

SUPLEMENTAÇÃO DA DIETA DE ALEVINOS DE PIAUÇU (*Leporinus obtusidens*) COM VITAMINA C¹

Ricardo Frankein de Mello²; Mônica Acca Marcondes de Moura²; Ivan Vieira²; José Eurico Possebon Cyrino^{3*}

²Pós-Graduandos do Depto. de Produção Animal - ESALQ/USP.

³Depto. de Produção Animal - ESALQ/USP, C.P. 9 - CEP: 13418-900 - Piracicaba, SP.

*e-mail: jepcyrin@carpa.ciagri.usp.br

RESUMO: O experimento teve como objetivo avaliar a influência da suplementação de vitamina C na dieta sobre o desempenho de alevinos de piauçu (*Leporinus obtusidens*). Um primeiro ensaio (105 dias) testou o efeito da suplementação de níveis crescentes de L-ácido ascórbico (0, 50, 150, 250, 350, 450, 550, 650, 750 e 850 mg/kg) na dieta sobre ganho de peso e sobrevivência, num delineamento inteiramente ao acaso. Não houve diferenças significativas ($P > 0,4054$) entre os tratamentos, tanto para ganho de peso como sobrevivência. Num segundo ensaio avaliou-se a influência da vitamina C na resistência dos alevinos à hipoxia. Grupos de dez peixes aleatoriamente selecionados de cada tratamento do primeiro ensaio foram estocados em gaiolas, num delineamento em blocos ao acaso. A suplementação com vitamina C na dieta não afetou ($P > 0,4032$) a sobrevivência dos alevinos submetidos a hipoxia (oxigênio dissolvido abaixo de 1,0 mg/L) por até 14 horas. Contrariamente aos nossos resultados, a literatura mostra que a suplementação dietética com ácido ascórbico tem efeito benéfico, nos parâmetros avaliados, nas várias espécies de peixes. Assim, sugerimos que novos estudos sejam realizados no sentido de se definir o nível de suplementação de vitamina C em dietas para alevinos de piauçu.

Palavras-chave: *Leporinus obtusidens*, nutrição, vitamina C, estresse

VITAMIN C SUPPLEMENTATION OF PIAUÇU (*Leporinus obtusidens*) FINGERLING DIET

ABSTRACT: Two trials were set up to evaluate the influence of different levels of dietary vitamin C supplementation on growth, performance, survival rate and resistance to low dissolved oxygen (LODO) concentration of piauçu fingerlings (*Leporinus obtusidens*). Trial 1 (105 days) evaluated the effect of diet supplementation with L-ascorbic acid (0, 50, 150, 250, 350, 450, 550, 650, 750, 850 mg of vitamin C/kg of diet) on weight gain and survival, in a completely randomized design. There was no significant differences among treatments with respect to weight gain ($P > 0.4054$) and survival rate ($P > 0.5657$). In Trial 2, groups of 10 fish of each replicate of Trial 1, were stocked in 20-L cages, in a randomized block design, and submitted to a 14-h LODO stress (1.0 mg DO/L). Fingerling survival rate was not significantly affected by LODO levels ($P > 0.4032$) up to 14 hours after stressing conditions ceased. In contrast to our results, data found in the literature show that dietary vitamin C supplementation significantly affects the studied parameters. Therefore, it is suggested that more extensive studies should be performed to determine dietary vitamin C requirements of this species.

Key words: *Leporinus obtusidens*, nutrition, vitamin C, stress

INTRODUÇÃO

O piauçu (*Leporinus obtusidens*) é uma espécie de hábito alimentar onívoro e reofílica, que pode ser encontrada nas bacias dos rios Paraná e Paraguai. Juvenis de piauçu apresentam, em geral, oito faixas verticais enegrecidas na parte superior e três manchas arredondadas e acinzentadas na lateral do corpo (Géry et al., 1987). Apesar de bastante apreciada no Brasil pelos adeptos da pesca recreativa, poucos estudos têm sido realizados com o objetivo de de-

terminar as exigências nutricionais da espécie e viabilizar sua criação em sistemas intensificados.

Como qualquer outra classe animal, os peixes necessitam de aminoácidos, minerais, ácidos graxos e vitaminas para a realização de suas funções fisiológicas vitais. De acordo com Lovell (1977) as exigências vitamínicas são afetadas pela idade, tamanho, taxa de crescimento e por vários outros fatores ambientais e nutricionais.

Devido a ausência da enzima L-gulonolactona oxidase, a maioria dos peixes é incapaz

¹Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor apresentada à ESALQ/USP - Piracicaba, SP.

de sintetizar L-ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$), a partir da D-glucose ($C_6H_{12}O_6$), contrariamente a outros animais (Steffens, 1989). Assim, a suplementação de vitamina C nas dietas de peixes criados em sistemas intensivos, onde não têm acesso ao alimento natural, é essencial (Lovell & Lim, 1978).

O ácido ascórbico é cofator de reações de hidroxilação necessárias para a formação dos tecidos conjuntivos, cicatrização e regeneração de feridas e matriz óssea; para a síntese de corticosteróides; para facilitar a absorção de ferro (Halver, 1985). Participa ainda da biossíntese da carnitina, envolvida no metabolismo de lipídios (De Silva & Anderson, 1995) e está relacionado ao sucesso na reprodução (Soliman et al., 1986b, Waagbo et al., 1989 e Dabrowski & Ciereszko, 1996), à resistência ao estresse (Henrique, 1996) e à estabilidade do sistema imunológico (Verlhac & Gabaudan, 1994). Além disso, devido ao alto poder de redução, a vitamina C pode participar na prevenção de oxidação de lipídios na dieta e nos tecidos, em ação sinérgica com vitamina E (Masumoto et al., 1991).

A literatura técnica apresenta exigências dietéticas de vitamina C de algumas das espécies de peixes, que variam, para a maioria delas, de 10 a 1.250 mg/kg de ração (Tacon, 1991). Para peixes nacionais, como o piauçu, praticamente inexitem informações sobre a exigência de vitamina C na dieta, a não ser para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) que Castagnolli et al. (1994) verificaram ser de 50 mg/kg.

Os principais sinais clínicos de deficiências de vitamina C em peixes são: reduzida taxa de crescimento, aumento da taxa de mortalidade, lordose e escoliose, má formação do colágeno, exoftalmia, fragilização do sistema capilar, hemorragias intramusculares e externas, edemas, anemia, perda de apetite, redução da resistência imunológica (Wilson & Poe, 1973; Lee et al., 1998). Outros sinais como anorexia, movimentos convulsivos e irritabilidade (Mahajan & Agrawal, 1980), erosão da nadadeira caudal (Lim & Lovell, 1978), letargia e empalidecimento das brânquias (Navarre & Halver, 1989), deformidades no opérculo e nas lamelas das brânquias (Gapasin et al., 1998), escurecimento da pele (Teskeredzic et al., 1989) também são associados a deficiências de vitamina C.

Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a influência da suplementação da dieta com vitamina C no desempenho de alevinos de piauçu, no que se refere a crescimento e resistência ao estresse por hipoxia.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em dois ensaios sucessivos, junto ao Setor de Piscicultura do Departamento de Produção Animal da ESALQ-USP. A primeira fase consistiu no ensaio de valor biológico das dietas e teve duração de 105 dias. Alevinos de piauçu foram alojados em caixas de 1.000 litros, onde passaram por um período de adaptação, recebendo uma dieta comercial farelada de 40% PB, até que não se registrasse mais mortalidade no plantel.

Os peixes, cujo peso inicial está representado na TABELA 1, foram contados, anestesiados com benzocaína na proporção de 1:20.000 e pesados em lotes de 20 animais com a utilização de uma balança elétrica digital. Em seguida foi estocado um lote em cada uma das 30 caixas de 250 L de volume útil, que corresponderam a 30 unidades experimentais. O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso, com 10 tratamentos e três repetições.

Foram utilizadas dietas experimentais isoprotéicas - 35% de PB e isoenergéticas - 3.200 kcal de ED/kg, segundo dados do NRC (1993), formuladas com os mesmos ingredientes (TABELA 2), mantendo-se os níveis de suplementação vitamínica e mineral e variando o enriquecimento com vitamina C (0, 50, 150, 250, 350, 450, 550, 650, 750, 850 mg/kg de dieta). Após o peneiramento e a mistura dos ingredientes básicos, foram adicionados o óleo de soja, as pré-misturas mineral e vitamínica e a vitamina C, na forma de L-ácido ascórbico, separadamente, nesta ordem. A composição das pré-misturas mineral e vitamínica está representada na TABELA 3.

TABELA 1 - Peso médio inicial dos alevinos de piauçu no ensaio 1.

Tratamento	Peso médio inicial (g)
TCO	1,62 ± 0,02
T050	1,72 ± 0,08
T150	1,76 ± 0,07
T250	1,79 ± 0,10
T350	1,68 ± 0,10
T450	1,73 ± 0,02
T550	1,72 ± 0,20
T650	1,75 ± 0,03
T750	1,57 ± 0,10
T850	1,93 ± 0,03

TABELA 2 - Composição das dietas experimentais.

Alimentos	Quantidade (%)
Milho moído	32,70
Farelo de soja	34,50
Farinha de peixe	30,00
Óleo de soja	2,80
Pré-mistura mineral	0,10
Pré-mistura vitamínica	0,30

TABELA 3 - Composição das pré-misturas mineral e vitamínica utilizados nas dietas.

Mistura mineral	Quantidade/1000 g de produto
Iodo (I)	1.500 mg
Cobalto	1.000 mg
Cobre	10.000 mg
Zinco	100.000 mg
Ferro	100.000 mg
Manganês	40.000 mg
Mistura vitamínica	
Vitamina A	15.000.000 UI
Vitamina D3	1.500.000 UI
Vitamina E	60.000 UI
Vitamina K3	3.000 mg
Vitamina B1 (tiamina)	3.000 mg
Vitamina B2 (riboflavina)	8.000 mg
Vitamina B6 (piridoxina)	4.000 mg
Vitamina B12 (cianocobalamina)	40 mg
Ácido nicotínico	40.000 mg
Ácido pantotênico	20.000 mg
Ácido fólico	1.500 mg
Biotina	150 mg

As misturas passaram por um moedor de carne elétrico, após adição de água, para granulação. O processo de secagem durou cerca de 48 horas com a exposição das dietas em bandejas ante um ventilador elétrico. A seguir as dietas eram acondicionadas em sacos plásticos transparentes e conservadas em super congelador. Inicialmente, durante 10 dias, foi

utilizado o pó originado do peneiramento da ração granulada. Do 11^o até o 56^o dia, a ração foi triturada, originando grânulos de 2 mm de comprimento médio. Após a 1^a biometria passou-se a se utilizar grânulos de aproximadamente 5 mm de comprimento médio.

O arraçoamento foi realizado duas vezes ao dia, à medida do consumo pelos peixes, quando também era monitorada a temperatura da água. A ração era fornecida em um anel flutuante de 12 cm de diâmetro para evitar perdas dos grânulos, que afundavam lentamente. Os peixes mortos eram coletados na ocasião do manejo alimentar, contados e examinados visualmente para detecção de sinais característicos de deficiência de vitamina C. Além do sifonamento, realizado três vezes por semana, em cada caixa foram alojados dois cascudos (*Plecostomus sp.*), para consumo de restos de alimento, fezes e do perifiton.

Quinzenalmente era realizado tratamento preventivo com a aplicação de uma solução de 0,1 mg/litro de verde de malaquita, a fim de evitar a infestação de ectoparasitas. A partir de abril, a queda da temperatura da água das caixas exigiu a instalação de aquecedores individuais, para não comprometer o consumo de ração pelos peixes.

Foram realizadas duas biometrias, 8 semanas e final, utilizando a mesma metodologia da biometria inicial. Os índices utilizados para avaliação do desempenho dos tratamentos foram: ganho de peso no período 1 (GP-I), ganho de peso no período 2 (GP-II), ganho de peso no período total (GP-T) e taxa de sobrevivência no período total (S%). Os resultados foram submetidos a análise estatística através do "Proc npar1way" do SAS, ou análise estatística não paramétrica (Campos, 1979), sendo utilizado teste de Kruskal-Wallis para comparação das médias.

A segunda fase experimental consistiu do ensaio de indução à hipoxia e teve duração de 48 horas. Peixes oriundos do primeiro ensaio foram reagrupados por tratamento e submetidos a um novo período de adaptação de cinco dias, recebendo as mesmas dietas de cada tratamento, duas vezes ao dia, à vontade. Em seguida, foram estocados em grupos de 10 indivíduos em gaiolas de 20 L com malha de 5 mm. Foram colocadas três gaiolas em cada caixa de 250 L, totalizando 30 parcelas agrupadas em blocos ao acaso.

A renovação de água foi interrompida a fim de avaliar a resposta dos peixes ao estresse por hipoxia induzida. O experimento durou o

suficiente para que o nível de oxigênio da água alcançasse valores em torno de 0,5 mg/L. A temperatura e o nível de oxigênio dissolvido na água foram monitorados constantemente através de um oxímetro digital. Foi também estudada a taxa de sobrevivência dos diferentes tratamentos.

RESULTADOS

No ensaio 1, foram observadas sinais de deficiência de vitamina C, como lordose e escoliose, em alguns peixes. A variação da temperatura da água durante o experimento pode ser observada na Figura 1. As médias de desempenho, no que se refere ao ganho de peso nos períodos GP-I, GP-II e total, bem como à taxa de sobrevivência são apresentadas na TABELA 4.

Segundo Siegel (1956) as pressuposições do teste estatístico utilizado - Kruskal-Wallis, a respeito do tipo de distribuição das observações, são: todas as observações são

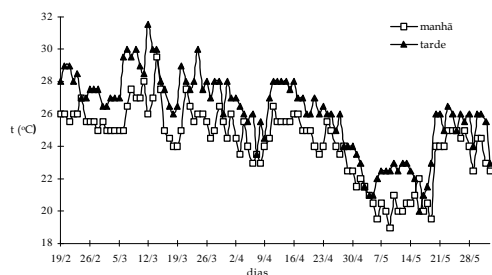


Figura 1 - Variação da temperatura média da água das caixas durante o ensaio 1.

independentes; dentro de uma amostra, as observações são provenientes da mesma população; as populações têm distribuição da mesma forma e contínuas. Os resultados da aplicação do teste de Kruskal-Wallis para GP-I ($P > 0,7176$), GP-II ($P > 0,7306$), para GP-T ($P > 0,4054$), e S% ($P > 0,5657$), revelam que não foram observadas diferenças entre os tratamentos.

No segundo ensaio, o nível de oxigênio dissolvido na água (OD) permaneceu em 1,0 mg/L durante 14 horas. Os peixes apresentaram aceleração dos batimentos operculares e agitação das nadadeiras, devido ao aumento da atividade muscular. Ao final do ensaio, os peixes foram contados, e as médias de sobrevivência estão listadas na TABELA 5. Os dados foram submetidos a análise não paramétrica ("Proc

TABELA 5 - Médias das taxas de sobrevivência dos tratamentos após indução de hipoxia.

Tratamento	Taxa de sobrevivência (%)
TCO	100,00 ± 0,00
T050	100,00 ± 0,00
T150	96,67 ± 4,71
T250	96,67 ± 4,71
T350	96,67 ± 4,71
T450	96,67 ± 4,71
T550	90,00 ± 8,16
T650	100,00 ± 0,00
T750	100,00 ± 0,00
T850	100,00 ± 0,00

TABELA 4 - Médias de desempenho (GP-I, GP-II, GP-T e S%) dos alevinos sob os diferentes tratamentos.

Tratamento	GP-I (g)	GP-II (g)	GP-T (g)	Sobrevivência (%)
TCO	10,86 ± 1,90	3,95 ± 0,53	14,79 ± 1,68	90,00 ± 14,14
T050	11,53 ± 1,62	3,56 ± 1,28	15,08 ± 1,61	91,67 ± 4,71
T150	12,24 ± 1,99	3,81 ± 0,96	16,05 ± 2,90	83,33 ± 10,27
T250	10,96 ± 0,55	3,05 ± 1,65	14,01 ± 2,18	80,00 ± 7,07
T350	10,16 ± 1,54	3,57 ± 1,29	13,72 ± 0,38	83,33 ± 14,34
T450	9,20 ± 1,38	2,13 ± 0,68	11,33 ± 1,99	80,00 ± 12,25
T550	10,26 ± 1,57	2,27 ± 1,11	12,53 ± 2,64	98,33 ± 2,36
T650	10,79 ± 3,52	3,51 ± 1,96	14,30 ± 5,47	86,67 ± 10,27
T750	10,68 ± 0,68	3,37 ± 0,84	14,06 ± 1,35	91,67 ± 2,36
T850	11,64 ± 0,25	3,88 ± 1,18	15,52 ± 1,43	93,33 ± 4,71

npair1way" do SAS) por Kruskal-Wallis, não sendo constatada diferença entre os tratamentos ($P > 0,4032$), no que se refere a taxa de sobrevivência após indução de hipoxia.

DISCUSSÃO

Os níveis de suplementação de vitamina C testados neste experimento (50 a 850 mg/kg) encontram-se na faixa de níveis recomendados para a grande maioria das espécies de peixes criados no mundo, que de acordo com Tacon (1991) variam de 10 a 1.250 mg/kg. É comum, em literatura, encontrar recomendações em torno de 50 mg de vitamina C por quilograma de dieta, para espécies como bagre do canal (Lim & Lovell, 1978 e Li et al., 1998), tilápia (NRC, 1993) e pacu (Castagnolli et al., 1994). Entretanto, a determinação das exigências de ácido ascórbico, pode estar relacionada à presença de fatores estressantes, taxa de crescimento, tamanho do animal e outros nutrientes (Halver, 1989), que podem variar bastante de um experimento para outro.

Como foi possível observar, outro fator importante para determinar o nível de suplementação adequado para dieta de peixes é a forma da vitamina C empregada na confecção da dieta. Neste estudo, a utilização de L-ácido ascórbico possivelmente contribuiu para que as perdas de vitamina C das dietas fossem bastante elevadas.

A utilização de formas protegidas, como ácido ascórbico revestido com polímero sintético, glicérido ou etilcelulose (Shelbaek et al., 1990) e, principalmente, de formas mais estáveis como ascorbato-2-monofosfato ou ascorbato-2-polifosfato, teria sido uma alternativa para conservar os níveis de vitamina C mais próximos do nível desejado (El Naggar & Lovell 1991; Mustin & Lovell, 1992; Gadiet & Schai, 1994; Gadiet & Fenster, 1994; Phromkunthong et al., 1994; Abdelghany, 1998). Contrariamente, apenas Brandt et al. (1985) concluíram que, apesar destes produtos poderem ser empregados como fontes alternativas, não há diferença no que diz respeito ao crescimento dos peixes, em relação ao uso de L-ácido ascórbico em comparação às outras fontes recomendadas.

O tamanho inicial reduzido dos peixes exigiu a administração da dieta na forma farelada ou triturada, o que possivelmente aumentou as perdas de vitamina C por lixiviação. Fato semelhante foi observado por Mahajan & Agrawal (1980) que creditaram o aumento das perdas de

vitamina C ao pequeno tamanho de partículas utilizados em estudo conduzido pelos autores. Além disso, o fato de a ração ter sofrido adição de água (lixiviação) para o processo de granulação (aumento da temperatura) pode ter contribuído para que ocorressem perdas consideráveis de vitamina C. O aumento de temperatura pode ter contribuído para inativação de parte da vitamina C adicionada, uma vez que a fonte utilizada é termolábil. Nossas observações encontram suporte nas afirmações de Lovell & Lim (1978) para quem, após a granulação da dieta, apenas 73% do ácido ascórbico na forma não-protetida (L-ácido ascórbico) é retido no material granulado.

Soliman et al. (1986a) demonstraram que a retenção de L-ácido ascórbico após o processamento e o armazenamento por oito semanas é de no máximo 33,5%. Assim sendo, com base nestas considerações, e apenas para exemplificar, o tratamento com maior nível de suplementação (850 mg/kg) apresentaria aproximadamente 620 mg de vitamina C por kg de dieta após o processamento, e em torno de 285 mg de vitamina C por kg de dieta após oito semanas. Em adição, se considerarmos os resultados de Soliman et al. (1994), que mostram que dietas com menores níveis de suplementação apresentam perdas de vitamina C proporcionalmente maiores, variando de 20 a 44,7%, podemos afirmar que as dietas, principalmente aquelas de níveis de suplementação mais baixo, apresentavam uma quantidade de vitamina C bastante reduzida.

Notou-se também que o consumo da ração pelos peixes não ocorria imediatamente após o seu fornecimento (os animais esperavam que o tratador se afastasse para iniciar a captura dos grânulos). Esse tempo de contato da dieta com a água pode ter sido suficiente para promover perdas consideráveis de vitamina C, que é hidrossolúvel. Essa inferência é fundamentada na afirmativa de Tacon (1991), que menciona que um dos fatores que contribuem para as perdas de ácido ascórbico é a lixiviação que ocorre quando a ração entra em contato com a água. Além disso, as perdas de vitamina C de uma dieta podem chegar a 66% num período de apenas 30 segundos após contato com a água (Pannevis & Earle, 1994). Durante o experimento, este período alcançava alguns minutos.

Trabalhos de Lim & Lovell (1978), Soliman et al. (1986a), Navarre & Halver (1989), Phromkunthong et al. (1994) e Li et al. (1998), mostraram não haver diferenças significativas

entre os tratamentos utilizados, como ocorreu em nosso estudo. Porém, na maioria deles, os tratamentos testados apresentavam diferenças em relação ao grupo controle. Estas observações contrariam os resultados aqui obtidos, onde o grupo privado de vitamina C não apresentou desempenho inferior aos outros tratamentos, no que se refere a ganho de peso e taxa de sobrevivência. Um comportamento semelhante foi observado em relação ao aparecimento de sinais de deficiência nos diversos tratamentos avaliados. Na maior parte dos trabalhos publicados sobre este tema (Wilson & Poe, 1973; Lim & Lovell, 1978; Soliman et al. 1986a; Navarre & Halver, 1989; Phromkunthong et al., 1994) observou-se a ocorrência de sinais de deficiência de vitamina C no grupo controle, enquanto peixes que receberam dietas suplementadas com vitamina C não apresentaram sinais clínicos de deficiência. Em contrapartida, em nosso estudo, até mesmo no grupo controle, não foram observadas manifestações de deficiências nutricionais através de sinais clínicos, da mesma forma que ocorreu com o experimento de Li et al. (1998).

Os únicos sinais característicos de deficiência de vitamina C observados foram o aparecimento de lordose e escoliose em alguns exemplares. Esta mesma sintomatologia foi associada à deficiência de vitamina C por Wilson & Poe (1973); Lim & Lovell (1978); Lee et al. (1998); e Tacon (1991). Entretanto, neste experimento, a existência de alguns animais com lordose e escoliose pode ser explicada pelo comportamento dominante de alguns animais sobre outros da mesma população, impedindo que estes tivessem oportunidade de ingerir a quantidade de alimento suficiente, que pudesse lhes garantir suprimento adequado de vitamina C, o que não permite que a ocorrência destes sinais possa ser associada ao nível de suplementação de cada tratamento.

Uma dificuldade em apontar corretamente as exigências de vitamina C pelo piaçu é o fato desta ser uma espécie onívora, mas com adaptações do seu hábito alimentar entre detritívoro e bentófago. De acordo com Kubitza (1998a) o piaçu tem capacidade de aproveitar resíduos orgânicos, fezes de outros peixes e algas, que podem ter contribuído para o fornecimento de nutrientes aos peixes. Essa dificuldade é ainda maior se levarmos em conta o fato de a água usada na estufa ser reutilizada, num sistema de recirculação que contava apenas com um mecanismo de remoção de sólidos em

suspensão ("baffles"), o que permitiu que esta água contivesse uma quantidade de organismos planctônicos que teriam contribuído para o fornecimento de micronutrientes, entre estes a vitamina C, aos peixes. Pôde-se observar, principalmente no tanque de sedimentação onde está localizado o removedor de sólidos, a coloração esverdeada da água, mesmo com a ação dos cascudos e com o sifonamento das caixas.

A baixa taxa de crescimento observada, principalmente em GP-II (TABELA 4), quando houve queda brusca da temperatura da água (Figura 1), pode ter contribuído para reduzir as diferenças entre os tratamentos. Isso porque, talvez, com o aumento do consumo de ração, os tratamentos que receberam maior enriquecimento com vitamina C poderiam ter proporcionado um desempenho melhor, aumentando a diferença em relação aos tratamentos que receberam menor suplementação. Outro fator que poderia ter contribuído para aumentar o consumo de ração seria a realização de uma ou duas refeições diárias adicionais.

Uma hipótese que poderia explicar a igualdade entre os tratamentos seria a quantidade de vitamina C contida nos ingredientes utilizados na formulação, já que a soma dos teores desta vitamina poderia ter sido suficiente para atingir o nível mínimo exigido pela espécie. Entretanto, essa suposição é pouco consistente, já que a vitamina C é termolábil e os ingredientes são obtidos através de processos que envolvem temperaturas bastante elevadas – e.g. de cozimento e secagem da farinha de peixe e tratamento térmico para inativação de compostos anti-nutricionais do farelo de soja (Pezzato, 1995).

Muitos autores demonstraram que a utilização de megadoses de vitamina C na dieta é útil para reduzir o efeito de diversos tipos de estresse bem como a incidência de doenças. Entretanto, neste experimento não foi possível observar qualquer influência da vitamina C sobre a resistência ao estresse causado por baixos níveis de oxigênio na água.

Segundo Boyd (1996) a exposição prolongada de espécies de peixes tropicais a níveis de oxigênio dissolvido na água entre 0,3 e 1 mg/L pode ser letal. Entretanto, neste experimento, a exposição dos peixes de qualquer dos tratamentos a níveis de OD de 1,0 mg/L ou menores, por um período de até 14 horas, não causou aumento da mortalidade dos animais.

Isso está de acordo com Kubitz (1998b) que afirma que a espécie pode suportar baixos níveis de OD por várias horas, apresentando boa resistência ao transporte.

De acordo com Henrique et al. (1996) a intensidade de alteração de um certo parâmetro fisiológico varia com a espécie, com o fator estressante, com o tempo de exposição a este fator e com a capacidade da espécie de se adaptar ao fator estressante. Assim, é correto inferir que a intensidade do fator estressante considerado – baixos níveis de OD na água, foi insuficiente para causar mortalidade dos peixes. Embora não tenham sido observadas variações neste parâmetro tomado como variável para avaliação do desempenho dos tratamentos, provavelmente ocorreram outras alterações fisiológicas nos peixes, as quais não foram avaliadas, mas que puderam ser detectadas pela observação da ocorrência de reações que fazem parte do estágio de resistência contra o estresse dos peixes, como aumento da atividade muscular e do ritmo de batimentos operculares. Portanto, para avaliar a intensidade da resposta fisiológica do piaçu aos baixos níveis de oxigênio na água e relacioná-los ao nível de suplementação da dieta com vitamina C, seria necessária a aplicação de técnicas bioquímicas que envolveriam processos complexos não disponíveis nas condições em que foi realizado o ensaio aqui descrito. De acordo com Adams (1990) o emprego de técnicas que determinam a variação de indicadores biológicos para avaliar os efeitos do estresse têm como limitante a necessidade do uso de equipamentos de alto custo e que exigem treinamento adequado para operação.

Com emprego destas técnicas seria possível realizar a determinação das variações dos níveis de cortisol e de glicose no plasma sanguíneo (Thomas & Robertson, 1991 e Li et al., 1998) e, ainda, níveis de proteína e triglicérides plasmáticos, glicogênio hepático e muscular (Henrique et al. 1996), as quais consistem de eventos que ocorrem anteriormente à morte dos peixes como sintetizado por Costa (1998). Assim, sugere-se que novos estudos sejam realizados para determinar o nível de adequado de suplementação de vitamina C na dieta de alevinos de piaçu. Para que estes trabalhos possam apresentar resultados mais consistentes, alguns procedimentos devem ser realizados:

- utilizar como fonte de vitamina C uma forma mais estável do que o L-ácido ascórbico, como

é o caso do ascorbil monofosfato e do ascorbil polifosfato;

- realizar análise bromatológica dos ingredientes e das dietas experimentais no que se refere a ácido ascórbico;
- utilizar água livre de matéria orgânica e outros nutrientes que possam colaborar para amenizar eventuais deficiências nutricionais;
- realizar as determinações de parâmetros fisiológicos que determinam a ocorrência de estresse para poder relacioná-lo aos níveis de vitamina C das dietas.

CONCLUSÕES

Nas condições em que este estudo foi desenvolvido, a suplementação de vitamina C, de 50 a 850 mg/kg, não apresentou influência significativa no ganho de peso e na taxa de sobrevivência de alevinos de piaçu. Novos trabalhos devem ser desenvolvidos para determinar o nível adequado de vitamina C na dieta de alevinos de piaçu.

Utilizando como parâmetro a taxa de sobrevivência dos alevinos de piaçu, submetidos a estresse provocado por baixos níveis de oxigênio dissolvido na água, não houve diferença significativa entre os tratamentos. A espécie mostrou-se bastante resistente à baixa qualidade de água, no que diz respeito ao nível de oxigênio dissolvido na água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELGHANY, A.E. Feed efficiency, nutrient retention and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., fed diets containing L-ascorbic acid, L-ascorbyl-2-sulphate or L-ascorbyl-2-polyphosphate. **Aquaculture Research**, v.29, p.503-510, 1998.
- ADAMS, S.M. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. In: ADAMS, S.M. (Ed.) **Biological indicators of stress in fish**. Bethesda: American Fisheries Society, 1990. p.1-8. (American Fisheries Symposium, 8).
- BOYD, C.E. **Water quality in ponds for aquaculture**. Hatyai: Shrimp Mart, 1996. 482p.
- BRANDT, T.M.; DEYOE, C.W.; SEIB, P.A. Alternate sources of vitamin C for channel catfish. **The Progressive Fish Culturist**, v.47, p.55-59, 1985.
- CAMPOS, H. de. **Estatística experimental não-paramétrica**. 3.ed. Piracicaba: ESALQ, Depto. Matemática e Estatística, 1979. 343p.

- CASTAGNOLLI, N.; MARTINS, M.L.; KRONKA, S. do N. Efeitos da suplementação de vitamina C na nutrição do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 8.; ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 3., Piracicaba, 1994. **Resumos**. Piracicaba: FEALQ, 1994. p.48.
- COSTA, A.B. Ictiopatologia e manejo sanitário em piscicultura intensiva. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 2., Piracicaba, 1998. **Anais**. Campinas: CBNA, 1998. p.73-96.
- DABROWSKI, K.; CIERESZKO, A. Ascorbic acid protects against male infertility in a teleost fish. **Experientia**, v.52, p.97-100, 1996.
- DE SILVA, S.S.; ANDERSON, T.A. **Fish nutrition in aquaculture**. London: Chapman & Hall, 1995. 319p.
- EL NAGGAR, G.O.; LOVELL, R.T. Effect of source and dietary concentration of ascorbic acid on tissue concentrations of ascorbic acid in channel catfish. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.22, p.201-206, 1991.
- GADIENT, M.; FENSTER, R. Stability of ascorbic acid and other vitamins in extruded fish feeds. **Aquaculture**, v.124, p.207-211, 1994.
- GADIENT, M.; SCHAI, E. Leaching of various vitamins from shrimp feed. **Aquaculture**, v.124, p.201-205, 1994.
- GAPASIN, R.S.J.; BOMBEO, R.; LAVENS, P.; SORGELOOS, P.; NELIS, H. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish (*Chanos chanos*) larval performance. **Aquaculture**, v.162, p.269-286, 1998.
- GÉRY, J.; MAHNERT, V.; DLOUHY, C. Poissons Characoïdes non Characidae du Paraguay (Pisces, Ostariophysii). **Revue Suisse de Zoologie**, v.94, n.2, p.357-464, 1987.
- HALVER, J.E. Recent advances in vitamin nutrition and metabolism in fish. In: COWEY, C.B.; MACKIE, A.M.; BELL, J.G. (Ed.) **Nutrition and feeding in fish**. London: Academic Press, 1985. p.415-429.
- HALVER, J.E. The vitamins. In: HALVER, J.E. (Ed.) **Fish nutrition**. Washington: Academic Press, 1989. cap.2, p.31-109.
- HENRIQUE, M.M.F.; MORRIS, P.C.; DAVIES, S.J. Vitamin C status and physiological response of the gilthead seabream, *Sparus aurata* L., to stressors associated with aquaculture. **Aquaculture Research**, v.27, p.405-412, 1996.
- KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação dos peixes**. Campo Grande: Projeto Pacu/Agropeixe, 1998a. 108p.
- KUBITZA, F. **Técnicas de transporte de peixes**. Campo Grande: Projeto Pacu/Agropeixe, 1998b. 44p.
- LEE, K.J.; KIM, K.W.; BAI, S.C. Effects of different diet levels of L-ascorbic acid on growth and tissue vitamin C concentration in juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). **Aquaculture Research**, v.29, p.237-244, 1998.
- LI, M.H.; WISE, D.J.; ROBINSON, E.H. Effect of dietary vitamin C on weight gain, tissue ascorbate concentration, stress response, and disease resistance of channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.29, p.1-8, 1998.
- LIM, C.; LOVELL, R.T. Pathology of the vitamin C deficiency syndrome in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **The Journal of Nutrition**, v.108, p.1137-1146, 1978.
- LOVELL, R.T. Fish feed & nutrition. Do pond-raised catfish need vitamin C? **Commercial Fish Farmer and Aquaculture News**, v.3, n.3, p.1, 1977.
- LOVELL, R.T.; LIM, C. Vitamin C in pond diets for channel catfish. **Transactions of American Fisheries Society**, v.107, p.321-325, 1978.
- MAHAJAN, C.L.; AGRAWAL, N.K. Nutritional requirement of ascorbic acid by Indian major carp, *Cirrhina mrigala*, during early growth. **Aquaculture**, v.19, p.37-48, 1980.
- MASUMOTO, T.; HOSOKAWA, H.; SHIMENO, S. Ascorbic acid's role in aquaculture nutrition. In: AQUACULTURES FEED PROCESSING AND NUTRITION WORKSHOP, Singapore, 1991. **Proceedings**. Singapore: American Soybean Association, 1991. p.42-48.
- MUSTIN, W.G.; LOVELL, R.T. Na-L-ascorbyl-2-monophosphate as a source of vitamin C for channel catfish. **Aquaculture**, v.105, p.95-100, 1992.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirement of fish**. Washington: National Academy Press, 1993. 114p.
- NAVARRE, O.; HALVER, J.E. Disease resistance and humoral antibody production in rainbow trout fed high levels of vitamin C. **Aquaculture**, v.79, p.207-221, 1989.
- PANNEVIS, M.C.; EARLE, K.E. Nutrition of ornamental fish: water soluble vitamin leaching and growth of *Paracheirodon innesi*. **The Journal of Nutrition**, v.124, p.2633S-2635S, 1994.
- PEZZATO, L.E. Alimentos convencionais e não-convencionais disponíveis para indústria da nutrição de peixes no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE PEIXES E CRUSTÁCEOS, Campos do Jordão, 1995. **Anais**. Campinas: CBNA, 1995. p.33-52.

- PHROMKUNTHONG, W.; BOONYARATPALIN, M.; PHIMONJINDA, T.; STORCH, V. Use of ascorbyl-2-monophosphate-magnesium as a dietary source of ascorbic acid for sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch) (Centropomidae). **Aquaculture and Fisheries Management**, v.25, p.955-957, 1994.
- SHELBAEK, T.; ANDERSEN, N.G.; WINNING, M.; WESTERGAARD, S. Stability in fish feed and bioavailability to rainbow trout of two ascorbic acid forms. **Aquaculture**, v.84, p.335-343, 1990.
- SIEGEL, S. **Nonparametric statistics**: for the behavioral sciences. Tokyo: McGraw-Hill, 1956. 312 p.
- SOLIMAN, A.K.; JAUNCEY, K.; ROBERTS, R.J. The effect of varying forms of dietary ascorbic acid on the nutrition of juvenile tilapias (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.52, p.1-10, 1986a.
- SOLIMAN, A.K.; JAUNCEY, K.; ROBERTS, R.J. The effect of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters). **Aquaculture**, v.59, p.197-208, 1986b.
- SOLIMAN, A.K.; JAUNCEY, K.; ROBERTS, R.J. Water-soluble vitamin requirements of tilapia: ascorbic acid (vitamin C) requirement of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture and Fisheries Management**, v.25, p.269-278, 1994.
- STEFFENS, W. **Principles of fish nutrition**. Chichester: Ellis Horwood, 1989. 348 p.
- TACON, A.G.J. Vitamin nutrition in shrimp and fish. In: AQUACULTURES FEED PROCESSING AND NUTRITION WORKSHOP, Singapore, 1991. **Proceedings**. Singapore: American Soybean Association, 1991. p.11-41.
- TESKEREDZIC, Z.; TESKEREDZIC, E.; HACMANJEK, M. High mortality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fry caused by deficiency of vitamins C and B₂ in commercial fish farms in Yugoslavia. **Aquaculture**, v.79, p.245-248, 1989.
- THOMAS, P.; ROBERTSON, L. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldine sulfate and metomidate. **Aquaculture**, v.96, p.69-86, 1991.
- VERLHAC, V.; GABAUDAN, J. Influence of vitamin C on the immune system of salmonids. **Aquaculture and Fisheries Management**, v.25, p.21-36, 1994.
- WAAGBO, R.; THORSEN, T.; SANDNES, K. Role of dietary ascorbic acid in vitellogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Aquaculture**, v.80, p.301-314, 1989.
- WILSON, R.P.; POE, W.E. Impaired collagen formation in the scorbutic channel catfish. **The Journal of Nutrition**, v.103, p.1359-1364, 1973.

Recebido para publicação em 25.01.99

Aceito para publicação em 12.07.99