

Ganho de peso e taxa de sobrevivência de pós-larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentadas com rações contendo diferentes níveis de vitamina C

Edma Carvalho Miranda¹, Luís Gabriel Quintero Pinto², Wilson Massamitu Furuya³, Luiz Edivaldo Pezzato^{4*}, Margarida Maria Barros⁴ e Antonio Celso Pezzato⁴

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Alagoas, Campus A.C. Simões, 57000-000, Maceió-Alagoas, Brasil.

²FMVZ, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá D.C., Colombia. ³Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. ⁴Departamento de Nutrição Animal, FMVZ, Unesp, Botucatu, São Paulo, C.P. 560, 18618-000, Brasil. *Autor para correspondência.

RESUMO. Avaliaram-se o ganho de peso e a taxa de sobrevivência de pós-larvas de pacu alimentadas com quatro rações contendo diferentes níveis de vitamina C. As rações isoprotéicas (40,00% PB) e isoenergéticas (4000kcal ED/kg da ração) foram compostas por 41,89% de albumina, 2,00% de gelatina, 31,42% de amido de milho, 5,00% de farinha de peixe, 12,85% de óleo de soja, 5,32% de fosfato bicálcico, 1,00% de suplemento vitamínico e mineral, 0,02% de antioxidante e 0,50% de alginato; receberam 125, 250, 500 e 750mg de vitamina C (2-monofosfato de ácido ascórbico L) por kg da ração. Foram utilizadas 180 pós-larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com peso inicial médio de 13,20±7,70mg, distribuídas em 12 aquários de polietileno de 12 L, dotados de fluxo contínuo de ar e temperatura monitorada por termostato central. O estudo teve duração de 15 dias e o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e três repetições. Os resultados de ganho de peso (mg) e taxa de sobrevivência (%) para a inclusão de 125, 250, 500 e 750mg de vitamina C/kg da ração foram, respectivamente, de 19,00cmg e 83,30b%; 25,00amg e 95,55a%; 20,00bcmg e 84,44b%; 21,00bmg e 91,10ab%. Concluiu-se que a suplementação de 250mg de vitamina C/kg de ração apresenta-se como a mais eficiente para a fase pós-larval de pacu.

Palavras-chave: pós-larva, pacu, sobrevivência, ganho de peso, vitamina C.

ABSTRACT. Growth performance and survival of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) fed diets containing different levels of vitamin C. Growth performance and survival of pacu larvae fed diets containing different levels of vitamin C were evaluated for 15 days. The experimental diets were formulated to contain approximately 40.00% crude protein and 4000kcal of digestible energy/kg diet based on the feedstuffs values reported by NRC (1993) and 4 levels of ascorbic acid, 125, 250, 500 and 750mg/kg diet. Pacu larvae with 0.0132 ± 0.0077g were stocked into 12 aquaria (12-L) at 15 larvae/aquarium. The results of this study indicate that weight gain and survival percentage were significantly higher for fish fed diets supplemented with 250mg of vitamin C/kg.

Key words: pacu larvae, survival, weight gain, vitamin C.

Introdução

As vitaminas são exigidas em pequenas quantidades para crescimento normal, reprodução, saúde e metabolismo dos peixes. Muitos sinais de sua deficiência têm sido descritos para peixes, principalmente nos cultivos de alta densidade e sistemas intensivos (Pezzato, 1999). Recomenda-se, portanto, sua adição na ração para evitar possíveis problemas. Deve-se, entretanto, atentar que a suplementação em excesso pode causar problemas

(New, 1987), como a inibição de crescimento (Kurmaly *et al.*, 1993).

Diversas espécies de animais, como alguns peixes, não sintetizam a vitamina C devido à falta da enzima L-gulonolactona oxidase para sua síntese a partir da glicose (Lehninger *et al.*, 1995). Em função dessa característica, essa vitamina deve ser fornecida na ração em quantidades adequadas para suprir as necessidades metabólicas da espécie. Os peixes têm exigência vitamínica similar aos demais animais monogástricos, com exceção da vitamina C, cuja

presença resulta em resultados positivos de desempenho e de sobrevivência, principalmente de larvas e alevinos (Pezzato, 1999).

Segundo Devlin (1997), a vitamina C ou ácido ascórbico é um composto de seis carbonos, estreitamente relacionado à glicose. O autor destaca que essa vitamina tem ação de forte agente redutor em várias funções metabólicas, participa no processo de hidroxilação da prolina e lisina para hidroxiaminoácido, atua na conversão do pró-colágeno em colágeno, participa na manutenção do tecido conjuntivo e cicatrização de ferimentos e atua como antioxidante das vitaminas lipossolúveis A, E, além de algumas vitaminas do complexo B. Segundo o NRC (1993), o ácido ascórbico é essencial para a síntese de colágeno, formação de cartilagem, dentes e ossos e na cicatrização do tecido epitelial. Mahajan e Agrawal (1980) verificaram que as deformidades esqueléticas podem ser causadas pela diminuição na absorção de cálcio nos tecidos, resultado de sua mobilização dos ossos, quando da homeostase plasmática. O ácido ascórbico participa do metabolismo do ferro e na ativação da vitamina D, da redução dos efeitos nocivos dos hormônios adrenais durante o estresse (NRC, 1993), além de atuar como redutor no transporte de hidrogênio e na hidroxilação do triptofano, da tirosina e da prolina (Tacon, 1991).

Segundo Roberts e Bullock (1989), a redução na taxa de síntese de colágeno nos peixes, resultado da deficiência de vitamina C, caracteriza-se basicamente pela má formação óssea e pela diminuição de sua capacidade reprodutiva. Para Halver (1985), a deficiência dessa vitamina nos peixes caracteriza-se pela detecção da lordose, escoliose, letargia, ascite, perda do apetite, anemia, exoftalmia hemorrágica e hemorragia intramuscular, redução na concentração de colágeno nos ossos, perda de escamas, deformidade opercular e de guelras, cicatrização deficiente de ferimentos, prejuízo no metabolismo do ferro e anemia microcítica hipocrômica (Halver et al., 1969; Wilson e Poe, 1973; Hilton et al., 1978; Lim e Lovell, 1978; Shiao e Jan, 1992; Abdelghany, 1996; Lim et al., 2000). Segundo Fracalossi (1998), o ácido ascórbico está envolvido sinergicamente com a vitamina E na manutenção de antioxidantes intracelulares, na redução de radicais livres e na manutenção do hematócrito normal.

A fase de larvicultura dos peixes caracteriza-se pela rápida depleção das reservas de ácido ascórbico durante o desenvolvimento. O metabolismo da larva é excepcionalmente maior nessa fase, sugerindo que as exigências dessa vitamina sejam maiores que nos estágios posteriores (Toyama, 1999).

Segundo Steffens (1987), há grande variação nos níveis de vitamina C recomendados para as diversas espécies e fases da vida dos peixes. Níveis de vitamina C entre 60 e 200mg/kg de ração são recomendados por Jobling (1994), de 200 a 400mg/kg de ração para a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), de 50 a 100mg/kg de ração para a carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) e de 50 a 200mg/kg de ração para o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*).

Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos de níveis de vitamina C sobre o crescimento e a taxa de sobrevivência de pós-larvas de pacu.

Material e métodos

Este experimento foi realizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp - Laboratório de Pesquisa em Nutrição de Organismos Aquáticos, Campus de Botucatu, unidade integrada ao Caunesp, Estado de São Paulo.

Foram utilizados 12 aquários de polietileno com capacidade para 12 litros de água, dotados de aeração contínua. A água de cada aquário foi aquecida através de resistências elétricas e monitorada por termostato central. A temperatura foi medida duas vezes ao dia (8h e 14h). Semanalmente, foram avaliados o pH com uso de potenciômetro e o teor de oxigênio dissolvido pelo método de Winkler.

Confeccionou-se quatro rações purificadas, segundo Lovell (1998), de maneira a apresentarem-se isoprotéicas (40,00% de PB) e isoenergéticas (4000kcal de ED/kg da ração), conforme apresentado na Tabela 1. Os ingredientes foram homogeneizados a seco nas respectivas proporções e, posteriormente, a mistura foi umedecida com 30,00% de água (60,0°C) e peletizada em equipamento eletrônico (*Ação Científica*). Os péletes obtidos foram desidratados em estufa com circulação forçada de ar a 55,0°C e, em seguida, acondicionados em embalagens plásticas e armazenadas em refrigerador a -6,0°C. As rações empregadas neste experimento foram processadas para a obtenção de péletes com diâmetro de 0,13mm.

O experimento teve duração de 15 dias, sendo que 10 dias antes do início da fase de obtenção de dados, as larvas foram submetidas a um período de adaptação às respectivas unidades experimentais. Empregou-se um lote de 180 pós-larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com peso médio de $13,20 \pm 7,70$ mg, de um total de 500 indivíduos. Foram distribuídas aleatoriamente em número de 15 por aquário. As pós-larvas foram alimentadas *ad libitum*, quatro vezes ao dia, às 8h, 11h, 14h e 17h.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (125; 250; 500; 750mg de vitamina C por kg da ração) e três repetições. Foram avaliados o ganho de peso e a taxa de sobrevivência. Adotou-se o nível de significância de 5,00% para análise de variância para testar diferenças entre as médias (Steel e Torrie, 1984). O peso inicial foi estimado com base em um grupo amostral de 50 pós-larvas, pesadas individualmente. Todos os indivíduos de cada tratamento foram pesados ao final do período experimental.

Tabela 1. Composição percentual e características nutritivas das rações experimentais

Ingrediente	Tratamento (mg de vitamina C/kg da ração)			
	125	250	500	750
Albumina	41,89	41,90	41,90	41,93
Gelatina	2,00	2,00	2,00	2,00
Amido de milho	31,12	30,76	29,86	28,93
Farinha de peixe	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	12,85	12,90	13,20	13,50
Fosfato bicalcico	5,32	5,32	5,32	5,32
Suplemento vitamínico-mineral ⁽¹⁾	1,00	1,00	1,00	1,00
Vitamina C ⁽²⁾	0,30	0,60	1,20	1,80
Antioxidante (BHT)	0,02	0,02	0,02	0,02
Alginato	0,50	0,50	0,50	0,50
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Proteína bruta (%)	40,00	40,00	40,00	40,00
Energia Digestível (kcal/kg)	4,000	4,000	4,000	4,000
Metionina (%)	0,40	0,40	0,40	0,40
Vitamina C (mg/kg)	125	250	500	750

¹Níveis de garantia por kg de premix (Suprevit - Supremais): ácido fólico 1200mg; pantotenato de cálcio 12000mg; vit. B₁ 4800mg; vit. B₂ 4800mg; vit. B₆ 4800mg; vit. B₁₂ 4800mg; niacina 24000mg; vit. A 1200.000UI; vit. E 12.000mg; vit. K 2400mg; vit. D₃ 200.000UI; cobalto 2mg; cobre 600mg; ferro 10000mg; iodo 20mg; manganês 4000mg; selênio 20mg; zinco 6000mg; ²2-monofosfato de ácido ascórbico L

Resultados e discussão

Durante o período experimental, os parâmetros de qualidade de água, temperatura, oxigênio dissolvido e pH mantiveram-se dentro da faixa considerada adequada para as larvas (Woynarovich, 1986). A temperatura média da água, os valores médios da concentração de OD e os valores médios do pH foram, respectivamente, de 26,00 ± 1,60°C; 6,40 ± 1,10mg/L e 6,50 ± 0,50.

As médias, desvios padrão e os índices relativos de comparação (IRC%) do ganho de peso (mg) e da taxa de sobrevivência (%) das pós-larvas de pacu aos 15 dias encontram-se apresentados na Tabela 2.

Submetendo-se os valores médios de ganho de peso (mg) à análise de variância para experimentos inteiramente casualizados (teste F), observou-se diferença estatisticamente significativa (p<0,01) entre os tratamentos, com coeficiente de variação (CV%) de 3,76. Essas médias, quando submetidas ao teste de Tukey, demonstraram que o tratamento

250mg/kg proporcionou o melhor ganho de peso e que este diferiu dos demais (p<0,05).

Tabela 2. Valores médios (± desvio padrão) e índice relativo de comparação (IRC%) do ganho de peso (mg) e da taxa de sobrevivência (%) das pós-larvas de pacu no final do experimento

Tratamento	Peso (mg)	IRC (%)	Sobrevivência (%)	IRC (%)
125 ⁽¹⁾	19,00 ± 9,00c	75,30	83,33 ± 4,10b	87,21
250 ⁽²⁾	25,00 ± 3,00a	100,00	95,55 ± 2,88a	100,00
500 ⁽³⁾	20,00 ± 1,00bc	81,37	84,44 ± 3,99b	88,37
750 ⁽⁴⁾	21,00 ± 9,00b	86,23	91,10 ± 3,65ab	95,34

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente (p<0,05); ¹125mg de vitamina C / kg de ração; ²250mg de vitamina C / kg de ração; ³500mg de vitamina C / kg de ração; ⁴750mg de vitamina C / kg de ração

Pode-se observar que o tratamento 125mg/kg, embora não diferindo do tratamento 500mg/kg, apresentou o menor ganho de peso. Observa-se, ainda, que o tratamento 500mg/kg não diferiu do tratamento 750mg/kg.

Os resultados de ganho de peso das pós-larvas alimentadas com o tratamento 250mg/kg encontram-se dentro dos níveis recomendados (200 a 400mg/kg) para a truta arco-íris por Steffens (1987). Esse nível (250mg/kg de ração) mostra-se próximo aos recomendados por este mesmo autor, pelo NRC (1993) e por Jobling (1994) para o bagre do canal.

Por outro lado, 250mg/kg de ração é superior ao recomendado para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por Soliman *et al.* (1994). Apresenta-se, ainda, superior aos recomendados por Stickney *et al.* (1984) para a tilápia híbrida (nilótica x aureus). Segundo estes autores, a tilápia do Nilo necessita de 125mg de vitamina C por kg na ração, a tilápia azul 50mg de ácido L-ascórbico cristalino-AA/kg, e a tilápia híbrida (nilótica x aureus), 79mg/kg de ácido L-ascórbico cristalino.

Os níveis recomendados de vitamina C para o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) apresentam-se distintos em função das diferentes fontes dessa vitamina e da fase de vida dos peixes utilizados nos estudos. Andrews e Murai (1975) recomendaram 25mg AA/kg de ração a partir de peixes com tamanho inicial de 14,00 gramas e o ácido L-ascórbico cristalino como fonte de vitamina C. Estes mesmos autores, quando trabalharam com peixes pesando em média 2,00 gramas, demonstraram ser necessária a inclusão do dobro do valor anteriormente apresentado, ou seja, 50mg AA/kg. Recomendação semelhante foi apresentada por Lim e Lovell (1978) quando utilizaram essa mesma fonte de vitamina C com peixes de 2,30 gramas e determinaram sua exigência como de 60mg AA/kg de ração.

Outros pesquisadores testaram o ascorbil-2-polifosfato como fonte da vitamina C para a tilápia do Nilo. El Naggar e Lovell (1991) determinaram, como exigência, 11mg/kg de APP para peixes de 13,00 gramas e para peixes de 5,50 gramas, 15mg de APP/kg de ração, segundo conclusão apresentada por Robinson (1992).

O valor de 40mg de vitamina C/kg da ração foi determinado para a truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) por Hilton et al. (1978) quando utilizaram o ácido ascórbico protegido com etilcelulose (ECAA); Halver et al. (1969) determinaram valores de 50 a 100mg AA/kg de ração e Cho et al. (1985) observaram que essa espécie exige valores menores que 10mg/kg de ração para peixes com 3,00 gramas, utilizando-se AMP como fonte. Para o salmão do pacífico (*Oncorhynchus* spp), 50mg AA/kg da ração foi recomendado por Halver et al. (1969) e, para o "yellowtail" (*Seriola lalandi*), Shimeno (1991) determinou que são necessárias 122mg/kg de vitamina C na ração de alevinos.

Andrews e Murai (1975), trabalhando com o bagre do canal, avaliaram o desempenho produtivo e as características hematológicas da espécie arraçoada com diferentes níveis de vitamina C, observando que 50mg/kg dessa vitamina foi suficiente para ótimo crescimento e que os diferentes níveis testados (de 0 a 400mg/kg ração) em rações semi-purificadas não determinaram alterações nos níveis de hematócritos dos peixes avaliados. O uso da ração prática revelou que níveis de 80 ou 130mg/kg de vitamina C resultaram significativamente em melhor desempenho produtivo e melhores níveis de hematócrito comparados a 30mg/kg da ração. Li e Robinson in Lim e Webster (2001) destacaram que a exigência da vitamina C varia entre as espécies, e que diferenças podem existir dentro da própria espécie, entre diferentes linhagens, fases de vida e sistemas de cultivo.

Entretanto, o melhor ganho de peso apresentado, neste estudo, pelas pós-larvas de pacu, quando arraçoadas com a ração contendo 250mg de vitamina C/kg, mostrou-se inferior ao recomendado por Mahajan e Agrawal (1980) quando trabalharam com larvas de carpa indiana e obtiveram as melhores respostas de crescimento quando alimentadas com níveis de vitamina C próximo a 600mg/kg. São contrários, ainda, aos resultados obtidos por Toyama (1999) quando observou que larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) obtiveram melhores índices de ganho de peso quando alimentadas com rações contendo concentrações de vitamina C acima de 800mg/kg.

No sentido de melhor visualizar essas diferenças, atribuiu-se o índice relativo de comparação (IRC%) às médias de ganho de peso (Tabela 2). Aplicando-se o índice 100,00% ao tratamento 250mg de vitamina C/kg, verificou-se que o ganho de peso médio das pós-larvas foi superior aos tratamentos 125, 600 e 750mg de vitamina C/kg, respectivamente, em 24,70%, 18,63% e 13,77%.

A importância da vitamina C para um maior crescimento dos peixes foi destacado por Abdelghany (1998), quando apresentou como sendo de 5mg/kg o mínimo dessa vitamina para atendimento das exigências da tilápia do Nilo. Segundo este autor, a inclusão de 50mg/kg na ração inicial dessa espécie proporcionou maior ganho de peso, superior em 36,20%.

As taxas de sobrevivência das pós-larvas de pacu, deste estudo (Tabela 2), quando submetidas à análise de variância (teste F), revelaram diferenças significativas ($p < 0,01$), com coeficiente de variação de 4,73%. Submetendo-se essas médias ao teste de Tukey, observou-se diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as médias.

Verificou-se que o tratamento 250mg de vitamina C/kg de ração proporcionou a melhor taxa de sobrevivência. Esse resultado apresenta-se semelhante ao proporcionado pelo tratamento 750mg de vitamina C/kg de ração. No entanto, esse último, apresenta-se similar aos tratamentos 500 e 125mg de vitamina C/kg de ração.

A taxa de sobrevivência de 83,33%, obtida com as pós-larvas de pacu, nesse estudo, quando se utilizou 125mg de vitamina C/kg de ração, apresentou-se semelhante à taxa de sobrevivência encontrada por Soliman et al. (1994) para tilápia do Nilo (80,00%) alimentada com ração inicial contendo esse mesmo nível de vitamina C.

No sentido de destacar esses resultados, atribuiu-se o índice 100,00% (IRC) ao tratamento 250mg de vitamina C/kg de ração. Com base nesse índice, constatou-se que, embora o tratamento 250 não tenha diferido do 750mg de vitamina C/kg de ração, o mesmo apresentou-se melhor, em média 4,65%. Por outro lado, a taxa de sobrevivência desse tratamento (250) resultou em uma taxa de sobrevivência superior aos tratamentos 125 e 500mg de vitamina C/kg de ração, respectivamente, em 12,78% e 11,62%.

Os níveis de sobrevivência detectados neste estudo variaram entre 83,83% e 95,55%. Esses resultados apresentam-se superiores aos obtidos por Mahajan e Agrawal (1980) quando trabalharam com larvas de carpa Indiana (*Cirrhina mrigola*) e obtiveram, com 60mg de vitamina C/kg de ração,

uma taxa de sobrevivência de 62,00%. Mostram-se superiores, ainda, aos resultados observados por Toyama (1999) com larvas de tilápia do Nilo, quando utilizou níveis de vitamina C superiores a 200mg/kg de ração e obteve sobrevivência de 61,61%.

As respostas de crescimento e/ou os índices de sobrevivência encontrados neste estudo encontram-se concordantes com o demonstrado por Steffens (1987), NRC (1993), Jobling (1994), Soliman *et al.* (1994) e Pezzato (1999). Os resultados de ganho de peso e taxa de sobrevivência após 15 dias de alimentação demonstraram que a suplementação de 250mg de vitamina C/kg de ração, na forma de 2-monofosfato de ácido ascórbico L, apresenta-se como a mais indicada à fase pós-larval de pacu.

Agradecimentos

À indústria Supremais Produtos Bioquímicos Ltda., pelo apoio científico.

Referências

- ABDELGHANY, A.E. Growth response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to dietary L-ascorbic acid, L-ascorbyl-2-sulfate, and L-ascorbyl-2-polyphosphate. *J. World Aquacult. Soc.*, Bethesda, v.27, p.449-455, 1998.
- ANDREWS, J.W.; MURAI, T. Studies of the vitamin c requirements of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Nutr.*, Bethesda, v.105, p.557-561, 1975.
- CHO, C.Y. *et al.* *Finfish nutrition in Asia: methodological approaches to research and development*. Ottawa: IDRC, 1985.
- DEVLIN, T.M. *Manual de bioquímica com correlações químicas*. São Paulo: Edgard Blucher, 1997.
- EL NAGGAR, G.O.; LOVELL, R.T. L-ascorbyl-2-monophosphate has equal antiscorbutic activity as L-ascorbic acid but L-ascorbyl-2-sulfate is inferior to L-ascorbic for channel catfish. *J. Nutr.*, Bethesda, v.121, p.1622-1626, 1991.
- FRACALOSSO, D.M. Doenças nutricionais em peixes. In: *SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES*, 2, 1998, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: CBNA, 1998. p.97-122.
- HALVER, J.E. Recent advances in vitamin nutrition and metabolism in fish. In: COWEY, C.B. *et al.* (Ed.). *Nutrition and feeding in fish*. London: Academic Press, 1985.
- HALVER, J.E. *et al.* Ascorbic acid requirements of coho salmon and rainbow trout. *Trans. Am. Fish. Soc.*, Bethesda, v.98, p.762-771, 1969.
- HILTON, J.W. *et al.* Effect of graded levels of supplemental ascorbic acid in practical diets of rainbow trout. *J. Fish. Res. Board Can.*, Ottawa, v.35, p.431-436, 1978.
- JOBLING, M. Bioenergetics: feed intake and energy partitioning. In: RAN KIN, J.C.; JENSEN, J.B. (Ed.). *Fish Ecophysiology*. London: 1994.
- KURMALY, K.P. *et al.* Advances in vitamin nutrition for aquatic species: Stability, leaching and bioavailability of ascorbic acid. In: *FEED PRODUCTION TOMORROW*, 2, 1993, Bangkok. *Anais...* Bangkok: Thailand, 1993. p. 86-116.
- LEHNINGER, A.L. *et al.* *Princípios de bioquímica*. São Paulo: Savier, 1995.
- LIM, C.; LOVELL, R.T. Pathology of vitamin C deficiency syndrome in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Nutr.*, Bethesda, v.108, p.1137-1146, 1978.
- LIM, C.; WEBSTER, C.D. *Nutrition and fish health*. New York: Haworth Press, 2001.
- LIM, C. *et al.* Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to Edwardsiella ictaluri challenge. *Aquaculture*, Amsterdam, v.185, p.313-327, 2000.
- LOVELL, R.T. *Nutrition and feeding of fish*. 2.ed. Massachusetts: Academic Press, 1998.
- MAHAJAN, C.L.; AGRAWAL, N.K. Nutritional requirement of ascorbic acid by indian major carp (*Cirrhina mrigala*) during early growth. *Aquaculture*, Amsterdam, v.9, p.37-48, 1980.
- NEW, M.B. *Feed and feeding of fish and shrimp*. Rome, 1987.
- NRC-NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Nutrient requirements of fish*. Washington: Academy Press, 1993.
- PEZZATO, L.E. Alimentação de peixes - Relação custo e benefício. In: *REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA*, 36, 1999, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre:SBZ, 1999. p. 109-118.
- ROBERTS, R.J.; BULLOCK, A.M. Nutritional pathology. In: HALVER, J.E. (Ed.). *Fish nutrition*. Washington: Academic Press, 1989. p. 423-473.
- ROBINSON, E.H. *Vitamin C studies with catfish: requirements, biological activity and stability*. Mississippi: Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station, 1992. (Technical Bulletin, 182).
- SHIAU, S.Y.; JAN, F.L. Dietary ascorbic acid requirement of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Nippon Suisan Gakkaishi Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, Tokyo, v.58, p.671-675, 1992.
- SHIMENO, S. Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. In: WILSON, R.P. *Handbook of nutrient requirements of finfish*. Boca Raton: CRC Press, 1991. p.181-91.
- SOLIMAN, A.K. *et al.* Water-soluble vitamin requirements of tilapia: ascorbic acid (vitamin C) requirement of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquacult. Fish. Manag.*, Amsterdam, v.25, p.269-278, 1994.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, S.H. *Principles and procedures of statistics: a biometrical approach*. Auckland: McGraw-Hill International, 1984.
- STEFFENS, W. *Principios fundamentales de la alimentación de los peces*. Zaragoza, España. 1987.

- STICKNEY, R.R. *et al.* Response of tilapia aurea to dietary vitamin C. *J. World Maricult. Soc.*, v.15, p.179-185. 1984.
- TACON, A.G.J. Vitamin nutrition in shrimp and fish. *In: AQUACULTURE FEED PROCESSING AND NUTRITION WORKSHOP*, 1., 1991, Singapore. *Proceedings...* Singapore: American Soybean Association, 1991. p.10-41.
- TOYAMA, G.N. *Suplementação de vitamina C na reversão sexual de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus)*. 1999. (Dissertação de Mestrado em Nutrição Animal) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.
- WILSON, R.P.; POE, W.E. Impaired collagen formation in the scorbutic catfish. *J. Nutr.*, Bethesda, v.103, p.1359-1364, 1973.
- WOYNAROVICH, E. *Tambaqui e pirapitinga: propagação artificial criação de alevinos*. Brasília: Codevasf, 1986.

Received on May 20, 2002.

Accepted on May 22, 2003.