito e volume corpuscular médio. A suplementação alimentar com vitamina E não interferiu no desempenho produtivo de pacus.

Palavras-chave: *Anacanthorus penilabiatus*, vitamina E, *Piaractus mesopotamicus*.

ABSTRACT. *Supplementation with DL- α tocopheryl acetate and parasitism by Anacanthorus penilabiatus (Monogenea: Dactylogyridae) in Piaractus mesopotamicus (Osteichthyes: Characidae).* The rates of *Anacanthorus penilabiatus* parasitism were investigated in 126 pacus, (*Piaractus mesopotamicus*) -with initial weight of 95.71 ± 24.23 g and final weight of 155.76 ± 28.62 g, from the same spawn and naturally infested. Fishes were randomly distributed among three groups of 42 animals each and submitted to treatment with 0, 100 and 450 mg of DL- α tocopheryl acetate/Kg of dry diet, fed twice a day during 18 weeks. The gills were evaluated according to the presence of parasites and collected blood samples. Although 100% of pacus examined were parasited, the results did not show statistical difference ($P > 0,05$) for parasite counting among the groups treated. Therefore, fish supplemented with vitamin E demonstrated lower parasites counts. In the same way, fish fed with low rates of vitamin E did not differ statistically ($P > 0,05$) to erythrocyte counts, hematocrit and average corpuscular volume when compared to the pacus supplemented with 100 and 450 mg of DL- α tocopheryl acetate. Dietary supplementation with vitamin E did not affect the pacus growth rates.

Key words: *Anacanthorus penilabiatus*, vitamin E, *Piaractus mesopotamicus*.

Introdução

Em sistemas intensivos de produção piscícola, as perdas por doenças parasitárias representam, em muitos casos, o fator determinante para o sucesso da atividade. Martins *et al.* (2001) verificaram elevada mortalidade em pisciculturas, com até 30.000 peixes

em apenas 15 dias durante o inverno, devido ao parasitismo por monogenóides, mixosporídeos e dinoflagelados. Tavares-Dias *et al.* (2001), ao estudarem a ocorrência de parasitos metazoários em policultivo intensivo de peixes teleósteos no município de Franca, Estado de São Paulo, observaram maior susceptibilidade do *Piaractus*

mesopotamicus ao parasitismo branquial pelo Monogenea *Anacanthorus penilabiatus* Böeger, Husak, Martins (1995). Outros estudos apresentaram resultados semelhantes, evidenciando a importância desta parasitose para o cultivo de pacus em cativeiro (Békési, 1992; Martins e Romero, 1996; Martins et al., 2002).

Nos últimos anos, o desafio do controle sanitário de pisciculturas tornou-se mais evidente como decorrência da intensificação e maximização dos meios produtivos que predispõem os peixes às enfermidades. Neste sentido, o uso de substâncias imunoestimulantes na dieta representa perspectiva promissora como procedimento profilático, pois podem favorecer de alguma forma os mecanismos de defesa (Sakai, 1999).

A atividade antioxidante da vitamina E protege as membranas celulares contra a peroxidação lipídica (Smith, 1979; Blazer e Volke, 1984; Moccia et al., 1984; Wada et al., 1991), conferindo maior capacidade aos mecanismos de defesa não específicos em peixes (Sakai, 1999). *P. mesopotamicus* alimentados com dietas suplementadas com 450 mg de DL- α acetato de tocoferila/kg de ração apresentaram maior acúmulo de macrófagos e formação mais precoce de gigantócitos em lamínulas de vidro implantadas no tecido subcutâneo. Estes resultados sugerem que a vitamina E tenha efeito benéfico sobre o recrutamento de macrófagos em inflamações crônicas granulomatosas por corpo estranho (Belo, 2002).

A fixação de parasitos monogenóides no hospedeiro inicia a ativação de macrófagos, resultando no processo inflamatório local (Buchmann, 1999; Buchmann e Bresciani, 1999). Uma vez ativados, os macrófagos liberam a fração C3 do sistema complemento e a interleucina IL-1, onde a primeira atua como opsonina facilitando a adesão dos fagócitos aos parasitos e a última estimula a produção de muco dotado de lisozimas e ácidos graxos de baixo peso molecular com atividade antimicrobiana (Jones, 2001). Estudos recentes demonstraram o aumento da atividade de macrófagos em *Sparus aurata* alimentados com 300 mg, 250 mg e 1.200 mg de vitamina E/kg de ração (Mulero et al., 1998; Montero et al., 1999; Ortunõ et al., 2001, respectivamente) e em pacus suplementados com 450 mg de DL- α acetato de tocoferila/Kg de ração (Belo, 2002).

A deficiência da vitamina E reduz o tempo de sobrevivência de eritrócitos, aumenta a hemólise *in vitro* (Cowey et al., 1983; Wilson et al., 1984; Furones et al., 1992; Wise et al., 1993; Hamre et al., 1994), deforma a membrana das hemácias e, em casos

críticos, aumenta a viscosidade do sangue (Thakur e Srivastava, 1996). Bai e Lee (1998) verificaram anorexia, piora da conversão alimentar, diminuição do hematócrito, distrofia muscular e encurtamento de opérculo em *Sebastes schlegeli* deficientes em vitamina E. Por outro lado, Baker e Davies (1996) observaram que os valores de hematócrito aumentavam significativamente com a elevação nos níveis de alpha-tocopherol na ração de *Clarias gariepinus*.

Com base na importância do parasitismo por *A. penilabiatus* para pacus, *P. mesopotamicus* criados em sistema intensivo, associado à escassa literatura envolvendo o controle desta parasitose, este ensaio avaliou a eficiência profilática da suplementação com vitamina E no controle de *A. penilabiatus* em *P. mesopotamicus* naturalmente infestados.

Material e métodos

No cumprimento dos objetivos propostos, foram utilizados 810 pacus jovens *P. mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes, Characidae), provenientes da mesma desova, obtidos na Fazenda Águas Claras, Mococa, Estado de São Paulo, e naturalmente parasitados por *A. penilabiatus* (Monogenea, Dactylogyridae), distribuídos aleatoriamente em três tratamentos de 270 animais cada e submetidos à suplementação com zero mg, 100 mg e 450 mg de DL- α acetato de tocoferila/kg de ração por 18 semanas. Para o estudo parasitológico, foram aleatoriamente necropsiados 42 animais por tratamento, totalizando 126 animais.

Os peixes foram mantidos em viveiros com capacidade de 51 m³ cada e alimentados duas vezes ao dia, durante 18 semanas. O monitoramento da qualidade da água foi realizado diariamente às 8h e 17h, avaliando-se o potencial hidrogeniônico e a condutividade elétrica da água com condutivímetro portátil (YSI-63) e a concentração e saturação de oxigênio, além da temperatura da água por meio de oxímetro portátil (YSI-55). A amônia foi monitorada dois dias por semana em amostras de água obtidas no período da manhã e da tarde, obedecendo-se aos critérios de Koroleff (1976).

Todos os grupos receberam dieta padronizada com os mesmos ingredientes e valor nutricional (Tabela 1), diferindo apenas com relação à administração ou não da vitamina E. A ração foi peletizada e estocada em saco plástico escuro e mantida a 20°C negativos.

Para avaliar o desempenho produtivo dos pacus, o comprimento total e o peso corporal foram determinados no início da alimentação com as rações padronizadas e ao final deste período.

Tabela 1. Ingredientes e valores nutricionais da dieta padronizada para pacus.

Ingredientes	%	Composição ^b	Quantidade
Farelo de milho	21	Proteína Bruta (%)	27,16
Farelo de trigo	16	Energia Bruta (Kcal)	3.650,00
Farelo de soja	43	Fibra Bruta (%)	2,97
Farelo de arroz	10	Extrato Etéreo (%)	2,29
Levedura	8	Matéria Mineral (%)	5,35
Metionina ^a	0,2	Cálcio (%)	0,21
Premix vitamínico (sem vit. C e E) ^a	0,45	Fósforo (%)	0,51
Premix mineral ^a	0,25	Extrativos não-nitrogenados (%)	41,86
Vitamina C ^a	0,047	Matéria Seca (%)	79,64

(a) – NUTREMIX Rações Ltda. (composição por quilograma de dieta): Premix Mineral: Ferro, 15.000 mg; Cobre, 5.000 mg; Iodo, 500 mg; Manganês, 17.000 mg; Zinco, 12.000 mg; Selênio, 70 mg. Premix Vitamínico: Vitamina A, 12.000 UI; Vitamina D₃, 1.500 UI; Vitamina K, 4 mg; Vitamina B₁₂, 7 mg; Ácido Pantotênico, 60 mg; Ascorbil 2-polifosfato, 200 mg; Ácido Nicotínico, 120 mg; Cloreto de Colina, 600 mg; antioxidante, 500 mg e Vitamina E (DL- α -acetato de tocoferila) foi adicionado nas dietas segundo o tratamento (0 mg/Kg, 100 mg/Kg e 450 mg/Kg de ração). (b) – Composição calculada segundo A.O.A.C. (1975).

Para o exame parasitológico, as brânquias foram removidas, imersas em solução de formalina na proporção de 1:4000, durante uma hora, agitadas vigorosamente e fixadas em solução de formalina a 5%, até o momento da avaliação da intensidade de parasitismo realizada sob estereomicroscópio, quando os parasitos foram contados *in totum*.

Amostras de sangue dos peixes foram coletadas por punção caudal com seringa e agulha contendo solução de EDTA a 10%. O volume globular foi determinado em microhematócrito, segundo Goldenfarb *et al.* (1971). A contagem total de eritrócitos foi realizada em contador automático (modelo CC510, Celm). A determinação dos valores de cortisol foi realizada de acordo com Gazola *et al.* (1996).

O teor de vitamina E nas dietas foi analisado utilizando-se cromatografia líquida de alta performance (HPLC), conforme metodologia descrita por Manz e Philipp (1981). A análise inclui saponificação das amostras e extração dos componentes não saponificáveis usando-se mistura metanol-água (96:4) como fase móvel, contendo antioxidante BHT (hidroxibutiltolueno) e solução de hidróxido de potássio, seguido de detecção por fluorescência em cromatógrafo de fase reversa para determinação de α -tocopherol. O comprimento de onda para a detecção foi de 295 nm a 345 nm e velocidade de fluxo constante de 1,1 mL/min.

A análise de variância dos dados foi determinada em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e 42 repetições para o estudo parasitológico e hematológico e oito repetições para o cortisol plasmático, segundo modelo proposto por Snedecor e Cochran (1974). O estudo comparativo das médias foi aferido pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados e discussão

Os resultados do monitoramento da qualidade da água indicaram temperatura entre 28,2°C a 31,4°C; pH 6,9 a 7,6; oxigênio dissolvido 3,1 mg/L a 5,6 mg/L; condutividade elétrica 72,1 μ S/cm a 80,8 μ S/cm; amônia 60 μ g/L a 123,4 μ g/L; nitrito 18,7 μ g/L a 23,5 μ g/L. Tais valores variaram dentro dos padrões adequados para a criação (Castagnoli, 1992). Com base nestes resultados, acredita-se que não houve interferência de estresse ambiental sobre os parâmetros avaliados.

Durante as 18 semanas de duração do ensaio não se observou mortalidade ou alterações clínicas comportamentais que pudessem ser atribuídas aos diferentes tratamentos com vitamina E e/ou como consequência do parasitismo por *A. penilabiatu*s. Segundo Martins *et al.* (2001), altas taxas de mortalidade em pacus parasitados por monogenóides estão, geralmente, associados aos fatores determinantes de estresse, sendo a má qualidade da água um dos mais importantes. Nesta situação, há prejuízo dos mecanismos de defesa dos peixes e favorecimento da proliferação do parasito com desequilíbrio do sistema ambiente-parasito-hospedeiro (Barton e Iwama, 1991; Tort *et al.*, 1996; Montero *et al.*, 1999).

A análise cromatográfica de α -tocopherol demonstrou níveis de 12,6 mg, 58,2 mg e 310,4 mg do nutriente recuperados nas dietas suplementadas com zero mg, 100 mg e 450 mg de DL- α acetato de tocoferila, respectivamente. Verifica-se que os valores recuperados nas dietas foram inferiores aos níveis de suplementação, provavelmente, resultante de perdas no processamento e armazenamento. Em contrapartida, a dieta basal sem suplementação com DL- α acetato de tocoferila apresentou baixos níveis de α -tocopherol, resultante da presença natural deste nutriente em outros ingredientes da dieta. Esta variação na composição de dietas suplementadas com DL- α acetato de tocoferila foi observada por outros autores (Bai e Lee, 1998; Montero *et al.*, 1999). Ressalte-se, no entanto, que na literatura não estão descritos os níveis de exigência deste nutriente para pacus.

A Tabela 2 apresenta os resultados observados na avaliação parasitológica de pacus submetidos às diferentes dietas com vitamina E. Não se observou diferença estatística ($p > 0,05$) quanto ao índice de parasitismo por *A. penilabiatu*s entre animais suplementados com zero mg, 100 mg e 450 mg de DL- α acetato de tocoferila na dieta, embora os grupos alimentados com 100 mg e 450 mg deste nutriente apresentassem números menores de parasitos.

Tabela 2. Valores totais, médias, desvio-padrão e amplitude de variação da presença de *Anacanthorus penilabiatu*s em pacus tratados com diferentes níveis de DL- α acetato de tocoferila.

Tratamento	<i>Anacanthorus penilabiatu</i> s		
	Total de parasitos	Valores Médios*	Amplitude de Variação
Sem DL- α acetato de tocoferila	991	23,6 $\pm$ 17,94 ^a	6-94
100 mg de DL- α acetato de tocoferila	810	21,32 $\pm$ 10,60 ^a	6-60
450 mg de DL- α acetato de tocoferila	791	19,29 $\pm$ 10,13 ^a	7-64

* Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05).

Hardie et al. (1990) verificaram que salmões do atlântico (*Salmo salar*), alimentados com dietas com baixos níveis de vitamina E, apresentavam elevada mortalidade após desafio com *Aeromonas salmonicida*. Bagres do canal (*Ictalurus punctatus*), alimentados com 2.500 mg/kg de vitamina E na dieta por 180 dias, mostraram aumento na atividade fagocítica de leucócitos quando desafiados com *Edwardsiella ictaluri* (Wise et al., 1993). Estudos recentes demonstraram o efeito imunoestimulante da suplementação alimentar com vitamina E em peixes, graças ao aumento da migração, do acúmulo e da atividade fagocitária de macrófagos no foco inflamado (Mulero et al., 1998; Montero et al., 1999; Ortunõ et al., 2001; Belo, 2002). Esses achados sugerem que a suplementação alimentar com vitamina E possa interferir no índice de parasitismo por monogeneas, uma vez que induz maior atividade nos mecanismos de defesa inespecíficos dos peixes. Todavia, nas condições em que foi realizado este ensaio a hipótese da interferência da vitamina E no parasitismo por monogenea não se confirmou.

De acordo com Jones (2001), a intensidade das respostas de defesa contra monogenóides varia entre as diferentes espécies de peixes. Essa observação dá sustentação aos achados de Tavares-Dias et al. (2001), que identificaram marcada diferença na ocorrência destes parasitos em diferentes espécies de teleosteos, conviventes no mesmo sistema de criação. Buchmann e Bresciani (1999) demonstraram a correlação entre a baixa secreção de muco na pele de *Oncorhynchus mykiss* e a elevada infestação pelo monogenóide *Gyrodactylus derjavini*. A hipersecreção de muco e a hiperplasia de células epiteliais interferem no parasitismo por monogenóides e infecções por outros agentes. O muco é dotado de propriedades antimicrobianas, graças à presença de lisozimas, anticorpos e ácidos graxos livres (Jones, 2001). Todavia, é preciso ter em mente o elevado grau de especificidade no parasitismo por monogenóides, sendo cada espécie de parasito limitada, em geral, a uma espécie de hospedeiro, em condições naturais (Bychowsky,

1957; Rhode, 1993; Kritsky et al., 1997). Esse fato se contrapõe a qualquer tentativa de se estabelecer comparações quanto ao grau de susceptibilidade ou os índices de parasitismo pelo metazoário entre as diferentes espécies de peixes.

As contagens médias de *A. penilabiatu*s neste ensaio (Tabela 3) foram expressivamente menores quando comparadas às cargas parasitárias médias de 2.287 monogeneas por pacu, observadas por Tavares-Dias et al. (2001) em sistemas de policultivo intensivo. Tal fato sugere a possibilidade de que a baixa infestação não permitiu a observação de diferença significativa dos índices médios de parasitismo entre os diferentes níveis de vitamina E suplementados. No entanto, pela análise da Tabela 3, verifica-se que 100% dos peixes estavam parasitados por *A. penilabiatu*s. Essa elevada frequência corrobora os achados de Békési (1992), Martins e Romero (1996) e Tavares-Dias et al. (1999, 2001).

De acordo com Scholz (1999), as medidas profiláticas contra surtos epidêmicos devem ter início com rigoroso controle sanitário no momento da introdução dos peixes nos viveiros. Todavia, antes disso, é importante a inspeção dos peixes no seu local de origem, após o transporte e após o período de quarentena. Neste contexto, eventuais e parcimoniosas práticas terapêuticas são mais eficientes e causam menores prejuízos ao ambiente. Martins et al. (2001) demonstraram a eficácia terapêutica de duas posologias de mebendazole contra *A. penilabiatu*s em pacus, que foram da ordem de 79,6% e 81,4% para 100 mg/L do princípio ativo em 10 minutos de exposição e 10 mg/L em 24 horas de exposição, respectivamente. Esse nível de eficácia tende a ser otimizado com a suplementação profilática com Vitamina E durante o período de quarentena.

O tratamento com diferentes concentrações de vitamina E na dieta de pacus não alterou significativamente (p>0,05) os parâmetros eritrocitários avaliados e os valores plasmáticos de cortisol (Tabela 3). Os percentuais de hematócrito e volume globular médio apresentaram valores semelhantes aos descritos por Tavares-Dias et al. (1999, 2001), sugerindo que a variação ora verificada esteja dentro da normalidade para o pacu. A anemia em peixes alimentados com dietas deficientes em vitamina E foi caracterizada pela redução do número de eritrócitos e do percentual de hematócrito em *Salmo gairdneri* (Cowey et al., 1981), *S. salar* (Hamre et al., 1994) e *S. schlegeli* (Bai e Lee, 1998).

Tabela 3. Análise de variância e desvio-padrão dos valores médios de eritrócitos, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM) e cortisol plasmático de *P. mesopotamicus* tratados com diferentes níveis de DL- α acetato de tocoferila.

Tratamento	Eritrócitos (10 ⁶ /L) (n = 42)	Hematócrito (%) (n = 42)	VCM (n = 42)	Cortisol (ng/mL) (n = 8)
Sem DL- acetato de tocoferila	3,04 $\pm$ 0,48 ^a	34,11 $\pm$ 3,79 ^a	113,86 $\pm$ 14,88 ^a	50,61 $\pm$ 26,49 ^a
100 mg de DL- acetato de tocoferila	3,01 $\pm$ 0,48 ^a	32,75 $\pm$ 4,13 ^a	110,18 $\pm$ 16,78 ^a	65,89 $\pm$ 20,83 ^a
450 mg de DL- acetato de tocoferila	2,97 $\pm$ 0,44 ^a	33,14 $\pm$ 3,62 ^a	112,86 $\pm$ 13,96 ^a	60,32 $\pm$ 36,90 ^a

* Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05).

Tabela 4. Análise de variância, valores médios e desvio-padrão do comprimento total e peso corpóreo de pacus tratados com diferentes níveis de DL- α acetato de tocoferila.

Tratamento	Comprimento Total (cm)		Peso (g)	
	Inicial (n = 28)	Final (n = 21)	Inicial (n = 28)	Final (n = 21)
Sem DL- acetato de tocoferila	15,89 $\pm$ 1,39 ^a	19,23 $\pm$ 1,14 ^a	99,39 $\pm$ 26,15 ^a	157,98 $\pm$ 28,87 ^a
100 mg de DL- acetato de tocoferila	15,71 $\pm$ 1,22 ^a	19,19 $\pm$ 0,97 ^a	94,96 $\pm$ 21,53 ^a	156,86 $\pm$ 25,66 ^a
450 mg de DL- acetato de tocoferila	15,80 $\pm$ 1,61 ^a	18,88 $\pm$ 1,55 ^a	93,43 $\pm$ 25,06 ^a	152,48 $\pm$ 32,11 ^a

* Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05).

A determinação dos níveis plasmáticos de cortisol é usada como indicador de estresse em peixes (Barton e Iwama, 1991; Moonsen, 1999). Neste ensaio, as concentrações circulantes deste glicocorticóide não apresentaram diferença significativa entre os diferentes tratamentos com a vitamina E (Tabela 3). Montero *et al.* (1998) verificaram que *S. aurata* alimentados com dietas contendo baixos teores de vitamina E (18,5 mg/Kg) apresentaram níveis plasmáticos mais elevados de cortisol, quando comparados com peixes tratados com dietas suplementadas com 167,5 mg/kg de vitamina E. Neste estudo, as observações médias aproximaram-se dos valores basais descritos por Brum (2003), que estudou a variação plasmática de cortisol em pacus submetidos a diferentes densidades de estocagem. Estes resultados, quando associados à análise eritrocitária e desenvolvimento ponderal, sugerem a hipótese de que os animais não estavam estressados, justificando o baixo parasitismo observado.

Na análise de desenvolvimento ponderal (Tabela 4), a suplementação com vitamina E nas dietas não alterou a performance produtiva de pacus jovens criados nestas condições de arraçãoamento.

Tais achados estão em desacordo com os descritos por Hardie *et al.* (1990), Furones *et al.* (1992) e Bai e Lee (1998) que verificaram perda de apetite e, conseqüentemente, piora na conversão alimentar de *S. salar*, *S. gairdneri* e *S. schlegeli*, respectivamente, alimentados com dietas deficientes deste nutriente. Por outro lado, Baker e Davies (1996) e Bai e Lee (1998) observaram diminuição significativa no ganho de peso de *C. gariepinus* e *S. schlegeli*, respectivamente, alimentados com 500 mg de acetato de tocoferila na dieta. O efeito da vitamina E no crescimento descrito por estes autores pode estar relacionado a diversos fatores, tais como susceptibilidade de cada espécie de peixe ao

tratamento vitamínico, as variações nas condições experimentais ou de cultivo, o tempo de exposição às dietas, entre outros.

Apesar do parasitismo por *A. penilabiatius* não ter apresentado redução significativa com a adição de DL- α acetato de tocoferila na dieta de pacus, a diminuição no número de parasitos nos grupos tratados com vitamina E, associado à baixa interferência da suplementação vitamínica nos parâmetros produtivos e hematológicos, aumentam a expectativa de uso deste nutriente em procedimentos profiláticos. Assim sendo, outros estudos devem ser conduzidos com o objetivo de avaliar a atividade imunoestimulante da vitamina E em estratégias de controle para enfermidades parasitárias em plantéis aquícolas.

Referências

- AOAC – Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis*. 3. ed. Washington, AOAC, 1975.
- BAI, S.C.; LEE, K. Different levels of dietary DL-alpha-tocopherol acetate affect the vitamin E status of juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture*, Amsterdam, v.161, p. 405-414, 1998.
- BAKER, R.T.M.; DAVIES, S.J. Changes in tissue α -tocopherol status and degree of lipid peroxidation with varying α -tocopheryl acetate inclusion in the diets for the African catfish. *Aquac. Nutr.*, Oxford, v.2, p. 71-79, 1996.
- BARTON, B.A.; IWAMA, G.W. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Ann. Rev. Fish Dis.*, Exeter, v.1, p.3-26, 1991.
- BÉKÉSI, L. Evaluation of data on ichthyopathological analyses in the Brazilian Northeast. *Cienc. Cult.*, São Paulo, v.44, n.6, p. 400-403, 1992.
- BELO, M.A.A. *Efeito do estresse por superpopulação e da suplementação alimentar com vitamina E sobre a formação de gigantócitos em lamínulas de vidro implantadas no tecido subcutâneo de Piactus mesopotamicus Holmberg, 1887*. 2002.

- Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.
- BLAZER, V.S.; WOLKE, R.E. The effects of alpha-tocopherol on the immune responses and non-specific resistance factors of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture*, Amsterdam, v.37, p. 1-9, 1984.
- BRUM, C.D. *Vitamina C favorece a formação de macrófagos policariontes em *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887, mantidos em diferentes densidades*. 2003. Dissertação (Mestrado em Aquicultura de Águas Continentais) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.
- BUCHMANN, K. Immune mechanisms in fish skin against monogeneans-a model. *Folia Parasitol.*, Prague, v.46, p.1-9, 1999.
- BUCHMANN, K.; BRESCIANI, J. Rainbow trout leucocyte activity: influence on the ectoparasitic monogenean *Gyrodactilus derjavini*. *Dis. Aquat. Org.*, Oldendorff, v.35, p. 13-22, 1999.
- BYCHOWSKY, P.K.Y. *Monogenetic trematodes. Their Systematic and Phylogeny*. The Academy of Sciences of the USSR, Moscow. Translated from Russian by P.C. Oustinoff (W. J. Hargis Jr. Ed.), AIBS, Washington D.C. 1957, 509 p.
- CASTAGNOLLI, N. *Piscicultura de água doce*. Jaboticabal: Ed. Funep, 1992.
- COWEY, C.B. et al. Tissue distribution, uptake, and requirement for alpha tocopherol of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) fed diets with a minimal content of unsaturated fatty acids. *J. Nutr.*, Bethesda, v.111, p. 1556-67, 1981.
- COWEY, C.B. et al. The vitamin E requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing polyunsaturated fatty acids derived from fish oil. *Aquaculture*, Amsterdam, v.30, p. 85-93, 1983.
- FURONES, M.D. et al. Dietary vitamin E and the response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), to infection with *Yersinia ruckeri*. *J. Fish Biol.*, London, v.41, p.1037-1041, 1992.
- GAZOLA, R. et al. Plasma steroids and corticosteroid levels in female pacu *Piaractus mesopotamicus* teleostei-characidae. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, Ribeirão Preto, v.29, p. 659-664, 1996.
- GOLDENFARB, P.B. et al. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *Am. J. Clin. Path.*, Philadelphia, v. 56, p.35-39, 1971.
- HAMRE, K. et al. Decreased concentration of hemoglobin, accumulation of lipid oxidation products and unchanged skeletal muscle in Atlantic salmon (*Salmo solar*) fed low dietary vitamin E. *Fish Physiol. Biochem.*, Dordrecht, v.12, p. 421-429, 1994.
- HARDIE, L.J. et al. The effect of vitamin E on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, Amsterdam, v.87, p.01-13, 1990.
- JONES, S.R.M. The occurrence and mechanisms of innate immunity against parasites in fish. *Dev. Comp. Immunol.*, Amsterdam, v.25, p. 841-852, 2001.
- KOROLEFF, F. *Determination of Nutrients*. In K. GRASSHOF, K. (Ed.), *Methods of Seawater Analysis*. German: Verlag Chemie Weinheim, 1976. p. 117-181.
- KRITSKY, D.C. et al. Neotropical Monogenea. 29. Ancyrocephalinae (Dactylogyridae) of piranha and their relatives (Teleostei, Serrasamidae) from Brazil: Species of *Anphitecium* Boeger and Kitsky, 1988, *Heterothecium* gen. N. and *Phitanthecium* gen. N. *J. Helminthol. Soc.*, Washington, D.C., v.64, p.25-54, 1997.
- MANZ, U., PHILIPP, K. A method for the routine determination of tocopherols in animal feed and human foodstuffs with the aid of high performance liquid chromatography. *Int. J. Vit. Nutr. Res.*, v.51, p. 342-348, 1981.
- MARTINS, M.L.; ROMERO, N.G. Efectos Del parasitismo sobre el tejido branquial en peces cultivados: estudio parasitológico e histopatológico. *Rev. Bras. Zool.*, Curitiba, v.13, n.2, p.489-500, 1996.
- MARTINS, M.L. et al. Mebendazole treatment against *Anacanthorus penilabialis* gill parasite of cultivated *Piaractus mesopotamicus* in Brazil. Efficacy and hematology. *Acta Parasitol.*, Waisaw, v.46, n.4, p. 332-336, 2001.
- MARTINS, M.L. et al. Recent studies on parasitic infections of freshwater cultivated fish in the state of São Paulo, Brazil. *Acta Scientiarum*, Maringá, v.24, n.4, p. 981-985, 2002.
- MOCCIA, R.D. et al. Effect of oxidized fish oil, vitamin E and ethoxyquin on the histopathology and hematology of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *J. Fish Dis.*, Oxford, v.7, p. 269-282, 1984.
- MOMSEN, T.P. et al. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev. Fish Biol. Fish.*, Dordrecht, v.9, p. 211-268, 1999.
- MONTERO, D. et al. Depletion of serum alternative complement pathway activity in gilthead seabream caused by alpha tocopherol and n-3 HUFA dietary deficiencies. *Fish Physiol. Biochem.*, Dordrecht, v. 18, p.399-407, 1998.
- MONTERO, D. et al. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture*, Amsterdam, v.171, p. 269-278, 1999.
- MULERO, V. et al. Effects of in vitro addition of exogenous vitamins C and E on gilthead seabream (*Sparus aurata*) phagocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, Amsterdam, v.66, p. 185-199, 1998.
- ORTUNÓ, J. et al. Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, Amsterdam, v.79, p.167-180, 2001.
- RHODE, K. *Ecology of marine parasites*. Wallingford: CAB International, U.K. 1993.
- SAKAI, M. Current research status of fish Immunostimulants. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 172, p. 63-92, 1999.
- SCHOLZ, T. Parasites in cultured and feral fish. *Vet. Parasitol.*, Amsterdam, v. 84, p.317-335, 1999.

- SMITH, C.E. The prevention of liver lipoid degeneration (ceroidosis) and microcytic anemia in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson), fed rancid diets: a preliminary report. *J. Fish Dis.*, Oxford, v.2, p. 429-437, 1979.
- SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, G. *Statistical Methods*. Iowa: Iowa State University Press. Ames. 1974.
- TAVARES-DIAS, M. *et al.* Características hematológicas de teleósteos brasileiros. II. Parâmetros sanguíneos do *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes, Characidae) em policultivo intensivo. *Rev.. Bras. Zool.*, Curitiba, v.16, n.2, p. 423-431, 1999.
- TAVARES-DIAS, M. *et al.* Carga parasitária de peixes oriundos de “pesque-pagues” do município de Franca, São Paulo, Brasil. II. Metazoários. *Rev.. Bras. Zool.*, Curitiba, v.18, n.1, p. 81-95, 2001.
- THAKUR, M.L.; SRIVASTAVA, U.M. Vitamin E Metabolism and its application. *Nutr. Res.*, New York, v.16, p.1767-1809, 1996.
- TORT, L. *et al.* Crowding stress induces changes in serum haemolytic and agglutinating activity in the gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, Amsterdam, v.51, p.179-188, 1996.
- WADA, S. *et al.* Histopathological study of culture striped jack with yellow fat disease. *Fish. Pathol.*, v.26, p.61-67, 1991.
- WILSON, R.P. *et al.* Dietary vitamin E requirement of fingerling channel catfish. *J. Nutr.*, Bethesda, v.114, p. 2053-2058, 1984.
- WISE, D.J. *et al.* Effects of dietary selenium and vitamin E on red blood cell peroxidation, glutathione peroxidase activity, and macrophage superoxide anion production in channel catfish. *J. Aquat. Anim. Health*, Bethesda, v. 5, p.177-182, 1993.

Received on September 30, 2004.

Accepted on March 03, 2005.