

SUPLEMENTAÇÃO COM VITAMINA C E E SOBRE O DESENVOLVIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE GIRINOS DE RÃ-TOURO (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802)

VITAMIN C AND E SUPPLEMENTATION ON THE DEVELOPMENT AND SURVIVAL OF BULLFROG TADPOLES (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802)

Marta Verardino De Stéfani¹ Adriana Sacioto Marcantonio²
Maurício Laterça Martins³

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação de vitamina C e E sobre o desenvolvimento e sobrevivência de girinos de rã-touro. Os animais receberam 50, 250 e 500mg de vitamina C ou E/kg de ração, distribuídos segundo delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições cada. Na dieta controle, não foram adicionadas vitaminas. Os girinos suplementados com vitamina C ou E não apresentaram diferença significativa no crescimento, comparados ao controle. Não obstante, os suplementados com 500mg de vitamina C apresentaram melhor sobrevivência (62,83%) do que os animais controle (40,48%; $p < 0,05$), nos demais níveis desta vitamina e a adição de vitamina E não alteraram a sobrevivência. O presente trabalho sugere que 500mg de vitamina C/kg de ração constitui uma opção para melhorar a sobrevivência de girinos de rã-touro.

Palavras-chave: vitamina C, vitamina E, rã-touro, *Rana catesbeiana*, sobrevivência.

SUMMARY

The effects of vitamin C and E supplementation on the development and survival of bullfrog tadpoles were evaluated. The animals received 50, 250 and 500mg vitamin C or E/kg dry ration. In the control diet, vitamins were not added. A fully randomized experimental design was utilized, with 3 replicates of each treatment. Vitamin supplemented tadpoles did not show significant difference on growth compared to the control. Furthermore, tadpoles with supplementation of 500mg vitamin C showed better survival (62.83%) than control (40.48%; $p < 0.05$). The other levels of vitamin C and E did not affect the survival of tadpoles. The present study suggests that 500mg vitamin C/kg dry ration is a tool to improve the survival of bullfrog tadpoles.

Key words: vitamin C, vitamin E, tadpoles, *Rana catesbeiana*, survival.

INTRODUÇÃO

A vitamina C contribui para a formação do tecido ósseo e cartilaginoso, sendo responsável por melhoras significativas no crescimento de peixes, e sua falta ou deficiência na dieta pode provocar deformações ósseas, branquiais, hemorragias, falta de apetite e aumento do estresse (HALVER, 1995). Em peixes, os sinais típicos de deficiência de vitamina C podem ser lordose, escoliose, hemorragias, baixo crescimento e perda de apetite (HALVER *et al.*, 1975; AGRAWAL & MAHAJAN, 1980). No único trabalho encontrado na literatura com girinos, LEIBOVITZ *et al.* (1982) observaram que a vitamina C é necessária em dietas de girinos, pois sua deficiência causa deformações na cauda dos mesmos. Em uma espécie de peixe brasileiro (*Piaractus mesopotamicus*), MARTINS (1995) observou que a falta de vitamina C provoca alterações estruturais como hiperplasia, espessamento das lamelas primárias e secundárias e infiltrado inflamatório mononuclear na extremidade dos filamentos branquiais. Mais tarde, MARTINS (1998) observou significativa diminuição no número de *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea) nas brânquias de *P. mesopotamicus* alimentados com 200mg de ácido ascórbico/kg de ração durante 24 semanas.

Para demonstrar a eficácia da combinação de vitamina C e vitamina E na dieta de *Oncorhynchus mykiss*, WAHLI *et al.* (1998)

¹ Docente do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (UNESP) - CAUNESP, doutorado em Aquicultura, Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellane, Zona Rural, s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP. E-mail: martavs@fcav.unesp.br. Autor para correspondência.

² Zootecnista, mestrado em Zootecnia.

³ Biólogo do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, doutorado em Patologia.

relataram que altas doses de vitamina C (2.000mg/kg) e E (800mg/kg) diminuíram a mortalidade em peixes infectados com *Yersinia ruckeri* e *Ichthyophthirius multifiliis*. O mecanismo pelo qual o peixe elimina ou evita a doença parasitária ainda não está claro.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da adição de vitamina C e E na dieta sobre o crescimento e sobrevivência de girinos de rã-touro, *Rana catesbeiana*, em condições experimentais.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal, SP no período de 01 de abril a 26 de maio de 1999. Foram testados três níveis de vitamina C revestida com etilcelulose - Roche® (50, 250 e 500mg/kg) e três níveis de vitamina E - Roche® (50, 250 e 500mg/kg), utilizando-se delineamento inteiramente casualizado, com 7 tratamentos (3 níveis de vitamina C, 3 níveis de vitamina E e ração controle) e 3 repetições, totalizando 21 parcelas.

Os tratamentos foram os seguintes: T₁-ração controle (RC) + 50mg vit C/kg; T₂- RC + 250mg vit C/kg; T₃- RC + 500mg vit C/kg; T₄- RC + 50mg vit E/kg; T₅- RC + 250mg vit E/kg; T₆- RC + 500mg vit E/kg e T₇- RC. Foram utilizados 945 girinos de rã-touro (*R. catesbeiana*), com peso médio inicial de 0,0135g, os quais foram distribuídos em 21 aquários com volume de 90 litros de água, na densidade de 0,5 girino/ℓ de água, sendo portanto cada parcela constituída de 45 girinos.

Todas as rações experimentais apresentaram a mesma formulação, diferindo apenas no teor de vitamina C ou E (Tabela 1). A ração foi oferecida na forma peletizada e lançada ao fundo do aquário, de modo uniforme, duas vezes ao dia, evitando-se sobras, de forma que a quantidade oferecida pudesse ser considerada como consumida (UTNE, 1978). Antes da alimentação os aquários foram sifonados, a fim de retirar os dejetos e restos de ração da alimentação anterior.

O desempenho de produção dos girinos (ganho de peso e sobrevivência) foi avaliado quinzenalmente através da pesagem individual de 20% dos girinos de cada aquário experimental, com exceção da primeira e da última na qual todos os girinos foram pesados, utilizando-se para isso balança eletrônica digital com sensibilidade de 0,01g. Os valores de sobrevivência observados para os girinos de rã-touro, por serem expressos em

Tabela 1 - Fórmula e composição percentual da ração controle.

| Ingredientes | % |
|--|---------|
| Milho moído (8,90 ¹) | 8,00 |
| Farelo de trigo (12,76) | 15,00 |
| Farelo de arroz (12,05) | 15,00 |
| Farelo de soja (46,67) | 23,00 |
| Farinha de peixe (52,33) | 38,00 |
| Premix mineral e vitamínico ² | 1,00 |
| Proteína (%) ³ | 35,03 |
| Energia Bruta ⁴ | 4173,59 |

¹ - Porcentagem de proteína

² - Níveis de garantia do Minermix Pescado por kg da dieta: Fe, 15.000mg; Cu, 5.000mg; I, 500mg; Mn, 17.000mg; Zn, 12.000mg; Se, 70mg; Veículo Q.S.P., 1.000mg. Níveis de garantia do Nutre-Pescado por kg da dieta: Vit.A, 12.000UI; Vit.D₃, 1.500UI; Vit.E, 50mg; Vit.K₃, 4mg; Vit. B₁₂, 40mg; Vit. B₂, 7mg; Ac. Pantotênico, 60mg; Ac. Nicotínico, 120mg; Cloreto de Colina, 600mg; Metionina, 700mg; Antioxidante, 500mg; Veículo Q.S.P., 1.000mg

³ - Valores calculados a partir de dados obtidos por análise de proteína dos ingredientes, pelo método de Kjeldhal (A.O.A.C., 1975).

⁴ - Valores calculados a partir dos dados de energia bruta dos ingredientes obtidos em bomba calorimétrica (em kcal/kg).

porcentagem, foram transformados para proceder-se à análise de variância em:

$$\text{arc sen } \sqrt{\frac{p}{100}}$$

Durante o experimento, os parâmetros aquáticos foram os seguintes: temperatura da água 28,0 a 31,5°C; pH 7,10 a 8,62 (7,86±0,76); oxigênio dissolvido 2,96 a 6,64mg/ℓ (4,80±1,84) e condutividade elétrica 180 a 200µS/cm (190,00±10,00).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores dos parâmetros aquáticos mantiveram-se dentro dos limites aceitáveis para cultivo de organismos aquáticos (SIPAÚBA-TAVARES, 1994). Com relação ao ganho de peso, não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2), indicando que a suplementação com vitamina C ou E não afetou o ganho de peso dos girinos. Resultados semelhantes foram obtidos por LEIBOVITZ *et al.* (1982) que não observaram diferença no ganho de peso de girinos de rã-touro alimentados com ração suplementada com 0, 2, 4 ou 8% de vitamina C. Entretanto, MARTINS (1995) observou que a suplementação de vitamina C melhorou o ganho de peso do pacu (*P.*

Tabela 2 - Valores de F, coeficiente de variação (CV) e médias dos dados de ganho de peso (g) e sobrevivência (%) nos diferentes tratamentos durante o período experimental.

| Estatísticas | Variáveis | |
|---------------------------------------|--------------------|-------------------|
| | Ganho de Peso (g) | Sobrevivência (%) |
| F para tratamentos | 2,01 ^{NS} | 2,97* |
| CV (%) | 10,46 | 15,05 |
| T ₁ -(RC+50mg Vit.C/kg) | 5,50 | 44,39ab |
| T ₂ -(RC+250mg Vit.C/kg) | 6,60 | 52,38ab |
| T ₃ -(RC+500mg Vit.C/kg) | 7,01 | 62,83a |
| T ₄ -(RC+50mg Vit.E/kg) | 6,30 | 52,20ab |
| T ₅ -(RC+250mg Vit.E/kg) | 5,90 | 58,95ab |
| T ₆ -(RC+500mg Vit.E/kg) | 5,89 | 50,15ab |
| T ₇ -(Ração Controle - RC) | 5,75 | 40,48 b |

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

^{NS} - não significativo

* - significativo ao nível de 5% de probabilidade

mesopotamicus), determinando como nível ótimo 139mg/kg de ração

A sobrevivência dos girinos que receberam ração suplementada com 500mg de vitamina C/kg de ração (62,83%) foi significativamente maior ($p < 0,05$) do que o controle (40,48%), indicando que esta suplementação de vitamina C nas rações de girinos melhorou a sobrevivência dos mesmos (Tabela 2). Entre os demais tratamentos não houve diferença significativa com relação à taxa de sobrevivência. LEIBOVITZ *et al.* (1982) não observaram diferença na sobrevivência de girinos de rã-touro suplementados com diferentes níveis de vitamina C.

Observa-se que a quantidade de 50mg de vitamina E contida no premix vitamínico fornecido aos girinos (Tabela 1), bem como a suplementação da mesma nos níveis testados não influenciaram o ganho de peso e taxa de sobrevivência dos mesmos.

O presente trabalho é o primeiro relato sobre suplementação com vitamina C e E na alimentação de girinos de rã-touro. Por outro lado, estudos futuros devem ser realizados, uma vez que tem sido comprovado que a utilização dessas vitaminas vem contribuindo para melhor crescimento e aumento na resistência a doenças em peixes.

CONCLUSÃO

Nas condições em que o experimento foi realizado e com base nos dados apresentados, pode-se concluir que a adição de vitamina C aumentou a sobrevivência dos girinos e a adição de vitamina E, nas doses testadas, não alterou o desempenho dos mesmos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**. 12.ed. Washington, 1975. 1094p.
- AGRAWAL, N.K., MAHAJAN, C.L. Nutritional deficiency disease in an Indian major carp *Cirrhina mrigala* H., due to avitaminosis C during early growth. **Journal of Fish Diseases**, v.3, p.231-248, 1980.
- HALVER, J.E., SMITH, R.R., TOLBERT, B.M., *et al.* Utilization of ascorbic acid in fish. **Annual New York Academy of Science**, v.258, p.81-102, 1975.
- HALVER, J.E. Vitamin requirement study techniques. **J. Applied Ichthyology**, v.11, p.215-228, 1995.
- LEIBOVITZ, H.E., CULLEY Jr., D.D., GEAGHAN, J.P. Effects of vitamin C and sodium benzoate on survival, growth and skeletal deformities of intensively cultured bullfrog larvae *Rana catesbeiana* reared at two pH levels. **Journal of the World Mariculture Society**, v.13, p.322-328, 1982.
- MARTINS, M.L. Effect of ascorbic acid deficiency on the growth, gill filament lesions and behaviour of pacu fry (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.28, p.563-568, 1995.
- MARTINS, M.L. Evaluation of the addition of ascorbic acid to the ration of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) on the infrapopulation of *Anacanthorus penlabiatus* (Monogenea). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.31, p.655-658, 1998.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H. **Limnologia aplicada à Aquicultura**. Funep/UNESP, 1994. 70p. (Boletim Técnico nº1).
- UTNE, F. Standard methods and terminology in finfish nutrition. In: SIMPOSIUM OF FINFISH NUTRITION AND FISH FEED TECHNOLOGY, 1978, Hamburg. **Proceedings...** Hamburg: EIFAC/FAO, 1978. R-1. 14p.
- WAHLI, T., VERLHAC, V., GABAUDAN, J., *et al.* Influence of combined vitamin C and E on non-specific immunity and disease resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Journal of Fish Diseases**, v.21, p.127-137, 1998.