

Tabela 16. Parâmetros hematológicos de tilápias do Nilo tratadas ou não (controle), com Homeopatila 100® durante o período experimental. Valores expressam as médias $\pm$ desvio padrão.

Parâmetros	Início		15 dias		35 dias		60 dias	
	Controle	Homeopatila	Controle	Homeopatila	Controle	Homeopatila	Controle	Homeopatila
Hct (%)	29,9 $\pm$ 0,9a	29,2 $\pm$ 0,7a	29,7 $\pm$ 0,8a	30,4 $\pm$ 0,8a	30,4 $\pm$ 0,6a	30,8 $\pm$ 0,9a	32,8 $\pm$ 0,8b	30,9 $\pm$ 0,8a
Hb (g/dL)	4,9 $\pm$ 0,4a	5,0 $\pm$ 0,2a	4,9 $\pm$ 0,5a	5,11 $\pm$ 0,2a	5,2 $\pm$ 0,3a	5,1 $\pm$ 0,2a	5,9 $\pm$ 0,3b	5,4 $\pm$ 0,2a
RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	2,63 $\pm$ 0,38a	2,40 $\pm$ 0,29a	2,88 $\pm$ 0,44b	2,34 $\pm$ 0,24a	3,08 $\pm$ 0,36b	2,29 $\pm$ 0,11a	3,15 $\pm$ 0,19b	2,27 $\pm$ 0,12a
VCM (fL)	132,2 $\pm$ 2,1a	130,9 $\pm$ 4,7a	132,7 $\pm$ 1,9a	132,9 $\pm$ 1,5a	119,4 $\pm$ 4,4a	133,2 $\pm$ 1,2b	100,9 $\pm$ 1,5a	133,7 $\pm$ 0,7b
HCM (pg)	22,3 $\pm$ 0,4a	22,5 $\pm$ 0,3a	22,2 $\pm$ 0,5a	22,3 $\pm$ 0,5a	21,5 $\pm$ 0,4a	22,3 $\pm$ 0,8b	19,4 $\pm$ 0,3a	22,3 $\pm$ 0,7b
CHCM (g/dL)	16,4 $\pm$ 0,4a	16,4 $\pm$ 0,4a	16,4 $\pm$ 0,3a	16,2 $\pm$ 0,3a	16,7 $\pm$ 0,4a	16,4 $\pm$ 0,4a	19,5 $\pm$ 0,5b	16,2 $\pm$ 0,3a
Linfócitos (%)	29,9 $\pm$ 1,5a	30,7 $\pm$ 2,6a	29,2 $\pm$ 2,8a	30,9 $\pm$ 1,1a	41,7 $\pm$ 2,0a	42,5 $\pm$ 1,7a	41,8 $\pm$ 1,4a	43,5 $\pm$ 0,9a
Neutrófilos (%)	25,2 $\pm$ 0,9a	25,2 $\pm$ 2,0a	25,7 $\pm$ 0,7a	25,4 $\pm$ 1,6a	28,9 $\pm$ 1,1a	30,8 $\pm$ 1,7b	31,7 $\pm$ 1,5b	30,0 $\pm$ 0,9a
Monócitos (%)	4,6 $\pm$ 0,4b	4,1 $\pm$ 0,5a	4,7 $\pm$ 0,5b	4,1 $\pm$ 0,2	5,4 $\pm$ 0,4a	5,4 $\pm$ 0,3a	7,0 $\pm$ 0,2a	6,7 $\pm$ 0,4a
Eosinófilos (%)	2,2 $\pm$ 0,3b	1,9 $\pm$ 0,2a	2,5 $\pm$ 0,3b	2,0 $\pm$ 0,3a	1,6 $\pm$ 0,2a	1,9 $\pm$ 0,3b	1,2 $\pm$ 0,2a	1,9 $\pm$ 0,2b
Basófilos (%)	0,9 $\pm$ 0,1a	1,0 $\pm$ 0,2a	1,1 $\pm$ 0,3a	1,0 $\pm$ 0,2a	1,1 $\pm$ 0,1a	1,0 $\pm$ 0,2a	1,0 $\pm$ 0,1a	1,0 $\pm$ 0,1a
Trombócitos (%)	65,8 $\pm$ 4,1a	62,8 $\pm$ 3,5a	67,8 $\pm$ 1,2b	58,3 $\pm$ 1,1a	62,5 $\pm$ 1,6a	68,1 $\pm$ 1,1b	57,8 $\pm$ 1,4a	69,7 $\pm$ 1,0b

Hct: Hematócrito; Hb: Hemoglobina; RBC: Red blood cells/Eritrócitos totais; VCM: Volume Corpuscular Médio; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM: Concentração Hemoglobina Corpuscular Média.

Em peixes estressados, as alterações hematológicas geralmente, são acompanhadas de hiperglicemia e aumento de hemoglobina, decorrente da liberação aumentada de cortisol, que induz incremento da gliconeogênese hepática (Carneiro, 2001).

O hematócrito, a concentração da hemoglobina e o número de linfócitos são considerados indicadores hematológicos auxiliares da resposta ao estresse em peixes (Carneiro & Urbinati, 1998).

O aumento do hematócrito apresentou alteração no grupo-controle de 29,95% (início) para 32,80% (após 60 dias), o qual pode estar associado com maior demanda de oxigênio nos peixes. Em tilápias do Nilo criadas em sistema intensivo, índice de 28,6% foi relatado por Tavares-Dias & Faustino (1998); 30,6% por Silveira & Rigos (1989); 36,8% por Allen (1994); 28,0% por Nussey et al. (1995) e 27,8% por Ueda et al. (1997).

No final do experimento, o grupo-controle apresentou nível médio de hemoglobina de 5,9 g/dL e o grupo-tratado de 5,4 mg/L. Para tilápia do Nilo valor de 1,4 mg/L (Silveira & Rigos, 1989); 1,3 mg/L (Alkahem, 1994); 1,9 mg/L (Allen, 1994); 1,9 mg/L (Nussey et al., 1995) e 2,4 mg/L (Tavares-Dias & Faustino, 1998), os quais foram menores que os observados no presente estudo. Por outro lado, Ueda et al. (1997) relatam valor médio maior que o encontrado aqui para tilápia do Nilo, 7,0 mg/L. Contudo, estes últimos autores realizaram apenas uma colheita de sangue para dosagem de hemoglobina, enquanto no presente estudo foi realizado quatro colheitas.

A contagem média de eritrócitos nos peixes controle foi de $3,10 \times 10^6/\mu\text{L}$ nos peixes tratados com (*Homeopatila 100*[®]) foi de $2,30 \times 10^6/\mu\text{L}$. Esses valores são similares aos descritos por Allen (1994) de $2,19 \times 10^6/\mu\text{L}$ e por Tavares-Dias & Faustino (1998) de 1,73 a $4,83 \times 10^6/\mu\text{L}$, em tilápia do Nilo também sadias. Outros pesquisadores encontraram valores menores, como Alkahem (1994), que relatou valores de $1,31 \times 10^6/\mu\text{L}$ e Silveira & Rigos (1989) de $1,41 \times 10^6/\mu\text{L}$, para essa mesma tilápia.

O volume corpuscular médio (VCM) encontrada no grupo tratado foi 133,69 fL; valor menor ao relatado por Silveira & Rigos (1989) que encontrou média de 214,70%; Allen (1994) de 180,8 fL; Alkahem (1994) de 246,4 fL, Nussey et al. (1995) de 149,0 fL e Bittencourt (2003) de 148,8 fL.

A hemoglobina corpuscular média (HCM) no grupo tratado foi de 22,3 pg; valor menor que o encontrado por Silveira & Rigos (1989), que relataram valor de 35,8 pg; por Allen (1994) de 52,4 pg; por Alkahem (1994) de 48,8 pg; Nussey et al. (1995) de 45,0 pg; por Tavares-Dias & Faustino (1998) de 37,4 pg; por Ueda et al. (1997) de 30,3 pg; por Bittencourt et al. (2003) de 40,7 pg e por Barros et al. (2004) de 29,9 pg, sendo todas tilápias criadas em sistema intensivo.

A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) no grupo que recebeu *Homeopatila 100*[®] foi de 16,2 g/dL. Porém, Silveira & Rigos (1989) relataram valor de 17,7 g/dL; Allen (1994) de 33,8 g/dL; Alkahem (1994) de 20,2 g/dL; Nussey et al. (1995) de 33,0 g/dL; Tavares-Dias & Faustino (1998) de 33,8 g/dL; Ueda et al. (1997) de 25,7 g/dL e Bittencourt et al. (2003) de 35,2 g/dL, todas tilápias criadas em sistema intensivo.

As tilápias que receberam *Homeopatila 100*[®] apresentaram no final do experimento aumento no percentual médio de linfócitos, eosinófilos e trombócitos ($p < 0,05$), mas neutrófilos diminuíram ($p > 0,05$) e não houve

diferenças significativas no percentual de monócitos e basófilos ($p > 0,05$), em relação ao tratamento controle (Tabela 16).

Os peixes que receberam *Homeopatila 100*[®] apresentaram maior percentual de células de defesa orgânica, como os trombócitos e linfócitos. Feldman et al. (2000) ressaltaram que a resposta leucocitária é uma ferramenta importante para análise do estado de saúde dos animais e tem papel de destaque no desenvolvimento da imunidade humoral e celular. Os linfócitos B produzem e secretam anticorpos contra agentes infecciosos e os linfócitos T destroem as células infectadas com microrganismos (Tavares-Dias & Moraes, 2004). Assim, aumento no percentual de linfócitos dos peixes que receberam *Homeopatila 100*[®] poderia prepará-los melhor para uma situação de estresse. Contudo, isso precisa ainda ser investigado em estudos de desafios com situações de estresse. Por outro lado, redução na quantidade de linfócitos representa uma possível redução na capacidade imunológica dos peixes, provocada por estresse (Barton & Iwama, 1991), sendo um fenômeno mediado pelo cortisol.

No grupo controle, observou-se valores médios do percentual de neutrófilos variando de 25,2% a 31,7%. Em tilápias criadas no sistema intensivo, Silveira & Rigos (1989) relataram valor de 1,6% de neutrófilos; Nussey et al. (1995) de 7,8%; Alkahem (1994) de 3,2%; Tavares-Dias & Faustino (1998) de 6,7% e Ueda et al. (1997) de 6,3%.

Após 35 e 60 dias, os peixes que receberam *Homeopatila 100*[®] mostraram aumento no percentual de neutrófilos (Tabela 16). Tavares-Dias & Moraes (2004) citam que os neutrófilos são células eficientes na fagocitose e destruição intracelular de agentes infecciosos e substâncias estranhas.

Os monócitos são células responsáveis pela fagocitose ou digestão de partículas estranhas ao corpo (Tavares-Dias & Moraes, 2004). Não houve diferenças significativas entre os grupos, o grupo controle teve $7,04 \pm 0,19\%$ e o grupo-tratado $6,78 \pm 0,40\%$ de monócitos. Ueda et al. (1997) encontraram média de 6,37 % de monócitos; Tavares-Dias & Faustino (1998) 7,8%; Silveira & Rigos (1989) 8,0% em *O. niloticus* criadas em sistema intensivo. Outros pesquisados relataram percentual diferente em tilápia do Nilo criadas no sistema extensivo, como: Alkahem (1994) 2,6% e Nussey et al. (1995) 21,2%.

Os eosinófilos são responsáveis pelo combate às infecções parasitárias, estão presentes no sangue periférico de peixes em baixo percentual, são observados com maior frequência em órgãos hematopoiéticos do que em sangue circulante possivelmente, onde são detectados na circulação somente quando necessários (Tavares-Dias & Moraes, 2004). No grupo-tratado, o percentual médio dessas células foi de 1,95%, próxima à relatada por Ueda et al. (1997) em média de 0,09%, Alkahem (1994) 1,0% e Nussey et al. (1995) 1,2% e inferior à registrada por Tavares-Dias & Faustino (1998) de 4,0% em *O. niloticus* criadas em sistema intensivo.

Em tilápias do Nilo, o tratamento com núcleo homeopático *Homeopatila 100*[®] alterou os níveis de cortisol, glicose e alguns parâmetros hematológicos, como o percentual de linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e trombócitos, quando comparados com os peixes do grupo controle (Merlini, 2006).

Considerações finais

Os resultados documentados na utilização de homeopatia populacional em tilápias do Nilo e a realização de novos estudos complementares poderão permitir o emprego de núcleos homeopáticos em diferentes fases do cultivo de tilápias.

Referências

-
- ALKAHEM, M. F. 1994. The toxicity of nickel and the effects of sublethal levels on haematological parameters and behavior of the fish, *O. niloticus*. *J. Univer. Kuwait*, 21:243-252.
- ALLEN, P. 1994. Changes in the hematological profile of the cichlid *O. aureus* during acute inorganic mercury intoxication. *Comp. Bioch. Physiol. C. Pharm. Toxicol. Endocrinol.*, 108:117-121.
- BALDISSEROTTO, B. 2002. *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. Santa Maria: Ed. UFSM.
- BARCELLOS, L. J. G.; SOUZA, S. M. G.; LOURENÇO, L. F. 1997. Estudos preliminares sobre o cortisol em resposta ao estresse na tilápia no Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Boletim do Instituto de Pesca*, 224:239-245.
- BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, 10:3-26.
- BENEZ, S. M.; JACOBS, P. H.; CAIRO, N. 2004. *Manual de Homeopatia Veterinária*. Ribeirão Preto: Tecmed.
- BENITES, N. R. 2002. Homeopatia. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.700-708.
- BITTENCOURT, N. L. R. 2003. Hematological and biochemical values for Nile tilapia *O. niloticus* cultured in semi-intensive system. *Acta Scientiarum*, 25:385-389.
- BRUSLÉ, J.; ANADON, C. G. I. 1996. The structure and function of fish liver. In: MUNSHI, J. S. D.; DUTTA, H. M. *Fish Morphology, Horizon of New Research*. Enfield: Science Publisher Inc., p.77-93.
- CAMARGO, A. A. C.; DAL PAI SILVA, M.; PELLIZON, C. H.; CARVALHO, R. F. 2004. Aspectos morfológicos da regeneração muscular na tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Int. J. Morphol.*, 22:1.
- CARNEIRO, P. C. F. 2001. *Estresse provocado pelo transporte e resposta fisiológica do matrinxã Brycon cephalus*. 137 f. Tese (Doutorado em Aqüicultura) - Universidade Estadual Paulista.
- CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. 1998. Alterações metabólicas, hematológicas e osmorregulatórias do matrinxã *Brycon cephalus* causadas pelo estresse de transporte. *Anais Simbraq*, 609-620.
- CAVICHIOLO, F. 2005. Desempenho e morfologia de brânquias e fígado de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes níveis e fontes de proteínas. 57 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- DUBOWITZ, V.; BROOKE, M. H.; NEVILLE, H. 1972. *Muscle biopsy: a modern approach*. London: Saunders.

- EL-SAYED, A.-B. M. 2006. *Tilapia Culture*. Wallingford: CABI Publishing.
- FARIA, A. C. E. A. 2000. *Farinha de vísceras em dietas para alevinos de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus)*. 50 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- FELDMAN, D. M.; ZINK, J. G.; JAIN, N. C. 2000. *Schalm's veterinary hematology*. 5. ed. Philadelphia: Donna Balado.
- GUEDES, J. R. P.; FERREIRA, C. M.; GUIMARÃES, H. M. B.; SALDIVA, P. H. N.; CAPELOZZI, V. L. 2004. Homeopathically prepared dilution of *Rana catesbeiana* thyroid glands modifies its rate of metamorphosis. *Homeopathy*, 93:132-137.
- HAHNEMANN, S. 2001. *Organon da arte de curar*. São Paulo: Robe Editorial.
- JOHNSTON, M. D.; STEWART, D. F.; MOODY, W. G.; BOLLING, J. A.; KEMP, J. A. 1975. Effect and time of feed on size distribution of bred muscle fiber types. *J. Anim. Sci.*, 40:613-620.
- JOSUPEIT, H. 2007. World tilapia trade. Disponível em: <www.globefish.org/dynamisk.php?id=4278>. Acesso em: 28 abr. 2009.
- KHUDA-BUKSH, A. R. 2003. Towards understanding molecular mechanisms of action of homeopathic drugs: An overview. *Mol. Cell. Biochem.*, 253:339-345.
- LANNA, E. A. T.; PEZZATTO, L. E.; FURUYA, W. M. 2004. Fibra bruta e óleo em dietas práticas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zoot.*, 33:2177-2185.
- LOPES, E. G. 2004. Homeopatia aplicada à parasitologia veterinária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINARIA, 12.; SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE RICKETSIOSES, 1., 2004, Ouro Preto. *Anais...* Ouro Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, p. 150-155.
- MALLATT, J. 1985. Fish gill structural changer induced by toxicants and other irritants: A statistical review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42:630-648.
- MAURY, E. A. 2002. *Guia das plantas medicinais*. São Paulo: Rideel.
- MAZEAUD, M. M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E. M. 1977. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 106:201-212.
- MERLINI, L. S. 2006. Utilização de Homeopatila 100® em dieta para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). 50 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- NOLAN, D. T.; VELD, R. L. J. M. O.; BALM, P. H. M.; BONGA, S. E. W. 1999. Ambient salinity modulates the response of the tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to net confinement. *Aquaculture*, 177:297-309.
- NUSSEY, G.; VAN VUREN, J. H. J.; DU PREEZ, H. H. 1995. Effects of copper on the haematological and osmoregulation of the Mozambique tilapia. *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharm. Toxicol. Endocrinol.*, 111:369-380.
- PIAU JUNIOR., R. 2006. *Comportamento morfométrico das fibras musculares brancas e desempenho de alevinos de tilápias do Nilo (Oreochromis niloticus), tratados com metiltestosterona ou núcleo homeopático*. 47 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- POPMA, T. J.; LOVSHIN, L. L. 1994. *Worldwide prospects for commercial production of tilapia*. Auburn: Auburn University.

- REAL, C. M. 2006. Homeopatia Populacional (Homeopatia de resultados). Disponível em: <www.realh.com.br/index_br.php? idcanal= 43>. Acesso em: 22 nov. 2007.
- RIBEIRO, R. P. 2001. Espécies exóticas. In: MOREIRA, H. L. M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; ZIMMERMANN, S. *Fundamentos da Moderna Aqüicultura*. Canoas: Ed. ULBRA, p.91-115.
- SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; PAWER, M.; HONNEN, W.; TRIEBSKORN, R. 1997. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *J. Aquat. Ecosyst. Stress Recovery*, 6:75-86.
- SIENA, C. E. 2009. Efeito do núcleo homeopático *Homeopatila 100®* na eficiência produtiva em alevinos revertidos de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). 27 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- SILVEIRA, R.; RIGORES, C. 1989. Características hematológicas normais de *O. aureus* em cultivo. *Rev. Latinoam. Acuicul.*, 39:54-56.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H. S. 1995. *Limnologia aplicada à aqüicultura*. Jaboticabal: FINEP.
- SOUZA, M. F. A. 2002. Homeopatia Veterinária. In: CONFERÊNCIA SOBRE PRODUÇÃO ORGÂNICA DE BOVINOS DE CORTE, 1., 2002. Anais... Corumbá: Embrapa Pantanal. Disponível em: www.cpap.embrapa.br/agencia/congressovirtual/pdf/portugues/02pt02.pdf. Acesso em: 14 out. 2003.
- STOSKOPF, M. K. 1993. *Fish medicine*. 9. ed. Raleigh: W.B. Saunders Company.
- TAVARES-DIAS, M.; FAUSTINO, C. D. 1998. Parâmetros hematológicos da tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* (Ciclidae) em cultivo extensivo. *Ars Veterinária*, 14:254-263.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. 2004. *Hematologia de peixes teleósteos*. Ribeirão Preto: Lillimpress Complexo Gráfico.
- UEDA, I. K.; EGAMI, M. I.; SASSO, W. S.; MATUSHIMA, E. R. 1997. Estudo hematológico do sangue periférico de *O. nilocitus* (Linneus, 1758). *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 34:270-275.
- VAL, A. L.; SILVA, M. de N. P. da; VAL, V. M. F. de A. 2004. Estresse em peixes – Ajustes fisiológicos e distúrbios orgânicos. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. *Sanidade de organismos aquáticos*. São Paulo: Livraria Varela, p.75-88.
- VALENTIM-ZABOTT, M. 2006. *Avaliação de Homeopatila RS, em tilápias do Nilo, Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758), fase de larvicultura, no desenvolvimento, proporção sexual e histologia de brânquias e fígado*. 50 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- VALENTIM-ZABOTT, M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; PIAU JUNIOR, R.; TORRES, M. B. A.; RÖNNAU, M.; SOUZA, J. C. 2008. Effects of a homeopathic complex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) on performance, sexual proportion and histology. *Homeopathy*, 97:190–195.
- VARGHESE, S.; OOMMEN, O. V. 1999. Thyroid hormones regulate lipid metabolism in a teleost *Anabas testudineus* (Bloch). *Comp. Biochem. Physiol.*, 124:445-450.

- VERA CRUZ, E. M.; MAIR, G. C. 1994. Conditions for effective androgen sex reversal in *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 122:237-248.
- VOLPATO, G. L.; CARRIERI, M. P.; FERNANDES, M. O. 1989. Heterogeneous growth in fishes: some new data in the Nile tilapia and a general view about the causal mechanisms. *Bol. Fisiol. Anim.*, 13:7-22.
- WASSERMANN, G. J.; AFONSO, L. O. B. 2002. Validation of the aceto-carmin technique for evaluating phenotypic sex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. *Ciência Rural*, 32:133-139.
- WATANABE, W. O.; ERNST, D. H.; OLLA, B. L.; WICKLUND, R. I. 1990. Aquaculture of red tilapia (*Oreochromis* sp) in marine environments: state of the art. Advances in Tahiti, French Polynesie tropical aquaculture. *Actes Colloque.*, 9:487-499.

Capítulo 7

Suplementos na dieta para manutenção da saúde de peixes

Edsandra Campos Chagas, Fabiana Pilarski, Róberson Sakabe,
Haluko Massago & Thiago El Hadi Perez Fabregat

Resumo

O estabelecimento das exigências nutricionais de vários peixes cultivados tem trazido benefícios para o seu crescimento, eficiência alimentar e sobrevivência. Recentemente, o foco dessas pesquisas tem se expandido, sendo considerado também o efeito dos nutrientes dietéticos sobre a saúde dos peixes. Este capítulo traz informações atualizadas sobre os efeitos de alguns nutrientes essenciais e outras substâncias com características imunoestimulantes, enfatizando os aspectos relacionados à nutrição e saúde dos peixes cultivados. As exigências de nutrientes essenciais (especialmente lipídios, minerais e vitaminas) variam em função de diversos fatores, entre eles a demanda metabólica do peixe (resposta de estresse, resistência a enfermidades, entre outras). Níveis superiores aos estabelecidos para se alcançar o máximo crescimento e utilização do alimento têm sido utilizados para maximizar as concentrações corporais e atender as funções fisiológicas dos peixes. O uso de suplementos alimentares originados de micro-organismos, plantas e animais tem influenciado positivamente a resistência dos peixes frente a desafios de infecções. O emprego de imunoestimulantes na dieta dos peixes é uma alternativa para maximizar a sua proteção em situações de estresse, evitando o estabelecimento de doenças na criação. Contudo, muitos estudos ainda estão sendo conduzidos para elucidar o papel dos imunoestimulantes na saúde dos peixes.

Abstract

The establishment of the nutritional requirements for several farmed fish has brought benefits for growth, feeding efficiency and survival. Recently, the target of the researches has expanded to consider the role of the dietary nutrients on the fish health. This chapter brings updated information on the effects of some macro and micronutrients, and on other substances with immunostimulant features, emphasizing aspects related to the nutrition and

the fish health. The requirements of essential nutrients (especially lipids, minerals and vitamins) vary according different factors, including the metabolic demand (stress response, resistance to diseases among others). Levels above those required for maximum growth performance and feed utilization have been used to maximize the body concentrations and supply the physiological needs of fish. The use of feed supplements originated from microorganisms, plants and animals has improved the fish resistance to infections. Otherwise, the inclusion of immunostimulant substances in the fish diet is an alternative to enhance fish protection in stress conditions preventing the diseases in the farming environment. Furthermore, studies have been developed to understand the role of the immunostimulant substances in fish health.

Introdução

A demanda crescente do mercado mundial por produtos de alta qualidade tem estimulado o crescimento da aquicultura. Nos últimos 50 anos, a produção mundial de pescado passou de menos de 1 milhão de toneladas no começo da década de 50 para 59,4 milhões em 2004, o que representou um incremento anual da ordem de 6,9% (FAO, 2007). No Brasil, a produção aquícola e pesqueira alcançou, em 2006, um volume de 1.049.539 toneladas, com acréscimo de 4,01% em comparação a 2005. A aquicultura participou com 25,9% (271.694,5 toneladas) dessa produção e gerou uma receita de US\$ 965.627,60 (Ibama, 2007).

Com o crescimento da aquicultura, houve uma maior intensificação dos sistemas de criação, expondo continuamente os peixes a alterações na qualidade da água e a práticas de manejo tais como manuseio excessivo, transporte e adensamento, que induzem respostas de estresse, com consequências negativas sobre o desempenho produtivo, resposta imune e resistência dos peixes à patógenos (Wendelaar Bonga, 1997; Barton, 2000; Barton et al., 2000; Brandão et al., 2006). Nos sistemas de criação intensiva, a nutrição tem um importante papel na manutenção do crescimento normal e da saúde dos organismos aquáticos.

As dietas artificiais constituem a principal fonte de nutrientes essenciais para os peixes em sistemas de criação intensiva. A exigência dos nutrientes essenciais varia em função de diversos fatores, entre eles a demanda metabólica do peixe (resposta de estresse, resistência a enfermidades, entre outras). Níveis superiores aos estabelecidos para se alcançar o máximo crescimento e utilização do alimento têm sido utilizados para maximizar as concentrações corporais e atender as funções fisiológicas dos peixes (Li & Robinson, 1999; Gatlin III, 2002). Nesse sentido, o uso de alimentos funcionais, que atuam na manutenção do equilíbrio orgânico dos animais frente a condições adversas inerentes à criação intensiva, desponta como uma alternativa promissora para a aquicultura.

Historicamente, os antibióticos têm sido utilizados para o tratamento de doenças na aquicultura. Contudo, o uso dessas drogas tem ocasionado problemas como o desenvolvimento de bactérias resistentes e a ocorrência de resíduos de antibióticos nos tecidos de peixes comercializados (Buchman et al., 1992; Grant & Briggs, 1998; Smith et al., 2003; Sorum, 2006). Assim, muitos pesquisadores têm dado ênfase ao emprego das Boas Práticas de

Manejo (BPMs) (Boyd & Queiroz, 2004), com o uso de imunoestimulantes (Sakai, 1999; Li & Gatlin III, 2006; Dalmo & Bogwald, 2008).

O emprego de imunoestimulantes na dieta dos peixes tem influenciado positivamente a resistência desses animais frente à infecção por organismos patogênicos, por meio de mecanismos imunes inato e adquirido (Erdal et al., 1991; Raa, 1996; Verlhac et al., 1998; Amar et al., 2001; Vainikka et al., 2005). Portanto, uma melhora na condição imune do organismo por manipulação dietética representa uma alternativa para o uso de drogas na aquicultura (Verschuere et al., 2000).

Dentre os compostos com características imunoestimulantes destacam-se os fatores nutricionais como as vitaminas, substâncias derivadas de bactérias, polissacarídeos, extratos de plantas e animais, além das substâncias químicas sintéticas (Sakai, 1999; Cook et al., 2003; Smith et al., 2003; Vainikka et al., 2005; Li & Gatlin III, 2006). Estes compostos são de fácil administração e apresentam baixa toxicidade para o hospedeiro, podendo ser administrados por meio de imersão, injeção ou como um suplemento dietário (Smith et al., 2003).

Para manutenção da saúde em peixes cultivados, algumas estratégias alimentares podem ser adotadas como: atender as exigências nutricionais específicas nas dietas; manipular a condição nutricional por meio de regimes de alimentação, além da administração de imunoestimulantes dietéticos (Maita, 2007). O estabelecimento de protocolos de imunoestimulação para peixes permitirá maximizar a sua proteção em situações de estresse, reduzindo o estabelecimento de doenças na criação, além de melhorar o desempenho zootécnico e sobrevivência dos peixes e, conseqüentemente, reduzir as perdas econômicas no processo produtivo.

Nutrientes essenciais

A – Vitaminas

As vitaminas constituem um grupo de substâncias orgânicas com composição química e funções biológicas variadas. São conhecidas como agentes essenciais para o crescimento, saúde, reprodução e manutenção do organismo, funcionando principalmente como coenzimas. Podem ocorrer na natureza como vitaminas ou sob a forma de precursores, as provitaminas, que são ingeridas com os alimentos. São compostos orgânicos requeridos pelo corpo em quantidades mínimas para realizarem funções celulares específicas. Qualquer interrupção de seu suprimento ocasiona distúrbios no metabolismo, sendo, por isso, consideradas itens nutricionais fundamentais para o desenvolvimento adequado de qualquer organismo (Lovell, 1989; Lehninger, 1993).

As vitaminas são classificadas em tiamina (B1), riboflavina (B2), piridoxina (B6), cianocobalamina (vitamina B12), niacina, ácido pantotênico, biotina, ácido fólico, ácido ascórbico (Vitamina C, AA), inositol, vitamina A, vitamina D, vitamina E e vitamina K (Lehninger, 1993; Champe & Harvey, 1997; Eitnmiller & Landen Junior, 1999). Todavia, as mais estudadas em organismos aquáticos são as vitaminas C, E, A e D (Martins, 1995; Fracalossi et al., 1998; Blom & Dabrowski, 2000; Lovell, 2000; Dabrowski, 2001; Fujimoto & Carneiro, 2001; Barros et al., 2002; Chagas & Val, 2003; Chagas

et al., 2003; Chagas & Val, 2006; Abreu & Urbinati, 2006; Pilarski, 2006; Koshio, 2007; Garcia et al., 2007; Guimarães, 2009; Cerezuela et al., 2009). As vitaminas são divididas em duas classes distintas, as lipossolúveis como as vitaminas A, D, K e E, e as hidrossolúveis, como as vitaminas do complexo B e vitamina C (Lehninger, 1993; Champe & Harvey, 1997; Eitnmiller & Landen Junior, 1999).

a) *Ácido ascórbico (AA) ou vitamina C*

O ácido ascórbico (Figura 1) é um composto constituído por seis átomos de carbono, com um peso molecular de 176,1 daltons. Essa vitamina libera facilmente dois íons hidrogênio para assumir uma forma oxidada conhecida como ácido deidroascórbico, que pode ser reduzida por reação reversível. É um pó branco a ligeiramente amarelo cristalino que apresenta alta solubilidade em água ($30 \text{ g } 100 \text{ ml}^{-1}$) à temperatura ambiente (Eitenmiller & Landen Junior, 1999). Agente redutor potente atua como importante antioxidante, dado o seu alto potencial de redução capaz de promover a oxidação dos ácidos graxos. O AA está intimamente relacionado com o metabolismo da glicose e outras hexoses (Robbins et al., 1986), sendo conhecido como a vitamina de maior atividade anti-estresse, correlacionada com saúde em humanos, animais e cultura de células (Misra et al., 2007; Tewary & Patra, 2008; Sarma et al., 2009). Em determinadas situações, pode também atuar como pró-oxidante (Kaneko et al., 1997) e é um nutriente essencial para a manutenção das funções fisiológicas e para proporcionar o crescimento normal de todos os animais (Smith et al., 1983; McCluskey, 1985), incluindo os peixes (Martins, 1995; Fracalossi et al., 1998; Blom & Dabrowski, 2000; Lovell, 2000; Dabrowski, 2001; Barros et al., 2002; Chagas & Val, 2003; Chagas et al., 2003).

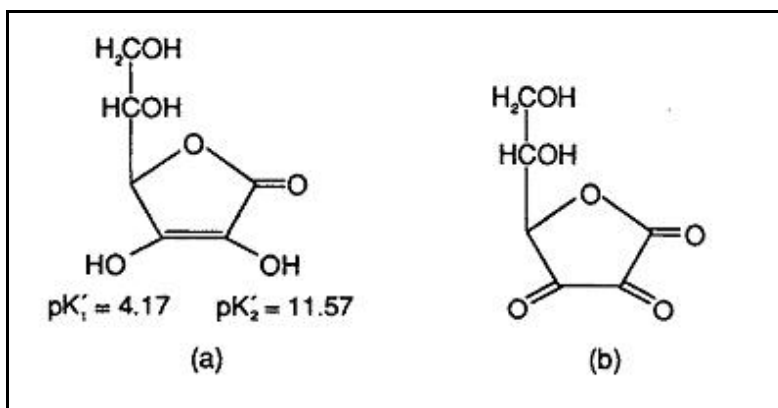


Figura 1. Estrutura do ácido ascórbico (a) e do ácido L-ascórbico (b).

O AA participa como co-fator em diversas reações, dentre elas, a hidroxilação da prolina na síntese de colágeno (principal componente do tecido conectivo), hidroxilação do triptofano para 5-hidroxitriptofano, o qual por descarboxilação dá origem a serotonina, conversão do 3,4-dihidroxi-fenilpiruvato para norepinefrina a partir da dopamina (Baker, 1967; Sgarbieri, 1987) e da hidroxilação na biossíntese da carnitina, responsável pelo transporte de alguns ácidos graxos de cadeia longa para o interior das mitocôndrias, onde são utilizados como fonte de energia, pela via beta-oxidativa. O AA está envolvido, ainda, no metabolismo de lipídeos e de certos peptídeos neuroendócrinos, na hidroxilação da tirosina, utilizada na síntese de catecolaminas e de íons metálicos e também auxilia na manutenção de várias enzimas envolvidas neste processo, as quais contém metais, geralmente ferro e cobre, e o ácido ascórbico é o responsável por manter esses metais no estado reduzido (Dabrowski, 2001).

A vitamina C evita a formação de compostos insolúveis e auxilia na absorção do ferro, reduzindo-o no estômago, ao estado ferroso, forma esta absorvível, prevenindo assim a anemia (Barros et al., 2002). Participa, ainda, na liberação do ferro da transferrina e ferritina, da forma oxidada para a forma reduzida, que é subsequente, incorporada à hemoglobina ou a outros compostos essenciais, favorecendo o seu transporte no organismo (Lovell, 1989; Devlin, 1998). Esta vitamina atua também no processo de cicatrização e regeneração de feridas e matriz óssea e na síntese de corticosteroides (Halver et al., 1985).

O AA é armazenado em muitos tecidos e, nos peixes, os locais de maior depósito são sangue, fígado, rins e pele (Halver, 1972; Tucker & Halver, 1984). As concentrações nestes órgãos podem relacionar-se diretamente com sua atividade metabólica, como também com os níveis de ácido ascórbico da dieta (Hilton et al., 1978; Tucker & Halver, 1984; Robbins et al., 1986; Chagas et al., 2003).

O ácido ascórbico pode ser sintetizado pela maioria dos mamíferos e aves, pelos reptéis, anfíbios, esturjões e peixes pulmonados, que apresentam a enzima L-gulonolactona oxidase (GLO), que catalisa o último passo da transformação do ácido glicurônico em ácido ascórbico. Várias espécies, incluindo invertebrados, peixes teleósteos, primatas, porco da Índia, morcegos, algumas aves e o homem, não exibem esta enzima (Figura 2), sendo dependentes, portanto, da quantidade dietética ingerida (Chatterjee et al., 1975; Dabrowski, 1990; Tuhata et al., 1995).

Fracalossi et al. (2001) estudaram a capacidade de síntese do ácido ascórbico, verificada pela presença da atividade da enzima L-gulonolactona oxidase (GLO), em oito ordens de peixes pertencentes à bacia Amazônica. A arraia de água doce *Potamotrygon* sp. e o peixe pulmonado sulamericano *Lepidosiren paradoxa*, peixes não teleósteos, foram os únicos que demonstraram atividade de GLO. Em adição, Mesquita-Saad (2001) descreveu uma variação sazonal nos níveis de ácido ascórbico em tambaquis que pode estar relacionado às oscilações no nível da água dos rios, o que reflete a disponibilidade de alimento e, portanto, de vitamina C.

No ambiente natural, a principal fonte de ácido ascórbico é o plâncton e outros alimentos naturais, muitas vezes ausentes ou pouco disponíveis em criação intensiva, sendo necessária a suplementação exógena na alimentação.

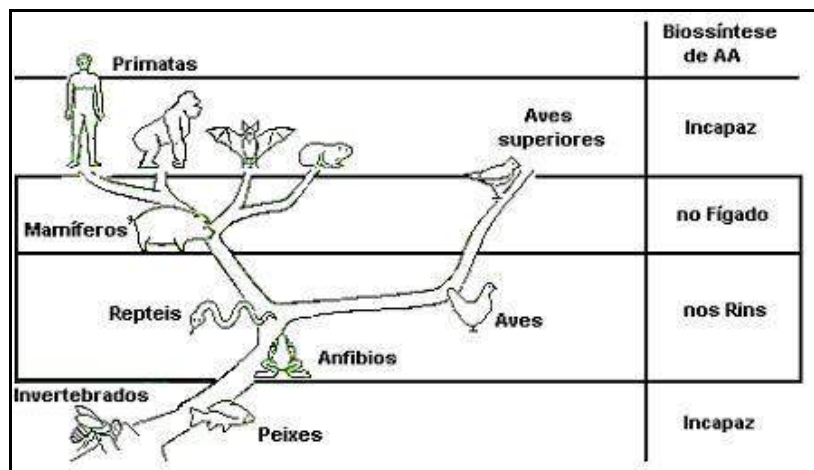


Figura 2. Evolução da síntese de ácido ascórbico nos animais. Chatterjee (1973).

A deficiência de AA nos peixes pode provocar redução do crescimento, aumento da mortalidade, deformações ósseas (lordose, escoliose e cifose), exoftalmia, edemas, perda do apetite, fragilização do sistema capilar, deformações branquiais, hemorragias, anorexia, movimentos convulsivos, irritabilidade, erosão da nadadeira caudal (Figura 3), letargia, empalidecimento das brânquias, deformidades operculares e nas lamelas brânquiais, escurecimento da pele, aumento do estresse e redução da resposta imune (Mahajan & Agrawal, 1980; Navarre & Halver, 1989; Teskeredzic et al., 1989; Halver, 1995; Martins, 1995; Lee et al., 1998; Gapasin et al., 1998; Moreau & Dabrowski, 2000; Dabrowski, 2001; Fujimoto & Carneiro, 2001; Chagas & Val, 2003; Chagas et al., 2003; Chagas & Val, 2006; Koshio, 2007).



Figura 3. Carpa alimentada com dieta deficiente em AA, demonstrando deformação da coluna. Pilarski (2004).

Utilização de revestimentos e derivados químicos de ácido ascórbico

Quando se trata de adição de ácido ascórbico em alimentos para organismos aquáticos, um dos grandes problemas enfrentados é a instabilidade desta vitamina, que devido à labilidade em altas temperaturas e propensão à oxidação, acaba se perdendo durante o processamento e estocagem da ração (Fracalossi et al., 1998).

O ácido L-ascórbico na forma cristalina, seca e pura, é razoavelmente estável. Entretanto, é facilmente oxidado em condições neutras ou alcalinas, onde o oxigênio, a umidade, os microelementos, a temperatura elevada, a luz e os lipídios promovem sua oxidação e destruição (O'Keefe, 2001). Por estas razões, perdas dessa vitamina podem ocorrer durante o processo de industrialização ou o armazenamento prolongado das rações (Tacon, 1991). Shiau & Hsu (1993) demonstraram que 75% da quantidade inicial de AA acrescentado em uma dieta para organismos aquáticos pode ser perdida durante o processamento e estocagem da ração em temperatura ambiente, em uma hora.

Os métodos de processamento e armazenamento que removem o oxigênio reduzem o calor e evitam o contato com ferro, cobre e outros metais, aumentam significativamente a retenção da atividade de vitamina C nas rações. Entretanto, a estabilidade efetiva do ácido ascórbico foi alcançada somente com a proteção física ou química dos agentes oxidantes (Rotta, 2003). Um dos principais métodos de proteção física é a encapsulação do ácido ascórbico puro.

Os derivados do ácido ascórbico mais recentemente desenvolvidos para utilização em rações destinadas a organismos aquáticos são formados por ésteres de fosfato como o ascorbil monofosfato (AMP) e o ascorbil polifosfato (AP). Estes possuem maior estabilidade e biodisponibilidade durante o processo de industrialização e estocagem do alimento seco e úmido (Lovell, 1989; Matusiewicz & Dabrowski, 1995; Andersen et al., 1998). Outro aspecto importante desses novos compostos é que eles não sofrem oxidação durante a passagem pelo trato gastrointestinal até sofrerem hidrólise e serem absorvidos nos enterócitos (Dabrowski et al., 1994).

Exigência de ácido ascórbico para os peixes

As exigências de ácido ascórbico dos peixes, como para qualquer outra vitamina, são expressas como a quantidade de atividade vitamínica necessária por kg de peso vivo por dia para atingir uma resposta fisiológica específica no organismo (Rotta, 2003). Em qualquer nível de resposta, estas exigências são afetadas pela espécie, idade, tamanho, velocidade de crescimento e estado fisiológico do peixe, como também pelas inter-relações dos nutrientes e fatores ambientais, como temperatura e presença de produtos tóxicos (Lovell, 1989; Luzzana et al., 1995; Dabrowski et al., 1996; Li & Robinson, 1999; O'Keefe, 2001; Chagas et al., 2003).

Os níveis de AA adequados para obtenção de um crescimento normal e sobrevivência em peixes são baixos (Blom & Dabrowski, 2000), entretanto, altos níveis são indicados para aumentar a resistência dos peixes ao estresse e às infecções (Li & Robinson, 1999; Chagas et al., 2003; Garcia et al., 2007).

No Brasil, poucos são os trabalhos que relatam as exigências vitamínicas para peixes tropicais (Tabela 1). Essas exigências são específicas e dependem de vários fatores ambientais e fisiológicos (Li & Robinson, 1999; Lovell, 2000), que incluem ontogenia (Woodward, 1994; Dabrowski et al., 1996), reprodução (Blom & Dabrowski, 1995) e função metabólica (Blom & Dabrowski, 1995; Gouillou-Coustans et al., 1998).

Tabela 1. Exigências por ácido ascórbico para o crescimento de peixes cultivados.

Espécie	Exigência (mg kg ⁻¹ dieta)	Referência
<i>Oreochromis aureus</i>	50	Lim & Klesius (1997)
<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>O. aureus</i>	79	Shiau & Jan (1992)
<i>Oreochromis niloticus</i>	420	Soliman et al. (1994)
<i>Astronotus ocellatus</i>	25	Fracalossi et al. (1998)
<i>Pterophyllum scalare</i>	360	Blom & Dabrowski (2000)
<i>Colossoma macropomum</i>	100	Chagas & Val (2003)
<i>Piaractus mesopotamicus</i>	139	Martins et al. (1995)
<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	500	Fujimoto & Carneiro (2001)
<i>Brycon amazonicus</i>	800	Affonso et al. (2007)

Fujimoto & Carneiro (2001) demonstraram que a suplementação de dietas com 500 mg de vitamina C kg⁻¹ de ração é suficiente para o bom desempenho produtivo e para prevenir a infestação e a ocorrência de deformidades em alevinos de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) em fase de crescimento.

Em larvas de tilápia do Nilo, Toyama et al. (2000) observaram que a sobrevivência das larvas foi maior quando estas receberam dietas suplementadas com vitamina C acima de 200 mg kg⁻¹ de ração e a sobrevivência média estimada foi de 61,6% a 67,9%.

Chagas & Val (2003) avaliaram o efeito da suplementação dietética com ácido ascórbico no ganho de peso e em parâmetros hematológicos do tambaqui (*Colossoma macropomum*) e observaram que os animais alimentados com maiores níveis de ascorbato (100 e 500 mg kg⁻¹) mostraram pesos corpóreos maiores, melhores taxas de conversão alimentar e sobrevivência. A ausência de ácido L-ascórbico na ração, além de causar redução nos valores de hematócrito e no número de eritrócitos, que caracteriza anemia, provocou aumento no volume corpuscular médio, na hemoglobina corpuscular média e na concentração de hemoglobina corpuscular média. Esses resultados revelam a importância do ácido L-ascórbico na dieta dos juvenis de tambaqui e o nível de 100 mg AA kg⁻¹ de ração é adequado, garantindo bom ganho de peso e manutenção da homeostase do organismo.

Affonso et al. (2007) avaliaram o efeito de altos níveis dietéticos de AA (400, 500, 600 e 800 mg AA kg⁻¹) sobre a condição fisiológica da matrinxã. Os peixes alimentados com 800 mg AA kg⁻¹ apresentaram maior ganho de peso e sobrevivência. Foi observado também aumento no hematócrito (Ht),

hemoglobina (Hb) e número de eritrócitos (RBC) quando da suplementação dos níveis de 600 e 800 mg AA kg⁻¹. Os valores de leucócitos totais e proteínas plasmáticas foram significativamente maiores nos peixes suplementados com AA. Considerando o perfil fisiológico e a desempenho produtivo dos peixes, os autores sugeriram a suplementação de 800 mg AA kg⁻¹ para matrinxã.

Em estudo que avaliou a interação entre diferentes níveis de AA (0,125, 375 e 1115 mg/kg⁻¹) e ferro (30, 90 e 270 mg/kg⁻¹), Barros et al. (2002) observaram que a ausência desses nutrientes na alimentação de tilápia do Nilo propiciou o aparecimento de anemia microcítica e hipocrômica, enquanto a presença da vitamina em dosagens elevadas estimulou a liberação de eritrócitos imaturos na corrente sanguínea. Determinou-se, também, que níveis desses nutrientes acima das exigências nutricionais descritas para a espécie não produziram efeito detrimental no desempenho produtivo, na produção de proteínas plasmáticas ou na morfologia do fígado.

Influência da suplementação dietética com ácido ascórbico na resistência ao estresse e enfermidades

A administração de dietas enriquecidas com ácido ascórbico tem se mostrado benéfica na prevenção dos efeitos negativos do estresse e no bom funcionamento do sistema imune, com aumento da sobrevivência dos peixes (Waagbo, 1994; Fletcher, 1997; Verlhac et al., 1998; Chagas et al., 2003). O AA atua no sistema imune, tanto celular, relacionado à proliferação de neutrófilos (Combs, 1992) e aumento da migração de macrófagos (Lim et al., 2000), quanto na humoral, atuando no estímulo à produção de interferons que protegem a célula contra antígenos (Combs, 1992). Os linfócitos e neutrófilos seriam as principais células de defesa influenciadas pelo AA, de acordo com Martins et al. (1995) e Wahli et al. (1998).

O AA e os aminoácidos sulfurados são necessários para a deposição de fibrina, colágeno e polissacarídeos dentro dos vacúolos formados para isolar o microrganismo patogênico invasor pelos lisossomos (organela membranosa que contém diversos tipos de enzimas hidrolíticas, coadjuvantes no processo de digestão intracelular e de organismos exógenos). Desse modo, dietas deficientes em AA podem inibir o processo de vacuolização (Wedemeyer, 1997).

Henrique et al. (1998) analisaram a influência do ácido ascórbico sobre as respostas fisiológicas de *Sparus aurata* submetido à hipóxia por 24 horas. Após 3 horas de estresse, ocorreu hiperglicemia nos peixes de todas as dietas experimentais (25, 50, 100 e 200 mg AA/kg⁻¹), mas foi mais evidente nos peixes alimentados com dietas isentas desta vitamina. A deficiência de AA, em *I. punctatus*, ocasionou maior suscetibilidade da espécie à toxicidade por amônia e ao estresse hipóxico (Mazik et al., 1987).

Em tambaqui, Chagas & Val (2006) observaram a influência do AA na resistência da espécie ao estresse hipóxico. Os peixes que receberam altos níveis de AA (500 mg kg⁻¹) na dieta não exibiram mudanças no pH eritrocitário e na glicose plasmática, sendo observada também redução dos níveis de peroxidação lipídica. A suplementação de AA foi capaz de reduzir os efeitos negativos da exposição à hipoxia aguda em juvenis de tambaqui.

Abreu & Urbinati (2006) avaliaram a participação do AA (0, 100, 200, 400 e 800 mg kg⁻¹) em indicadores de estresse em matrinxã (*Brycon amazonicus*) durante exposição aérea dos peixes e concluíram que a aplicação desse estressor por 2 minutos provocou alterações hematológicas, hormonais, metabólicas e eletrolíticas nos peixes, mas que o AA, nos níveis e tempo de administração avaliados, não foi capaz de minimizar as respostas de estresse. Segundo Dabrowska et al. (1991), as mudanças no nível de cortisol em peixes relacionadas ao estresse são independentes da dose de AA fornecida. Entretanto, Pilarski (2006) observou que a suplementação dietética com vitamina C promoveu redução de cortisol plasmático e aumento de células de defesa orgânica em tilápia do Nilo.

A suplementação dietética com AA (0,2%) e níveis elevados de proteína em *Channa punctatus* expostos a concentrações subletais do pesticida endossulfan, mitigou os efeitos negativos da toxicidade do pesticida, melhorando o crescimento e a sobrevivência dos peixes. Isto possivelmente ocorreu devido à propriedade antioxidante da vitamina C, baseada na capacidade de reagir com radicais livres durante o estresse (Sarma et al., 2009).

Tewary & Patra (2008) observaram, em experimento realizado com *Labeo rohita*, alta qualidade de carcaça em peixes alimentados com dietas suplementadas com elevados níveis de vitamina C (1000 mg/kg⁻¹), possivelmente devido às propriedades antioxidantes da vitamina e sua capacidade de prevenir a peroxidação dos ácidos graxos insaturados. Os autores observaram também que os parâmetros imunes não específicos (atividade fagocítica e “burst” respiratório) foram estimulados em peixes suplementados com mega doses de AA, aumentando conseqüentemente a proteção contra a bactéria *Aeromonas hydrophila*.

Em estudo com a espécie *Takifugu rubripes*, Eo & Lee (2008) estimaram que dietas suplementadas com 29 mg AA kg⁻¹ de ração promoveram um bom desempenho produtivo e a manutenção da homeostase dos peixes. Em adição, a atividade da enzima mieloperoxidase, uma importante enzima com atividade microbicida, foi maior nos peixes que receberam dietas suplementadas com AA. De forma semelhante, Kumari & Sahoo (2006), que determinaram a atividade desta enzima em Asian catfish (*Clarias batrachus*) e observaram melhora na atividade fagocítica dos peixes alimentados com dietas suplementadas com AA.

Aumento da resistência à infecção por *Edwardsiella tarda* e *E. ictaluri* em *I. punctatus* (Durve & Lovell, 1982; Li & Lovell, 1985), por *Vibrio anguillarum* em *Oncorhynchus mykiss* (Navarre & Halver, 1989) e por *Aeromonas salmonicida* e *Vibrio salmonicida* em *S. salar* (Erdal et al., 1991; Hardie et al., 1991; Thompson et al., 1993) foi observado quando da suplementação de AA na dieta dos peixes.

No entanto, no caso de *I. punctatus* expostos à infecção por *E. ictaluri*, Li et al. (1998) observaram que megadoses de vitamina C na dieta não provocaram aumento de resistência a doenças ou efeito significativo na produção de anticorpos depois da exposição ao patógeno e concluíram que a concentração de 50 mg AA kg⁻¹ foi adequada para o crescimento normal, resposta ao estresse e resistência a doenças.

Lin & Shiau (2005), reportaram que a suplementação dietética com AA aumentou a resposta imune não específica de *E. malabaricus*, incluindo

aumento da produção de O_2 , da atividade do sistema complemento e da lisozima. Os mesmos autores também observaram maior sobrevivência dos peixes alimentados com a dieta suplementada com 288 mg AA kg^{-1} após exposição à bactéria *Vibrio carchariae* em relação aos peixes alimentados com dieta isenta desta suplementação.

Considerando a ação desta vitamina nos mecanismos não específicos de defesa, Wahli et al. (2003) observaram histologicamente, em *O. mykiss*, que a cicatrização estava diretamente relacionada à quantidade de AA presente na dieta. Além disso, aumento no índice fagocítico foi observado por Roberts et al. (1995) em *Scophthalmus maximus* e por Johnson & Ainsworth (1991) em *I. punctatus*.

Para a *Anguilla japonica*, a suplementação superior a 27 mg AA/ kg^{-1} resultou em maior atividade bactericida e a inclusão de 645 mg kg^{-1} ou mais provocou aumento do hematócrito, hemoglobina, proteína total e níveis de vitamina C no fígado e cérebro (Ren et al., 2005).

Redução de infestação de peixes por parasitas está relacionada à suplementação dietética com vitamina C. Martins (1998) observou significativa diminuição no número de *Anacanthorus penilabiatu*s (Monogenea) nas brânquias de *P. mesopotamicus* alimentados com 200 mg AA kg^{-1} de ração durante 24 semanas. Uma redução da infestação por ectoparasitas também foi observada em larvas de tilápia do Nilo na fase de reversão sexual. Leonardo et al. (1998) verificaram diferenças na porcentagem de *Trichodina* sp. e Monogenea na proporção de 21,9%; para larvas alimentadas com dieta isenta de AA e apenas 3,1% nas suplementadas com 1700 mg AA/ kg^{-1} de ração. Em outro estudo, Leonardo (1999) relataram a ocorrência de 72,5% de *Trichodina* sp. em peixes alimentados com dieta isenta de AA e 52,5% em peixes alimentados com dieta suplementada com 1000 mg AA kg^{-1} .

A utilização de vacinas na aquicultura torna-se cada vez mais importante, pois além de proteção imunológica elas aumentam a taxa de crescimento e promovem boa eficiência na conversão alimentar (Grove et al., 2003). Com esse intuito, Pilarski (2006) estudou o efeito da suplementação com vitamina C na eficácia de uma vacina atenuada para a bactéria *Flavobacterium columnare* injetada intraperitonealmente em tilápias do Nilo e concluiu que a administração de 500 mg AA/ kg^{-1} de ração, na forma ascorbil polifosfato, potencializou o efeito da vacina (Figura 4), pois mitigou os efeitos nocivos do estresse, principalmente contribuindo para a redução de cortisol plasmático e aumento de células de defesa orgânica.



Figura 4. Tilápia do Nilo alimentadas com dieta suplementada com 500 mg kg⁻¹ de vitamina C e vacinada contra *F. columnare* (**A**) e sem suplementação com vitamina C e desafiada com a mesma bactéria. Animal apresentando corrosão nas nadadeiras caudal e lateral, isquemia, exoftalmia e escurecimento corporal (**B**). Pilarski (2004).

b) Vitamina E

A vitamina E (alfa-tocoferol) (Figura 5) é lipossolúvel e constitui a primeira linha de defesa dos sistemas biológicos. Protege as membranas dos compostos oxidáveis do citoplasma celular, promovendo a estabilização dos ácidos graxos insaturados e quebrando as cadeias de peróxidos, que podem provocar danos aos componentes intracelulares, incluindo membranas, ácidos nucléicos e enzimas, e desencadear enfermidades diversas (Waagbo, 1994). A vitamina E também protege os lipídios da oxidação (Thakur & Srivastava, 1996) e aumenta a absorção de vitamina A (Conn & Stumpf, 1984).

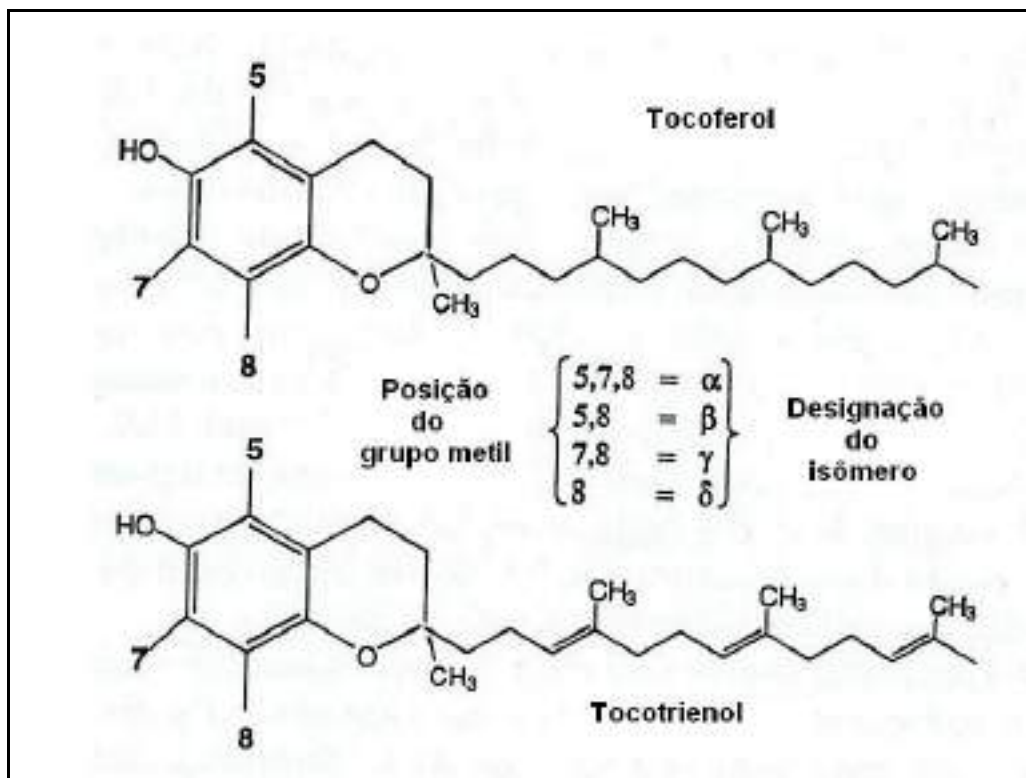


Figura 5. Estrutura da vitamina E.

Na natureza são encontradas oito moléculas de vitamina E com estruturas diferentes. Quatro moléculas de tocoferol (α , β , δ e γ) e quatro moléculas de tocotrienol (α , β , δ e γ), que diferem entre si pela localização do grupo metil do anel aromático de sua cadeia molecular (Devlin, 1998). Todas essas moléculas possuem atividade antioxidante, todavia o α -tocoferol é quimicamente e biologicamente o mais ativo (Schneider, 2005).

O α -tocoferol é um potente antioxidante biológico, que reage com o radical peróxido ácido graxo, produto primário da peroxidação lipídica, interceptando a reação em cadeia e protegendo, assim, as membranas biológicas e os compostos lipídicos contra o ataque dos radicais livres (Huang & Huang, 2004).

As formas esterificadas do α -tocoferol (acetato, succinato, nicotinato ou fosfato), comumente presentes em suplementos dietéticos, são hidrolizadas pela enzima pancreática carboxil éster hidrolase no intestino (Figura 6), numa reação bile-ácido-dependente (Schneider, 2005). Após a ingestão e absorção gastrointestinal, a vitamina E é distribuída pelo sangue para os tecidos (Blatt et al., 2001).

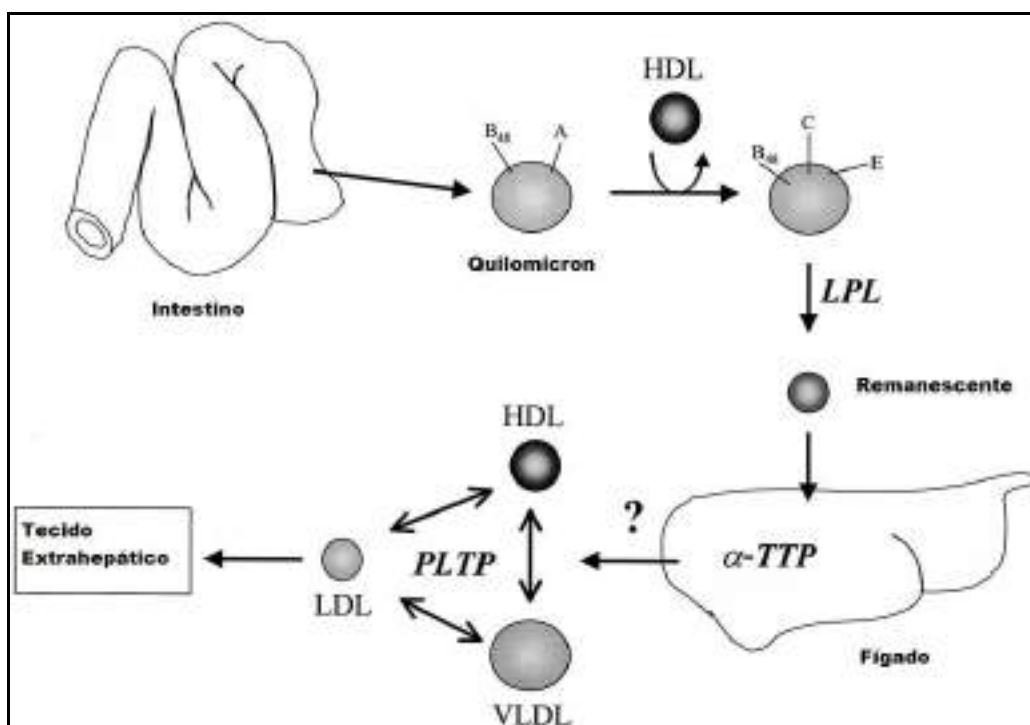


Figura 6. Absorção, transporte e distribuição do tocoferol. Azzi & Stocker (2000).

Durante o processo de oxidação provocado pelos ácidos graxos, o tocoferol forma radicais tocoferil, os quais são novamente reduzidos por outros antioxidantes, principalmente o ácido ascórbico (em meio aquoso) e a ubiquinona (meio lipofílico). Com a deficiência de ambos antioxidantes, os radicais de tocoferol desempenham a função de agente oxidante, efeito antagônico a de pró-oxidante (Bowry et al., 1992).

O α -tocoferol demonstra moderada atividade anticoagulante. A tocoferilquinona é um potente anticoagulante e um inibidor de vitamina K dependente da carboxilase, que controla a coagulação sanguínea (Dowd & Zheng, 1995).

O tocoferol natural sofre perdas substanciais de sua atividade nos alimentos processados ou armazenados (Lovell, 1998), aceleradas principalmente pelo calor. Porém, desde a esterificação de vitaminas, houve uma melhora em sua estabilidade, e suplementos comerciais usualmente contêm acetato de d- α -atocoferil ou acetato dl- α -atocoferil (McDowell, 1989).

A vitamina E é utilizada na suplementação de dietas com a finalidade de estimular o crescimento, a resistência ao estresse e o sistema imune dos peixes. Também pode ser eficiente na conservação do pescado durante o processamento e estocagem, inibindo a degradação dos lipídios pela oxidação

(Lim & Webster, 2001). Sua deficiência causa perda do apetite, redução do crescimento, exoftalmia, ascite, escurecimento da superfície corporal, anemia, brânquias pálidas e disformes, encurtamento do opérculo, distrofia muscular, prejuízo à produção de eritrócitos, menor resposta de anticorpo, despigmentação e acúmulo de gordura no fígado (Tacon, 1992; Bai & Lee, 1998). Cortes histológicos de musculatura de peixes alimentados com dieta isenta de vitamina E revelaram fibras atrofiadas, necrosadas e com infiltrado inflamatório de leucócitos no tecido conectivo (Chen et al., 2004).

A concentração de α -tocoferol nos tecidos também pode ser afetada significativamente pela sua quantidade na ração. Existe uma correlação linear entre o aumento da deposição de vitamina E nos tecidos e o aumento do nível de sua suplementação na dieta, até posterior saturação (Galvin et al., 1998). Já em situações de deficiência desta vitamina, o fígado disponibiliza a vitamina E armazenada nos tecidos. Isso compromete a integridade estrutural dos lipídios que compõem a membrana celular e facilita o seu rompimento, que é caracterizado pelo escurecimento do tecido (Meydani et al., 2005).

As exigências de vitamina E para o crescimento dos peixes são apresentadas na Tabela 2. Essas exigências aumentam quando há um aumento na ingestão de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) (Watanabe et al., 1981; Hamre & Lie, 1995; Shiau & Shiau, 2001), como observado em tilápia do Nilo, cuja exigência por vitamina E variou entre 42-44 mg/kg⁻¹ e 60-66 mg kg⁻¹ quando a dieta tinha em sua composição 50 e 120 g lipídios, respectivamente (Shiau & Shiau, 2001). Para tilápia híbrida (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*), a exigência por vitamina E foi de 62,5 UI kg⁻¹ quando a dieta continha 12% de óleo oxidado (Huang & Huang, 2004). Esse maior nível de vitamina E nas dietas é explicado pela sua capacidade de proteger os ácidos graxos poliinsaturados durante sua absorção e metabolismo (Huang et al., 2004).

Tabela 2. Exigência de vitamina E para o crescimento de peixes cultivados.

Espécie	Exigência (mg/kg ⁻¹)	Referência
<i>Salmo salar</i>	30	NRC (1993)
<i>Ictalurus punctatus</i>	50	Wilson et al. (1984)
<i>Cyprinus carpio</i>	200-300	Watanabe et al. (1977)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	100	Watanabe et al. (1981)
<i>Oreochromis niloticus</i>	50-100	Satoh et al. (1987)

A interação da vitamina E da dieta com o sistema antioxidante dos peixes foi observada por Tocher et al. (2002). Uma menor quantidade de vitamina E na dieta reduziu os níveis da vitamina nos músculos e aumentou a atividade oxidante do organismo, produzindo altos níveis de peróxidos lipídicos. Gatlin III et al. (1992) encontraram resultados similares,

observando que a suplementação de vitamina E, em níveis acima de 240 mg/kg⁻¹, na dieta aumentou a concentração de tocoferol nos tecidos e proporcionou menor oxidação lipídica após processamento.

Otani (2009) avaliou a influência da suplementação com vitamina E (100 mg/kg⁻¹) na qualidade de filés congelados de tilápia submetidas a dois métodos de abate (imersão em gelo e sangria). A suplementação dietética com vitamina E não interferiu no desempenho produtivo dos animais, todavia, influenciou positivamente a composição centesimal e a oxidação lipídica, protegendo os filés durante o período de estocagem.

Baker & Davies (1996) observaram que o crescimento do bagre africano *Clarias gariepinus* foi reduzido quando os lipídios da dieta foram oxidados. A adição de vitamina E nas dietas rancidificadas aumentou significativamente o crescimento dos peixes.

A deficiência de vitamina E em peixes tem sido associada à baixa resistência a agentes estressores, rápida elevação do cortisol, alterações hematológicas e imunes e redução do crescimento (Montero et al., 2001; Chen et al., 2004; Belo et al., 2005). Montero et al. (1998) verificaram que *Sparus aurata* alimentados com dietas contendo baixos teores de vitamina E (18,5 mg/kg⁻¹) tinham níveis plasmáticos mais elevados de cortisol, quando comparados com peixes arraçados com dietas suplementadas com 167,5 mg kg⁻¹ de vitamina E.

Zhong et al. (2007) estudaram o efeito de dietas suplementadas com lipídios oxidados e vitamina E em salmões do Atlântico. Os autores relataram que o óleo oxidado provocou deficiência de vitamina E em alguns tecidos de peixes alimentados com dieta deficiente desta vitamina. Relataram também que a mistura de tocoferol (δ e γ) desempenhou um bom papel antioxidante para o salmão, embora menos efetiva que o α -tocoferol em muitos tecidos, com exceção dos músculos, onde o δ e γ tocoferol foram depositados em níveis mais elevados.

A suplementação com vitamina E em níveis acima do recomendado é sugerida para incrementar as funções do sistema imune e conseqüentemente a resistência a doenças (Clerton et al., 2001). Em truta arco-íris, a suplementação de 295 mg de vitamina E/kg⁻¹ promoveu um aumento significativo da fagocitose pelos leucócitos isolados do intestino e os autores sugeriram que o efeito da vitamina E parece ser maior sobre a resposta local (intestino) do que sobre as respostas sistêmicas (rim anterior) (Clerton et al., 2001).

Lin & Shiau (2005) estudaram o efeito de dietas suplementadas com seis níveis de tocoferol (0, 25, 50, 100, 200, 400 e 800 de mg/kg⁻¹) e dois níveis de lipídios (4 ou 9%) sobre a resposta imune de garoupas *Epinephelus malabaricus*, e concluíram o que a suplementação com tocoferol foi essencial para o crescimento normal da espécie em estudo. A suplementação com 200-400 mg/kg⁻¹ de tocoferol e 4 ou 9% de lipídios, resultou em uma melhor resposta imune dos peixes (maior número de células de defesa orgânica, “burst” respiratório de leucócitos, atividade da lisozima e do sistema complemento), sugerindo que níveis elevados desta vitamina contribuem mais para a manutenção da imunidade do que para o crescimento. Resultados similares foram observados no *Sparus aurata* (Ortuño et al., 2000; Cuesta et al., 2001).

Vários autores relatam que a suplementação dietética com a vitamina E em peixes auxilia na resposta inflamatória por aumentar expressivamente a quantidade de células de defesa e na prevenção da imunossupressão em resposta a estímulos estressores (Ortuño et al., 2000; Belo et al., 2005; Martins et al., 2008). Dietas suplementadas com 450 mg kg⁻¹ de vitamina E reduziram os níveis plasmáticos de cortisol em pacu, favorecendo o acúmulo de macrófagos e a formação de gigantócitos em lamínulas de vidro implantadas no tecido subcutâneo da espécie (Belo et al., 2005).

Iwashita (2008) estudou a influência da suplementação dietética com vitamina E na cinética do processo cicatricial induzido em tilápia do Nilo e verificou que o índice de retração cicatricial foi significativamente maior no grupo suplementado, fato atribuído à contribuição do maior número de células inflamatórias, células mucosas, cromatóforos e à maior produção e organização das fibras de colágeno que foram significativamente maiores nos diferentes tempos. Os resultados indicam que o efeito nutricional da vitamina E promove o processo de reparação tecidual em tilápia do Nilo.

Interação das vitaminas C e E

A interação das vitaminas C e E aparentemente ocorre no âmbito celular, entre a membrana e o citosol (Shiau & Hsu, 2002). A vitamina C possui a capacidade de reciclar a vitamina E, partindo dos radicais oxidados do tocoferol (Ji et al., 2003). Supõe-se que o α -tocoferol tenha sua cadeia fitil posicionada na região interna da membrana, na parte hidrofóbica, enquanto o grupo OH (reativo e polar) reside próximo ou junto à superfície da membrana celular, ficando acessível aos componentes solúveis em água, como o ácido ascórbico, o qual pode reduzir o radical α -tocoferol, pela doação de um H para um peróxido de lipídio, formando um radical ascorbil e um radical α -tocoferol (Okamura, 2007). Dessa forma, a adição de vitamina C inibe a perda do α -tocoferol presente nas membranas, retardando a oxidação dos lipídios e protegendo as membranas celulares (Hamre et al., 1997; Ortuño et al., 2001).

As vitaminas C e E estão envolvidas no aumento das respostas imunes específica e não-específica (Wahli et al., 1998; Ortuño et al., 2001; Shiau & Hsu, 2002; Puangkaew et al., 2004), prevenindo a imunossupressão (Waagbo, 1994; Montero et al., 1999; Belo et al., 2005), aumentando o “burst respiratório” (Waagbo, 1994; Ortuño et al., 2001), auxiliando na resposta inflamatória (Belo et al., 2005; Reno et al., 2005; Bozzo, 2007) e melhorando a atividade fagocítica (Ortuño et al., 2001; Sahoo & Mukherjee, 2002; Puangkaew et al., 2004).

Em pirarucus *Arapaima gigas* criados em tanques-rede durante 45 dias, a eficácia da suplementação dietética das vitaminas C e E em respostas fisiológicas foi avaliada. Os peixes que receberam a suplementação de vitamina C (800mg de kg⁻¹ de ração) e vitaminas C+E (800 mg e 500 de mg/kg⁻¹ de ração, respectivamente) apresentaram maior ganho de peso, sobrevivência, aumento no hematócrito, concentração de hemoglobina e número de eritrócitos. A suplementação de vitamina E ocasionou ainda redução do número de trombócitos totais, linfócitos e neutrófilos, além de aumentar os níveis de glicose e os eosinófilos (Menezes et al., 2006).

Andrade et al. (2007) avaliaram a influência da suplementação das vitaminas C e E (500, 800 e 1200 mg/kg⁻¹) em parâmetros sanguíneos do pirarucu e observaram que o ganho de peso e mortalidade não foram afetados nem pelo tipo de vitamina ou pela sua concentração. Em adição, a suplementação das vitaminas C e E resultou no aumento significativo do número de eritrócitos (800 e 1200 mg AA/kg⁻¹), de leucócitos (500-1200 mg de AA/kg⁻¹) e de proteínas totais (todos os níveis de vitamina E e C, com exceção de 500 mg AA/kg⁻¹). Ainda, um aumento da glicose plasmática foi observado nos peixes suplementados com 800 ou 1200 mg de vitamina E/kg⁻¹ da dieta. Esses resultados sugerem que os níveis de 800 e 1200 mg AA/kg⁻¹ de dieta são adequados para o pirarucu e que os altos níveis de vitamina E não são necessários para aumentar o número de leucócitos na espécie.

Ortuño et al. (2001) observaram em *Sparus aurata*, que a suplementação com as vitaminas C e E promoveu aumento da atividade fagocitária de leucócitos no rim anterior. Por outro lado, Sealey & Gatlin III (2002), ao oferecerem ao híbrido *Morone chrysops* x *M. saxatilis* suplementação com megadoses de vitaminas C e E na ração, verificaram ineficácia contra infecção experimental com *Streptococcus iniae*. Observa-se, algumas vezes, que megadoses podem não surtir efeito sobre o organismo.

A eficácia da combinação das vitaminas C e E na dieta de *Oncorhynchus mykiss* foi avaliada por Wahli et al. (1998). Altas doses de vitamina C (2.000 mg/kg⁻¹) e E (800 mg/kg⁻¹) diminuíram a mortalidade em peixes infectados com *Yersinia ruckeri* e *Ichthyophthirius multifiliis*. Em adição, a atividade do sistema complemento e a porcentagem de trombócitos de *Notemigonus crysoleucas* foi decorrente da interação das vitaminas C e E, e a melhor combinação destas vitaminas foi de 98 a 222 mg AA/kg⁻¹ com 38 mg vitamina E/kg⁻¹ da dieta (Chen et al., 2004).

De forma semelhante, Garcia et al. (2007) estudaram a resposta hematológica de pacus *Piaractus mesopotamicus* alimentados com dietas suplementadas com as vitaminas C e E e desafiados com *Aeromonas hydrophila*. Os autores analisaram o perfil hematológico, a ocorrência de sinais clínicos e a taxa de mortalidade dos peixes. Embora a suplementação com as vitaminas C e E não tenha diminuído a taxa de mortalidade dos peixes frente ao desafio com a bactéria, concluiu-se que para peixes criados em sistema intensivo, em que a principal fonte de nutrientes é oriunda da ração, a suplementação com as vitaminas C e E assume grande importância. De acordo com as respostas hematológicas, para juvenis de pacus, os níveis das vitaminas C e E recomendados são 500 e 250 mg/kg⁻¹ de ração, respectivamente.

Martins et al. (2008) observaram que tilápias do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com as vitaminas C e E (500 mg/kg⁻¹ de ambas as vitaminas) por 30 dias mostraram aumento no número de células no foco inflamatório, quando comparados aos não suplementados, após injeções de carragenina e LPS. A suplementação vitamínica promoveu maior acúmulo de células de defesa (leucócitos e trombócitos) na bexiga natatória após o estímulo inflamatório, mais uma vez ressaltando os efeitos benéficos da suplementação vitamínica para o sistema imune dos peixes.

A associação da vitamina C e E também promove efeitos positivos em ovos de peixes. Furuita et al. (2009) investigaram o efeito da injeção destas vitaminas nos ovos de enguia japonesa *Anguilla japonica* nos estágios inicial

e final de maturação e concluíram que a injeção, de ambas as vitaminas, promoveu maior sobrevivência e normalidade das larvas, demonstrando que a injeção vitamínica, durante o processo de maturação artificial de ovos de enguia japonesa aumenta a quantidade de vitamina nos ovos e melhora sua qualidade.

c) Vitamina A

A vitamina A, também conhecida como retinol, é um álcool primário polietilênico e lipossolúvel (Figura 7), apresentando grande capacidade reativa (Beitune et al., 2003). O termo vitamina A é empregado para designar todos os derivados da betaionona, que possuam atividade biológica de retinol, exceto os carotenóides. Possui quatro formas ativas, tais como o retinol, o retinal (retinaldeído), ácido retinóico e o éster de retinila. O ácido retinóico é a maior forma biológica ativa da vitamina A. Estas substâncias são sintetizadas pelas plantas numa forma mais complexa, os carotenóides, os quais são clivados a all-trans-retinal e logo depois a retinol na maioria dos animais e armazenados no fígado como palmitato de retinol. Existem duas vias propostas para a clivagem oxidativa de carotenóides em vitamina A: a via intrínseca, com produção direta de retinal a partir do β -caroteno, e a extrínseca, com clivagem química não enzimática de carotenóides a carotenal (Guimarães, 2009).

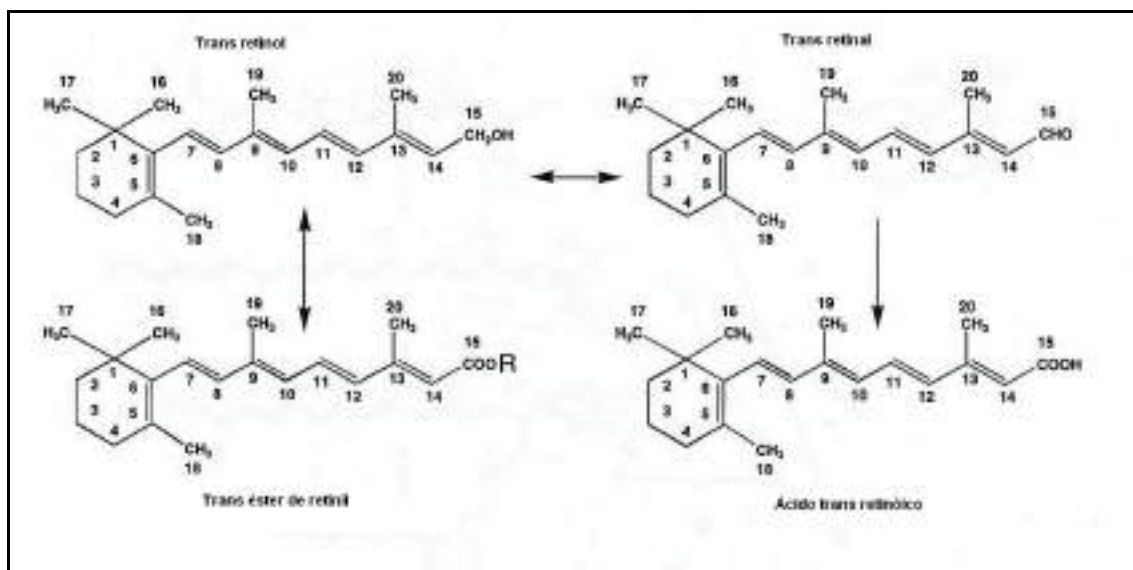


Figura 7. Estrutura da vitamina A.

Aproximadamente 50 carotenóides possuem ação biológica de vitamina A e o de maior atividade *in vivo* é o β -caroteno, um dímero do retinol. A estrutura dos retinóides é relativamente simples e cada forma molecular apresenta uma modificação no carbono da 15ª posição (C_{15}) do grupo funcional correspondente. Os retinóides que possuem ação de vitamina A são o retinol, o éster de retinila e o retinal (Saari, 1994).

No processo de digestão e absorção da vitamina A, há a participação ativa de várias enzimas. Ésteres de retinil presentes nos ingredientes de origem animal são hidrolisados no intestino pela ação da enzima pancreática (lipase triacilglicerol) e pela enzima fosfolipase B. O retinol formado é absorvido nos enterócitos na forma livre, ou associado a proteínas, que se ligam ao retinol ou a outras moléculas lipídicas (Buddington et al., 2002). Após absorção transapical, o retinol intracelular se transforma em retinol celular ligando-se a proteína tipo II (CRBPII)². Os ésteres de retinol e carotenóides são incorporados a quilomicrons, que são liberados nos canais linfáticos intestinais. Parte do retinol não esterificado é absorvida via sangue, partindo da via quilomícron-linfática e exportado para o sistema circulatório (Figura 8) (Harrison, 2005).

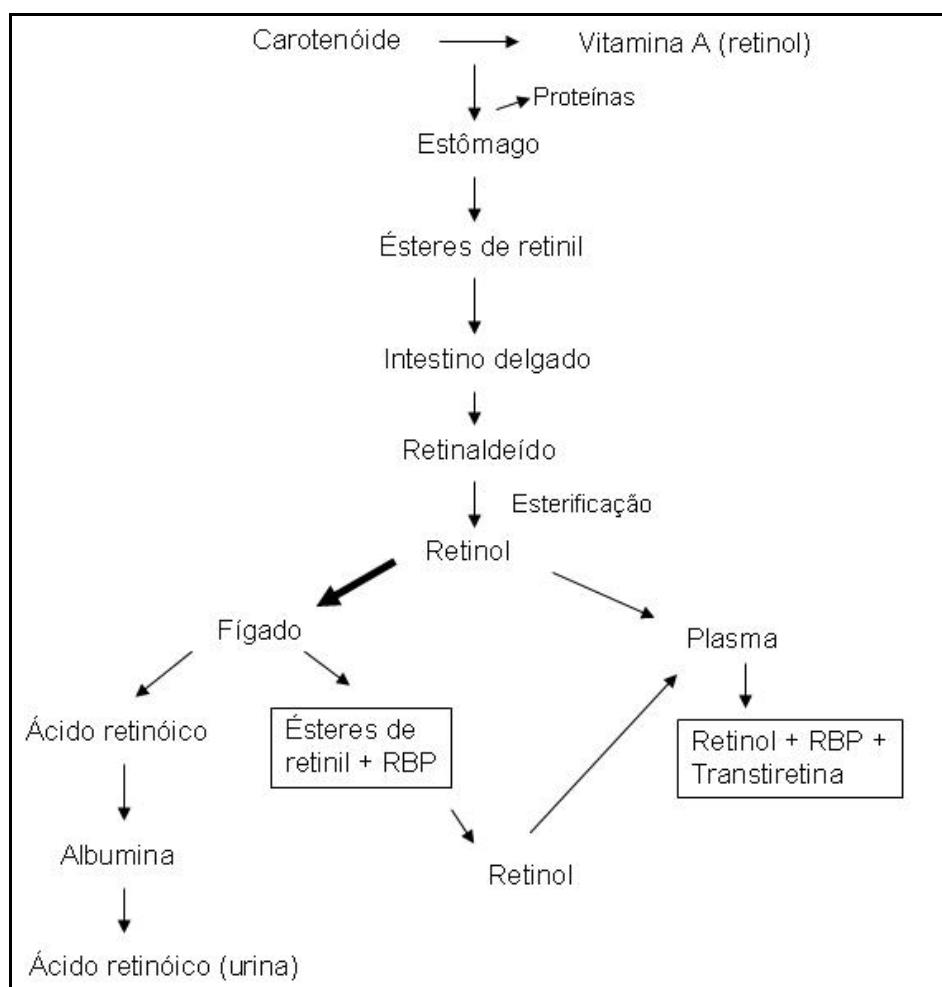


Figura 8. Metabolismo da vitamina A. Beitune et al. (2003).

Os tecidos extraem a maior parte dos lipídios e parte dos carotenóides dos quilomicrons circulantes. Após circularem pelo organismo, os quilomicrons tornam-se remanescentes e são metabolizados pelas células parenquimais do fígado. O éster de retinila é então hidrolisado a retinol antes de ser transferido para as células armazenadoras de gordura. O retinol é transportado diretamente das células parenquimais para as células armazenadoras de lipídios através dos desmossomos (Blaner & Olson, 1994). O armazenamento da vitamina A é feito sob forma de ésteres de retinil. Cerca de 50%-80% da vitamina A no corpo são estocados no fígado (Figura 7), onde a vitamina é ligada à proteína ligadora de retinol (PLR). Esse estoque regula os efeitos de variabilidade nas taxas de ingestão de vitamina A, particularmente contra os riscos de deficiência, durante os períodos de baixa ingestão dessa vitamina. A administração de pequenas quantidades de vitamina E aumenta o armazenamento do retinol nos tecidos (Beitune et al., 2003).

Quando o organismo necessita imediatamente de vitamina A, o retinol recém adquirido através da dieta pode ligar-se à proteína carreadora de retinol (RBP), produzida pelas células parenquimais, e o complexo retinol-RBP é secretado na circulação sanguínea. Na circulação, o retinol-RBP liga-se a pré-albumina, também produzida pelo fígado, formando um complexo que previne perdas da vitamina no processo de filtração dos rins (Blomhoff et al., 1991).

As diversas formas de vitamina A podem apresentar funções específicas de acordo com o tecido, órgão ou sistema orgânico. O retinal está envolvido no processo visual, o retinol é essencial no processo reprodutivo e o ácido retinóico e seus derivados modulam a expressão gênica, a diferenciação e o padrão de formação celular durante a morfogênese. A especificidade de cada etapa desses processos pode aumentar quando se considera a utilização dos isômeros *cis* ou *trans* dessas substâncias (Saari, 1994).

No caso específico dos peixes, 90% da vitamina A armazenada é encontrada no fígado e os 10% restantes estão divididos entre os olhos, plasma, gordura e aparelho reprodutivo (Katsuyama & Matsuno, 1988).

A vitamina A desempenha várias funções, principalmente na síntese de algumas glicoproteínas e glicosaminoglicanos, agindo como hormônios esteróides na regulação do crescimento e na diferenciação celular, na manutenção normal dos processos vitais e no sistema imune (Butte et al., 2002; Devlin, 2002).

O ácido retinóico é muito importante no sistema imune dos animais, pois ele é responsável por manter níveis adequados de células *natural killer* (NK) circulantes, que possuem atividade antiviral e antitumor (Zhao & Ross, 1995). Também contribui para o aumento da capacidade fagocitária de macrófagos, sendo importante no processo de diferenciação dos leucócitos. Há evidências de que esta vitamina module a resposta de células fagocitárias, estimulando a fagocitose, a ativação da citotoxicidade mediada por células e aumentando a expressão de receptores de interleucina-2 em suas células precursoras. O ácido retinóico proporciona liberação seletiva de interleucina-1 por monócitos (Trechsel et al., 1985). Adicionalmente, o ácido retinóico aumenta a porcentagem de células linfóides, que expressam marcadores de superfície de linfócitos-T auxiliares, o que sugere uma atuação diferenciada dos vários retinóides na imunidade celular, específica (Parent et al., 1984).

Esta vitamina também é componente da proteína rodopsina, um pigmento que absorve luz e é encontrada na retina dos olhos. São os carotenóides os responsáveis pela pigmentação amarelada da córnea de peixes da família dos ciclídeos de hábito diurno (Muntz, 1981). Em adição, a concentração deste pigmento é responsável pela adaptação das espécies à quantidade de luz presente nos diferentes habitats (Landolt, 1989).

Ogata & Oku (2001) alimentando *Pagrus major* com dieta suplementada com ácido retinóico (100 mg/kg) observaram o efeito da vitamina na composição corporal desta espécie. Peixes que receberam a dieta suplementada com quantidades reduzidas do ácido (10 mg/kg⁻¹) tinham peso corporal abaixo da média e os que receberam doses maiores (100 mg/kg⁻¹) deposição de lipídios superior.

A vitamina A não pode ser sintetizada pela maioria dos animais, dependendo da suplementação dietética para suprir esta necessidade. Muitos vegetais contêm compostos isoprenóides, conhecidos como carotenóides, os quais podem ser convertidos em vitamina A pela ação de enzimas específicas por difusão passiva (Blomhoff, 1994).

Alguns estudos mostram que os carotenóides são suplementos benéficos para várias espécies de peixes, influenciando no desempenho dos reprodutores (Storebakken & Goswami, 1996) e da prole (Verakunpiriya et al., 1997) e aumentando a resistência a doenças (Tachibana et al., 1997). Dentre os carotenóides, a astaxantina e o β -caroteno se destacam por elevarem os fatores humorais (atividade complemento e lisozima) e celulares (fagocitose e citotoxicidade não-específica) (Amar et al., 2000, 2001).

Com relação aos níveis de exigência de vitamina A, estes são definidos como a concentração mínima que resulta na maior taxa de crescimento, maior concentração de vitamina testada no fígado e ausência de modificações sanguíneas ou histológicas (Hepher, 1988). Para peixes de água doce, os níveis de inclusão de vitamina A para um crescimento favorável foi calculada entre 600 (2000 UI) a 1200 $\mu\text{g/kg}^{-1}$ (4000 UI) (Shim & Tan, 1990) (Tabela 3).

Tabela 3. Exigência de vitamina A para o crescimento de peixes cultivados.

Espécie	Exigência (UI kg ⁻¹)	Referência
<i>Cyprinus carpio</i>	4000 - 20000	NRC (1993)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	2500	NRC (1993)
<i>Ictalurus punctatus</i>	1000 - 2000	NRC (1993)
<i>Oreochromis niloticus</i>	5850 - 6970	Hu et al. (2006)
<i>Oreochromis niloticus</i>	4800	Bacconi (2003)
<i>Oreochromis niloticus</i>	1543 - 2403	Guimarães (2009)

Peil et al. (2007) estudaram a inclusão de diferentes níveis de vitamina A (3000, 9000 e 15000 UI/kg⁻¹) na dieta de pós-larva de jundiá *Rhamdia quelen* e os resultados comprovaram que a adição de 3000 UI de vitamina A na dieta aumenta a sobrevivência e o desempenho produtivo das pós-larvas. Bacconi (2003) estudou a exigência de vitamina A (0, 600, 1200, 1800, 2400, 3000, 3600, 4200 e 5400 UI de retinol/kg⁻¹) em alevinos de tilápia do Nilo alimentados durante 75 dias e concluiu que o nível de 4800 UI de retinol kg⁻¹ foi suficiente para um bom desenvolvimento dos peixes. Nos animais que receberam dieta isenta de vitamina A o baço estava necrosado e granulomatoso e havia esplenomegalia. O fígado e todo o trato digestório apresentaram-se visualmente amorfos. Foram encontrados ainda os seguintes sinais característicos de deficiência de vitamina A: hemorragia na base da nadadeira lateral, catarata, exoftalmia, ascite, dilaceração renal e palidez do fígado. Os sinais clínicos característicos de deficiência diminuíram à medida que o nível de suplementação dietética do nutriente aumentou.

Sinais de deficiência de vitamina A em peixes estão relacionados com redução do crescimento, dos depósitos de gordura e do tamanho do fígado, danos ao epitélio, tecidos ósseo e conectivo (perda de massa muscular), redução na pigmentação e na sobrevivência dos peixes (Ornsrud et al., 2002). A deficiência dessa vitamina está associada também à redução da atividade de células NK e à habilidade de células esplênicas em produzir interferon. Adicionalmente, essa deficiência associa-se à redução da produção de anticorpos contra polissacarídeos bacterianos e antígenos protéicos (Pasatiempo et al., 1990).

Taveekijaram et al. (1994) observaram sinais clínicos semelhantes em *Oncorhynchus masou* alimentados com dieta deficiente em vitamina A após 105 dias de experimento. As lesões hepáticas foram as mais evidentes e os sinais de severidade aumentaram com o decorrer do tempo.

Goswami & Dutta (1991) observaram que *H. fossilis* alimentados com dietas isentas de suplementação com vitamina A apresentaram anemia, redução da taxa de hemoglobina, redução no número de eritrócitos, leucócitos e trombócitos, inibição da síntese de eritroblastos, redução do tamanho do citoplasma e do núcleo de corpúsculos celulares. Os peixes alimentados com dieta deficiente em vitamina A, por longo período de tempo, utilizam primeiramente a vitamina A armazenada no fígado e posteriormente nos olhos, ficando carentes de reserva desta vitamina e com maior susceptibilidade a enfermidades, principalmente bacterianas (Graham & Jones, 1969). Na truta arco-íris, essa deficiência promoveu uma redução na migração de leucócitos em comparação aos grupos suplementados com vitamina A (Thompson et al., 1995).

Guimarães (2009) avaliou o efeito de megadoses (2500, 5000, 10000, 20000 UI kg⁻¹) e ausência de vitamina A na dieta sobre o desempenho, parâmetros hematológicos, imunológicos e resistência de tilápias do Nilo à infecção experimental com *Streptococcus iniae*. A suplementação com vitamina A influenciou o crescimento dos animais e os melhores níveis para o ótimo fisiológico variaram de 1543 a 2403 UI kg⁻¹ da dieta. A deficiência da vitamina provocou redução no desempenho da espécie, hemorragias na pele, lábios e base das nadadeiras, apresentando quadro hemorrágico severo após 10 semanas, com deformidade óssea e nos opérculos, todavia, demonstrou limitada influência sobre as respostas imunes (produção de ânion superóxido,

imunoglobulina sérica e atividade da lisozima) e na resistência dos animais à infecção por *S. iniae*. O autor sugeriu que a vitamina A possui grande poder antioxidante, evidenciado pela reduzida fragilidade eritrocitária. Sugeriu, ainda, que o excesso de vitamina A pode ocasionar problemas metabólicos a longo prazo.

No estudo supracitado, com tilápia do Nilo, após o estímulo pelo frio e desafio com *Aeromonas hydrophila*, os peixes que receberam dieta com 6400 UI kg⁻¹ apresentaram as menores produções de H₂O₂ e NO e os peixes suplementados com 800 e 3200 UI kg⁻¹ os maiores valores. A vitamina A também influenciou a atividade do “burst” respiratório de monócitos. Com base no perfil de proteínas plasmáticas pode-se estimar que o nível de 4138 UI kg⁻¹ proporciona maior higidez às tilápias (Guimarães, 2009).

No processo reprodutivo dos peixes de água doce, o retinal é depositado nos oócitos dos peixes como fonte de ácido retinóico para o futuro embrião (Irie & Seki, 2002). Nesse sentido, Also et al. (2008) estudaram as exigências de ácido retinóico na reprodução de peixe zebra. Peixes alimentados com dieta deficiente em vitamina A demonstraram redução de retinóides no corpo (retinol e retinal), 68% em fêmeas e 33% nos machos. As fêmeas também produziram 73% menos ovos, e os produzidos continham 78% menos retinóides que os peixes alimentados com dietas suplementadas com vitamina A. As fêmeas foram mais afetadas durante o período reprodutivo pela falta de vitamina A do que os machos. Os autores concluíram que a vitamina A desempenha papel fundamental na reprodução desta espécie.

Na última década, muitos estudos têm relatado a influência das vitaminas na deformidade de larvas. Em particular, elevados níveis de vitamina A têm demonstrado afetar negativamente a morfogênese durante as primeiras semanas de vida, quando o ácido retinóico induz malformações no esqueleto de muitas espécies de larvas de peixes (Dedi et al., 1995; Suzuki et al., 1999). Em larvas de salmão do Atlântico, a suplementação de altos níveis de vitamina A (938 mg de retinol kg⁻¹) provocou redução do crescimento, do tamanho do fígado e do depósito de tecido adiposo, sendo observado também danos ao tecido ósseo e taxa de mortalidade elevada (Ornsrud et al., 2002). Villeneuve et al. (2005) alimentaram larvas de *Dicentrarchus labrax* com níveis crescentes de vitamina A (0, 10, 50, 250 e 1000 mg/kg⁻¹) e observaram que as alimentadas com 1000 mg kg⁻¹ da vitamina tinham peso corporal 19 e 27% menor do que as alimentadas com 50 mg kg⁻¹. Esse mesmo nível também provocou falha no crescimento e anormalidades no esqueleto e afetou a maturação do intestino e do pâncreas. Os pesquisadores observaram uma correlação linear entre nos níveis de vitamina A e a porcentagem de malformações, concluindo que a suplementação com níveis elevados de vitamina A durante o estágio larval induziu malformações no esqueleto e o melhor nível de suplementação de vitamina A para esta espécie foi de 31 mg kg⁻¹.

Níveis elevados de vitamina A (0,08 g/kg⁻¹) e ácidos graxos poliinsaturados (175 g/kg⁻¹ de lecitina de soja) foram avaliados durante várias fases do desenvolvimento larval de *Dicentrarchus labrax*. A morfogênese das larvas foi afetada pela dieta suplementada com estes dois nutrientes, principalmente nos estágios iniciais do desenvolvimento, resultando em dois tipos de malformação, ou seja, redução do número de

segmentos vertebrais e malformação da espinha na região cefálica (Villeneuve et al., 2006).

Mazurais et al. (2008) testaram a influência de uma alimentação suplementada com uma mistura de vitaminas recomendada pelo Council's (U.S) no processo de ossificação de larvas de *Dicentrarchus labrax* durante 38 dias. As porcentagens testadas foram 0,5%, 1,5%, 2,5%, 4,0% e 8,0%. Todas as larvas alimentadas com o nível 0,5% morreram antes de 30 dias. Após 38 dias, as larvas alimentadas com o nível 1,5% tiveram uma porcentagem de sobrevivência de 33%, enquanto que os demais grupos, com porcentagem de vitamina maior, tiveram uma porcentagem de sobrevivência de 50%. As larvas alimentadas com a dieta suplementada com níveis maiores de vitamina demonstraram menor porcentagem de deformidades na coluna vertebral e maior formação de ossos mineralizados. Já nas larvas suplementadas com níveis reduzidos de vitaminas foi encontrado maior número de receptor peroxissoma ativado (PPARs), que é um importante receptor de proteínas, responsável pela diferenciação celular, desenvolvimento e metabolismo do organismo. O maior número desse receptor encontrado nas larvas possivelmente converteu osteoblastos em adipócitos durante as duas primeiras semanas de vida, e essa perda de osteoblastos possivelmente ocorreu devido às deformações ocorridas na coluna vertebral.

d) Vitamina D

A vitamina D (Figura 9) é uma vitamina lipossolúvel, e ao contrário das vitaminas C, E e A, que são obtidas somente por meio da alimentação, a vitamina D pode ser produzida pelo organismo por uma reação fotossintética após exposição a luz solar. Além disso, devido à sua estrutura química ser semelhante à dos hormônios esteróides, ela é considerada um hormônio (Holick, 1999).

A vitamina D pode ser encontrada em duas formas, como ergocalciferol (vitamina D₂, C₂₈H₄₄O), produzido pelas plantas e convertido em ergosterol, ou como colicalciferol (vitamina D₃, C₂₇H₄₄O) produzido pelos tecidos animais pela ação da luz ultravioleta (290-310nm) e convertido em 7-deidrocolesterol na pele dos animais, sendo convertido posteriormente em pré-vitamina D₃. Uma vez formada, a pré-vitamina D₃, sob indução térmica, produz homodímeros em aproximadamente 24 horas, transformando-se em vitamina D₃ (Figura 10) (Miller & Portalle, 1999; revisto por Chagas et al., 2003).

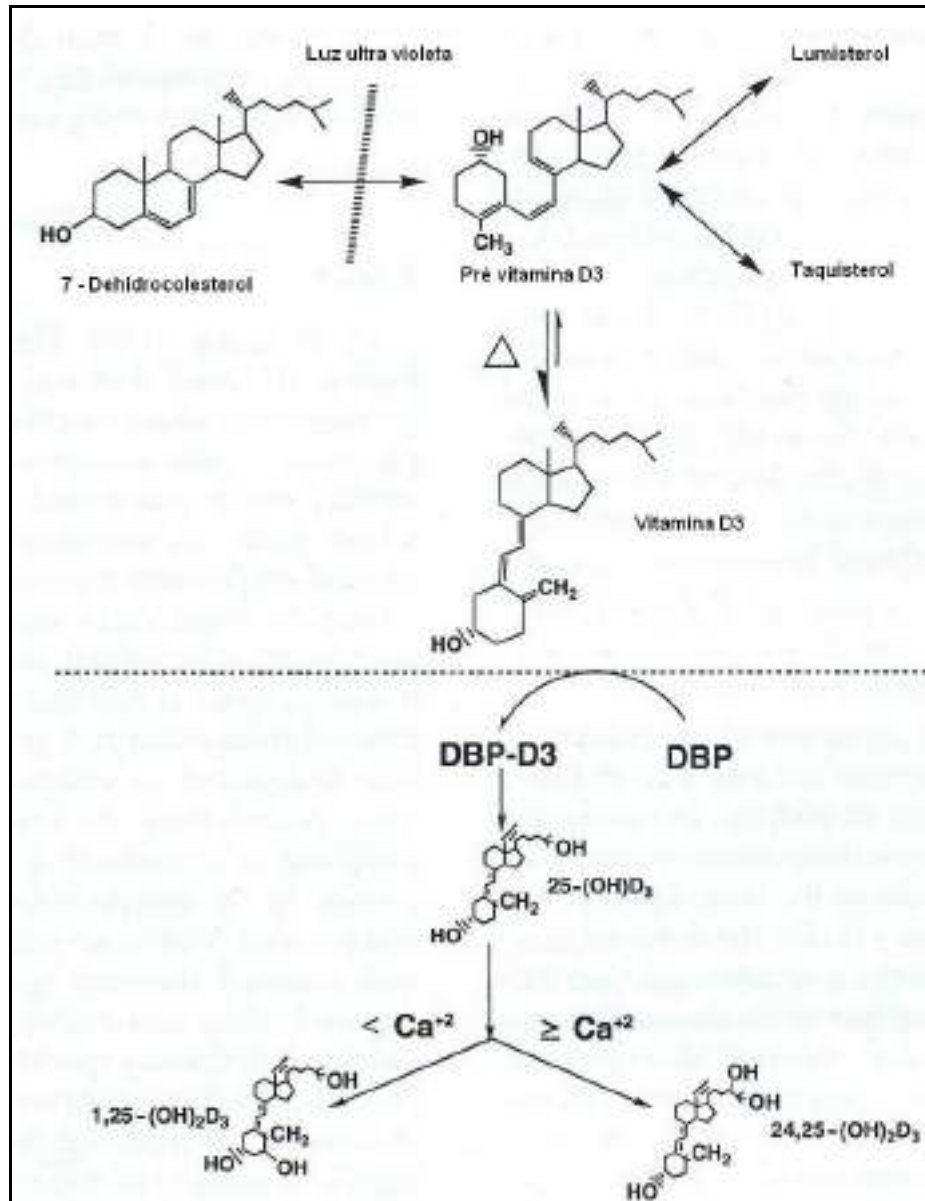


Figura 9. Estrutura da vitamina D.

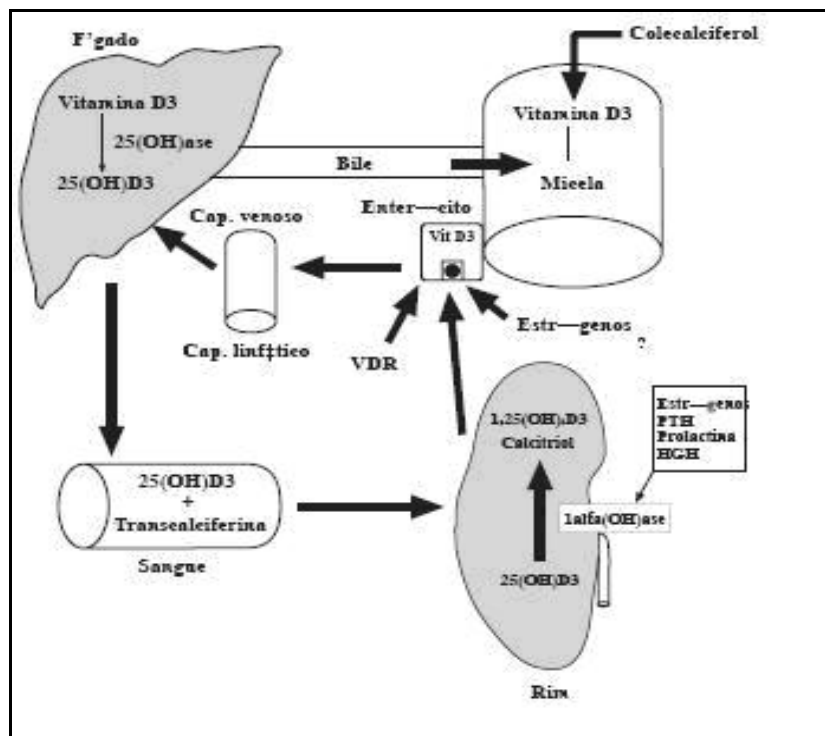


Figura 10. Esquema do metabolismo da vitamina D a partir de sua ingestão sob a forma de colicalciferol até seu retorno ao enterócito na forma de calcitriol. Grudtner et al. (1997).

Os peixes não são capazes de sintetizar a vitamina D, provavelmente pela impossibilidade da luz solar alcançar os níveis mais profundos da coluna d'água (Lovell, 1989). Como esses animais não dispõem de uma via endógena de formação desta vitamina (pele), tem em seu aporte exógeno um importante fator para a manutenção de níveis ideais às necessidades orgânicas. As principais fontes de vitamina D limitam-se a ingestão de plâncton e de alimentos artificiais (Holick, 2004).

Quando ingerida, a vitamina D₃ é absorvida no intestino delgado, incorporada ao quilomícrons e carregada por estes até o fígado. A partir deste momento, o metabolismo é idêntico ao da vitamina D₃ sintetizada pela pele (Holick, 1999). No fígado, a vitamina D₃ é convertida em 25-hidroxivitamina D (25OHD3), denominada calcidiol pela hidroxilação do carbono 25, mediada pela enzima D3-25-hidroxilase (25-OHase), no retículo endoplasmático das células hepáticas. Cerca de 75% da vitamina D circulante são convertidos a 25OHD3 em sua primeira passagem pelo fígado (Prosser & Jones, 2004). Nos peixes teleósteos, como em outros vertebrados, o fígado é o principal órgão de estoque de vitamina D (Cerezuela et al., 2009). A vitamina D gera metabólitos, os quais são denominados de 1,25(OH)₂D, 24R,25

dihidroxitamina D, 24,25 hidroxivitamina D e 24S,25-dihidroxitamina D, formados no rim pela enzima 25-OHD-24-hidroxilase (Henry, 2001).

Os efeitos biológicos da 1,25(OH)₂D são mediados pelo fator de transcrição nuclear conhecido como receptor de vitamina D. Após penetrar no núcleo celular, a 1,25(OH)₂D se associa ao receptor de vitamina D. O complexo formado se liga ao receptor de ácido retinóico formando heterodímeros, que atuam nos elementos resposta da vitamina D, iniciando uma cascata de interações moleculares que irão modular a transcrição de genes específicos (Kimball et al., 2008).

Certos peixes, não somente os teleósteos, que possuem um esqueleto calcificado, possuem elevadas concentrações de vitamina D, em comparação com outros vertebrados maiores, especulando-se que a função desta vitamina e de seus receptores pode ser diferente das funções clássicas comumente relacionadas para animais terrestres (Rao & Raghuramulu, 1999).

As funções básicas do 1,25(OH)₂D estão relacionadas a homeostase do cálcio e fósforo, ao metabolismo ósseo (manutenção da integridade da coluna vertebral) e a regulação de mais de 60 genes situados em diferentes tecidos do organismo (Norman, 2008). Essa vitamina também está envolvida no crescimento e na diferenciação celular, na modulação do sistema imune (receptores de vitamina D são expressos na maioria das células do sistema imune, incluindo células T e antígenos, assim como células dendríticas e macrófagos) e na participação de dois aspectos importantes da função neuromuscular (força e equilíbrio). A deficiência de vitamina D pode levar a redução da secreção de insulina, podendo induzir à intolerância a glicose (Griffin et al., 2003; Lin & White, 2004; Mathieu et al., 2005).

Quanto ao desenvolvimento dos peixes, sabe-se que a vitamina D contribui para o aumento do crescimento e do ganho de peso. A exigência desta vitamina é espécie específica (Tabela 4), e sofre alterações, de acordo com a idade, taxa de crescimento, interação com nutrientes e exposição a agentes estressores, principalmente oscilação térmica, poluentes e outros. A adição de lipídios na dieta facilita a absorção da vitamina D (revisto por Chagas et al., 2003).

Tabela 4. Exigência de vitamina D para o crescimento de peixes cultivados.

Espécie	Exigência (UI kg ⁻¹)	Referência
<i>Ictalurus punctatus</i>	500	Lovell & Li (1978)
<i>Ictalurus punctatus</i>	1000	Andrews et al. (1980)
<i>Ictalurus punctatus</i>	250	Brown (1988)
<i>Ictalurus punctatus</i>	2000	Brown & Robinson (1992)
<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>O. aureus</i>	374,8	Shiau & Hwang (1993)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	1600	Barnett et al. (1982)
<i>Colossoma macropomum</i>	1000	Mendes (2000)

A vitamina D é a mais tóxica de todas as vitaminas, desde que estocada e metabolizada lentamente pelo organismo. Os sinais característicos de hipervitaminose D incluem perda do apetite, hipercalcemia, danos irreversíveis ao rim e ao sistema cardiovascular (Champe & Harvey, 1997; Eitenmiller & Landen Junior, 1999). Deficiências causadas pela ausência de vitamina D na dieta dos peixes provocam redução do ganho de peso, sobrevivência, dos níveis de cálcio e fósforo nos ossos e plasma, potássio no soro, incidência de tetania e lordose, e perda de dentes. Esses sinais de deficiência foram observados em várias espécies de peixes como: *Ictalurus punctatus*, *Oncorhynchus mykiss*, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*, *O. niloticus* e *Colossoma macropomum* (Lovell & Li, 1978; Andrews et al., 1980; Barnett et al., 1982; Brown & Robinson, 1992; Shiau & Huang, 1993; O'Connell & Gatlin III, 1994; Mendes, 2000; revisto por Chagas et al., 2003).

Com relação à atuação da vitamina D₃ no sistema imune dos peixes, Cerezuela et al. (2009) administraram diferentes níveis (0, 3750, 18750, e 37500 UI kg⁻¹) dessa vitamina na dieta de *Sparus aurata*, principal espécie cultivada no Mediterrâneo. Os peixes que receberam a suplementação de 3750 UI vitamina D kg⁻¹ da dieta durante uma semana apresentaram aumento da atividade citotóxica natural dos leucócitos. Após duas semanas de alimentação, os peixes suplementados com os níveis 3750 e 18750 UI/kg⁻¹ demonstraram aumento significativo da capacidade fagocítica dos leucócitos, e os peixes suplementados com o nível mais alto da vitamina (37500 UI/kg⁻¹) demonstraram além de aumento da capacidade fagocítica também aumento da peroxidase no soro. Os autores sugerem que a vitamina D₃ influencia benéficamente os parâmetros do sistema imune inato de *Sparus aurata*, sugerindo que receptores similares àqueles presentes em mamíferos estão envolvidos na ação desta vitamina no sistema imune dos peixes.

B – Lipídios

Os lipídios são compostos orgânicos insolúveis em água e solúveis em solventes não polares (éter, clorofórmio e benzeno). Neste grupo, estão incluídos: gorduras, óleos, gomas, fosfolipídios, colesterol, vitaminas lipossolúveis e alguns hormônios. Os lipídios podem ser classificados como simples ou complexos. Os lipídios simples são denominados ésteres de ácidos graxos com vários álcoois, dentre estes, as gorduras e ceras. Já os complexos se caracterizam pelos ésteres de ácidos com outros grupos além do álcool e um ácido graxo, tais como os fosfolipídios e glicolipídios (Pezzato et al., 2004).

Os lipídios dietéticos são fontes importantes de energia e ácidos graxos, necessários para o desenvolvimento normal dos animais, sendo que, principalmente na forma de triacilglicerol, são hidrolisados pelas enzimas digestivas numa mistura de ácidos graxos livres e 2-monoglicerídeos para, então, serem absorvidos e utilizados na síntese de vários componentes celulares ou catabolizados para produção de energia. Os lipídios dietéticos contêm ácidos graxos saturados e insaturados, dentre os quais, estão os ácidos graxos poliinsaturados que se caracterizam por serem ácidos graxos com 18 ou mais átomos de carbono e duas ou mais duplas ligações (NRC, 1993).

Como em outros vertebrados, os peixes não conseguem sintetizar os ácidos graxos linoléico (18:2 n-6) e ácido linolênico (18:3 n-3), devendo ser supridos na dieta de acordo com as exigências de ácidos graxos essenciais. Os peixes possuem habilidade de converter os ácidos graxos insaturados de 18 átomos de carbono em ácidos graxos altamente insaturados da mesma série (Owen et al., 1975). A exigência dos ácidos graxos essenciais nos peixes está relacionada de certa forma, à sua habilidade de modificar metabolicamente estes compostos. Os peixes de água doce parecem ter maior capacidade de alongar e dessaturar os ácidos graxos sintetizados por algas e plantas em eicosapentanoico (EPA) e docosahexanoico (DHA) (Moreira et al., 2001; Souza et al., 2007), por possuírem as enzimas $\Delta 6$ - e $\Delta 5$ -dessaturase (Sargent et al., 1995).

Dentre as principais funções dos lipídios da dieta nos peixes pode-se destacar o atendimento da demanda energética na forma de ATP, a função carreadora de vitaminas lipossolúveis, o favorecimento do sabor e da textura da ração, além de ser fonte de ácidos graxos essenciais (Logato, 2000). Além de atender as exigências nutricionais dos peixes, ambas as séries de ácidos graxos essenciais (n-3 e n-6) produzem quatro séries de eicosanóides fisiologicamente ativos como prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos e leucotrienos, envolvidos na contração muscular de alguns órgãos, coagulação sanguínea e processos imunológicos e inflamatórios (Logato, 2000; Haliloglu et al., 2003).

Outra função importante dos ácidos graxos poliinsaturados é a sua participação na formação dos fosfolipídeos da membrana celular e organelas, que são responsáveis pela manutenção da integridade, fluidez e permeabilidade da célula (Logato, 2000). A fluidez da membrana depende do balanço adequado de ácidos graxos essenciais saturados e insaturados que compõem os fosfolipídeos presentes. Os ácidos graxos da família n-3 possuem um papel importante na manutenção da fluidez da membrana fosfolipídica principalmente em baixas temperaturas. Estudos mostram que os peixes possuem capacidade de alterar a composição dos fosfolipídeos das membranas frente às mudanças de temperatura do ambiente (Fracalossi & Lovell, 1995; Webster et al., 1994).

Exigências dos peixes quanto aos ácidos graxos essenciais

Os ácidos graxos essenciais são sintetizados de forma limitada pelos peixes e devem ser fornecidos na dieta para atender suas exigências nutricionais e promover a manutenção do bom estado de saúde (New, 1987). De uma maneira geral, observa-se que as exigências nutricionais de ácidos graxos essenciais variam, entre outros fatores, com a espécie, tamanho dos peixes, temperatura da água e fontes de alimento natural presentes no ambiente (NRC, 1993).

As exigências de ácidos graxos para algumas espécies de peixes são apresentadas na Tabela 5. Nos peixes, a composição, distribuição e relação entre as séries n-3 e n-6 são influenciadas basicamente por três fatores: genéticos (espécie, etapa de desenvolvimento, entre outros), ambientais (temperatura e salinidade) e, fundamentalmente nutricionais (Justi et al., 2003). Geralmente, os peixes de água doce exigem o ácido linoléico (18:2 n-6) e/ou ácido linolênico (18:3 n-3) (Pezzato et al., 2004), enquanto que os

peixes marinhos exigem o ácido eicosapentanoico (20:5 n-3) e/ou o docosahexanoico (22:6). Em adição, as espécies de águas quentes têm uma exigência específica menor para os ácidos graxos da série n-3 que as de água fria (Sargent et al., 2002).

Tabela 5. Exigência de ácidos graxos, em percentual (%), para algumas espécies de peixes cultivadas.

Espécie	Ácido graxo	Exigência (%)	Referências
Peixes de água doce			
<i>Cyprinus carpio</i>	18:2n-6 e 18:3n-3	1,0	Watanabe et al. (1975); Takeuchi & Watanabe (1977a)
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	18:2n-6 e 18:3n-3	1,0 e 0,5	Takeuchi et al. (1991)
<i>Ictalurus punctatus</i>	18:3, n-3 20:5(n-3) e 22:6(n-3)	1,0 – 2,0 0,5-0,75	Satoh et al. (1989a)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	18:3, n-3	0,7-1,0	Castell et al. (1972); Watanabe et al. (1974); Takeuchi & Watanabe (1977b)
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	18:2n-6 e 18:3n-3	1,0 e 1,0	Yu & Sinnhuber (1979)
<i>Oreochromis niloticus</i>	18:2, n-6	0,5	Kanazawa et al. (1980); Takeuchi et al. (1983)
<i>Tilápia híbrida</i>	18:2 e 18:3	0,5	Chou & Shiau (1999)
<i>Tilapia zilli</i>	18:2, n-6 e 20:4(n-6)	1,0	Kanazawa et al. (1980)
Peixes marinhos			
<i>Dicentrarchus labrax</i>	n-3 HUFA	1,0	Coutteau et al. (1996)
<i>Lates calcarifer</i>	20:5(n-3) e 22:6(n-3)	1,0	Buranapanidgit et al. (1989)
<i>Pagrus major</i>	20:5 (n-3) e 22:6(n-3)	1,0 e 0,5	Takeuchi et al. (1990)
<i>Scophthalmus maximus</i>	20:4(n-6) 20:5(n-3) e 22:6(n-3)	~0,3 0,8	Castell et al. (1994) Gatesoupe et al. (1977)
<i>Sebastes schlegeli</i>	20:5 (n-3) e 22:6(n-3)	1,0	Lee et al. (1994)
<i>Sparus aurata</i>	22:6(n-3): 20:5 (n-3)	0,5	Ibeas et al. (1997)
<i>Pleuronectes ferrugineus</i>	n-3 HUFA	2,5	Whalen et al. (1999)

Abreviaturas: Ácido linoléico, 18:2(n-6); ácido linolênico, 18:3(n-3); EPA (ácido eicosapentaenóico), 20:5(n-3); ácido araquidônico, 20:4(n-6); DHA (ácido docosahexaenóico), 22:6(n-3) e HUFA (ácido graxo altamente insaturado).

Para alevinos de tilápia do Nilo, Meurer et al. (2002) recomendam o nível de 3,0 % de lipídios na dieta e ressaltam que os lipídios são menos aproveitados que os carboidratos como fonte de energia. No caso de surubins (*Pseudoplatystoma coruscans*), a inclusão de 6%, 10%, 14% e 18% de lipídios na dieta, durante 62 dias, promoveu maior ganho de peso, sendo este proporcional ao aumento dos níveis de lipídios. O óleo de soja foi considerado uma excelente fonte de energia para os surubins (Martino et al., 2002).

A deficiência dos ácidos graxos essenciais, ou de seus precursores, causa diminuição no crescimento, piora na conversão alimentar, aumento de líquido nos músculos, despigmentação, ulcerações nas nadadeiras, degeneração gordurosa no fígado, aumento da taxa respiratória, prejuízo na eritropoiese e aumento da taxa de mortalidade. Outros sinais clínicos de deficiência relatados são a síndrome do choque e as miocardites (Takeuchi et al., 1980; Satoh et al., 1989b), além de redução do desempenho reprodutivo em carpa comum (Shimma et al., 1977) e truta arco-íris (Leray et al., 1985).

O excesso de lipídios utilizado em dietas para peixes também é prejudicial, podendo causar desequilíbrio da relação energia e proteína e depósito excessivo de gordura na cavidade celomática (Figura 11) e nos tecidos, o que afeta adversamente o rendimento, qualidade do produto e seu armazenamento (Logato, 2000). De forma semelhante, Wang et al. (2005) relataram que a inclusão de níveis de lipídios dietéticos acima de 15% aumentou a deposição de lipídios na musculatura do bijupirá (*Rachycentron canadum*), quando foi utilizado o óleo de peixe e de milho como fonte de lipídios, durante 6 semanas.

Outro problema comumente encontrado em dietas para peixes contendo altos níveis de lipídios é a oxidação lipídica. Os ingredientes utilizados na formulação destas dietas muitas vezes possuem grande quantidade de ácidos graxos insaturados, que são facilmente oxidados, formando complexos tóxicos que podem impedir o completo metabolismo dos lipídios e formação de ceróides, que são depositados nas células hepáticas (fígado gordo), prejudicando as suas funções e causando necrose no tecido hematopoiético dos rins. Desta forma, o uso de lipídios em dietas para peixes geralmente requer a utilização adequada de antioxidantes (NRC, 1993; Puangkaew et al., 2005).

Os antioxidantes previnem ou retardam a oxidação lipídica sendo recomendadas principalmente para dietas contendo altos níveis de ácidos graxos em sua composição. Estes compostos protegem principalmente os ácidos graxos insaturados, vitaminas lipossolúveis e caroteno. A rancificação oxidativa ou peroxidação lipídica afeta os valores nutricionais dos lipídios, oxidação de vitaminas e outros componentes nutricionais. Dentre os antioxidantes utilizados há os naturais (L-tocoferol ou lecitina) e os sintéticos (BHA, BHT, etoxiquina), sendo estes os mais comumente empregados (Logato, 2000).

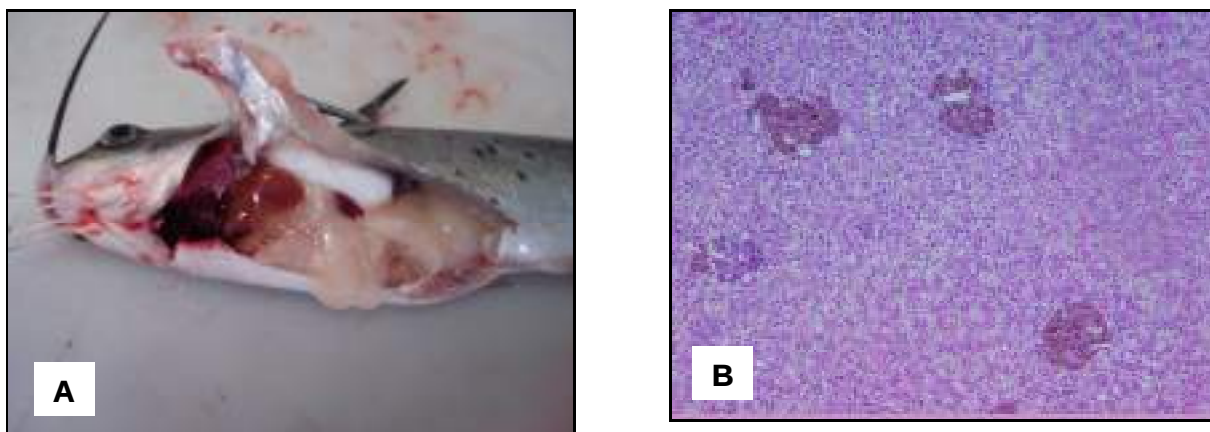


Figura 11. Exemplar de *I. punctatus* apresentando acúmulo de gordura na cavidade celomática (A), com detalhe para a necrose esteatose discreta em fotomicrografia do fígado (B). Aumento de 400x HE (Fonte: Pilarski, 2008).

Efeitos fisiológicos dos ácidos graxos

A principal razão para a suplementação de lipídios na dieta de peixes cultivados é poupar a utilização da proteína dietética como fonte de energia, principalmente para os peixes carnívoros (Pezzato et al., 2004). Os lipídios não somente atendem as funções energéticas de crescimento e manutenção dos peixes, como também auxiliam nas funções do rim e das brânquias, desenvolvimento neural e visual, reprodução e sanidade (Henderson & Tocher, 1987; Sargent et al., 1989; Tocher, 2003). Além disso, os lipídios dietéticos estão envolvidos no transporte de nutrientes lipossolúveis, tais como esteróis e vitaminas, e síntese de hormônios, prostaglandinas e outros componentes metabolicamente ativos (Lim et al., 2005).

Os lipídios e o perfil dos ácidos graxos presentes na dieta podem influenciar a composição dos ácidos graxos na carcaça (Takeuchi, 1997; Jobling et al., 1998; Visentainer et al., 2005; Hansen et al., 2008), na resposta imune não específica e, por consequência, na resistência às doenças da maioria dos animais, inclusive em peixes (Blazer, 1992; Balfry & Higgs, 2001; Gatlin III, 2002). O mecanismo pelos quais os ácidos graxos presentes na dieta de peixes atuam na resposta de defesa tem sido atribuído, em parte, pela influência na produção da prostaglandina e leucotrienos pelos macrófagos. Os ácidos graxos também agem sobre a proteína quinase C modificando os sinais de transdução e atuando sobre os receptores de membrana, regulação do gene e função do macrófago. Outro mecanismo pelos quais os lipídios da dieta atuam sobre a resistência às doenças é a produção de eicosanóides imunologicamente ativos formados a partir do ácido araquidônico monoesterificado (AA), ácido eicosapentanóico, ácido docosahexanóico e possivelmente outro precursor de ácido graxo poliinsaturado, 20:3n-6 (Chang et al., 1992; Lim et al., 2005). A produção

dos eicosanóides está associada a situações estressantes e aos processos fisiológicos normais, sendo considerados moduladores da resposta imune. O excesso de produção dos mesmos ocorre frequentemente em condições patológicas (Sargent et al., 2002). Os eicosanóides são produzidos a partir dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) de 20 carbonos, graças à ação da cicloxigenase e a lipoxigenase resultando em metabólitos que incluem as prostaglandinas, leucotrienos e lipoxis, que influenciam as funções imunes (Uhing et al., 1990; Stankova & Rola-Pleszczynski, 1993). As prostaglandinas (PGE₂) derivadas do ácido araquidônico são produzidas pelos monócitos e macrófagos e estão associadas à modulação da resposta imune celular (Kinsella & Lokesh, 1990) ao passo que a PGF₂ α está mais relacionado à adaptação ao estresse ambiental (Mustafa & Srivastava, 1989).

A própria composição lipídica da membrana e suas propriedades podem ter efeito sobre a modulação da resposta celular e resistência às doenças já que algumas respostas de defesa são baseadas na interação das membranas dos leucócitos, para ativação da produção de citocinas (Balfry & Higg, 2001; Montero et al., 2003). Segundo Mills et al. (2005), os ácidos graxos poliinsaturados n-3 (PUFAs) são reconhecidos por sua ação antiinflamatória, a qual é iniciada e propagada por diversos mecanismos envolvendo as células do sistema imune. Esses mecanismos estariam relacionados com perfil de eicosanóides, fluidez da membrana, sinal de transdução, expressão do gene e a apresentação do antígeno.

Os ácidos graxos dietéticos têm efeitos benéficos diretos e indiretos sobre a resposta imune, na produção das citocinas (Endreas et al., 1989; Yaqoob & Calder, 1995; Pablo et al., 2002) ou na proliferação dos linfócitos (Endreas et al., 1989; Meydani et al., 1991; Secombes, 1985; Yaqoob et al., 1994; Pablo et al., 2002). Em bagre do canal *Ictalurus punctatus*, um aumento da atividade bactericida dos macrófagos foi observado no grupo alimentado com óleo de savelha em comparação aos peixes alimentados com óleo de soja, milho ou sebo bovino (Sheldon Junior & Blazer, 1991). O aumento da atividade dos macrófagos renais pode estar associado ao aumento de ácidos graxos n-3 em bagre do canal (Blazer, 1992) e truta arco-íris (Ashton et al., 1994). Além disso, salmão do Atlântico *Salmo salar* alimentado com dietas contendo altos níveis de n-3/n-6 PUFA apresentou aumento na resposta do linfócito B e na taxa de sobrevivência quando desafiado com *Aeromonas salmonicida* e *Vibrio anguillarum* (Thompson et al., 1996).

Com relação às fontes de óleos da dieta, Ferreira (2008) observou que a inclusão de óleo de soja melhorou as funções imunes (maior atividade bactericida e da lisozima, além da maior concentração de ferro e conseqüentemente menor capacidade de ligação de ferro) e a resistência de tilápias do Nilo contra infecção por *Streptococcus agalactiae*, enquanto as dietas contendo óleo de linhaça, óleo de peixe (ricos em ácidos graxos n-3) e óleo de oliva (rico em ácidos graxos n-9) foram associadas à imunossupressão. Ainda sobre a inclusão de óleos vegetais, Montero et al. (2008) observou que essa suplementação em *Sparus aurata* afetou os parâmetros imunes humoral e celular, reduzindo a atividade do sistema complemento via alternativa no soro e a atividade fagocítica de leucócitos no rim anterior.

Em salmão do Atlântico, Brandsen et al. (2003) verificaram aumento na mortalidade acumulada em peixes alimentados com óleo de girassol e desafiados com *V. anguillarum*. De forma semelhante, Li et al. (1994) observaram que bagres de canal suplementados com 2,0% de óleo de savelha apresentaram maior taxa de mortalidade que aqueles alimentados com óleo de vísceras de bagre do canal ou sebo bovino. Contudo não houve diferença significativa na produção de anticorpos após o desafio com a bactéria *E. ictaluri*. Ainda, com relação ao óleo de savelha, em bagre do canal foi observada uma elevada produção de anticorpos duas semanas após a imunização com *Edwardsiella ictaluri* em relação a outras dietas que continham óleo de milho, óleo de linhaça ou a mistura de óleo de savelha, milho e gordura bovina (1:1:1) (Fracalossi & Lovell, 1994).

Diminuição significativa no número de leucócitos circulantes e na atividade respiratória dos macrófagos após alimentação com dietas contendo óleo vegetal (linhaça, oliva e girassol) foi observada em *Dicentrarchus labrax* em comparação aos que receberam dieta contendo óleo de peixe. Estes autores não observaram diferença entre a porcentagem de hematócrito, número de eritrócitos circulantes e atividade da lisozima sérica nos diferentes tratamentos (Mourente et al., 2005). Resultados semelhantes foram observados por Bell et al. (1996) em salmão do Atlântico alimentado com dieta contendo óleo de linhaça ou girassol, com relação à atividade de lisozima e do complemento ou porcentagem de hematócrito. Em adição, Montero et al. (2003) observaram redução na atividade do sistema complemento sérico e atividade fagocítica, embora não houvesse alteração na atividade da lisozima ou do neutrófilo em *Sparus aurata* alimentados com dieta contendo óleo de soja (rica em ácido graxo 18:2n-6).

O efeito da inclusão de alguns lipídios (óleo de milho, óleo de savelha, óleo de linhaça e sebo bovino) na dieta para tilápia do Nilo foi avaliado por Yildirim-Askoy et al. (2007). Esses autores observaram que a atividade da lisozima e do sistema complemento foi reduzida significativamente nos peixes alimentados com sebo bovino (fonte de ácido graxo saturado). Esta fonte lipídica foi, ainda, responsável pelo aumento da resistência dos peixes após desafio com *Streptococcus iniae*.

Com relação à suplementação do n-3 HUFA, observou-se uma redução na produção de anticorpos após a vacinação e na taxa de sobrevivência após o desafio com *Vibrio salmonicida* em salmão do Atlântico (Erdal et al., 1991). Ainda, o emprego de doses excessivas de n-3 HUFA foi responsável por aumentar a taxa de mortalidade em truta arco-íris (Kiron et al., 1995).

Para a tilápia do Nilo, a inclusão dos ácidos graxos essenciais n-3 e n-6 em sua dieta não influenciou o desempenho produtivo e parâmetros hematológicos, mas houve um incremento na resposta inflamatória crônica, com acúmulo de macrófagos e formação de gigantócitos tipo corpo estranho e Langhans nas lamínulas implantadas no tecido subcutâneo da espécie (Sakabe, 2007).

Alguns estudos mostram um efeito negativo da dieta contendo HUFA n-3 sobre a resposta imune causado pela diminuição da produção de leucotrieno B₄ e o aumento dos leucotrienos B₅ pelos macrófagos e neutrófilos (Leitch et al., 1984; Lee et al., 1985). O leucotrieno B₄ é um eicosanóide que tem efeito imunoestimulatório que inclui a proliferação de linfócitos e ação quimiotática e quimiocinética do leucócito, enquanto que o

leucotrieno B₅ é outro eicosanóide com ação imunossupressora (Goldman et al., 1983). O leucotrieno B₄ é produzido principalmente a partir do ácido graxo 20:4n-6, enquanto que o leucotrieno B₅ é derivado principalmente a partir do ácido graxo 20:5n-3. A redução da resposta imune dos peixes alimentados com dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados n-3 pode ser causada, em parte, pela competição inibitória do metabolismo do AA pelos ácidos graxos n-3. Há uma competição inibitória entre os ácidos graxos da família n-6, n-3 e n-9 por desnaturases responsáveis pela síntese dos ácidos graxos poliinsaturados (Goldman et al., 1983; Kragballe et al., 1987; Hwang, 1989; Secombes et al., 1994).

Utilização dos lipídios

O ácido linoléico conjugado (ALC) tem sido amplamente estudado nos últimos anos, em virtude de seus benefícios à saúde humana (Whigham et al., 2000). O ALC consiste num grupo de ácidos octadecadienóicos, que são isômeros conjugados posicionais e geométricos do ácido linoléico (C18:2), cujas duplas ligações são separadas por uma ligação simples carbono-carbono no lugar de um grupo metileno, dois dos quais (cis-9, trans-11 e trans-10, cis-12 ALC) possuem atividades biológicas (Pariza et al., 2001). O 18:2 (cis-9, trans-11) é considerado a forma primária de ALC presente naturalmente nos alimentos, ainda que o 18:2 (cis-9, trans-11) e o 18:2 (trans-10, cis-12) sejam os dois isômeros predominantes e presentes em níveis semelhantes no ALC sintético (Chin et al., 1992). Recentemente, aumentaram as evidências de que os isômeros cis-9, trans-11 e trans-10, cis-12 ALC podem agir benéficamente em sistemas biológicos de forma diferente (Santos et al., 2007).

Yasmin & Takeuchi (2002) determinaram o efeito do ácido linoléico (AL) e ALC sobre o crescimento e composição corporal de juvenis de tilápia usando quatro tipos de dietas (AL/ALC: 8/0, 6/2, 4/6, 0/8). Nesse estudo, foi observada uma redução no conteúdo de lipídios do músculo e fígado, principalmente de triglicérides, e no crescimento dos peixes quando da substituição de parte do AL por ALC.

Santos et al. (2007) avaliaram a influência da adição de ALC (2,0%) na dieta de tilápia do Nilo e observaram melhora nos parâmetros de desempenho produtivo, aumento na composição de ácidos graxos saturados e da proteína, e redução dos ácidos graxos n-6 nos filés. Observaram, ainda, aumento na composição de ácidos graxos n-3 e de ácidos graxos poliinsaturados totais no fígado.

Fosfolipídios é o termo geral que inclui todos os lipídios que contêm fósforo. São constituintes de membrana, desempenhando função estrutural de alta importância biológica no organismo dos peixes. Estes compostos são importantes precursores de mediadores biologicamente ativos no metabolismo e na fisiologia dos animais dentre os quais incluem os eicosanóides, diacilglicerol (DAG), inositol fosfatos e fatores de ativação de plaquetas (PAFs) (Tocher et al., 2008). Os fosfolipídios são requeridos para o crescimento, sobrevivência, prevenção de deformidades esqueléticas e possivelmente atuam sobre a resistência ao estresse de larvas e juvenis de peixes marinhos e de água doce (Koven et al., 1998; Cahu et al., 2003; Gisbert et al., 2005).

Geralmente, níveis de 2%-4% de fosfolípidios são requeridos em dietas para juvenis enquanto para as larvas a exigência é maior. Tronco et al. (2007) observaram que a fosfatidilcolina é uma boa fonte lipídica para larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). Entretanto muitas questões relacionadas aos fosfolípidios para peixes ainda não estão bem esclarecidas.

C - Minerais

Os minerais estão envolvidos no funcionamento dos processos vitais de todos os animais incluindo os peixes, e podem ser classificados em macrominerais, que são requeridos em quantidades maiores (poucos décimos de grama a alguns gramas por dia), e microminerais, também chamados minerais traço requeridos em pequenas quantidades (microgramas a miligramas por dia) (Ortolani, 2002; Webster, 2007). Estes últimos apresentam três níveis de atividade biológica: concentração traço requerida para o desenvolvimento e crescimento normal; concentração moderada que pode ser estocada e a função homeostática mantida e concentração elevada que pode resultar em efeitos tóxicos (Hamilton, 2004).

Dentre os elementos inorgânicos de importância, tem sido relatado para peixes alguns minerais tais como cálcio, fósforo, magnésio, ferro, cobre, manganês, zinco, selênio e iodo. Os peixes podem obter estes elementos inorgânicos a partir da dieta e/ou da água diferentemente dos animais terrestres. Geralmente, o cálcio, magnésio, sódio, potássio, ferro, zinco, cobre e selênio são obtidos pela água para satisfazer parte das necessidades nutricionais dos peixes, enquanto o fósforo e sulfatos são obtidos mais eficientemente pela dieta. Essa capacidade dos peixes de absorver os minerais da água pelas brânquias e pele é um dos grandes entraves no estudo da exigência dos mesmos (NRC, 1993).

Além da quantidade do elemento inorgânico no ambiente, a exigência varia conforme a fonte alimentar, espécie, estágio de desenvolvimento, estado fisiológico do animal, além da interação entre minerais e com vitaminas (Lall, 2002; Pezzato et al., 2004). A inter-relação pode-se manifestar como competição por sítios de ligação, transporte ou armazenamento das moléculas ou substituição no sítio ativo de uma enzima, ou como requerimento por um elemento para o próprio metabolismo do outro. Relações antagônicas ocorrem quando competem por mesmo sítio de ligação, como no caso de zinco/ cádmio, e magnésio/ manganês (Lall, 2002). Pode haver também interação entre elementos, como o selênio que possui elevada afinidade com elementos tóxicos como o mercúrio e a prata, reduzindo assim sua toxicidade (Pezzato et al., 2004).

Dentre as principais funções dos minerais destacam-se a formação de estrutura esquelética, transferência de elétrons, regulação do equilíbrio ácido-base e osmorregulação. Atuam também como componentes importantes de compostos orgânicos tais como, proteínas, lipídios, hormônios e enzimas, e agem como cofator em diversas reações enzimáticas (NRC, 1993; Watanabe et al., 1997; Webster, 2007). Além disso, muitos minerais possuem funções biológicas sobre o mecanismo de defesa orgânica e imunocompetência dos peixes (Webster, 2007).

O mecanismo de controle bioquímico e regulação de absorção, estocagem e excreção de vários elementos inorgânicos, permite ao peixe

viver em equilíbrio dinâmico com seu ambiente. Além disso, os eletrólitos Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , e HCO_3^- possuem importante papel na regulação osmótica e iônica dos fluidos extra e intracelular no peixe (NRC, 1993).

a) *Macrominerais*

Cálcio (Ca)

O cálcio atua no desenvolvimento e manutenção do sistema esquelético e participa de vários processos fisiológicos como batimento cardíaco, contração muscular, transmissão de impulsos nervosos, coagulação sanguínea, manutenção da integridade celular, equilíbrio ácido-base e ativação de várias enzimas importantes (NRC, 1993; Pezzato et al., 2004).

A exigência de cálcio nos peixes é satisfeita em grande parte pela absorção pelas brânquias e pele (Ribeiro et al., 2006). Geralmente, a quantidade de cálcio dos ingredientes da dieta supre as suas exigências, sem necessidade de suplementação. O íon cálcio é absorvido no intestino e vários fatores aumentam sua absorção, incluindo vitamina D, ingestão protéica e meio ácido (NRC, 1993). Os fatores que reduzem a absorção de cálcio são: deficiência de vitamina D, excesso de fósforo, lipídio e fibra dietética e a presença de ácido fítico. A presença de ácido fítico, encontrado em vários grãos de cereais, impede a absorção do cálcio devido à formação de um sal insolúvel (Webster, 2007). Segundo Helland et al. (2006), o excesso de ácido fítico provocou problemas na coluna vertebral de salmão do Atlântico. O uso da fitase permite melhor aproveitamento de alguns minerais, aminoácidos e energia dos ingredientes levando ao melhor desempenho produtivo, redução no custo da ração e no impacto ambiental (Brandão, 2009). Resultados semelhantes foram encontrados na tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Furuya et al., 2001; Bock et al., 2006) e na truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Sugiura et al., 2001), melhorando inclusive a disponibilidade de zinco e manganês.

A deficiência de cálcio pode causar descalcificação, osteoporose e distrofia osteóide nos peixes (Pezzato et al., 2004). Segundo Hossain & Furuichi (2000), a deficiência e o excesso de cálcio promovem redução do crescimento do peixe-escorpião *Sebastiscus marmoratus*. De forma semelhante, a ausência da suplementação de cálcio promove redução de crescimento em *Epinephelus coioides* (Ye et al., 2006), bem como redução da absorção do fósforo mesmo com a suplementação adequada deste mineral (Abbink et al., 2004); enquanto a suplementação de cálcio acima de 12 mg kg^{-1} na dieta prejudica a deposição de minerais (Ye et al., 2006).

Fósforo (P)

O fósforo é um macromineral essencial para o adequado crescimento e reprodução dos peixes, sendo importante constituinte estrutural do tecido esquelético (Roy & Lall, 2003) e encontrado em todas as células do organismo (Lovell, 1988). Este mineral também é constituinte do ácido nucléico e membranas celulares e está diretamente envolvido em todas as reações de produção de energia. O papel do fósforo no metabolismo de carboidratos, lipídios e aminoácidos está bem estabelecido (Lehninger et al., 2006; Webster, 2007).

A principal fonte de fósforo para os peixes é a dieta, pois a concentração de fosfato na água é baixa, sendo insuficiente apesar da rápida absorção via brânquias. O adequado nível de fósforo disponível em dietas para peixes pode melhorar o crescimento, utilização de nutrientes e deposição de minerais nos ossos (Furuya et al., 2008a). A disponibilidade do fósforo varia conforme o tipo de fosfato (NRC, 1993; Sarker et al., 2009), sendo observado em *Seriola quinqueradiata* que o fosfato monobásico tem maior absorção que o dibásico e tribásico (Sarker et al., 2009).

Estudos relacionados à exigência de fósforo vêm aumentando nos últimos anos, pois este elemento em quantidade desbalanceada na dieta não é aproveitado pelos peixes sendo então excretado para o ambiente, podendo provocar a eutrofização, comprometimento da qualidade da água e capacidade de suporte dos sistemas aquícolas (Boyd & Queiroz, 2004).

Vários trabalhos relatam que a concentração de cálcio não tem efeito sobre a exigência de fósforo em bagre do canal, carpa e truta arco-íris, embora uma proporção adequada de Ca:P seja importante na dieta dessas espécies (NRC, 1993). A utilização de fósforo não sofreu interferência por um nível elevado de cálcio, em salmão do Atlântico *Salmo salar* (Vielma & Lall, 1998) e, segundo Paul et al. (2004), a proporção ideal de Ca:P para larvas de carpa indiana *Cirrhinus mrigala* foi de 1:4. Algumas exigências e relações de cálcio e fósforo na dieta dos peixes são apresentadas na Tabela 6.

Em relação à interação deste mineral, Webster (2007) relatou que o excesso de fósforo dietário pode reduzir a absorção tanto de cálcio quanto de fósforo. Por outro lado, quanto à deficiência de fósforo em dietas para peixes, Pezzato et al. (2004) relataram redução no crescimento e eficiência alimentar, aumento da gordura corpórea e baixa mineralização óssea. Estes efeitos foram observados em *Cichlasoma urophthalmus* em dietas contendo $0,5 \text{ g/kg}^{-1}$ de fósforo (Chavez-Sanchez et al., 2000). Outros estudos demonstraram que a deficiência de fósforo provocou baixo crescimento e deformidade óssea nas carpas (Ogino & Takeda, 1976), além de redução de cinzas e deposição de minerais (Ca, P e Mg) nas nadadeiras, vértebras e opérculos e aumento de lipídio corporal em *Epinephelus coioides* (Ye et al., 2006) e em *Sparus macrocephalus* (Shao et al., 2008).

Vários estudos relacionam o efeito do fósforo e magnésio na resposta imune e resistência a doenças em peixes (Webster, 2007). Em *Coregonus lavaretus*, Jokinen et al. (2003) observaram que a suplementação da dieta com baixo nível de fósforo ($4,4 \text{ g de P/kg}^{-1}$) foi responsável pela menor concentração de imunoglobulinas M (IgM) em relação a suplementação com alto nível de fósforo ($14,9 \text{ g de P/kg}^{-1}$). Contudo, o nível de lisozima sérica e a produção de anticorpos não diferiram entre as dietas. Segundo Eya & Lovell (1998) a suplementação de 0,4% de fósforo na dieta é adequada para promoção do crescimento assim como para melhorar a resistência do bagre do canal contra a infecção por *Edwardsiella ictaluri*; enquanto uma suplementação de 0,5% de fósforo foi necessária para maximizar a produção de anticorpos.

Tabela 6. Exigência de cálcio (Ca) e fósforo (P), em percentual (%), para algumas espécies de peixes cultivadas.

Espécie	Mineral	%	Peso inicial e tempo de cultivo	Referência
<i>Cichlassoma urophthalmus</i>	Ca e P	1,8 e 1,5	0,4 g, 63 dias	Chavez-Sanchez et al. (2000) ¹
<i>Cirrhinus mrigala</i>	Ca e P	0,19 e 0,75	6,0 g, 90 dias	Paul et al. (2004)
<i>Cyprinus carpio</i>	Ca	0,34	-	Ogino & Takeda (1976)
<i>C. Carpio</i>	P	0,5-0,7	35,33 g, 46 dias	Furuya et al. (2008a)
<i>C. Carpio</i>	P _{disp}	0,6	-	Pezzato et al. (2004)
<i>Epinephelus coioides</i>	Ca e P	6 e 6	29,8 g, 10 semanas	Ye et al. (2006)
<i>Ictalurus punctatus</i>	Ca	0,45	-	Robinson et al. (1986)
<i>I. punctatus</i>	P _{disp}	0,8	-	Andrews et al. (1973)
<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	P e P _{disp}	0,96 e 0,72	4,2 g, 12 semanas	Roy & Lall (2003)
<i>Morone saxatilis</i>	P	0,58	-	Dougall et al. (1996)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	P	0,25	53 g, 53 dias	Rodeshutsord (1996) ²
<i>O. mykiss</i>	Ca	0,3	-	Pezzato et al. (2004)
<i>O. mykiss</i>	P _{disp}	0,6	-	Pezzato et al. (2004)
<i>Oreochromis niloticus</i>	P	0,74	0,95 g, 56 dias	Boscolo et al. (2005)
<i>O. niloticus</i>	P _{disp}	0,75	0,27 g, fase de alevino	Pezzato et al. (2006)
<i>O. niloticus</i>	P	1,10	-	Ribeiro et al. (2006)
<i>Oreochromis sp.</i>	P _{disp}	0,52	0,41 g, 46 dias	Furuya et al. (2008a)
<i>Oreochromis sp.</i>	P _{disp}	0,48	0,41 g, 120 dias	Furuya et al. (2008b)
<i>O. niloticus</i> x <i>O. aureus</i>	Ca	0,35-0,43	0,52 g, 8 semanas	Shiau & Tseng (2007)
<i>Sparus aurata</i>	P	0,54	11,45 g, 8 semanas	Shao et al. (2008)

^{1, 2} : Concentração de 84 e 40-50 mg Ca/kg⁻¹ água, respectivamente.

Magnésio (Mg)

O magnésio é essencial no metabolismo celular, sendo um cofator em muitas reações enzimáticas, como fosfoquinase, pirofosfatase e tioquinases (NRC, 1993; Pezzato et al., 2004; Webster, 2007). É exigido também no metabolismo do tecido ósseo, osmorregulação e transmissão neuromuscular (NRC, 1993; Pezzato et al., 2004). Cerca de 60% do magnésio são localizados no osso na forma de fosfatos, e aproximadamente 30% são encontrados em tecidos como fígado e músculo (Bijvelds et al., 1998; Webster, 2007).

O magnésio pode ser obtido da dieta ou pela água. Segundo Shearer & Asgard (1992) não há necessidade da suplementação deste mineral na dieta para truta arco-íris quando a água contém 46 mg L⁻¹. Em ambiente marinho, a suplementação de magnésio na dieta não é necessária (NRC, 1993).

As exigências de magnésio das espécies *Cyprinus carpio*, *Ictalurus punctatus*, *O. mykiss*, *Oreochromis* sp e *Salmo salar* variam em torno de 0,33 a 0,06 % da dieta (Knox et al., 1981; El-Mowafi & Maage, 1998; Pezzato et al., 2004). A deficiência de magnésio pode causar redução no crescimento, anorexia, letargia, flacidez dos músculos, diminuição dos níveis de magnésio no tecido e a degeneração das células epiteliais dos filamentos branquiais (NRC, 1993; Pezzato et al., 2004). Segundo Ogino & Chiou (1976), a deficiência de magnésio na carpa comum ocasionou redução no apetite, diminuição do crescimento, alta mortalidade, letargia e convulsões. Por outro lado, o excesso de magnésio na dieta pode interromper o metabolismo de cálcio e fósforo (Webster, 2007), causando hipercalcinose (NRC, 1993). Em salmão do Atlântico, El-Mowafi & Maage (1998) não verificaram diferença no crescimento quando da suplementação de 0,0 a 500,0 mg de Mg/kg⁻¹ da dieta; porém essa incorporação promoveu redução no cálcio corporal dos peixes.

Quanto à imunidade em bagre do canal, Lim & Klesius (2003) não observaram efeito significativo na resistência à infecção por *E. ictaluri* com suplementação de até 1000,0 mg de sulfato de magnésio kg⁻¹ da dieta, apesar destes autores terem observado aumento na quimiotaxia de macrófagos nos peixes alimentados com 400 mg Mg kg⁻¹ na dieta. Em adição, salmão do Atlântico suplementados com magnésio e vacinados contra *Vibrio anguillarum* não houve diferença significativa para produção de anticorpos e atividades da lisozima e sistema complemento entre os diferentes níveis de suplementação (El-Mowafi et al., 1997).

b) Microminerais

Os microminerais importantes para os mamíferos, aves e peixes são cobalto, cobre, ferro, manganês, selênio, zinco, cromo, iodo, arsênio, molibdênio, flúor, chumbo, níquel, silício, vanádio e lítio, sendo que sobre os últimos oito as informações são limitadas em relação a peixes (Watanabe et al., 1997). As informações relativas às exigências de microminerais em peixes são sumarizadas na Tabela 7.

Tabela 7. Exigência dos microminerais (mg/kg⁻¹ da dieta) para o crescimento de algumas espécies de peixes cultivadas.

Espécie	Mineral	Exigência (mg kg ⁻¹)	Peso inicial e tempo de cultivo	Referência
<i>C. carpio</i>	Cobre	3,0	-	Ogino & Yang (1980)
<i>E. malabaricus</i>	Cobre	4-6	13,35 g, 8 semanas	Lin et al. (2008b)
<i>I. punctatus</i>	Cobre	5	alevino, 13 semanas	Wilson & Gatlin III (1986)
<i>O. niloticus</i> x <i>O. aureus</i>	Cobre	4	0,79 g, 8 semanas	Shiau & Ning (2003)
<i>S. salar</i>	Cobre	5,0	-	Lall & Hines (1987)
<i>C. carpio</i>	Ferro	150,0	-	Pezzato et al. (2004)
<i>I. punctatus</i>	Ferro	30,0	-	Gatlin III & Wilson (1986)
<i>O. mykiss</i>	Ferro	60,0	-	Pezzato et al. (2004)
<i>I. punctatus</i>	Iodo	1,1	-	Pezzato et al. (2004)
<i>O. mykiss</i>	Iodo	1,1	-	Pezzato et al. (2004)
<i>C. auratus</i>	Manganês	13,77	3,21 g, 68 dias	Pan et al. (2008)
<i>Epinephelus coioides</i>	Manganês	15*	12,9 g, 8 semanas	Ye et al. (2008)
<i>I. punctatus</i>	Manganês	2,4	-	Gatlin III & Wilson (1984)
<i>O. mykiss</i>	Manganês	13,0	-	Ogino & Yang (1980).
<i>O. niloticus</i>	Manganês	12,0	-	Pezzato et al. (2004)
<i>O. niloticus</i> x <i>O. aureus</i>	Manganês	7	0,64 g, 8 semanas	Lin et al. (2008a)
<i>I. punctatus</i>	Selênio	0,09-0,28**	1,7 g, 9 semanas	Wang & Lovell (1997)
<i>Epinephelus coioides</i>	Selênio	0,7	12 g, 8 semanas	Lin & Shiau (2005)
<i>Clarias gariepinus</i>	Selênio	0,3	68,7 g, 12 semanas	Abdel-Tawwab et al. (2007)
<i>C. carpio</i>	Selênio	0,25	-	Pezzato et al. (2004)
<i>O. mykiss</i>	Selênio	0,15-0,38	-	Hilton et al. (1980)
<i>C. carpio</i>	Zinco	15,0-30,0	-	Ogino & Yang (1979)
<i>I. punctatus</i>	Zinco	20,0	-	Gatlin III & Wilson (1983)
<i>O. mykiss</i>	Zinco	0,15-0,30	-	Ogino & Yang (1978)
<i>O. niloticus</i>	Zinco	44,5, 79,5***	10	Sá et al. (2004)

*:Suplementada na dieta basal contendo 4 mg/kg⁻¹; **:Conforme a fonte de selênio; ***:44,5 para ganho de peso e 79,5 para saturação óssea de zinco.

Cobre

O cobre é componente de várias enzimas, como a citocromo-oxidase, necessária para o transporte de elétrons durante a respiração aeróbica (McDowell, 1992; Pezzato et al., 2004); lisil-oxidase que catalisa a formação do colágeno e elastina; ceruloplasmina que transporta ferro para a síntese de hemoglobina e superóxido dismutase que protege as células dos efeitos tóxicos no metabolismo do oxigênio e participa nas reações de defesa dos neutrófilos (NRC, 2001). Por estar envolvido no mecanismo de oxidação, sua deficiência leva a prejuízos no metabolismo oxidativo, podendo manifestar-se de múltiplas formas (González & Silva, 2003), como falha na formação de colágeno (McDowell, 1992) e redução da atividade de superóxido dismutase (Babior et al., 1973).

A ausência ou a suplementação excessiva desse mineral pode prejudicar o estado nutricional dos peixes (Ferrari et al., 2004). A deficiência causa diminuição no teor de cobre nos tecidos (Pezzato et al., 2004), enquanto que o excesso deste produz efeitos negativos tais como a redução do crescimento (Clearwater et al., 2002), alterações nos parâmetros sanguíneos e comportamentais, e na atividade enzimática e reprodução (Roesijadi & Robinson, 1994; Nussey et al., 1995). Em peixes teleósteos, a exigência nutricional está estabelecida entre 3,0 e 10,0 mg Cu kg⁻¹ de base seca na ração, dependendo da espécie, regime alimentar e estágio de vida. Por outro lado, o excesso, 16,0 e 32,0 mg Cu kg⁻¹ na dieta, promoveu redução do crescimento e eficiência alimentar no bagre do canal (Wilson & Gatlin III, 1986).

O nível tóxico em peixes de água doce está entre 16,0 e 730,0 mg Cu kg⁻¹ (Clearwater et al., 2002). Em salmonídeos, os efeitos tóxicos do cobre na alimentação podem incluir baixo crescimento (Clearwater et al., 2002), lesões severas no intestino (Handy, 1996), mudanças na proliferação das células intestinais (Berntssen et al., 1999; Lundebye et al., 1999), deposição de gordura no fígado (Handy et al., 1999), alterações hematológicas (Knox et al., 1982) e dificuldade nos movimentos (Campbell et al., 2002). Em tilápia do Nilo, o excesso de cobre provocou acúmulo no fígado (Ferrari et al., 2004) e intestino, redução no crescimento e consumo alimentar (Handy & Shaw, 2006). O fígado é o tecido de reserva mais importante para o cobre em relação aos demais (intestino, rim, brânquia e músculo) e concentrações maiores que a 50,0 mg de Cu/kg⁻¹ da dieta reduziram a taxa de crescimento de *Sebastes schlegeli* (Kim & Kang, 2004).

Cromo

O cromo é requerido para metabolismo de carboidratos e lipídios, e também por potencializar a ação da insulina (NRC, 1993; Küçükbay et al., 2006). Como acontece com outros metais, este elemento pode ativar a tripsina (Webster, 2007).

A suplementação de cromo em carpa melhorou a utilização de glicose, provavelmente pela modulação da atividade da insulina (Hertz et al., 1989). Em *O. niloticus*, a dieta suplementada com óxido de cromo melhorou o crescimento, retenção energética e deposição de glicogênio no fígado (Shiau & Chen, 1993), além de aumentar a absorção de zinco em truta arco-íris

(Küçükbay et al., 2006). Gatta et al. (2001) relataram que a resposta imune na truta arco-íris alimentada com cromo foi dose e tempo dependentes, e a dose adequada para melhor atividade fagocítica do macrófago após seis semanas de criação foi 2,3 mg Cr kg⁻¹ dieta. Em *P. mesopotamicus*, após 15 dias de criação em densidade elevada, Fujimoto et al. (2007) observaram redução no número de linfócitos circulantes nos peixes que receberam baixa concentração de cromo dietário, sendo que os níveis de 12 e 18 mg Cr kg⁻¹ de ração foram mais benéficos aos animais. Varandas (2009), ao avaliar a inclusão dos níveis de 0, 12 e 36 mg de Cr/kg⁻¹ de ração, na forma de cromo trivalente, não observou diferença para o desempenho produtivo e para a maioria dos parâmetros hematológicos avaliados.

A deficiência de cromo pode ocasionar redução na tolerância à glicose e comprometimento da síntese de glicogênio e lipídio a partir da glicose (Pezzato et al., 2004). Níveis tóxicos de cromo na água podem prejudicar a defesa orgânica de *O. mossambicus* reduzindo o peso de baço e a porcentagem de linfócitos sanguíneos (Arunkumar et al., 2000), além de causar estresse oxidativo em *C. auratus* (Lushchak et al., 2008; Lushchak et al., 2009).

Ferro

O ferro participa do processo de respiração celular por meio de sua atividade de óxido-redução e transporte de elétrons, produção e funcionamento da hemoglobina, mioglobina, citocromos e outros sistemas enzimáticos (Carriquiriborde et al., 2004; Pezzato et al., 2004).

Em peixes, o ferro do ambiente é absorvido pelas brânquias, porém o alimento é a sua principal fonte (NRC, 1993; Carriquiriborde et al., 2004). A concentração deste micromineral exigido na dieta para a prevenção de sinais de deficiência em salmonídeos é de 60 a 100 mg/kg⁻¹ (Andersen et al., 1996), 30 mg/kg⁻¹ em bagre do canal (Gatlin III & Wilson, 1986) e 90 a 140 mg kg⁻¹ em *Takifugu rubripes* (Zibdeh et al., 2001). Para o crescimento inicial da tilápia híbrida (*O. niloticus* x *O. aureus*), Shiau & Su (2003) encontraram uma exigência de 150 a 160 mg de Fé/kg⁻¹ e 85 mg de Fe/kg⁻¹ para citrato férrico e sulfato ferroso, respectivamente. Nesta espécie, os valores de hemoglobina, hematócrito e volume corpuscular médio foram maiores quando as dietas foram suplementadas adequadamente.

A deficiência de ferro nos peixes pode causar anemia microcítica e flacidez nos músculos (Pezzato et al., 2004). Em alevinos de tilápia de Nilo, a ausência de vitamina C e ferro na dieta propiciou o aparecimento de anemia microcítica e hipocrômica (Barros et al., 2002). Por outro lado, o excesso de ferro permite que este se ligue ao fósforo, formando um composto insolúvel, que pode provocar a deficiência do mesmo. Ainda, os níveis tóxicos do ferro podem levar a redução no crescimento, danos nos hepatócitos e aumento da mortalidade (NRC, 1993; Webster, 2007).

A suplementação de ferro na dieta é particularmente interessante devido ao efeito desse nutriente nas funções do sistema imune e na defesa do organismo contra diversos patógenos (Beisel, 1982; Bhaskaram, 1988), entretanto tanto a deficiência quanto o excesso deste micromineral pode levar ao comprometimento deste sistema (Lim et al., 2001). Em salmão do Atlântico, a suplementação de 25 a 100 mg de sulfato de ferro/kg⁻¹ aumentou

a concentração de hemoglobina e o nível de ferro hepático (Andersen et al., 1997). Por outro lado, a deficiência de ferro para o bagre de canal aumentou a mortalidade dos peixes desafiados com *E. ictaluri*, embora a produção de anticorpo não tenha sido afetada pelo nível dietário de ferro (Lim & Klesius, 1997).

Manganês

O manganês está envolvido na formação óssea, coagulação sanguínea, função da insulina e síntese de colesterol. Atua ainda como cofator em diversos sistemas enzimáticos, como na síntese da uréia em amônia, metabolismo de proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos, oxidação da glicose, ativação de quinases, transferases, hidrolases e decarboxilases e metaloenzimas como arginase, piruvato carboxilase e superóxido dismutase (Pezzato et al., 2004).

Nos peixes, a deficiência causa diminuição do crescimento, lesões na pele e nadadeiras, desenvolvimento de catarata e anormalidades esqueléticas (Lall, 2002; Pezzato et al., 2004). A deficiência de manganês e zinco reduz a atividade dos leucócitos “natural killer” em truta arco-íris, sendo este efeito revertido com a suplementação destes elementos (Inoue et al., 1998; Webster, 2007).

Selênio

O selênio é um micronutriente essencial para animais, incluindo os peixes, e a função mais conhecida é a de antioxidante, por ser cofator e parte integrante da enzima glutathione peroxidase, que protege células e membranas contra o estresse oxidativo (NRC, 1993; Pezzato et al., 2004). Além de antioxidante, o selênio é um constituinte da 5'-iodinase, enzima responsável pela ativação do tiroxina para a forma mais ativa, a triiodotironina (Ferreira et al., 2002). O selênio em conjunto com a vitamina E, previne distrofia muscular (Watanabe et al., 1997) e atua também contra toxicidade de metais pesados como cádmio, mercúrio (Halver & Hardy, 2002) e cromo (Orun et al., 2008).

O selênio pode ser encontrado nas formas inorgânica (selenito e selenato) e orgânica (selenometionina, selênio-metilselenometionina, selenocistina e selenocisteína). Entre eles, a forma orgânica apresentou maior digestibilidade no salmão do Atlântico (Bell & Cowey, 1989) e maior biodisponibilidade no bagre do canal (Wang & Lovell, 1997) e no híbrido *Morone chrysops* x *M. saxatilis* (Jaramillo et al., 2009).

O peixe absorve o selênio tanto da dieta como da água. Na água, geralmente a concentração é menor que 0,0001 mg/L⁻¹, sendo a toxicidade para os peixes acima de 0,04-0,13 mg/L⁻¹ (Watanabe et al., 1997). O suprimento adequado de selênio na dieta dos peixes promove uma melhora no crescimento (Monteiro et al., 2007; Wang et al., 2007), sobrevivência e uniformidade do lote (Piedras et al., 2005). Por outro lado, a deficiência deste mineral pode causar redução no crescimento, distrofia muscular, anemia e hemorragia. Em excesso, o selênio pode reduzir o crescimento, eficiência alimentar e sobrevivência dos peixes (Watanabe et al., 1997). Em tilápia do Nilo, Gomes (2008) observou focos de necrose no fígado com consequente

prejuízo das funções hepáticas com a suplementação de 1,5 mg Se kg⁻¹ da dieta. No bagre de canal, os níveis e as fontes de selênio influenciaram a resposta imune desta espécie. A suplementação de 0,20 mg Se kg⁻¹ na forma de selenometionina e 0,40 mg Se/kg⁻¹ na forma de selenito de sódio foram responsáveis por promover melhor resistência frente ao desafio com *E. ictaluri* (Wang et al., 1997). Em adição, a suplementação de selênio na dieta do bagre de canal como selênio-levedura foi responsável pelo aumento na aglutinação de anticorpos e da quimiotaxia dos macrófagos (Wang et al., 1997).

Para espécies nativas como a matrinxã *Brycon amazonicus*, a incorporação de 1,5 mg Se kg⁻¹ de ração durante 60 dias produziu melhora no crescimento da espécie, além de aumentar a atividade da glutathione peroxidase, os níveis de glutathione reduzida e da hemoglobina, o que mostra a importância do selênio na proteção celular contra o estresse oxidativo e no aumento das defesas antioxidantes (Monteiro et al., 2007).

Zinco

O zinco atua como cofator em importantes sistemas enzimáticos, e também como componentes de metaloenzimas, como anidrase carbônica, fosfatase alcalina, álcool desidrogenase, carboxipeptidases “a” e “b”, desidrogenase glutâmica, D-glicerol-3-fosfato desidrogenase, desidrogenase lactato, desidrogenase málica, aldose, superóxido dismutase, ribonuclease e DNA polimerase (Pezzato et al., 2004). O zinco atua também como regulador de vários processos do metabolismo de carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (Lall, 2002; Pezzato et al., 2004). Esse mineral desempenha papel importante na ação de hormônios como insulina, glucagon, corticotrófico, entre outros. A absorção deste elemento ocorre no trato gastro-intestinal, brânquias, nadadeiras e pele (Tacon, 1990).

Nos peixes, os sinais de deficiência consistem na diminuição do crescimento, lesões na pele e nadadeiras, e desenvolvimento de catarata lenticular bilateral (Pezzato et al., 2004). Por outro lado, o excesso de cálcio, ácido fítico ou cobre inibem a absorção de zinco (Lall, 2002).

A suplementação de levedura desidratada de álcool (*Saccharomyces cerevisiae*) e zinco (óxido de zinco) como pró-nutrientes em ração inicial para *O. niloticus* resultou em interação positiva entre os mesmos no ganho de peso, conversão alimentar aparente e coeficientes de digestibilidade aparente, lipídio total e energia bruta, sendo que os níveis de 1% de levedura e 300mg Zn/kg⁻¹ na dieta foram considerados adequados para suplementação (Hisano et al., 2004). Ainda, Signor (2007), trabalhando com levedura e zinco na dieta para tilápia do Nilo, verificou que níveis superiores a 4,0% de levedura autolisada e 400 mg de Zn/kg⁻¹ dieta prejudicaram o metabolismo de minerais, enquanto que 6,0% de levedura autolisada e 600 mg de Zn kg⁻¹ nas dietas prejudicaram o desempenho produtivo e o metabolismo de lipídeos nos peixes. Esse mesmo autor avaliou ainda os parâmetros hematológicos de tilápia do Nilo suplementadas com levedura autolisada e zinco na dieta, antes e após o estresse pelo frio, e observou que houve maior prejuízo na eritropoiese nos peixes que receberam dietas com 0,795:79,50 (Lev:Zn) e 14:1400 (Lev:Zn). Em adição, a ausência destes nutrientes promoveu uma diminuição significativa no hematócrito, leucócitos

totais e proteína plasmática total. Ainda, a suplementação de níveis elevados de levedura autolisada e zinco na dieta de tilápias provocou condições sub-ótimas de saúde e o estresse pelo frio determinou leucopenia, linfopenia, neutrofilia e monopenia.

Scarpa et al. (1992) observaram que a suplementação de 200 mg Zn kg⁻¹ não induziu melhora na resistência de bagres do canal não imunizados para *Aeromonas hydrophila*. Entretanto, a suplementação de 5 mg de Zn/kg⁻¹ na forma de metionina ou 30 mg Zn/kg⁻¹ na forma de sulfato promoveu maior sobrevivência de bagre de canal após o desafio com *E. ictaluri* (Paripatananont & Lovell, 1995), enquanto uma maior produção de anticorpo foi obtida com a suplementação de 15 mg de Zn/kg⁻¹ na forma de metionina ou 30 mg Zn/kg⁻¹ ou mais na forma de sulfato.

C – Micro-organismos

a) Probióticos

A utilização dos microrganismos benéficos nos sistemas de criação faz parte de uma visão mais moderna da aquicultura, que considera o viveiro de piscicultura como um sistema ecológico onde todos os níveis tróficos estão interligados. As bactérias possuem um papel importante na reciclagem dos nutrientes em todos os ecossistemas, atuando nos principais ciclos bioquímicos que sustentam a vida na terra.

O termo probiótico foi originalmente definido por Parker (1974) como “organismos e substâncias que contribuem para o balanço intestinal”. Esta definição mais tarde foi restrita para “suplemento alimentar de microrganismos vivos que afetam benéficamente o animal hospedeiro melhorando o equilíbrio da microflora intestinal” (Fuller, 1989). Na aquicultura o conceito de probiótico é um pouco mais amplo e alguns autores consideram que os probióticos não precisam ser obrigatoriamente um suplemento alimentar. Na verdade, os métodos de aplicação são bastante variados, os probióticos podem ser simplesmente misturados na água de criação, adicionados na ração, banhos terapêuticos ou mesmo fornecidos indiretamente através de rotíferos e artêmia (Irianto & Austin, 2002).

Os microrganismos probióticos com potencial para a utilização na aquicultura incluem bactérias gram-positivas e gram-negativas, leveduras e microalgas. Microrganismos inativados e seus componentes celulares também são considerados como probióticos por alguns autores (Isolauri et al., 2004), mas os resultados obtidos experimentalmente não são tão eficientes quanto aqueles obtidos com a utilização de células vivas (Panigrahi et al., 2005).

Trust et al. (1979) isolaram e identificaram microrganismos anaeróbicos do trato gastrointestinal de três espécies: da carpa-capim *Ctenopharyngodon idella*, do kinguio *Carassius auratus* e truta *Oncorhynchus mykiss*. A lista incluía *Actinomyces*, *Bacterioides*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium* e *Peptostreptococcus*, gêneros encontrados também na microflora gastrointestinal de outros vertebrados. Ramirez & Dixon (2003) estudaram a produção de enzimas pela microflora intestinal do apaiari *Astronotus ocellatus*, acará bandeira *Pterophyllum scalare* e do linguado *Paralichthys lethostigma* e concluíram que as bactérias anaeróbicas

intestinais devem exercer um papel importante na digestão destes peixes, produzindo enzimas para a quebra e absorção de nutrientes.

A bactéria láctica *Carnobacterium divergens* foi isolada do intestino do bacalhau do Atlântico *Gadus morhua* e fornecida na dieta de juvenis da mesma espécie (Gildberg et al., 1997). No final do experimento foi observada melhora na resistência a doenças e a bactéria láctica conseguiu colonizar com sucesso o intestino dos peixes sobreviventes. A utilização de dois tipos de bactérias liofilizadas na dieta de juvenis de carpa comum aumentou a atividade de enzimas digestivas e melhorou o desempenho (Yanbo & Zirong, 2006). As bactérias utilizadas afetaram de forma diferente o desempenho e os melhores resultados foram obtidos com a combinação das duas.

Além de serem adicionadas nas rações, as bactérias benéficas também podem ser adicionadas na água para melhorar a ciclagem dos nutrientes e controlar a proliferação dos microrganismos indesejados (Irianto & Austin, 2002). Os probióticos podem ser utilizados também durante a incubação dos ovos, servindo como uma barreira efetiva contra os microrganismos patogênicos e, quando consumidos pelas larvas, atuando durante a colonização primária do intestino (Farzanfar, 2006).

As leveduras, principalmente a *Saccharomyces cerevisiae*, já mostraram bons resultados quando adicionadas em dietas para peixes. A utilização de levedura e de um probiótico comercial na proporção de 0,1% na dieta de larvas de tilápia do Nilo melhoraram significativamente o crescimento das larvas em relação a uma dieta controle (Lara-Flores et al., 2003). A suplementação com levedura desidratada e parcialmente autolizada em dietas de juvenis do híbrido *Morone chrysops* x *M. saxatilis* mostrou bons resultados de desempenho, conversão alimentar, sobrevivência e resistência contra bactérias (Li & Gatlin III, 2003, 2004, 2005). Nestes estudos, os níveis de inclusão variaram entre 1 e 4% das dietas, mas em geral 1% de inclusão já foi suficiente para proporcionar bons resultados.

Siwicki et al. (1994) estudaram o efeito de dois tipos de leveduras sobre a resposta imune não específica da truta arco-íris *O. mykiss* e verificaram que a porcentagem de linfócitos foi significativamente maior. No caso de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), Gaiotto (2005) estudou a inclusão de dois níveis (2,5 e 5%) de levedura íntegra desidratada e seus derivados, parede celular de levedura e autolizado de levedura, na dieta e encontrou efeito significativo na composição de carcaça, taxa de crescimento específico, sobrevivência e consumo de ração.

Salvador (2008) avaliou o efeito da suplementação alimentar com 0,3% de parede celular de levedura e vacinação com extrato oleoso de *Streptococcus agalactiae* sobre o desempenho produtivo, indicadores fisiológicos e componente celular inflamatório de tilápia do Nilo. A suplementação com parede celular de levedura associada à vacinação não influenciou o desempenho produtivo dos peixes, embora tenha sido importante por incrementar a hematopoiese e leucopoiese, minimizando os problemas relativos à administração da substância isoladamente, além de promover melhora da resposta de defesa dos peixes, no que se refere à inflamação aguda.

Um probiótico comercial contendo *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Clostridium butyricum* e *Saccharomyces cerevisiae* foi avaliado em *Paralichthys olivaceus*, em sistema de recirculação. A incorporação do

probiótico na dieta ou na água de criação promoveu maior crescimento, sobrevivência e atividade da lisozima. Ainda, nos ensaios de estresse e de desafio com *Vibrio anguillarum*, os peixes apresentaram maior tolerância ao aumento de temperatura e maior sobrevivência, respectivamente, com a suplementação do probiótico, indicando que o emprego deste probiótico na água e na dieta pode melhorar a tolerância ao estresse e o sistema imune não-específico da espécie, promovendo uma maior resistência contra condições de estresse e patógenos (Taoka et al., 2006).

A alga unicelular *Tetraselmis suecica* foi utilizada na alimentação de camarões e como um aditivo alimentar para salmonídeos com bons resultados na redução de doenças bacterianas, sugerindo a presença de um componente antimicrobiano não específico (Irianto & Austin, 2002).

O sucesso da utilização dos probióticos na dieta de peixes confirmou a importância dos microrganismos na saúde do sistema digestório e desempenho de peixes e outras espécies aquáticas (Gatesoupe, 1999; Irianto & Austin, 2002; Balcázar et al., 2006; Farzanfar, 2006; Kesarcodi-Watson et al., 2008). A possibilidade de estimular seletivamente o crescimento destas bactérias deu origem aos prebióticos.

b) Prebióticos

A utilização de ingredientes como um substrato seletivo para os microrganismos benéficos deu origem ao conceito de prebiótico. Os prebióticos são ingredientes não digestíveis da dieta que afetam positivamente o hospedeiro, estimulando de forma seletiva o crescimento e a atividade de bactérias benéficas para o trato gastrointestinal e melhorando a saúde do hospedeiro (Gibson & Roberfroid, 1995).

Para uma substância ser classificada com prebiótico, ela não pode ser hidrolisada ou absorvida na parte superior do trato gastrointestinal, e deve ser um substrato seletivo para bactérias comensais benéficas do cólon, afetando o crescimento ou o metabolismo, sendo capaz de alterar a microflora intestinal favorável e induzir efeitos benéficos intestinais ou sistêmicos ao hospedeiro (Dionizio et al., 2002). Os prebióticos também podem atuar indiretamente sobre o sistema imune e enzimático, pois estimulam o crescimento das populações de bactérias benéficas, que têm a capacidade de produzir substâncias com propriedades imunoestimulatórias e interagir com o sistema imune em vários níveis, incluindo produção de citocinas, proliferação de células mononucleares, fagocitose macrofágica, eliminação e indução de síntese de grandes quantidades de imunoglobulinas (Silva & Nörnberg, 2003).

As principais fontes de prebióticos utilizadas na alimentação animal são alguns açúcares absorvíveis ou não, fibras, peptídeos, proteínas, alcoóis de açúcares e os oligossacarídeos (Dionizio et al., 2002). Na nutrição animal, entre os prebióticos mais estudados como aditivos estão os frutoligosacarídeos, glucoligosacarídeos e mananoligosacarídeos (Budiño et al., 2004).

De acordo com Silva & Nörnberg (2003) os efeitos resultantes do uso dos prebióticos em dietas para animais monogástricos são evidenciados pelo crescimento de populações microbianas benéficas, melhora nas condições luminiais, alterações nas características anatômicas do trato gastrointestinal,

aumento da eficiência do sistema imune e, em alguns casos, pela melhora no desempenho animal. Os prebióticos parecem afetar os peixes principalmente em situações de estresse, ajudando na recuperação e aumentando a sobrevivência, mas os resultados encontrados na literatura mostram que não é sempre que os prebióticos atuam como promotores de crescimento. Li & Gaitlin III (2004) avaliaram a inclusão do prebiótico comercial Grobiotic™ AE (1 e 2%) em dietas para juvenis de *Morone chrysops* x *M. saxatilis* e verificaram que a conversão alimentar foi significativamente melhor com a dieta contendo prebiótico. Neste mesmo estudo também foi realizado um desafio com bactérias e os peixes que receberam as dietas contendo prebiótico apresentaram sobrevivência significativamente maior em relação à dieta basal. Posteriormente, Li & Gaitlin III (2005) testaram a eficiência do prebiótico Grobiotic®-A (2% de inclusão) para juvenis de *Morone chrysops* x *M. saxatilis* expostos à infecção crônica por *Mycobacterium marinum* e constataram a utilização do prebiótico não afetou o ganho de peso e conversão alimentar, mas elevou significativamente a sobrevivência dos peixes.

A inclusão de 0,05% do prebiótico comercial Flavofeed® na dieta de juvenis de tilápia do Nilo mantidos em condições controladas de laboratório também não afetou significativamente o desempenho, eficiência alimentar e parâmetros hematológicos sanguíneos, mas foram observadas alterações significativas nas características do epitélio do intestinal e menor deposição de gordura visceral nos peixes alimentados com prebiótico, evidenciando alterações fisiológicas provocadas pelo uso deste aditivo (Fabregat et al., 2008). Mesmo quando não ocorrem alterações hematológicas significativas, como observado no estudo com juvenis de tilápia do Nilo, a utilização de prebióticos pode promover a diminuição nas populações de bactérias patogênicas. Determinados oligossacarídeos podem atuar diretamente sobre estas populações, ligando-se às fímbrias utilizadas para fixação e tornando-as indisponíveis para a aderência no trato gastrointestinal, fazendo com que as bactérias sejam eliminadas por exclusão competitiva (Spring et al., 2000; Gibson & Roberfroid, 1995).

Mananoligossacarídeos

Dentre os oligossacarídeos mais estudados como aditivos na alimentação animal encontram-se: frutoligossacarídeos (FOS), glucoligossacarídeos (GOS) e mananoligossacarídeos (MOS) (Budiño, 2007).

Os mananoligossacarídeos (MOS) são pequenos polímeros de manose encontrados em maior quantidade em componentes de células de leveduras (Gibson & Roberfroid, 1995). Estes constituem uma rica fonte de manose disponível para adesão bacteriana, adsorvendo os patógenos e impedindo sua ligação à parede intestinal (Leslie, 1996; Gouveia et al., 2006).

Estudos com *Ancipenser oxyrinchus* mostram que a inclusão de 3 g MOS/kg⁻¹ de ração promove melhora na taxa de crescimento específico, conversão alimentar e fator de condição (Pryor et al., 2003). De forma semelhante, Staykov et al. (2007) observaram melhora no ganho de peso, redução na taxa de conversão alimentar e na taxa de mortalidade de truta arco-íris suplementadas com 2000 ppm de MOS na ração em sistemas de tanques-rede e raceways. Ainda, em *Dicentrarchus labrax* houve aumento no

ganho de peso com a incorporação de 200 e 400 mg de MOS kg⁻¹ de ração (Torrecillas et al., 2007).

Garcia (2008) avaliou o nível e o tempo de administração adequados de um suplemento constituído por 25% de mananoligossacarídeo e 30% de β -glucano sobre o desempenho produtivo e a homogeneidade do lote de tilápias criadas em tanques-rede e em condições de laboratório e observou que a suplementação desse composto na dieta de tilápias criadas em tanques-rede deve ser de 1000 mg de suplemento kg⁻¹ de ração durante 36 dias.

Com relação ao efeito do MOS sobre as vilosidades intestinais, Salze et al. (2008) relataram que larvas de bijupirá *Rachycentron canadum* que receberam suplementação de 0,2% de MOS apresentaram vilosidades intestinais mais altas (2,04 m) em relação ao grupo controle. De forma semelhante, Garcia (2008) avaliou o efeito da suplementação alimentar com mananoligossacarídeo e β -glucano sobre vilosidades e criptas intestinais e digestibilidade de nutrientes da dieta de tilápias e observou que em 36 dias, a suplementação teve efeito prebiótico, reduzindo a profundidade de cripta, com a otimização da superfície de absorção intestinal representada pelo epitélio das vilosidades e com conseqüente melhora nos coeficientes de digestibilidade da proteína bruta nos peixes que receberam a suplementação com 500 mg MOS kg⁻¹ de ração.

Sado (2008) avaliou a influência da suplementação de MOS no desempenho produtivo e parâmetros hematológicos de juvenis de pacu e não observou efeito nesses indicadores. Ainda, não houve diferença no perímetro das vilosidades intestinais de pacus suplementados com 0, 0,4 e 1,5% de MOS kg⁻¹ de ração.

Glucanos

Os β -glucanos são macromoléculas formadas por blocos de glicose unidos através de ligações β (1-3) e β (1-6), sendo normalmente encontrados nas células de levedura e fungos e funcionam como um potente imunoestimulante em mamíferos (DiLuzio, 1985) e em peixes (Robertsen et al., 1990; Cook et al., 2003).

O mecanismo de ação do β -glucano se dá por meio de receptores específicos na superfície dos macrófagos (Jorgensen & Robertsen, 1995). Os macrófagos fazem parte da resposta imune não específica, reconhecendo e processando os antígenos, e ativando os linfócitos (Secombes & Fletcher, 1992). Nos peixes, o β -glucano pode favorecer a estimulação dos mecanismos de defesa não-específicos, estimulando a atividade fagocitária dos macrófagos e aumentando assim sua capacidade para eliminar os patógenos (Jorgensen et al., 1993; Jorgensen & Robertsen, 1995; Cook et al., 2003). O β -glucano é responsável também por promover a produção de proteínas líticas como a lisozima e as do sistema complemento (Engstad et al., 1992; Ortunõ et al., 2001; Paulsen et al., 2001; Biller, 2008), além de possuir atividades antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante (Liu et al., 2007; Dore et al., 2007).

Baixas concentrações de β -glucano são efetivas para estimular as funções imunes não-específicas em peixes (Robertsen et al., 1994; Santarém et al., 1997), enquanto altas concentrações podem exaurir as células

fagocíticas, prejudicando a potência e rapidez das respostas frente à exposição ao patógeno (Castro et al., 1999). A efetividade do β -glucano em peixes tem sido demonstrada na defesa contra as bactérias *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio salmonicida* e *Pasteurella piscicida* (Nikl et al., 1993) e *Aeromonas hydrophila* (Biller, 2008; Chagas et al., 2008a), além de aumentar a eficiência dos protocolos de vacinação por aumentar a produção de anticorpos contra proteínas presente na superfície das bactérias (Sherwood et al., 1987; Selvaraj et al., 2005; Whittington et al., 2005). Alguns resultados referentes às funções do β -glucano em peixes são sumarizados na Tabela 8.

Na literatura há vários estudos descrevendo o efeito benéfico do β -glucano sobre o desempenho produtivo dos peixes, principalmente quanto ao aumento da taxa de crescimento de diferentes espécies de peixes (Cook et al., 2003; Misra et al., 2006; Ai et al., 2007; Sealey et al., 2008; Dalmo & Bogwald, 2008), contudo, não existe uma explicação plausível para este fato. Os estudos de Whittington et al. (2005), Bagni et al. (2005), Welker et al. (2007) e Chagas et al. (2008a) contrapõem esses achados, visto que eles não observaram nenhum aumento significativo no crescimento dos peixes suplementados com β -glucano na dieta (Tabela 8). Essa divergência nos resultados, em parte, é explicada pelas diferentes respostas obtidas na absorção do β -glucano, solúvel ou particulado, no intestino. O β -glucano na forma solúvel é prontamente absorvido pelo intestino, enquanto que para o particulado não há evidências que este seja absorvido pelo intestino dos peixes ou digerido por enzimas que degradam o β -glucano (Dalmo & Bogwald, 2008). Em adição, essa divergência pode ser originada também em função do método de administração, quantidade de β -glucano incorporada na dieta, duração da administração, temperatura ambiental e a da espécie em estudo (Cook et al., 2003; Abreu, 2007; Sealey et al., 2008; Dalmo & Bogwald, 2008).

No híbrido *Morone chrysops* x *M. saxatilis* a suplementação de β -glucano na dieta por seis semanas não promoveu efeito significativo sobre o desempenho produtivo da espécie, ocasionando redução do ganho de peso e conversão alimentar, além de não produzir melhoras na resistência às doenças e na atividade da lisozima (Jaramillo Junior & Gaitlin III, 2004).

O uso do β -glucano (G) e BAISM (B) como imunoestimulante e promotor de crescimento foi avaliado em juvenis de *Paralichthys olivaceus*. Neste estudo, Yoo et al. (2007) observaram que os peixes alimentados com as dietas G0,1+B0,9, G0,1+B1,9 e G0,15+B1,35 obtiveram maior ganho de peso, fator de condição e taxas de eficiência alimentar, crescimento específico e eficiência protéica. Ainda, a atividade de lisozima dos peixes alimentados com G0,1+B0,9 foi significativamente maior que o observado nos demais grupos. Estes resultados indicam que o nível de suplementação dietética ótima para juvenis de *Paralichthys olivaceus* é de 0,10% de β -1,3 glucano + 0,90% de BAISM.

Tabela 8. Efeitos da suplementação dietética de β -glucano em peixes.

Espécie	Glucano	Efeito	Referência
<i>O. mykiss</i>	β -glucano	Crescimento ↓ “Burst” respiratório → Lisozima → Sobrevivência após desafio com IHNV ↑	Sealey et al. (2008)
<i>O. mykiss</i>	β -1,3,1,6 glucano	“Burst” respiratório → Lisozima → Complemento → Anticorpos ↑	Verlhac et al. (1998)
<i>O. niloticus</i>	β -glucano	Lisozima →	Whittington et al. (2005)
<i>I. punctatus</i>	Célula íntegra/ subcomponentes de levedura	Crescimento → Lisozima → Complemento → Sobrevivência após infecção com <i>Edwardsiella ictaluri</i> →	Welker et al. (2007)
<i>C. carpio</i>	β -1,3-glucano + LPS	Anion superóxido ↑ Efeito adjuvante ↑ Complemento → Lisozima → Resistência a <i>Aeromonas hydrophila</i> ↑	Selvaraj et al. (2006)
<i>C. batrachus</i>	β -1,3-glucano (Sigma, St. Louis, MO, USA)	Lisozima ↑ Anion superóxido ↑ Resistência a <i>Aeromonas hydrophila</i> ↑	Kumari & Sahoo (2006)
<i>Sander lucioperca</i>	MacroGard (Biotec Pharmacon, Tromso, Norway)	Lisozima ↑ Imunoglobulina ↑ Atividade fagocítica ↑	Siwicki et al. (2009)
<i>Pseudosciaena crocea</i>	Célula íntegra/ subcomponentes de levedura	Crescimento ↑ Lisozima ↑ Complemento → “Burst” respiratório ↑ Proteção contra <i>Vibrio harveyi</i> ↑	Ai et al. (2007)
<i>P. mesopotamicus</i>	Nutricell (Biorigin, São Paulo, Brasil)	Crescimento → Hematologia → Resistência a <i>Aeromonas hydrophila</i> ↑	Schorer (2008)
<i>C. macropomum</i>	Betamune (Biorigin, São Paulo, Brasil)	Crescimento → Hematologia → Resistência a <i>Aeromonas hydrophila</i> ↑	Chagas et al. (2008a)

Falcon (2007) avaliou a suplementação de diferentes níveis de β -glucano (0,1%, 0,2%, 0,4% e 0,8%) e vitamina C (400 e 600 mg/kg⁻¹ dieta) na dieta de tilápia do Nilo durante 60 dias e observou que essa suplementação não teve influência no desempenho produtivo da espécie.

Ainda, após o estímulo pelo frio e desafio com *A. hydrophila* observou-se melhores respostas imunes, determinadas pelos intermediários reativos do oxigênio e do nitrogênio, em tilápias suplementados com 0,1% de β -glucano e 600 mg de vitamina C kg^{-1} da dieta.

Com espécies nativas como o pacu, a suplementação de 0,1%, 0,2% e 0,3% de β -glucano nas rações por 90 dias não promoveu melhoras no desempenho produtivo desses juvenis e não provocou alterações nos parâmetros fisiológicos e indicadores de estresse. Entretanto, em 30 e 60 dias de suplementação com 0,1% de β -glucano houve maior sobrevivência dos pacus desafiados com *A. hydrophila* (Schorer, 2008).

Avaliando o desempenho produtivo de tambaquis suplementados com 0%; 0,1%; 0,2%; 0,4% e 0,8% β -glucano/ kg^{-1} de ração, por 60 dias, Chagas et al. (2008a) não observaram diferença significativa no peso final, comprimento final, ganho de peso, conversão alimentar e sobrevivência. Ainda, essa suplementação não provocou nenhuma alteração significativa nos parâmetros hematológicos (hematócrito, hemoglobina e número de eritrócitos) e bioquímicos (glicose plasmática, proteínas totais e albumina) estando estes valores dentro da faixa considerada ideal para peixes hígidos. Portanto, os níveis de β -glucano avaliados não induziram uma resposta fisiológica diferenciada no tambaqui (Chagas et al., 2008b).

Existem evidências de que o aumento na taxa de crescimento dos peixes, resposta ao estresse e resistência a doenças são dependentes dos níveis de β -glucano incorporado na ração, da via de administração, bem como do período de fornecimento da dieta (Dalmo & Bogwald, 2008).

Abreu (2007) avaliou as vias de administração do β -glucano, injeção intraperitoneal ou adicionado à ração, em pacus e observou que não houve alteração hematológica em ambas as vias testadas. Por outro lado, com a injeção intraperitoneal de β -glucano houve um aumento da atividade respiratória dos leucócitos após quatro (10 μg de β -glucano) e 10 dias (50 μg de β -glucano), bem como maior atividade de lisozima nos peixes injetados com 10 μg de β -glucano e nos que receberam a suplementação de 1,0% de β -glucano na dieta.

Com relação ao tempo adequado para administração (7, 15, 30 e 45 dias) das dietas suplementadas de 0,1% de β -glucano e 600 mg de vitamina C kg^{-1} dieta para juvenis de tilápia do Nilo, Falcon (2007) relatou que o tempo de 15 dias ou mais proporcionou aumento da resistência orgânica dos peixes frente aos desafios: estímulo pelo frio, estresse por transporte e *Aeromonas hydrophila*.

Segundo Biller (2008) a suplementação de 0,1% de β -glucano por sete dias na dieta do pacu promoveu maior sobrevivência dos peixes desafiados com *A. hydrophila*, e houve um aumento das células leucocitárias, número de trombócitos e níveis de proteína total. Em sete dias de suplementação com 1% de β -glucano, ocorreu um aumento da atividade respiratória dos leucócitos, da atividade da lisozima e da atividade de proteínas do sistema complemento dos pacus inoculados com *A. hydrophila*. Essa autora enfatiza que a utilização do β -glucano melhorou o sistema imune inato desta espécie.

Em ensaios de desafio com a bactéria *A. hydrophila*, observou-se que tambaquis que não receberam a suplementação e os que receberam 0,4 e 0,8% de β -glucano apresentaram maior mortalidade, após o desafio. Entretanto, o grupo de peixes que recebeu a menor suplementação de β -

glucano (0,1%) foi o que apresentou menor taxa de mortalidade. Decorridas 24 horas após o desafio, observou-se ocorrência de características clínico-patológicas típicas de aeromoniose (Figura 12), tais como: petéquias hemorrágicas, grandes lesões na superfície do corpo, distensão da cavidade abdominal, peixes isolados do cardume, coloração enegrecida, hemorragia nas nadadeiras e órgãos internos (Chagas et al., 2008a).

A administração de dietas suplementadas com β -glucano mostrou ser benéfica na prevenção dos efeitos negativos do estresse em peixes, ressaltando a importância do emprego de imunostimulantes como medida profilática (Anderson, 1992; Selvaraj et al., 2005). Em *O. mykiss*, houve supressão das respostas primárias e secundárias do estresse de transporte, sugerindo que baixos níveis de β -glucano poderiam ser administrados na dieta antes do transporte para prevenir esses efeitos negativos (Jeney et al., 1997). Em pacus expostos ao estresse de captura, Abreu (2007) observou que a administração do β -glucano, por injeção intraperitoneal ou adicionado à ração, não afetou os parâmetros hematológicos do pacu, e não minimizou as alterações provocadas pelo estresse. Cinco minutos após o início do protocolo de estresse, houve um aumento da atividade respiratória dos leucócitos em pacus suplementados com 0,1% e 0,5% de β -glucano.

A vacinação é um método de imunostimulação específica utilizada nos humanos e animais, incluindo os peixes (Iwama & Nakanishi, 1996). Na aquicultura, as vacinas utilizadas consistem de preparações de bactérias vivas atenuadas, células mortas ou extratos celulares que são administrados aos peixes por injeção ou imersão (Gatlin III, 2002). No desenvolvimento de vacinas para peixes há necessidade de se compreender os mecanismos básicos da diferença entre a proteção alcançada por vacinas inativadas e a forte imunidade induzida por vacinas de DNA. No caso dos antígenos inativados, a maioria destes não irá induzir resposta imune adequada quando administrados na ausência de um adjuvante (Dalmo & Bogwald, 2008). Portanto, para aumentar a potência e eficácia da vacina, tem sido proposta a inclusão de imunostimulantes como adjuvantes, e nesse sentido o estudo de Kamilya et al. (2006) mostrou um aumento da resposta do anticorpo após injeção de β -glucano como adjuvante em vacina de *A. hydrophila* inativada (Kamilya et al., 2006).

Pilarski et al. (2009) avaliaram o efeito da suplementação de diferentes níveis de β -glucano e da vacina oleosa com cepa inativada de *Flavobacterium columnare* sobre as respostas hematológicas e resistência de juvenis de tilápia. Estes autores relatam que para os peixes suplementados com β -glucano e vacinados houve diferença significativa na contagem total de células e trombócitos. A porcentagem das células brancas foi maior nos peixes vacinados e suplementados com 1,5% de β -glucano e com relação aos trombócitos, a porcentagem dessas células foi maior nos peixes vacinados e suplementados com 0,1% de β -glucano. Após o desafio com *F. columnare* observou-se maior porcentagem de mortalidade dos peixes no grupo suplementado com 3,0% de β -glucano e no grupo controle, enquanto nenhuma mortalidade foi registrada nos peixes alimentados com 0,1% de β -glucano. A administração de uma dose única de vacina de *F. columnare* por injeção intraperitoneal e a suplementação de 1,5% de β -glucano foi eficaz para prevenir a ocorrência de columnariose.

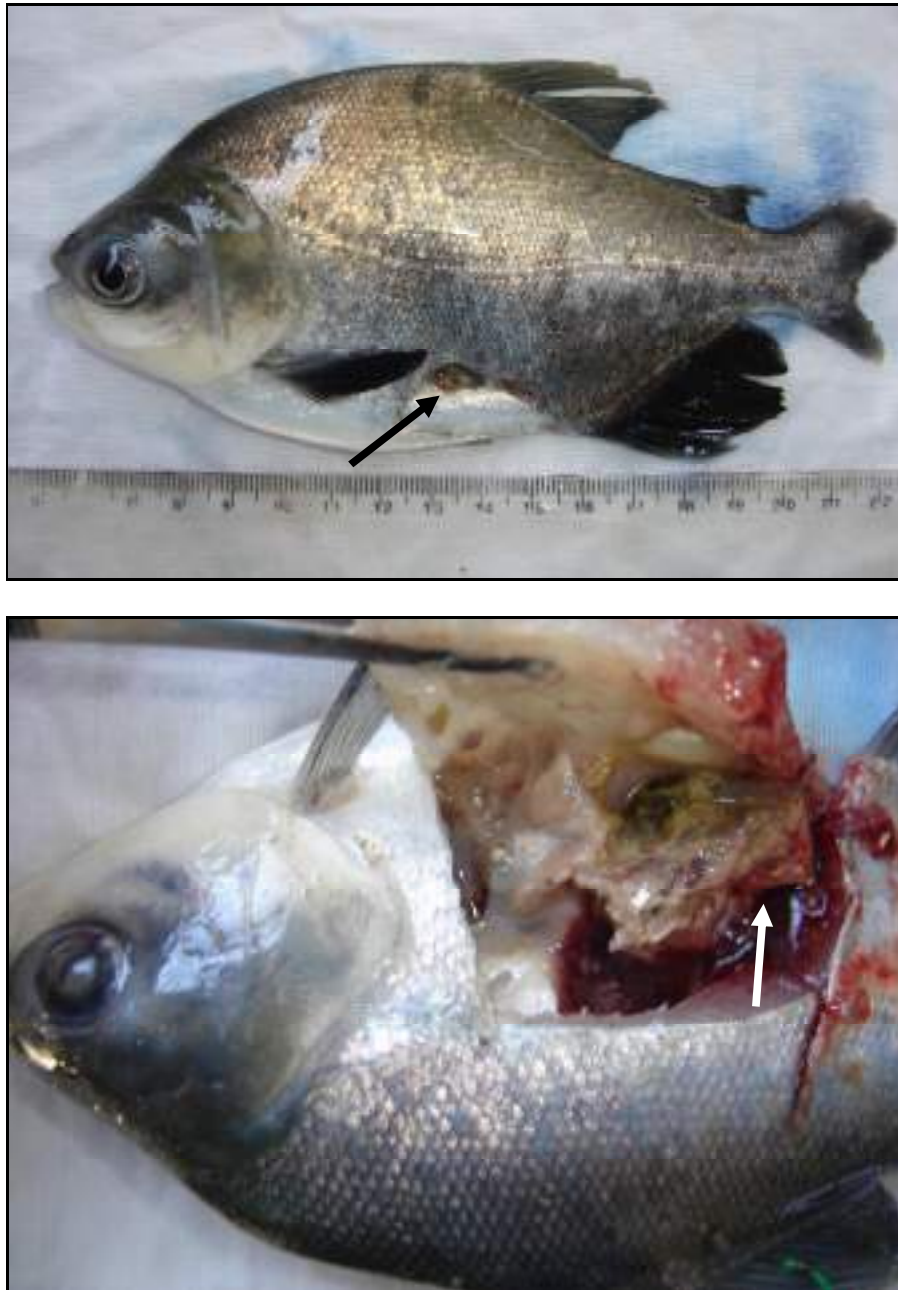


Figura 12. Espécimes de tambaqui apresentando sinais clínicos de ocorrência de *A. hydrophila*. (A) lesões na superfície do corpo e (B) hemorragia de órgãos internos. Sakabe (2008).

Nucleotídeos

Os nucleotídeos são compostos por uma base nitrogenada, um monossacarídeo pentose e um, dois ou três grupos fosfatos (Champe & Harvey, 1996). Eles possuem funções fisiológicas e bioquímicas essenciais que incluem numerosas reações de transferência de grupos fosfatos, tanto do ATP como de outros nucleotídeos trifosfatos, que suprem as reações endorgônicas, atuando também na formação de inúmeras coenzimas, tais como flavina adenina dinucleotídeo (FAD), nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD), fosfato nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADP), coenzima A e S-adenosil-metionina e como efetores alostéricos e agonistas celulares (Carver & Walker, 1995; Cosgrove, 1998).

Os nucleotídeos não eram considerados nutrientes, pois era assumido que os organismos vivos poderiam sintetizar quantidades adequadas destes compostos exigidos para crescimento e desenvolvimento normais. Contudo, alguns tecidos têm uma capacidade limitada para realizar a síntese “de novo” e dependem de compostos fornecidos pela via de salvamento, tais como a mucosa intestinal, células hematopoiéticas e o cérebro (Yamamoto et al., 1997).

Na nutrição humana tem se utilizado o termo “semi” ou condicionalmente essencial para classificar os nucleotídeos, pois este nutriente somente torna-se essencial quando a síntese endógena não é suficiente para atender às funções normais (Carver & Walker, 1995). Por outro lado, Grimble & Westwood (2000) relatam que a deficiência dietética de nucleotídeo pode prejudicar as funções do fígado, coração, intestino e imune. Os nucleotídeos tornam-se essenciais em determinadas condições, pois o seu consumo pode poupar o organismo dos custos da síntese “de novo” e da via de salvação, consequentemente otimizando as funções dos tecidos e/ou órgãos. As condições indicadas para seu uso são: certos estados de doença, períodos de consumo limitado de nutrientes, crescimento rápido e na presença de fatores regulatórios ou de desenvolvimento que interferem na capacidade de síntese endógena (Carver & Walker, 1995).

Os efeitos benéficos da suplementação de nucleotídeos na dieta incidem sobre o crescimento, desenvolvimento do intestino delgado, metabolismo de lipídios, funções hepáticas, na maturação, ativação e proliferação dos linfócitos, assim como na fagocitose de macrófago e expressão genética de certas citocinas (revisto por Gil, 2002). López-Navarro et al. (1995) relatam que os nucleotídeos dietéticos são responsáveis por modular o metabolismo dos nucleotídeos do fígado, e que este é o órgão mais importante para estocagem de nucleotídeos e transporte inter-órgão visando atender as necessidades fisiológicas (revisto por Gatlin III & Li, 2007).

Os nucleotídeos estão naturalmente presentes em todos os alimentos de origem animal e vegetal como nucleotídeos livres e ácidos nucléicos. Atualmente, vários suplementos de nucleotídeos são disponíveis no mercado, sendo estes mononucleotídeos e/ou oligonucleotídeos derivados da levedura (revisto por Gatlin III & Li, 2007).

A incorporação de misturas comerciais contendo nucleotídeos nas dietas de peixes tem proporcionado melhor ganho de peso, contudo é provável que esta resposta varie em função da espécie e dose administrada

(Bagni et al., 2005; Choudhury et al., 2005; Li & Gatlin III, 2006). Alguns estudos mostram melhor crescimento em larvas de tilápia (Ramadan & Atef, 1991), juvenis de truta arco-íris (Adamek et al., 1996) e de *Sciaenops ocellatus* (Gatlin III & Li, 2007). Por outro lado, para a maioria de juvenis e peixes sub-adultos, a influência da suplementação de nucleotídeos dietéticos no crescimento destes organismos tem se mostrado até certo ponto marginal (Li et al., 2004; Gatlin III & Li, 2007). Algumas respostas de desempenho dos peixes suplementados com nucleotídeos dietéticos são apresentadas na Tabela 9.

Os primeiros estudos com espécies nativas avaliando a incorporação de nucleotídeos na dieta de peixes foram realizados com juvenis de tambaqui, utilizando as concentrações de 0, 0,2 e 0,5% de nucleotídeos kg^{-1} de dieta durante 60 dias. Essa suplementação promoveu bom desempenho produtivo da espécie, cujo ganho de peso foi de aproximadamente 140 g no período, contudo, não foram observadas diferenças significativas no peso final, comprimento final, ganho de peso, conversão alimentar e sobrevivência de tambaquis (Chagas & Moraes, resultados não publicados). Estes resultados corroboram a hipótese de crescimento marginal para juvenis de peixes, conforme revisão de Gatlin III & Li (2007). Nesta revisão, os autores relatam que, possivelmente, os nucleotídeos dietéticos influenciam benéficamente o sistema imune dos peixes por compensar parcialmente o efeito inibitório da liberação do cortisol em situações de estresse. Em estudos conduzidos com truta arco-íris, Leonardi et al. (2003) observaram que a suplementação de nucleotídeos na dieta reduziu os níveis de cortisol após 90-120 dias de alimentação, tanto nos peixes saudáveis quando nos infectados com o vírus da necrose pancreática infecciosa. Esta redução do estresse também resultou no aumento da resistência a doenças nos peixes desafiados.

A suplementação de nucleotídeos na dieta dos peixes tem influenciado as respostas imunes e aumentado a resistência a doenças (Burrels et al., 2001; Leonardi et al., 2003; Low et al., 2003). Em salmonídeos, essa suplementação aumentou a resistência dos peixes à infecções virais, bacterianas e parasitárias, e ainda melhorou a eficácia da vacinação e a capacidade osmorregulatória (Burrels et al., 2001). A suplementação de nucleotídeos pode influenciar ambos os componentes humoral e celular do sistema imune inato. Segundo Sakai et al. (2001), essa suplementação ocasionou estimulação do sistema complemento sérico pela via alternativa, da atividade de lisozima e da fagocitose em carpa comum (Tabela 9).

No caso do híbrido *Morone chrysops* x *M. saxatilis*, Li et al. (2004) relataram que a suplementação com nucleotídeos por oito semanas antes da exposição a *S. iniae* reduziu a mortalidade e quando os animais foram expostos novamente à bactéria a mortalidade foi de 52%, sendo esta significativamente menor que a observada nos peixes do grupo controle (83,8%).

Tabela 9. Efeitos da suplementação dietética de nucleotídeos em peixes cultivados.

Espécie	Nucleotídeo	Efeito	Referência
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Optimûn (Chemofarma, Augst, Switzerland)	↑ Sobrevivência após desafio com <i>V. anguillarum</i> , vírus da anemia infecciosa de salmão e <i>P. salmonis</i>	Burrels et al. (2001)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Optimûn (Chemofarma, Augst, Switzerland)	Linfócitos B ↑ Resistência ao vírus da necrose pancreática ↑ Cortisol plasmático ↓	Leonardi et al. (2003)
<i>Cyprinus carpio</i>	RNA de levedura digerido por ribonuclease (Amano Seiyaku Co-op, Tokyo, Japan)	Fagocitose ↑ “Burst” respiratório ↑ Complemento ↑ Lisozima ↑ Infecção por <i>A. hydrophila</i> ↓	Sakai et al. (2001)
<i>Sciaenops ocellatus</i>	Optimûn (Chemofarma, Basel, Switzerland)	Crescimento → Cortisol → Resistência a <i>Amyloodinium ocellatum</i> →	Li et al. (2005)
<i>Epinephelus malabaricus</i>	Mixed-NT (Sigma, St. Louis, MO, USA)	Ganho de peso ↑ Produção de anion superóxido (O_2^-) ↑ Imunoglobulina ↑	Lin et al. (2009)
<i>Scophthalmus maximus</i>	Optimûn (Chemofarma, Augst, Switzerland)	Expressão de genes imune alterados em vários tecidos	Low et al. (2003)

Lin et al. (2009) avaliaram o efeito de uma mistura comercial de nucleotídeo contendo inosina monofosfato (IMP), adenosina monofosfato (AMP), guanosina monofosfato (GMP), uridina monofosfato (UMP) e citidina monofosfato (CMP), assim como a suplementação de cada nucleotídeo individualmente sobre o desempenho produtivo de *Epinephelus malabariscus*. Os resultados do estudo mostraram que os peixes alimentados com 1,5 g da mistura de nucleotídeos/kg⁻¹ de ração ou com 1,5 g de AMP/kg⁻¹ de ração obtiveram maior ganho de peso, produção de anion superóxido (O_2^-) e concentração de imunoglobulina, ressaltando ainda que tanto a mistura de nucleotídeos quanto a suplementação de nucleotídeos na forma de adenosina monofosfato (AMP) foram mais benéficos sobre a resposta imune da garoupa do que os outros nucleotídeos fornecidos isoladamente.

Considerações finais

É inegável a importância dos nutrientes essenciais na dieta dos peixes, por sua ação sobre o desempenho produtivo e sistema imune, devendo ser fornecidos na dieta por serem sintetizados de forma limitada pelos peixes. Com relação aos imunostimulantes, com seu potencial para melhorar a função imune e aumentar a resistência a doenças, a sua inclusão nas dietas dos peixes é vista como uma alternativa ao uso de antibióticos na aquicultura. A incorporação desses suplementos nas dietas dos peixes possibilitará a manutenção do seu equilíbrio orgânico em situações adversas encontradas em sistemas de criação intensiva. Para isso, concentrações de vitaminas, lipídios e minerais superiores às exigidas para crescimento normal são necessárias para estocagem e manutenção da função homeostática desde que não exceda os níveis seguros e resultem em efeitos tóxicos. Nessas determinações, se deve levar em consideração o tipo e função do nutriente, método e frequência de alimentação, condição de criação e o estado de saúde dos peixes. No caso dos compostos que apresentam propriedades imunostimulantes, as pesquisas ainda são recentes na aquicultura mundial. No Brasil, as áreas de aplicação têm se expandido e o uso desses produtos na dieta das espécies nativas vem sendo avaliado. Contudo, algumas questões necessitam ser elucidadas como a dosagem e período de administração desses compostos para promoção da proteção dos peixes, bem como a recomendação do seu uso em período que antecede os manejos mais intensos do processo de produção de peixes.

Agradecimentos

À Profa. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati (Caunep, Jaboticabal, SP), pela delicadeza e valiosa contribuição na revisão crítica deste capítulo.

Referências

-
- ABBINK, W.; BEVELANDER, G. S.; ROTLLANT, J.; CANARIO, A. V. M.; FLIK, G. 2004. Calcium handling in *Sparus auratus*: effects of water and dietary calcium levels on mineral composition, cortisol and PTHrP levels. *J. Exp. Biol.*, 207:4077-4084.
- ABDEL-TAWWAB, M.; MOUSA, M. A. A.; ABBASS, F. E. 2007. Growth performance and physiological response of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.) fed organic selenium prior to the exposure to environmental copper toxicity. *Aquaculture*, 272:335-345.
- ABREU, J. S. 2007. *Suplementação alimentar de pacu (Piaractus mesopotamicus Holmberg, 1887) com β 1,3 glicano: atividade respiratória de leucócitos, lisozima e estresse por captura*. Tese (Doutorado) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- ABREU, J. S.; URBINATI, E. C. 2006. Physiological responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*) fed different levels of vitamin C and submitted to air exposure. *Acta Amazonica*, 36(4):519-524.
- ADAMEK, Z.; HAMACKOVA, J.; KOURIL, J.; VACHTA, R.; STIBRANYIOVA, I. 1996. Effect of ascogen probiotics supplementation on farming success in

- rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and wells (*Silurids glais*) under conditions of intensive culture. *Krmiva (Zagreb)*, 38:11-20.
- AFFONSO, E. G.; SILVA, E. C.; TAVARES-DIAS, M.; MENEZES, G. C.; CARVALHO, C. S. M.; NUNES, E. S. S.; ITUASSÚ, D. R.; ROUBACH, R.; ONO, E. A.; FIM, J. D. I.; MARCON, J. L. 2007. Effect of high levels of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Comp. Bioch. Physiol.*, 147:383-388.
- AI, Q.; MAI, K.; ZHANG, L.; TAN, B.; ZHANG, W.; XU, W.; LI, H. 2007. Effects of dietary β -1,3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Fish Shellfish Immunol.*, 22:394-402.
- ALSO, D.; MATSUMOTO, J.; BROWN, S.; KRAAK, G. V. D. 2008. Retinoid requirements in the reproduction of zebrafish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 156:51-62.
- AMAR, E. C.; KIRON, V.; SATOH, S.; OKAMOTO, N.; WATANABE, T. 2000. Effects of dietary b-carotene on the immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Sci.*, 66:1068-1075.
- AMAR, E. C.; KIRON, V.; SATOH, S.; WATANABE, T. 2001. Influence of various dietary synthetic carotenoids on bio-defence mechanisms in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquac. Res.*, 32: 162-173.
- ANDERSEN, F.; LYGREN, B.; MAAGE, A.; WAAGBØ, R. 1998. Interaction between two dietary levels of iron and two forms of the ascorbic acid and the effect on growth, antioxidant status and some non-specific immune parameters in Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. *Aquaculture*, 161:437-451.
- ANDERSEN, F.; LORENTZEN, M.; WAAGBØ, R.; MAAGE, A. 1997. Bioavailability and interactions with other micronutrients of three dietary iron sources in Atlantic salmon, *Salmo salar*, smolts. *Aquacult. Nutr.*, 3 (4):239-246.
- ANDERSEN, F.; MAAGE, A.; JULSHAMN, K. 1996. An estimation of dietary iron requirement of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Aquacult. Nutr.*, 2(1):41-47.
- ANDERSON, D. P. 1992. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. *Annu. Rev. Fish Dis.*, 2:281-307.
- ANDRADE, J. I. A.; ONO, E. A.; MENEZES, G. C.; BRASIL, E. M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E. C.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J. L.; AFFONSO, E. G.; 2007. Influence of diets supplemented with vitamin C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters. *Comp. Biochem. Physiol.*, 146:576-580.
- ANDREWS, J. W.; MURAI, T.; CAMPBELL, C. 1973. Effects of dietary calcium and phosphorus on growth, food conversion, bone ash and haematocrit levels of catfish. *J. Nutr.*, 103:766-771.
- ANDREWS, J. W.; MURAI, T.; PAGE, J. W. 1980. Effects of dietary cholecalciferol and ergocalciferol on catfish. *Aquaculture* 19:49-54.
- ARUNKUMAR, R. I.; RAJASEKARAN, P.; MICHAEL, R. D. 2000. Differential effect of chromium compounds on the immune response of the African mouth breeder *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Fish Shellfish Immunol.*, 10:667-676.
- ASHTON, I.; CLEMENTS, K.; BARROW, S. E.; SECOMBES, C. J.; ROWLEY, A. F. 1994. Effects of dietary fatty acids on eicosanoid-generating capacity,

- fatty acid composition and chemotactic activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) leucocytes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1214:253-262.
- AZZI, A.; STOCKER, A. 2000. Vitamin E: non-antioxidant roles. *Progres. Lipid Res.*, 39:231-255.
- BABIOR, B. M.; KIPNES, R. S.; CURNUTTE, J. T. 1973. Biological defense mechanisms. The production by leukocytes of superoxide, a potencial bacterial agent. *JCI*, 52:741-744.
- BACCONI, D. F. 2003. *Exigência nutricional de vitamina A para alevinos de tilápia do Nilo Oreochromis niloticus*. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- BAGNI, M.; ROMANO, N.; FINOLA, M. G.; ABELLI, L.; SACAPIGLIATI, G.; TISCAR, P. G.; SARTI, M.; MARINO, G. 2005. Short- and long-term effects of a dietary yeast beta-glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish Shellfish Immunol.*, 18:311-25.
- BAI, S. C.; LEE, K. 1998. Different levels of dietary DL-alpha-tocopherol acetate affect the vitamin E status of juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegelii*. *Aquaculture*, 161:405-414.
- BAKER, E. M. 1967. Vitamin C requirements in stress. *Am. J. Clin. Nutr.*, 20(6):583-90.
- BALCÁZAR, J. L.; BLAS, I.; RUIZ-ZARZUELA, I.; CUNNINGHAM, D.; VENDRELL, D.; MÚZQUIZ, J. L. 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Vet. Microb.*, 114:173-186.
- BALFRY, S. K.; HIGGS, D. A. 2001. Influence of dietary lipid composition on the immune system and disease resistance of finfish. In: LIM, C.; WEBSTER, C. D. (Ed.). *Nutrition and Fish Health*. Binghampton NY, USA: Food Product Press, p. 213-234.
- BARNET, B. J.; CHO, C. Y.; SLINGER, S. J. 1982. Relative biopotency of dietary ergocalciferol and cholecalciferol and the role of and requirement for vitamin D in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *J. Nutr.*, 2:2011-2018.
- BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; KLEEMANN, G. K.; HISANO, H.; ROSA, G. J. M. 2002. Níveis de vitamina C e ferro para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zootec.*, 31(6):2149-2156.
- BARROWS, F. T.; GAYLORD, G. T.; SEALEY, W. M.; PORTER, L.; SMITH, C. E. 2008. The effect of vitamin premix in extruded plant-based and fish meal based diets on growth efficiency and health of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 283:148-155.
- BARTON, B. A. 2000. Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress. *N. Am. J. Aquac.*, 62:12-18.
- BARTON, B. A.; BOLLING, H.; HAUSKINS, B.; JANSEN, C. R. 2000. Juvenile pallid (*Scaphirhynchus albuns*) and hybrid pallid x shovelnose (*S. albuns* x *S. platyrhynchus*) sturgeons exhibit low physiological responses to acute handling and severe confinement. *Comp. Biochem. Physiol.*, 126A:125-134.
- BEISEL, W. R. 1982. Single nutrient and immunity. *Am. J. Clin. Nutr.*, 35:417-468.
- BEITUNE, P. E.; DUARTE, G.; QUINTANA, S. M.; FIGUEIRÓ-FILHO, E. A.; VANNUCHI, H. 2003. Hipovitaminose A: cofator clínico deletério para o homem. *Medicina*, 36:5-15.

- BELL, J. G.; ASHTON, I.; SECOMBES, C. J.; WEITZEL, B. R.; DICK, J. R.; SARGENT, J. R. 1996. Dietary lipids affects phospholipid fatty acid compositions, eicosanoid production and immune function in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Prostaglandin, Leukot. Essent. Fat. Acids*, 54:173-182.
- BELL, J. G.; COWEY, C. B. 1989. Digestibility and bioavailability of dietary selenium from fishmeal, selenite, selenomethionine and selenocystine in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 81:61-68.
- BELO, M. A. A.; SCHALCH, S. H. C.; MORAES, F. R.; SOARES, V. E.; OTOBONI, A. M. M. B.; MORAES, J. E. R. 2005. Effect of dietary supplementation with vitamin E and stocking density on macrophage recruitment and giant cell formation in the teleost fish (*Piaractus mesopotamicus*). *J. Comp. Pathol.*, 133:146-154.
- BERNTSEN, M. H. G.; LUNDEBYE, A.-K.; MAAGE, A. 1999. Effects of elevated dietary copper concentrations on growth, feed utilization and nutritional status of Atlantic salmon *Salmo salar* L./fry. *Aquaculture*, 174:167-181.
- BHASKARAM, P. 1988. Immunology of iron-deficient subjects. In: CHANDR, R. K. (Ed.). *Nutrition and Immunology*. New York: Alan R. Liss Inc., p. 149-168.
- BIJVELDS, M. J. C.; VELDEN, J. A. V. D.; KOLAR, Z. I.; FLIK, G. 1998. Magnesium transport in freshwater teleosts - review. *J Exp Biol.*, 201:1981-1990.
- BILLER, J. D. 2008. *Respostas fisio-patológicas e desafio por Aeromonas hydrophila em pacu alimentado com ração suplementada com 1,3 β -glucano*. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- BLANER, W. S.; OLSON, J. A. 1994. *Retinol and retinoic acid metabolism*. 2. ed. New York: Raven Press.
- BLAZER, V. S. 1992. Nutrition and disease resistance in fish. *Annual Rev. Fish Dis.*, 2:309-323.
- BLATT, D. H.; MD, S. W.; LEONARD, M. S.; TRABER, M. G. 2001. Vitamin E kinetics and the function of tocopherol regulatory proteins. *Nutrition*, 17(10):799-805.
- BLOM, J.; DABROWSKI, K. 1995. Reproductive success of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to graded dietary ascorbyl monophosphate levels. *Biol. Reprod.*, 52:1073-1080.
- BLOM, J.; DABROWSKI, K. 2000. Vitamin C requirements of the angelfish, *Pterophyllum scalare*. *J. World Aquacult. Soc.*, 31(1):115-118.
- BLOMHOFF, R. 1994. Transport and metabolism of vitamin A. *Nutrition Rev.*, 2(52):S13-S23.
- BLOMHOFF, R.; GREEN, M. H.; BERG, J. B.; NORUM, K. 1991. Vitamin A metabolism: news perspectives on absorption, transport and storage. *Physiol Rev*, 71(4):951-990.
- BOCK, C. L.; PEZZATO, L. E.; CANTELMO, O. A.; BARROS, M. M. 2006. Fitase e digestibilidade aparente de nutrientes de rações por tilápias-do-nilo. *R. Bras. Zootec.*, 35(6):2197-2202.
- BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A.; BOMBARDELLI, R. A.; SIGNOR, A.; GENTELINI, A. L.; SOUZA, B. E. 2005. Exigência de fósforo para alevinos

- de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Sci. Anim. Sci.*, 27(1):87-91.
- BOWRY, V. W.; INGOLD, K. U.; STOCKER, R. 1992. Vitamin E in human low-density lipoprotein (When and how this antioxidant becomes a pro-oxidant). *Bioch. J.*, 288:341-344.
- BOYD, C. E.; QUEIROZ, J. F. 2004. Manejo das condições do sedimento do fundo e da qualidade da água e dos efluentes de viveiros. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSO, D. M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: Ed. TecArt, p. 25-44.
- BOZZO, F. R. 2007. *Inflamação por Aeromonas hydrophila inativada e tioglicolato em Piaractus mesopotamicus suplementados com vitamina C, E ou sua associação*. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.
- BRANDÃO, F. R.; GOMES, L. C.; CHAGAS, E. C. 2006. Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. *Acta Amazonica*, 36(3):349-356.
- BRANDÃO, L. V. 2009. Utilização de fitase em dietas para peixes. *PUBVET*, 3(5):Art#501.
- BRANDSEN, M. P.; CARTER, C. G.; NICHOLS, P. D. 2003. Replacement of fish oil with sunflower oil in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effect on growth performance, tissue fatty acid composition and disease resistance. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 135:611-625.
- BROWN, P. B. 1988. Vitamin D requirement of juvenile channel catfish reared in calcium-free water. *Diss. Abst. Int. PT. B-Sci. Eng.*, 48-12.
- BROWN, P. B.; ROBINSON, E. H. 1992. Vitamin D studies with channel catfish (*Ictalurus punctatus*) reared in calcium-free water. *Comp. Biochem. Physiol.*, 103(1):213-219.
- BUCHMANN, K.; ROEPSTORFF, A.; WALLER, P. J. 1992. Experimental selection of mebendazole-resistant gill monogeneans from the european eel, *Anguilla-Anguilla* L. *J. Fish Dis.*, 15:393-400.
- BUDDINGTON, R. K.; BUDDINGTON, K. K.; DENG, D. F.; HEMRE, G. I.; WILSON, R. P. 2002. A high retinol dietary intake increases its apical absorption by the proximal small intestine of juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *J. Nutr.*, 2713-2716.
- BUDIÑO, F. E. L. 2007. *Probióticos e prebióticos na alimentação de leitões*. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_4/suinos/index.htm>. Acesso em: 26 abr. 2009.
- BUDIÑO, F. E. L.; THOMAZ, M. C.; KRONKA, R. N.; JÚNIOR, J. M. P.; SANTANA, A. E.; TUCCI, F. M.; FRAGA, A. L.; SCANDOLERA, A. J.; HUAYNATE, R. A. R. 2004. Influência da adição de probiótico e/ou prebiótico em dietas de leitões desmamados sobre as atividades das enzimas digestivas e parâmetros sanguíneos. *Acta Sci. Anim. Sci.*, 26:529-536.
- BURANAPANIDGIT, J.; BOONYARATPALIN, M.; WATANABE, T. 1989. Essential fatty acid requirement of juvenile seabass. *Lates calcarifer*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FEEDING AND NUTRITION IN FISH, 3., 1989, Toba, Japan. *Paper presented...* Toba, Japan.

- BURRELS, C.; WILLIAM, P. D.; FORNO, P. F. 2001. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds 1. Effects on resistance to diseases in salmonids. *Aquaculture*, 199:159-169.
- BUTTE, N. F.; LOPEZ-ALARCON, M. G.; GARZA, C. 2002. *Nutrient adequacy of exclusive breastfeeding for the term infant during the first six months of life*. Expert Consultation on the Optimal Duration of Exclusive Breastfeeding. Geneva: WHO.
- CAHU, C. L.; ZAMBONINO INFANTE, J. L.; BARBOSA, V. 2003. Effect of dietary phospholipid level and phospholipid:neutral lipid value on the development of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed a compound diet. *Br. J. Nutr.*, 90:21-28.
- CAMPBELL, H. A.; HANDY, R. D.; SIMS, D. W. 2002. Increased metabolic cost of swimming and consequent alterations to circadian activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to dietary copper. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 59:768-777.
- CARRIQUIRIBORDE, P.; HANDY, R. D.; DAVIES, S. J. 2004. Physiological modulation of iron metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed low and high iron diets. *J Exp Biol*, 207:75-86.
- CARVER, J. D.; WALKER, W. A. 1995. The role of nucleotides in human nutrition. *J. Nutr. Biochem.*, 6:58-72.
- CASTELL, J. D.; BELL, J. G.; TOCHER, D. R.; SARGENT, J. R. 1994. Effect of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot. *Aquaculture*, 128:315-333.
- CASTELL, J. D.; SINNHUBER, R. O.; WALES, J. H.; LEE, D. J. 1972. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): Growth, feed conversion and some gross deficiency symptoms. *J. Nutr.*, 102:77-86.
- CASTRO, R.; COUSO, N.; OBACH, A.; LAMAS, J. 1999. Effect of different β -glucans on the respiratory burst of turbot (*Psetta maxima*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*) phagocytes. *Fish Shellfish Immunol.*, 9:529-541.
- CEREZUELA, R.; CUESTA, A.; MESEGUER, J.; ESTEBAN, M. A. 2009. Effects of dietary vitamin D3 administration on innate immune parameters of seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish. Shellf. Immunol.*, 26:243-248.
- CHAGAS, E. C.; MESQUITA-SAAD, L. S. B.; ARIDE, P. H. R.; MENDES, F. A.; ALMEIDA-VAL, V. M. F.; VAL, A. L. 2003. Vitamins C, D and E in fish. In: VAL, A. L.; KAPOOR, B. G. (Ed.). *Fish Adaptations*. Enfield, NH: Science Publishers, p. 141-178.
- CHAGAS, E. C.; NETO, J. D.; ALEXANDRE, R. O.; SAKABE, R.; PILARSKI, F.; MORAES, F. R. 2008a. Efeito do β -glucano sobre o crescimento e desafio com *Aeromonas hydrophila* em tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 10., 2008, Búzios. *Anais...* Búzios: ABRAPOA.
- CHAGAS, E. C.; SAKABE, R.; PILARSKI, F.; MORAES, F. R. 2008b. Efeito do β -glucano sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos do tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 10., 2008, Búzios. *Anais...* Búzios: ABRAPOA.

- CHAGAS, E. C.; VAL, A. L. 2003. Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parâmetros hematológicos de tambaqui. *Pesq. Agropec. Bras.*, 38(3):397-402.
- CHAGAS, E. C.; VAL, A. L. 2006. Ascorbic acid reduces the effects of hypoxia on the Amazon fish tambaqui. *J. Fish Biol.*, 69:608–612.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. 1996. *Bioquímica Ilustrada*. 2. ed. Porto Alegre: Artes médicas.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. 1997. *Bioquímica Ilustrada*. Porto Alegre: Artes médicas.
- CHANG, H. R.; DULLOO, I. R.; VLADOIANU, I. R.; PIGUET, P. F.; ARSENIJEVIC, D.; GIRARDIER, L.; PECHERE, J. C. 1992. Fish oil decreases natural resistance of mice to infection with *Salmonella typhimurium*. *Metabolism*, 41:1-2.
- CHATTERJEE, I. B. 1973. Evolution and the Biosynthesis of Ascorbic Acid. *Science*, 182:1271-1272.
- CHATTERJEE, I. B.; MAJUMDER, A. K.; NANDI, B. K.; SUBRAMANIAN, N. 1975. Synthesis and major functions of vitamin C in animals. *Ann N Y Acad Sci.*, 258:24-48.
- CHAVEZ-SANCHEZ, C.; MARTINEZ-PALACIOS, C. A.; MARTINEZ-PEREZ, G.; ROSS, L. G. 2000. Phosphorus and calcium requirements in the diet of the American cichlid *Cichlasoma urophthalmus* (Günther). *Aquacult. Nutr.*, 6:1-9.
- CHEN, R.; LOCHMANN, R.; GOODWIN, A.; PRAVEEN, K.; DABROWSKI, K.; LEE, K.-J. 2004. Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). *Aquaculture*, 242:553–569.
- CHIN, S. F.; LIU, W.; STORKSON, J. M.; HAY, L.; PARIZAM, W. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid a newly recognized class of anticarcinogens. *Journal of Food Composition and Analysis*, 5:185-197.
- CHOU, B.; SHIAU, S. Y. 1999. Both n-6 and n-3 fatty acids are required for maximal growth of juvenile hybrid tilapia. *North Am. J. Aquacult.*, 61:13-20.
- CHOUDHURY, D.; PAL, A. K.; SAHU, N. P.; KUMAR, S.; DAS, S. S.; MUKHERJEE, S. C. 2005. Dietary yeast RNA supplementation reduces mortality by *Aeromonas hydrophila* in rohu (*Labeo rohita* L.) juveniles. *Fish Shellfish Immunol.*, 19:281-91.
- CLEARWATER, S. J.; FARAG, A. M.; MEYER, J. S. 2002. Bioavailability and toxicity of dietborne copper and zinc to fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 132:269-313.
- CLERTON, P.; TROUTAUD, D.; VERLHAC, V.; GABAUDAN, J.; DESCHAUX, P. 2001. Dietary vitamin E and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocyte functions: effect on gut and on head kidney leukocyte. *Fish Shellfish Immunol.*, 11:1-13.
- COMBS, G. F. 1992. *The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health*. New York: Academic Press.
- CONN, E. E.; STUMPF, P. K. 1984. *Introdução à Bioquímica*. 4. ed. São Paulo: Edgard Blücher.

- COOK, M. T.; HAYBALL, P. J.; HUTCHINSON, W.; NOWAAK, B. F.; HAYBALL, J. 2003. Administration of a commercial immunostimulant preparation, EcoActiva as a feed supplement enhances macrophage respiratory burst and the growth rate of snapper (*Pagrus auratus*, Sparidae (Bloch and Schneider)) in winter. *Fish Shellfish Immun.*, 14:333-345.
- COSGROVE, M. 1998. Nucleotides. *Nutrition*, 14:748-751.
- COUTTEAU, P.; VAN STAPPEN, G.; SORGELOOS, P. 1996. A standard experimental diet for the study of fatty acid requirements of weaning and first on-growing stages of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L.: comparison of extruded and extruded/coated diets. *Arch. Anim. Nutr.*, 49:49-59.
- CUESTA, A.; ESTEBAN, M. A.; ORTUNO, J.; MESEGUER, J. 2001. Vitamin E increases natural cytotoxic activity in seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunol.*, 11:293-302.
- DABROWSKA, H.; DABROWSKI, K.; MEYER-BURGDORFF, K.; HANKE, W.; GUNTHER, K. D. 1991. The effect of large doses of vitamin C and magnesium on stress responses in common carp, *Cyprinus carpio*. *Comp. Bioch. Phys.*, 99A(4):681-685.
- DABROWSKI, K. 1990. Gulonolactone oxidase is missing in teleost fish. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 371:207-214.
- DABROWSKI, K. 2001. *Ascorbic acid in aquatic organisms*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- DABROWSKI, K.; MATUSIEWICZ, M.; BLOM, J. H. 1994. Hydrolysis, absorption and bioavailability of ascorbic acid esters in fish. *Aquaculture*, 124(1-4):169-192.
- DABROWSKI, K.; MOREAU, R.; EL-SAIDY, D.; EBELING, J. 1996. Ontogenic Sensitivity of Channel Catfish to Ascorbic Acid Deficiency. *J. Aquatic Health*, 8:22-27.
- DALMO, R. A.; BOGWALD, J. 2008. β -glucans as conductors of immune symphonies. *Fish Shellfish Immun.*, 25:384-396.
- DEDI, J.; TAKEUCHI, T.; SEIKAI, T.; WATANABE, T. 1995. Hypervitaminosis and safe levels of vitamin A for larval flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed *Artemia nauplii*. *Aquaculture*, 133:135-146.
- DEVLIN, T. M. 1998. *Manual de bioquímica com correlações químicas*. 4. ed. São Paulo: E. Blucher.
- DEVLIN, T. 2002. *Manual de bioquímica e correlações clínicas*. 4. ed. São Paulo: E. Blucher.
- DILUZIO, N. R. 1985. Update on the immunomodulating activities of glucans. *Springer Seminar Immunophatol.*, 88:387-400.
- DIONIZIO, M. A.; BERTECHINI, A. G.; KATO, R. K.; TEIXEIRA, A. S. 2002. Prebióticos como promotores de crescimento para frangos de corte – desempenho e rendimento de carcaça. *Ciência Agrot.*, Edição Especial: 1580-1587.
- DORE, G. C.; AZEVEDO, T. G.; SOUZA, M. R.; REGO, L. A.; DANTAS, J. C. M.; SILVA, F. R. F.; ROCHA, H. A. O.; BASEIA, I. G.; LEITE, E. L. 2007. Antiinflammatory, antioxidant and cytotoxic actions of β -glucan rich extract from *Geastrum saccatum* mushroom. *Int. Immunopharmacol.*, 7:1160-1169.

- DOUGALL, S. D.; CURRY WOODS III, L.; DOUGLAS, W. L.; SOARES, H. J. 1996. Dietary phosphorus requirement of juvenile striped bass *Morone saxatilis*. *J. World Aquac. Soc.*, 27:82-91.
- DOWD, P.; ZHENG, Z. B. 1995. On the mechanism of the anticlotting action of vitamin E quinone. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 92(18):8171-8175.
- DURVE, V. S.; LOVELL R. T. 1982. Vitamin C and disease resistance in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39:948-951.
- EITENMILLER, R. R.; LANDEN JUNIOR, W. O. 1999. *Vitamin analysis for the health and food sciences*. London: CRC Press.
- EL-MOWAFI, A. F. A.; MAAGE, A. 1998. Magnesium requirement of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr in seawater-treated fresh water. *Aquacult. Nutr.*, 4(1):31-38.
- EL-MOWAFI, A. F. A.; WAAGBØ, R.; MAAGE, A. 1997. Effect of low dietary magnesium on immune response and osmoregulation of Atlantic Salmon. *J. Aquat. Animal Health*, 9:8-17.
- ENDREAS, S.; GHORBANI, R.; KELLEY, V. E.; GEORGILIS, K.; LONEMANN, G.; VAN DER MEER, J. M. V.; CANNOM, J. G.; ROGERS, T. S.; KLEMPNER, M. S.; WEBER, P. C.; SCHAEFFER, E. J.; WOLFF, M. S.; DINARELLO, C. A. 1989. The effect of dietary supplementation with ω -3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cell. *N. Engl. J. Med.*, 320:265-271.
- ENGSTAD, R. E.; ROBERTSEN, E.; FRIVOLD, E. 1992. Yeast glucan induces increase in lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood. *Fish Shellfish Immunol.*, 2:287-297.
- EO, J.; LEE, K. J. 2008. Effect of dietary ascorbic acid on growth and non-specific immune responses of tiger puffer, *Takifugu rubripes*. *Fish and Shell. Immun.*, 25:611-616.
- ERDAL, J. I.; EVENSEN, O.; KAURSTAD, O. K.; ILLEHAUG, A.; SOLBAKKEN, R.; THORUD, K. 1991. Relationship between diet and immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) after feeding various levels of ascorbic acid and omega-3 fatty acids. *Aquaculture*, 98: 363-379.
- EYA, J. C.; LOVELL, R. T. 1998. Effects of dietary phosphorus on resistance on channel catfish to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *J. Aq. Anim. Health*, 10:28-34.
- FABREGAT, T. E. H. P.; FERNANDES, J. B. K.; RODRIGUES, L. J.; CABRAL, K. G.; GARCIA, F.; SAKOMURA, N. K. 2008. Prebiótico Flavofeed® como suplemento dietético para juvenis de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*. In: CYRINO, J. E. P.; SCORVO-FILHO, J. D.; SAMPAIO, L. A.; CAVALLI, R. O. (Ed.). *Tópicos Especiais em Biologia Aquática e Aqüicultura II*. 1. ed. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática, p. 95-104.
- FALCON, D. R. 2007. *Nível de suplementação de 1,3 β -glucano e vitamina C em dietas para tilápia do Nilo: desempenho produtivo e parâmetros fisiopatológicos*. Tese (Doutorado) – Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- FAO. 2007. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2006*. Roma, p. 198.
- FARZANFAR, A. 2006. The use of probiotics in shrimp aquaculture. *Immunol. Med. Microbiol.*, 48:149-158.

- FERRARI, J. E. C.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; GONÇALVES, G. S.; HISANO, H.; KLEEMANN, G. K. 2004. Níveis de cobre em dietas para a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. *Acta Sci. Anim. Sci.*, 26(4):429-436.
- FERREIRA, K. S.; GOMES, J. C.; BELLATO, C. R.; JORDÃO, C. P. 2002. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. *Rev. Panam. Salud Publica/Pan. Am. J. Public Health*, 11(3):172-177.
- FERREIRA, M. W. 2008. *Fontes de óleo na composição do músculo, lipoproteínas plasmáticas, imunidade inata e resistência de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus L.)*. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- FLETCHER, T. C. 1997. Dietary effects on stress and health in aquaculture. In: IWAMA, G. K.; PICKERING, A. D.; SUMMER, J. P.; SCHRECK, C. B. (Ed.). *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Cambridge: Cambridge University Press, p. 223-246.
- FRACALOSSO, D. M.; ALLEN, M. E.; YUYAMA, L. K.; OFTEDAL, O. T. 2001. Ascorbic acid biosynthesis in Amazonian fishes. *Aquaculture*, 192:321-332.
- FRACALOSSO, D. M.; ALLEN, M. E.; NICHOLS, D. K.; OFTEDAL, O. T. 1998. Oscars, *Astronotus ocellatus*, have a dietary requirement for Vitamin C. *J Nutr*, 128:1745-1751.
- FRACALOSSO, D. M.; LOVELL, R. T. 1994. Dietary lipid sources influence responses of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to challenge with the pathogen *Edwardsiella ictaluri*. *Aquaculture*, 119:287-298.
- FRACALOSSO, D. M.; LOVELL, R. T. 1995. Growth and polar fatty acid composition of year-1 channel catfish fed various lipids sources at two water temperatures. *Prog. Fish Cult.*, 57:107-113.
- FUJIMOTO, R. Y.; CARNEIRO, D. J. 2001. Adição de ascorbil polifosfato, como fonte de vitamina C, em dietas para alevinos de pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829). *Act. Scient.*, 23(4):855-861.
- FUJIMOTO, R. Y.; CASTRO, M. P.; MARTINS, M. L.; MOARES, F. R.; MONFORT, C. F. K. 2007. Parâmetros sanguíneos de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) alimentados com dietas suplementadas com cromo trivalente em duas densidades de estocagem. *Acta Sci. Anim. Sci.*, 29:465-471.
- FULLER, R. 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bact.*, 66:365-378.
- FURUITA, H.; ISHIDA, T.; SUZUKI, T.; UNUMA, T.; KUROKAWA, T.; SUGITA, T.; YAMAMOTO, T. 2009. Vitamin content and quality of eggs produced by broodstock injected with vitamins C and E during artificial maturation in Japanese eel *Anguilla japonica*. *Aquaculture*, 289:334-339.
- FURUYA, W. M.; FUJII, K. M.; SANTOS, L. D.; SILVA, T. S. C.; SILVA, L. C. R.; MICHELATO, M. 2008a. Exigência de fósforo disponível para tilápia-do-nilo (35 a 100 g). *R. Bras. Zootec.*, 37(6):961-966.
- FURUYA, W. M.; FUJII, K. M.; SANTOS, L. D.; SILVA, T. S. C.; SILVA, L. C. R.; SALES, P. J. P. 2008b. Exigência de fósforo disponível para juvenis de tilápia-do-nilo. *R. Bras. Zootec.*, 37(9):1517-1522.
- FURUYA, W. M.; GONÇALVES, G. S.; FURUYA, V. R. B.; HAYASHI, C. 2001. Fitase na Alimentação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): desempenho e Digestibilidade. *R. Bras. Zootec.*, 30(3):924-929.
- GAIOTTO, J. R. 2005. *Utilização de levedura de cana-de-açúcar (Saccharomyces cerevisiae) e seus subprodutos na alimentação de juvenis de pintado (Pseudoplatystoma corruscans)*. Dissertação (Mestrado) –

- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- GALVIN, K.; MORRISSEY, P. A.; BUCKLEY, D. J. 1998. Effect of dietary α -tocopherol supplementation and gamma irradiation on α -tocopherol retention and lipid oxidation in cooked minced chicken. *Food Chemistry*, 62(2):185-190.
- GAPASIN, R. S. J.; BOMBEO, R.; LAVENS, P.; SORGELOOS, P.; NELIS, H. 1998. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish (*Chanos chanos*) larval performance. *Aquaculture*, 162:269-286.
- GARCIA, F. *Suplementação alimentar com β -glucano e mananoligossacarídeo para tilápias do Nilo em tanques-rede*. 2008. Tese (Doutorado) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- GARCIA, F.; PILARSKI, F.; ONAKA, E. M.; MORAES, F. R.; MARTINS, M. L. 2007. Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 271:39-46.
- GATESOUPÉ, F. J. 1999. The use of probiotic in aquaculture. *Aquaculture*, 180:147-165.
- GATESOUPÉ, F. J.; LEGER, C.; METAILLER, R.; LUQUET, P. 1977. Alimentation lipidique du turbot (*Scophthalmus maximus* L.). 1. Influence de la longueur de chaîne des acides gras de la série w3. *Annu. Hydrobiol.*, 18:89-97.
- GATLIN III, D. M. 2002. Nutrition and health. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Ed.). *Fish Nutrition*. San Diego, California: Academic Press, p. 671-702.
- GATLIN III, D. M.; BAI, S. C.; ERICKSON, M. C. 1992. Effects of dietary vitamin E and synthetic antioxidants on composition and storage quality of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 106:323-332.
- GATLIN III, D. M.; LI, P. 2007. Nucleotides. In: NAKAGAWA, H.; SATO, M.; GATLIN III, D. M. (Ed.). *Dietary supplements for the health and quality of cultured fish*. UK: Cromwell Press, p. 193-209.
- GATLIN III, D. M.; WILSON, R. P. 1983. Dietary zinc requirement of fingerling channel catfish. *J. Nutr.*, 114:630-635.
- GATLIN III, D. M.; WILSON, R. P. 1986. Characterization of iron deficiency and the dietary iron requirement of fingerling channel catfish. *Aquaculture*, 52:191-198.
- GATLIN III, D. M.; WILSON, R. P. 1984. Zinc supplementation of practical channel catfish diets. *Aquaculture*, 41:31-36.
- GATTA, P. P.; THOMPSON, K. D.; SMULLEN, R.; PIVA, A.; TESTI, S.; ADAMS, A. 2001. Dietary organic chromium supplementation and its effects on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.*, 11:371-382.
- GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.*, 125:401-412.
- GIL, A. 2002. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 56(3):S1-S4.
- GISBERT, E.; VILLENEUVE, L.; ZAMBONINO INFANTE, J. L.; QUAZUGUEL, P.; CAHU, C. L. 2005. Dietary phospholipids are more efficient than neutral

- lipids for long chain polyunsaturated fatty acid supply in European sea bass *Dicentrarchus labrax* development. *Lipids*, 40:1–10.
- GILDBERG, A.; MIKKELSEN, H.; SANDAKER, E.; RINGO, E. 1997. Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Hidrobiologia*, 352:279-285.
- GOLDMAN, D. W.; PICKETT, W. C.; GOETZL, E. L. 1983. Human neutrophil chemotactic and degranulation activities of leukotriene B₅ (LTB₅) derived from eicosapentanoic acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 117:282-288.
- GOMES, G. R. 2008. *Suplementação com Selênio orgânico nas dietas de tilápias do Nilo (Oreochromis niloticus)*. Dissertação (Mestrado) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- GONZÁLEZ, F. H.; SILVA, S. C. 2003. *Introdução à Bioquímica Veterinária*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- GOSWAMI, U. C.; DUTTA, N. K. 1991. Vitamin A-deficient diet and its effects on certain haematological parameters of *Heteropneustes fossilis* a 3-4 dehydroretinol rich freshwater fish. *Int. J. Vit. Nutr. Res.*, 61:205-209.
- GOUILLOU-COUSTANS, M. F.; BERGOT, P.; KAUSHIK, S. J. 1998. Dietary ascorbic acid needs of common carp (*Cyprinus carpio*) larvae. *Aquaculture*, 161:453-461.
- GOUVEIA, E. M. F.; SILVA, I. S.; ONSELEM, V. J. V.; CORRÊA, R. A. C.; SILVA, C. J. 2006. Use of mannanoligosacharides as an adjuvant treatment for gastrointestinal diseases and its effects on *E. coli* inactivated in dogs. *Acta Cir. Bras.*, 21(4):23-26.
- GRAHAM, G. L.; JONES, J. H. 1969. The histopathologic features of vitamin A deficiency in fish (*Carassius auratus*). *Trans. Amer. Microsc. Soc.*, 88(1):168-169.
- GRANT, A.; BRIGGS, A. D. 1998. Use of ivermectin in marine fish farms: some concerns. *Mar. Poll. Bull.*, 36:566-568.
- GRIFFIN, M. D.; XING, N.; KUMAR, R. 2003. Vitamin D and its analogs as regulators of immune activation and antigen presentation. *Ann. Rev. Nutr.*, 23:117-145.
- GRIMBLE, G. K.; WESTWOOD, O. M. R. 2000. Nucleotides. In: GERMAN, J. B.; KEEN, C. L. (Ed.). *Nutrition and Immunology: Principles and practice*. Totowa, NJ: Humana Press, p. 135-144.
- GROVE, S.; JOHANSEN, R.; DANNEVIG, B. H.; REITAN, L. J.; RANHEIM, T. 2003. Experimental infection of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* with nodavirus: tissue distribution and immune response. *Dis. Aquat. Org.*, 53:211–221.
- GRÜDTNER, V. S.; WEINGRILL, P.; FERNANDES, A. L. 1997. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. *Rev. Bras. Reumatol.*, 37(3): 143-150.
- GUIMARÃES. 2009. *Vitamina A em dietas para tilápia do Nilo*. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. 92p.
- HALILOGLU, H. I.; BAYIR, A.; SIRKECIOGLU, A. N.; ARAS, N. M.; ATAMANALP, M. 2003. Comparisons of fatty acid composition in some tissues of rainbow (*Oncorhynchus mykiss*) living in seawater and freshwater. *Food Chem.*, 86:55-59.

- HALVER, J. E. 1972. The role of ascorbic acid in fish disease and tissue repair. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 38:79-92.
- HALVER, J. E. 1995. Vitamin requirement study techniques. *J. Applied Ichthyol.*, 11:215-228.
- HALVER, J. E.; HARDY, R. W. 2002. *Fish Nutrition*. 3. ed. [S. l.]: Elsevier.
- HALVER, J. E.; SMITH, R. R.; TOLBERT, B. M. 1985. Utilization of ascorbic acid in fish. *Ann. New York Acad. of Scien.*, 258:81-102.
- HAMILTON, S. J. 2004. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. *Sci Total Environ.*, 326:1-31.
- HAMRE, K.; LIE, O. 1995. α -Tocopherol levels in different organs of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) - Effect of smoltification, dietary levels of n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E. *Comp. Biochem. Physiol.*, 111(4):547-554.
- HAMRE, K.; WAAGBO, R.; BERGE, R. K.; LIE, O. 1997. Vitamin C and E interact in juvenile atlantic salmon (*Salmo salar* L.) *Free Rad. Biol. & Med.*, 22:137-149.
- HANDY, R. D. 1996. Dietary exposure to toxic metals in fish. In: TAYLOR, E. W. (Ed.). *Toxicology of Aquatic Pollution*. Cambridge: Cambridge University Press, p. 29-60.
- HANDY, R. D.; SHAW, B. J. 2006. Dietary copper exposure and recovery in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquat. Toxicol.*, 76:111-121.
- HANDY, R. D.; SIMS, D. W.; GILES, A.; CAMPBELL, H. A.; MUSONDA, M. M. 1999. Metabolic trade-off between locomotion and detoxification for maintenance of blood chemistry and growth parameters by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chronic dietary exposure to copper. *Aquat. Toxicol.*, 47:23-41.
- HANSEN, J. O.; BERGE, G. M.; HILLESTAD, M.; KROGDAHL, A.; GALLOWAY, T. F.; HOLM, H.; HOLM, J.; RUYTER, B. 2008. Apparent digestion and apparent retention of lipid and fatty acids in Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed increasing dietary lipid levels. *Aquaculture*, 284:159-166.
- HARDIE, L. J.; FLETCHER, T. C.; SECCOMBES, C. J. 1991. The effect of dietary vitamin C on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 95:201-214.
- HARRISON, E. H. 2005. Mechanisms of digestion and absorption of dietary vitamin A. *Ann. Rev. Nutrition*, 25:87-103.
- HELLAND, S.; DENSTADLI, V.; WITTEN, P. E.; HJELDE, K.; STOREBAKKEN, T.; SKREDE, A.; ASGARD, T.; BAEVERFJORD, G. 2006. High dense vertebrae and mineral content in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with graded levels of phytic acid. *Aquaculture*, 261:603-614.
- HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid. Res.*, 26:281-347.
- HENRIQUE, M. M. F.; GOMES, E. F.; GOUILLOU-COUSTANS, M. F.; OLIVATELES, A.; DAVIES, S. J. 1998. Influence of supplementation of practical diets with vitamin C on growth and response to hypoxic stress of seabream, *Sparus aurata*. *Aquaculture*, 161:415-426.
- HENRY, H. L. 2001. The 25(OH)D(3)/ α , 25(OH)(2)D(3)-24-Rhydroxylase: a catabolic or biosynthetic enzyme? *Steroids*, 66:391-398.
- HEPHER, B. 1988. *Nutrition of pond fishes*. Cambridge: Cambridge University Press.

- HERTZ, Y.; MADAR, Z.; HEPHER, B.; GERTLER, A. 1989. Glucose metabolism in the common carp (*Cyprinus carpio* L.): the effects of cobalt and chromium. *Aquaculture*, 76:255-267.
- HILTON, J. W.; CHO, C. Y.; SLINGER, S. J. 1978. Effect of graded levels of supplemental ascorbic acid in practical diets fed to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J Fish. Res. Board Can.*, 35:431-436.
- HILTON, J. W.; HODSON, P. V.; SLINGER, S. J. 1980. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Nutr.*, 110:2527-2535.
- HISANO, H.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; FREIRE, E. S.; GONÇALVES, G.; FERRARI, J. E. C. 2004. Zinco e levedura desidratada de álcool como pró-nutrientes para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *Acta Sci.*, 26(2):171-179.
- HOLICK, M. F. 1999. Vitamin D. In: SHILS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. (Ed.). *Modern nutrition in health and disease*. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 329-345.
- HOLICK, M. F. 2004. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancer and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutrition*, 80(6):1678-1688.
- HOSSAIN, M. A.; FURUICHI, M. 2000. Essentiality of dietary calcium supplement in fingerling scorpion fish (*Sebastiscus marmoratus*). *Aquaculture*, 189:155-163.
- HU, C. J.; CHEN, S. M.; PAN, C. H.; HUANG, C. H. 2006. Effects of dietary vitamin A or β -carotene concentrations on growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture*, 253:602-607.
- HUANG, C. H.; HIGGS, D. A.; BALFRYC, S. K.; DEVLIN, R. H. 2004. Effect of dietary vitamin E level on growth, tissue lipid peroxidation and erythrocyte fragility of transgenic coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Comp. Bioch. Physiol.*, 139:199-204.
- HUANG, C. H.; HUANG, S. L. 2004. Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*, fed oxidized oil. *Aquaculture*, 237:381-389.
- HWANG, D. 1989. Essential fatty acids and immune response. *FASEB J.*, 3:2052-2061.
- IBAMA. 2007. Estatística da pesca, ano 2006. In: IBAMA. *Reunião de consolidação da estatística pesqueira nacional: ano 2006, 2007*. Fortaleza.
- IBEAS, C.; CEJAS, J. R.; FORES, R.; BADIA, P.; GOMEZ, T.; LORENZO, A.; HERNANDEZ, A. 1997. Influence of eicosapentaenoic to docosahexaenoic acid ratio (EPA/DHA) of dietary lipids on growth and fatty acid composition of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture*, 150:91-102.
- INOUE, M.; SATOH, S.; MAITA, M.; KIRON, V.; OKAMOTO, N. 1998. Recovery from derangement of natural killer-like activity of leucocytes due to Zn or Mn deficiency in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), by the oral administration of these elements. *J. Fish Dis.*, 21:233-236.
- IRIANTO, A.; AUSTIN, B. 2002. Probiotics in aquaculture. *J. Fish Dis.*, 25:633-642.
- IRIE, T.; SEKI, T. 2002. Retinoid composition and retinal localization in the eggs of teleost fishes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 131:209-219.

- ISOLAURI, E.; SALMINEN, S.; OUWEHAND, A. C. 2004. Probióticos. *Best Practice Res. Clin. Gastroent.*, 18:299-313.
- IWAMA, G.; NAKANISHI, T. 1996. *The fish immune system*. San Diego: Academic Press.
- IWASHITA, M. K. P. 2008. *Influência da vitamina E na cinética do processo cicatricial induzido em tilápia do Nilo, Oreochromis niloticus*. Dissertação (Mestrado) – Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal.
- JARAMILLO JUNIOR, F.; GAITLIN III, D. M. 2004. Comparison of purified and practical diets supplemented with or without β -glucans e selenium on resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *J. World Aquac. Soc.*, 35:245-252.
- JARAMILLO JUNIOR, F.; PENG, L.; GATLIN III, D. M. 2009. Selenium nutrition of hybrid stripped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) bioavailability, toxicity and interaction with vitamin E. *Aquacult. Nutr.*, 15:160-165.
- JENEY, G.; GALEOTTI, M.; VOLPATTI, D.; JENEY, Z.; ANDERSON, D. P. 1997. Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan. *Aquaculture*, 154:1-15.
- JI, H.; OM, A. D.; YOSHIMATSU, T.; HAYASHI, M.; UMINO, T.; NAKAGAWA, H.; ASANO, M.; NAKAGAWA, A. 2003. Effect of dietary vitamin C and E fortification on lipid metabolism in red sea bream (*Pagrus major*) and black sea bream (*Acanthopagrus schlegeli*). *Fish. Sci.*, 69:1001-1009.
- JOBLING, M.; KOSKELA, J.; SAVOLAINEN, R. 1998. Influence of dietary fat level and increased adiposity on growth and fat deposition in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquacult. Res.*, 29:601-607.
- JOHNSON, M. R.; AINSWORTH, A. J. 1991. An elevated dietary level of ascorbic acid fails to influence the response of anterior kidney neutrophils to *Edwardsiella ictaluri* in channel catfish. *J. Aquatic Ani. Health*, 3:266-273.
- JOKINEN, E. I.; VIELMA, J.; AALTONEN, T. M.; KOSKELA, J. 2003. The effect of dietary phosphorus deficiency on the immune responses of European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.). *Fish Shellfish Immunol.*, 15:159-168.
- JORGENSEN, J. B.; ROBERTSEN, B. 1995. Yeast β -glucan stimulates respiratory burst activity of Atlantic salmon *Salmo salar* L. macrophages. *Dev. Comp. Immunol.*, 19:43-57.
- JORGENSEN, J. B.; SHARP, J. E.; SECOMBES, C. J.; ROBERSEN, B. 1993. Effect of a yeast-cell-wall glucan on the bactericidal activity of rainbow trout macrophages. *Fish Shellfish Immunol.*, 3:267-277.
- JUSTI, K. C.; HAYASHI, C.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. 2003. The influence of feed supply time on the fatty acid profile of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on a diet enriched with n-3 fatty acids. *Food Chem.*, 80:489-493.
- KAMILYA, D.; MAITI, T. K.; JOARDAR, S. N.; MAL, B. C. 2006. Adjuvant effect of mushroom glucan and bovine lactoferrin upon *Aeromonas hydrophila* vaccination in catla, *Catla catla* (Hamilton). *J. Fish Dis.*, 29:331-337.
- KANAZAWA, A.; TESHIMA, S.; SAKAMOTO, M.; AWAL, M. A. 1980. Requirement of *Tilapia zillii* for essential fatty acids. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 46:1353-1356.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. 1997. Clinical bioquimistry of domestic animals. 5. ed. San Diego: Academic Press.

- KATSUYAMA, M.; MATSUNO, T. 1988. Carotenoid and vitamin A and metabolism of carotenoids, β -carotene, canthaxanthin, astaxanthin, zeaxanthin, lutein and tunaxanthin in tilapia. *Comp. Bioch. Physiol.*, 90(1):131-139.
- KESARCODI-WATSON, A.; KASPAR, H.; LATEGAN, M. J.; GIBSON, L. 2008. Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274:1-14.
- KIM, S.; KANG, J. 2004. Effect of dietary copper exposure on accumulation, growth and hematological parameters of the juvenile rockfish, *Sebastes schlegelii*. *Mar. Environ. Res.*, 58:65-82.
- KIMBALL, S.; FULEIHAN, G. H.; VIETH, R. 2008. Vitamin D: a growing perspective. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 45(4):339-414.
- KINSELLA, J. E.; LOKESH, B. 1990. Dietary lipids, eicosanoids and the immune system. *Crit. Care Med.*, 18:S94-S113.
- KIRON, V.; FUKUDA, H.; TAKEUCHI, T.; WATANABE, T. 1995. Essential fatty acid nutrition and the defense mechanism in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 111A:361-367.
- KNOX, D.; COWEY, C. B.; ADRON, J. W. 1981. Studies on the nutrition of salmonid fish. The magnesium requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Br. J. Nutr.*, 45:137-148.
- KNOX, D.; COWEY, C. B.; ADRON, J. W. 1982. Effects of dietary copper and copper: zinc ratio on rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*, 27:111-119.
- KOSHIO, S. 2007. Vitamins. In: NAKAGAWA, H.; SATO, M.; GATLIN III, D. M. (Ed.). *Dietary supplements for the health and quality of cultured fish*. UK: Cromwell Press, p. 35-46.
- KOVEN, W. M.; PARRA, G.; KOLKOVSKI, S.; TANDLER, A. 1998. The effect of dietary phosphatidylcholine and its constituent fatty acids on microdiet ingestion and fatty acid absorption rate in gilthead sea bream, *Sparus auratus*, larvae. *Aquac. Nutr.*, 4:39-45.
- KRAGBALLE, K.; VOORHEES, J. J.; GOETZL, E. J. 1987. Inhibition by leukotriene B₅ of leukotriene B₄-induced activation of human keratinocytes and neutrophils. *J. Invest. Dermatol.*, 88:555-558.
- KÜÇÜKBAY, F. Z.; YAZLAK, H.; SAHIN, N.; CAKMAK, M. N. 2006. Effects of dietary chromium picolinate supplementation on serum glucose, cholesterol and minerals of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult. Int.*, 14:259-266.
- KUMARI, J.; SAHOO, P. K. 2006. Non-specific immune response of healthy and immunocompromised Asian catfish (*Clarias batrachus*) to several immunostimulants. *Aquaculture*, 255:133-141.
- KUMARI, J.; SAHOO, P. K. 2006. Dietary β -1,3 glucan potentiates innate immunity and disease resistance of Asian catfish, *Clarias batrachus* (L.). *J. Fish Dis.*, 29:95-101.
- LALL, S. P. 2002. The Minerals. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Ed.). *Fish Nutrition*. 3. ed. [S.l.]: Elsevier, p. 259-308.
- LALL, S. P.; HINES, J. A. 1987. Iron and copper requirement of Atlantic salmon (*Salmo salar*) grown in sea water. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FEEDING AND NUTRITION OF FISH, 1987, Bergen, Norway. *Paper presented...*[S.l.: s.n.].

- LANDOLT, M. L. 1989. The relationship between diet and immune response of fish. *Aquaculture*, 79:193-206.
- LARA-FLORES, M.; OLVERA-NOVOA, M. A.; GUZMÁN-MENDEZ, B. E.; LÓPEZ-MADRID, W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216:193-201.
- LEE, K. J.; KIM, K. W.; BAI, S. C. 1998. Effects of different diet levels of L-ascorbic acid on growth and tissue vitamin C concentration in juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). *Aquaculture Res.*, 29:237-244.
- LEE, S.-M.; LEE, J. Y.; HUR, S. B. 1994. Essentiality of dietary eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in Korean Rockfish, *Sebastes schlegeli*. *J. Korean Fish. Soc.*, 27:721-726.
- LEE, T. H.; HOOVER, R. J.; WILLIAMS, J. D.; SPERLING, R. I.; RAVALESE, J.; SPUR, B. W.; ROBINSON, D. R.; COREY, E. J.; LEWIS, R. A.; AUSTEN, K. F. 1985. Effects of dietary enrichment with eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on in vitro neutrophil and monocyte leukotriene generation and neutrophil function. *N. Engl. J. Med.*, 312:1217-1224.
- LEHNINGER, A. L. 1993. *Princípios de bioquímica*. São Paulo: Sarvier.
- LEHNINGER, A. L.; COX, N.; YARBOROUGH, K. 2006. *Princípios de bioquímica*. 4. ed. São Paulo: Sarvier.
- LEITCH, A. G.; LEE, T. H.; RINGEL, E. W.; PRICKETT, J. D.; ROBINSON, D. R.; PYNE, S. G.; COREY, E. J.; DRAZEN, J. M.; AUSTEN, K. F.; LEWIS, R. A. 1984. Immunologically induced generation of tetraene and pentaene leukotrienes in the peritoneal cavities of menhaden-fed rats. *J. Immunol.*, 132:2559-2565.
- LEONARDI, M.; SANDINO, A. M.; KLEMPAU, A. 2003. Effect of a nucleotide-enriched diet on the immune system, plasma cortisol levels and resistance to infectious pancreatic necrosis (IPN) in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 23:52-59.
- LEONARDO, J. M. L. O. 1999. *Efeito de suplementação com diferentes níveis de vitamina C (ácido ascórbico) em larvas de tilápia do Nilo Oreochromis niloticus de origem tailandesa durante a fase de reversão*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- LEONARDO, J. M. L. O.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; VARGAS, D. 1998. Efeito de diferentes níveis de vitamina C sobre a ocorrência de ectoparasitas em larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em processo de reversão sexual. In: ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 5., 1998, Maringá. *Anais...* Maringá: ABRAPOA.
- LERAY, C.; NONNOTTE, G.; ROUBAUD, P.; LEGER, C. 1985. Incidence of (n-3) essential fatty acid deficiency on trout reproductive processes. *Reprod. Nutr. Dev.*, 25:567-581.
- LESLIE, A. J. 1996. The ever-increasing role of biotechnology in the poultry industry: lessons from the past and thoughts for the future. *North American University Tour*, 65-85.
- LI, M. H.; ROBINSON, E. H. 1999. Dietary ascorbic acid requirement for growth and health in fish. *J. Appl. Aquacult.*, 9(2):53-79.

- LI, M. H.; WISE, D. J.; JOHNSON, M. R.; ROBINSON, E. H. 1994. Dietary menhaden oil reduced resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri*. *Aquaculture*, 128:335-344.
- LI, M. H.; WISE, D. J.; ROBINSON, E. H. 1998. Effect of dietary vitamin C on weight gain, tissue ascorbate concentration, stress response, and disease resistance of channel catfish *Ictalurus punctatus*. *J. World Aquacult. Soc.*, 29(1):1-8.
- LI, P.; BURR, G. S.; GOFF, J.; WHITEMAN, K. W.; DAVIS, K. B.; VEGA, R. R.; NEILL, W. H.; GATLIN III, D. M. 2005. A preliminary study on the effects of dietary supplementation of brewers yeast and nucleotides, singularly or in combination, on juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquac. Res.*, 36:1120-1127.
- LI, P.; GATLIN III, D. M. 2003. Evaluation of brewer yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *Aquaculture*, 219(1-4):681-692.
- LI, P.; GATLIN III, D. M. 2004. Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™ AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture*, 231:445-456.
- LI, P.; GATLIN III, D. M. 2005. Evaluation of the prebiotic Grobiotic®-A and brewers yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. *Aquaculture*, 248:197-205.
- LI, P.; GATLIN III, D. M. 2006. Nucleotide nutrition in fish: current knowledge and future applications. *Aquaculture*, 251:141-152.
- LI, P.; LEWIS, D. H.; GATLIN III, D. M. 2004. Dietary oligonucleotide from yeast RNA influences immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Fish Shellfish Immunol.*, 16:561-569.
- LI, Y.; LOVELL, R. T. 1985. Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune response in channel catfish. *J. Nutr.*, 115:123-131.
- LIM, C.; KLESIUS, P. H. 1997. Response of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed iron deficient and replete diets to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Aquaculture*, 157:83-93.
- LIM, C.; KLESIUS P. H. 2003. Influence of dietary levels of magnesium on growth, tissue mineral content, and resistance of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, challenged with *Edwardsiella ictaluri*. *J. World Aquac. Soc.*, 34(1):18-28.
- LIM, C.; KLESIUS, P. H.; LI, M. H.; ROBINSON, E. H. 2000. Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *E. ictaluri* challenge. *Aquaculture*, 185:313-27.
- LIM, C.; KLESIUS, P. H.; SHOEMAKER, C. A. 2001. Dietary iron and Fish health. In LIM, C.; WEBSTER, C.D. (Ed.). *Nutrition and Fish Health*. New York: The Haworth Press Inc., p. 189-196.
- LIM, C.; WEBSTER, C. D. 2001. *Nutrition and Fish Health*. Binghamton, New York: The Haworth Press.
- LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY, M.; KLESIUS, P. H. 2005. Nutrition, immune response and disease resistance in fish. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE DE PEIXES, 1., 2005, Botucatu. *Anais...* Botucatu: Departamento

- de Melhoramento e Nutrição Animal – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- LIN, R.; WHITE, J. H. 2004. The pleiotropic actions of vitamin D. *Bioessays*, 26(1):21-28.
- LIN, Y.-H.; LIN, S.-M.; SHIAU, S.-Y. 2008a. Dietary manganese requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture*, 284(1-4):207-210.
- LIN, Y. H.; SHIAU, S. Y. 2005. Dietary vitamin E requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, at two lipid levels, and their effects on immune responses. *Aquaculture*, 248:235-244.
- LIN, Y.-H.; SHIAU, S.-Y. 2005. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture*, 250: 356-363.
- LIN, Y.-H.; SHIE, Y.-Y.; SHIAU, S.-Y. 2008b. Dietary copper requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture*, 274:161-165.
- LIN, Y. H.; WANG, H.; SHIAU, S. Y. 2009. Dietary nucleotide supplementation enhances growth and immune responses of grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture*, 15:117-122.
- LIU, C.; LIN, Q.; GAO, Y.; Y e L; XING, Y.; XI, T. 2007. Characterization and antitumor activity of a polysaccharide from *Strongylocentrotus nudus* eggs. *Carbohydr. Polym.*, 67:313-318.
- LOGATO, P. V. R. 2000. *Nutrição e alimentação de peixes da água doce*. Viçosa, MG: Aprenda fácil editora.
- LÓPEZ-NAVARRO, A. T.; GIL, A.; SÁNCHEZ-POZO, A. 1995. Deprivation of dietary nucleotides results in a transient decrease in acid-soluble nucleotides and RNA concentration in rat liver. *J. Nutr.*, 125:2090-2095.
- LOVELL, T. 1989. New sources of vitamin C for fish feeds. *Aquatic Magazine*, 15(2):65-66.
- LOVELL, R. T. 1988. *Nutrition and feeding of fish*. New York: Van Nostrand Reinhold.
- LOVELL, R. T. 1998. *Nutrition and feeding of fish*. 2. ed. Boston: Kluwer Academic Publishers.
- LOVELL, R. T. 2000. Dietary requirements for ascorbic acid by warmwater fish. In: DABROWSKI, K. (Ed.). *Ascorbic acid in aquatic organisms: status and perspectives*. Boca Raton: CRC Press, p. 97-104.
- LOVELL, R. T.; LI, Y. 1978. Essentiality of vitamin D in diets of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Trans. Am. Fish Soc.*, 107: 809-811.
- LOW, C.; WADSWORTH, S.; BURRELS, C.; SECOMBES, C. J. 2003. Expression of immune genes in turbot (*Scophthalmus maximus*) fed a nucleotide-supplemented diet. *Aquaculture*, 221:23-40.
- LUNDEBYE, A. K.; BERNTSEN, M. H. G.; WENDELAAR BONGA, S. E.; MAAGE, A. 1999. Biochemical and physiological responses in Atlantic salmon (*Salmo salar*) following dietary exposure to copper and cadmium. *Mar. Pollut. Bull.*, 39:137-144.
- LUSHCHAK, O. V.; KUBRAK, O. I.; NYKORAK, M. Z.; STOREY, K. B.; LUSHCHAK, V. I. 2008. The effect of potassium dichromate on free radical processes in goldfish: Possible protective role of glutathione. *Aquat. Toxicol.*, 87:108-114.
- LUSHCHAK, O. V.; KUBRAK, O. I.; TOROUS, I. M.; NAZARCHUK, T. Y.; STOREY, K. B.; LUSHCHAK, V. I. 2009. Trivalent chromium induces oxidative stress in goldfish brain. *Chemosphere*, 75:56-62.

- LUZZANA, U.; VALFRÉ, F.; LANARI, D. 1995. Protective role of vitamin C against environmental stressors and pathogens in intensive aquaculture. *Riv. Ital. Acquacolt.*, 30:49-64.
- MAHAJAN, C. L.; AGRAWAL, N. K. 1980. Nutritional requirement of ascorbic acid by Indian major carp, *Cirrhina mrigala*, during early growth. *Aquaculture*, 19:37-48.
- MAITA, M. 2007. Fish health assessment. In: NAKAGAWA, H.; SATO, M.; GATLIN III, D. M. (Ed.). *Dietary supplements for the health and quality of cultured fish*. UK: Cromwell Press, p. 10-34.
- MARTINO, R. C.; CYRINO, J. E. P.; PORTZ, L.; TRUGO, L. C. 2002. Effect of dietary lipid level on nutritional performance of the surubim, *Pseudoplatystoma coruscans*. *Aquaculture*, 209:209-218.
- MARTINS, M. L. 1995. Effect of ascorbic acid deficiency on the growth, gill filament lesions and behaviour of pacu fry (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 28:563- 568.
- MARTINS, M. L. 1998. Evaluation of the addition of ascorbic acid to the ration of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) on the infestation of *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea). *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 31:655-658.
- MARTINS, M. L.; CASTAGNOLLI, N.; ZUIM, S. M. F.; URBINATI, E. C. 1995. Influência de diferentes níveis de vitamina C na ração sobre parâmetros hematológicos de alevinos de *Piaractus mesopotamicus* HOLMBERG (OSTEICHTHYES, CHARACIDAE). *Rev. Bras. Zool.*, 12:609-618.
- MARTINS, M. L.; MIYAZAKI, D. M. Y.; MORAES, F. R.; GHIRALDELLI, L.; ADAMANTE, W. B.; MOURINO, J. L. P. 2008. Ração suplementada com vitaminas C e E influencia a resposta inflamatória aguda em tilápia do Nilo. *Ciênc. Rural*, 38(1):213-218.
- MATHIEU, C.; VAN ETEN, E.; GYSEMANS, C. 2005. In vitro and in vivo analysis of the immune system of vitamin D receptor knockout mice. *J. Bone Miner. Res.*, 16:2057-2065.
- MATUSIEWICZ, M.; DABROWSKI, K. 1995. Characterization of ascorbyl esters hydrolysis in fish. *Comp Biochem Physiol*, B:1-7.
- MAZIK, P. M.; BRANDT, T. M.; TOMASSO, J. R. 1987. Effects of dietary vitamin C on growth, caudal fin development and tolerance of aquaculture-related stressors in channel catfish. *Progress. Fish Culture*, 49:13-16.
- MAZURAS, D.; DARIAS, M. J.; GOUILLOU-COUSTANS, M. F.; LE GALL, M. M.; HUELVAN, C.; DESBRUYE`RES, E.; QUAZUGUEL, P.; CAHU, C.; ZAMBONINO-INFANTE, J. L. 2008. Dietary vitamin mix levels influence the ossification process in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 294:520-527.
- McCLUSKEY, E. S. 1985. Which vertebrates make vitamin C. *Origins*, 12(2):96-100.
- MCDOWELL, L. R. 1989. *Vitamins in animal nutrition*. San Diego: Academic Press.
- MCDOWELL, L. R. 1992. *Minerals in animal and humans nutrition*. San Diego: Academic Press.
- MENDES, F. A. 2000. *Efeito da vitamina D no ganho de peso e nos níveis de cálcio e fósforo inorgânico de Colossoma macropomum (Characiformes, Serrasalminidae)*. 63 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas, Manaus.

- MENEZES, G. C.; TAVARES-DIAS, M.; ONO, E. A.; ANDRADE, J. I. A.; BRASIL, E. M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E. C.; MARCON, J. L.; AFFONSO, E. G. 2006. The influence of dietary vitamin C and E supplementation on the physiological response of pirarucu, *Arapaima gigas*, in net culture. *Comp. Biochem. Physiol.*, 145:274–279.
- MESQUITA-SAAD, L. S. B. 2001. O teor de vitamina C em peixes da amazônia: aspectos adaptativos. 119 f. Tese (Doutorado) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas, Manaus.
- MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R.; SOARES, C. M. 2002. Lipídeos na Alimentação de Alevinos Revertidos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). *R. Bras. Zootec.*, 31(2):566-573.
- MEYDANI, S. N.; ENDRES, S.; WOODS, M. M.; GOLDIM, B. R.; SOO, C.; MORRILL-LABRODE, A.; DINARELLO, C. A.; GORBACH, S. L. 1991. Oral (n-3) fatty acids supplementation suppresses cytokine production and lymphocyte proliferation: comparison between young and older women. *J. Nutr.*, 121:547-555.
- MEYDANI, S. N.; HAN, S. N.; WU, D. 2005. Vitamin E and immune response in the aged: molecular mechanisms and clinical implications. *Immunol. Rev.*, 205:269-284.
- MILLER, W. L.; PORTALLE, A. A. 1999. Genetic disorders of vitamin D biosynthesis. *Pediatr. Endocrinol.*, 28(4):825-840.
- MILLS, S. C.; WINDSOR, A. C.; KNITHG, S. C. 2005. The potential interactions between polyunsaturated fatty acids and colonic inflammatory processes. *Clin. Exp. Immunol.*, 142:216-228.
- MISRA, C. K.; DAS, B. K.; MUKHERJEE, S. C.; PRADHAN, J. 2007. Effects of dietary vitamin C on immunity, growth and survival of Indian major carp *Labeo rohita*, fingerlings. *Aquacult. Nutrition*, 13:35-44.
- MISRA, C. K.; KUMAR, B. D.; MUKHERJEE, S. C.; PATTNAIK, P. 2006. Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. *Aquaculture*, 255:82–94.
- MONTERO, D.; GRASSO, V.; IZQUIERDO, M. S.; REAL, F.; TORT, L.; CABALLERO, M. J.; ACOSTA, F. 2008. Total substitution of fish oil by vegetable oil in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: effects on hepatic Mx expression and some immune parameters. *Fish Shellfish Immunol*, 24:147-155.
- MONTERO, D.; KALINOWSKI, T.; OBACH, A.; ROBAINA, L.; TORT, L.; CABALLERO, M. J.; IZQUIERDO, M. S. 2003. Vegetable lipid sources for gilthead sea bream (*Sparus aurata*): effects on fish health. *Aquaculture*, 225:353-370.
- MONTERO, D.; MARRERO, M.; IZQUIERDO, M. S.; ROBAINA, L.; VERGARA, J. M.; TORT, L. 1999. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture*, 171:269–278.
- MONTERO, D.; ROBAINA, L.; VERGARA, J. M.; IZQUIERDO, S. M. 2001. Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Fish Shellfish Immunol.*, 11:473–490.
- MONTERO, D.; TORT, L.; IZQUIERDO, M. S.; ROBAINA, L.; VERGARA, J. M.; 1998. Depletion of serum alternative complement pathway activity in

- gilthead seabream caused by α -tocopherol and n-3 HUFA dietary deficiencies. *Fish Physiol. Biochem.* 18:399–407.
- MONTEIRO, D. A.; RANTIN, F. T.; KALININ, A. L. 2007. Uso do selênio na dieta de matrinxã, *Brycon cephalus*. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, 8(1):32-47.
- MOREAU, R.; DABROWSKI, K. 2000. Gulonolactone oxidase presence in fishes: activity and significance. In: DABROWSKI, K. (Ed.). *Ascorbic acid in aquatic organisms: status and perspectives*. Boca Raton: CRC Press, p. 13-32.
- MOREIRA, A. B.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. 2001. Fatty acids profile and cholesterol contents of Three Brazilian Brycon freshwater fishes. *J. Food Compos. Anal.*, 14:565-574.
- MOURENTE, G.; GOOD, J. E.; BELL, J. G. 2005. Partial substitution of fish oil with rapessed, linseed and olive oils in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): effects on flesh fatty acid composition, plasma prostaglandins E₂ and F_{2 α} , immune function and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Aquacult. Nutr.*, 11:25-40.
- MUNTZ, W. R. A. 1981. Observações adicionais sobre os pigmentos visuais e filtros amarelos nos olhos de peixes amazônicos. *Acta Amazônica*, 11(1):113-123.
- MUSTAFA, T.; SRIVASTAVA, K. C. 1989. Prostaglandins (eicosanoids) and their role in ectothermic organisms. *Adv. Comp. Environ. Physiol.*, 5:157-207.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1993. *Nutrient Requirements of Fishes*. Washington, DC: National Academy of Sciences.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1993. *Nutrient Requirements of Domestic Animals: Nutrient Requirements of Warmwater Fishes and Shellfishes*. Washington, DC: National Academic Press, 102 p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 2001. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7th. Washington, DC: National Academy Press.
- NAVARRE, O.; HALVER, J. E. 1989. Disease resistance and humoral antibody production in rainbow trout fed high levels of vitamin C. *Aquaculture*, 79:207-221.
- NEW, M. B. 1987. *Feed and feeding of fish and shrimp - a manual on the preparation and presentation of compound feeds for shrimp and fish in aquaculture*. Rome: FAO. (Report No. ADCP/REP/87/26).
- NIKL, L.; EVELYN, T. P. T.; ALBRIGHT, L. J. 1993. Trials with an orally and immersion-administered beta-1,3 glucan as an immunoprophylactic against *Aeromonas salmonicida* in juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *Dis. Aquat. Organ.*, 17:191-196.
- NORMAN, A. W. 2008. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am. J. Clin. Nutr.*, 88(2):491-499.
- NUSSEY, G.; VAN VUREN, J. H. J.; PREEZ, H. H. 1995. Effect of copper on the haematology and osmoregulation of the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, 111C:369-380.
- O'CONNELL, J. P.; GATLIN III, D. M. 1994. Effects of dietary calcium and vitamin D(3) on weight gain and mineral composition of the blue tilapia (*Oreochromis aureus*) in low-calcium water. *Aquaculture*, 125:107-117.

- O'KEEFE, T. 2001. *Ascorbic acid and stable ascorbate esters as sources of vitamin C in aquaculture feeds*. Singapore: American Soybean Association – United Soybean Board, 8 p. (ASA Technical Bulletin Vol. AQ48-2001). Disponível em: <<http://www.asasea.com/technical/aq48-2001.html>>. Acesso em: 4 maio 2009.
- OGATA, H. Y.; OKU, H. 2001. The effects of dietary retinoic acid on body lipid deposition in juvenile red sea bream (*Pagrus major*): a preliminary study. *Aquaculture*, 193:271-279.
- OGINO, C.; CHIOU, J. Y. 1976. Mineral requirements in fish – II. Magnesium requirement of carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 42(1):71-75.
- OGINO, C.; TAKEDA, H. 1976. Mineral requirements in fish. 3. Calcium and phosphorus requirements of carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 42:793-799.
- OGINO, C.; YANG, G. Y. 1978. Requirement of rainbow trout for dietary zinc. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 44:1015-1018.
- OGINO, C.; YANG, G. Y. 1979. Requirement of carp for dietary zinc. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 45:967-969.
- OGINO, C.; YANG, G. Y. 1980. Requirements of carp and rainbow trout for dietary manganese and copper. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 46:455-458.
- OKAMURA, D. 2007. *Suplementação do ascorbil palmitato e do alfa-tocoferol no desenvolvimento e estresse em larvas de dourado (Salminus brasiliensis)*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais.
- ORNSRUD, R.; GRAFF, L. E.; HOIE, S. 2002. Hypervitaminosis A in first-feeding fry of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L) . *Aquacult. Nutrition*, 8(1):7-13.
- ORTOLANI, E. L. 2002. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. (Ed.). *Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 641-651.
- ORTUÑO, J.; CUESTA, A.; ESTEBAN, M. A.; MESEGUER, J. 2001. Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 79:167–180.
- ORTUÑO, J.; ESTEBAN, M. A.; MESEGUER, J. 2000. High dietary intake of tocopherol acetate enhances the non-specific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunol.*, 10:293-307.
- ORUN, I.; TALAS, Z. S.; OZDEMIR, I.; ALKAN, A.; ERDOGAN, K. 2008. Antioxidative role of selenium on some tissues of (Cd²⁺, Cr³⁺)-induced rainbow trout. *Ecotox. Environ. Safety.*, 71:71-75.
- OTANI, F. S. 2009. *Influência da adição in vivo de vitamina E e de métodos de abate nos atributos de qualidade de filés de tilápia*. Dissertação (Mestrado) – Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal.
- OWEN, J. M.; ADRON, J. W.; MIDDLETON, C.; COWEY, C. B. 1975. Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot (*Scophthalmus maximus*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Lipids*, 10:528-531.
- PABLO, M. A.; PUERTOLLANO, M. A.; CIENTIFUEGOS, G. V. 2002. Biological and clinical significance of lipids as modulators of immune functions. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 9:945-950.
- PAN, L.; ZHU, X.; XIE, S.; LEI, W.; HAN, D.; YANG, I. 2008. Effects of dietary manganese on growth and tissue manganese concentrations of juvenile gilbel carp, *Carassius auratus gibelio*. *Aquacult. Nutr.*, 14:459–463.

- PANIGRAHI, A.; KIRON, V.; PUANGKAEW, J.; KOBAYASHI, T.; SATOH S.; SUGITA, H. 2005. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 243:241-254.
- PARENT, G.; ROUSSEAU-PREVOST, R.; CARLIER, Y.; CAPRON, A. 1984. Influence of vitamin A on the immune response of *Schistosoma mansoni*-infected rats. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 78:380-384.
- PARIPATANANONT, T.; LOVELL R. T. 1995. Responses of Channel Catfish Fed Organic and Inorganic Sources of Zinc to *Edwardsiella ictaluri*. *J. Aquat. Anim. Health*, 7(2):147-154.
- PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid. Res.*, 40:283-298.
- PARKER, R. B. 1974. Probiotics. The other half of the antibiotic story. *Anim. Nutr. Health*. 29:4-8.
- PASATIEMPO, A. M.; KINOSHITA, M.; TAYLOR, C. E.; ROSS, A. C. 1990. Antibody production in vitamin A-depleted rats is impaired after immunization with bacterial polisaccharide or protein antigens. *FASEB J.*, 4:2518-2527.
- PAUL, B. N.; SARKAR, S.; GIRI, S. S.; RANGACHARYULU, P. V.; MOHANTY, S. N. 2004. Phosphorus requirements and optimum calcium/phosphorus ratio in the diet of mrigal *Cirrhinus mrigala* (Ham.) fingerlings. *J. Appl. Ichthyol.*, 20:206-209.
- PAULSEN, S. M.; ENGSTAD, R. E.; ROBERTSEN, B. 2001. Enhanced lysozyme production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages treated with yeast β -glucan and bacterial lipopolysaccharide. *Fish Shellfish Immunol.*, 11:23-37.
- PEIL, S. Q.; POUEY, J. L. O. F.; LOPES, P. R. S.; MARTINS, C. R.; TIMM, G. 2007. Adição de vitamina A na dieta de pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). *Biodivers. Pampeana*, 5(1):9-15.
- PEZZATO, L. P.; BARROS, M. M.; FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. 2004. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSO, D. M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). *Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva*. São Paulo: TecArt, p. 75-169.
- PEZZATO, L. E.; ROSA, M. J. S.; BARROS, M. M.; GUIMARÃES, I. G. 2006. Exigência em fósforo disponível para alevinos de tilápia do Nilo. *Ciênc. Rural*, 36(5):1600-1605.
- PIEDRAS, S. R. N.; MORAE, P. R. R.; ISOLDI, L. A.; POUEY, J. L. O. F.; RUTZ, F. 2005. Comparação entre o selênio orgânico e o inorgânico empregados na dieta de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). *B. Inst. Pesca*, 31(2):171-174.
- PILARSKI, F. 2006. *Imunização de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) com antígeno obtido de Flavobacterium columnare e suplementação alimentar com vitamina C*. 118 f. Tese (Doutorado) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista.
- PILARSKI, F.; CHAGAS, E. C.; VARANDAS, D. N.; SAKABE, R. 2009. Effect of β -glucan supplementation in the juvenile *Oreochromis niloticus* vaccinated against *Flavobacterium columnare*: non-specific immune parameters. In: WORLD AQUACULTURE, 2009, Veracruz. *Anais...* Veracruz: WORLD AQUACULTURE SOCIETY.

- PROSSER, D. E.; JONES, G. 2004. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends Biochem. Sci.*, 29:664-673.
- PRYOR, G. S.; ROYES, J. B.; CHAPMAN, F. A.; MILES, R. D. 2003. Mannan oligosaccharides in fish nutrition: effects of dietary supplementation on growth and gastrointestinal villi structure in Gulf of Mexico sturgeon. *North Amer. J. Aquacul.*, 65:106-111.
- PUANGKAEW, J.; KIRON, V.; SOMAMOTO, T.; OKAMOTO, N.; SATOH, S.; TAKEUCHI, T.; WATANABE, T. 2004. Non-specific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids. *Fish Shellfish Immunol.*, 16:25-39.
- RAA, J. 1996. The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming. *Rev. Fish Biol. Fisher.*, 4:229-288.
- RAMADAN, A.; ATEF, M. 1991. Effect of the biogenic performance enhancer (Ascogen "S") on growth rate of tilapia fish. *Acta Vet. Scand.*, 87:304-306.
- RAMIREZ, R. F.; DIXON, B. A. 2003. Enzyme production by obligate intestinal anaerobic bacteria isolated from oscars (*Astronotus ocellatus*), angelfish (*Pterophyllum scalare*) and southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). *Aquaculture*, 227:417-426.
- RAO, D. S.; RAGHURAMULU, N. 1999. Is vitamin D redundant in an aquatic habitat? *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 45:1-8.
- REN, T.; KOSHIO, S.; TESHIMA, S. I.; ISHIKAWA, M.; ALAM, S.; PANGANIBAN JUNIOR, A.; MOE, Y. Y.; KOJIMA, T.; TOKUMITSU, H. 2005. Optimum dietary level of L-ascorbic for Japanese Eel, *Anguilla japonica*. *J. World. Aquacult. Soc.*, 36(4):437-443.
- RENO, F.; AINA, V.; GATTI, S.; CANNAS, M. 2005. Effect of vitamin E addition to poly(D,L)-lactic acid on surface properties and osteoblast behaviour. *Biomaterials*, 26:5594-5599.
- RIBEIRO, F. B.; LANNA, E. A. T.; BOMFIM, M. A. D.; DONZELE, J. L.; FREITAS, A. S.; SOUSA, M. P.; QUADROS, M. 2006. Níveis de fósforo total em dietas para alevinos de tilápia-do-nilo. *R. Bras. Zootec.*, 35(4):1588-1593.
- ROBBINS, S. L.; COTRAN, R. S.; KUMAR, V. 1986. *Patologia estrutural e funcional*. 3. ed. [S.l.]: Interamericana.
- ROBERTS, M. L.; DAVIES, S. J.; PULSFORD, A. L. 1995. The influence of ascorbic acid (vitamin C) on non-specific immunity in the turbot (*Scophthalmus maximus* L.) *Fish Shellfish Immunol.*, 5:27-38.
- ROBERTSEN, B.; ENGSTAD, R. E.; JORGENSEN, J. B. 1994. β -glucans as immunostimulators in fish. In: STOLEN, J. S.; FLETCHER, T. (Ed.). *Modulators of Fish Immune Responses*. Fair Haven, VT: SOS Publications, p. 83-99.
- ROBERTSEN, B.; RORSTAD, G.; ENGSTAD, R.; RAA, J. 1990. Enhancement of non-specific disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. by a glucan from *Saccharomyces cerevisiae* cell walls. *J. Fish Dis.*, 13:391-400.
- ROBINSON, E. H.; RAWLES, S. D.; BROWN, P. B.; YETTE, H. E.; GREENE, L. W. 1986. Dietary calcium requirement of channel catfish (*Ictalurus punctatus*), reared in calcium-free water. *Aquaculture*, 53:263-270.
- RODESHUTSCORD, M. 1996. Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growing from 50 to 200 g to supplements of dibasic sodium phosphate in a semipurified diet. *J. Nutr.*, 126:324-331.

- ROESIJADI, C.; ROBINSON, W. 1994. Metal regulation in aquatic animals: mechanisms of uptake, accumulation and release. In: MALINS, D. C.; OSTRANDER, G. K. (Ed.). *Aquatic toxicology, molecular, biochemical and cellular perspectives*. Boca Raton: CRC Press, p. 387–420.
- ROTTA, M. A. 2003. *Utilização do ácido ascórbico (Vitamina C) pelos peixes*. Corumbá: Embrapa Pantanal, 54 p. (Embrapa Pantanal. Documentos, 49).
- ROY, P. K.; LALL, S. P. 2003. Dietary phosphorus requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). *Aquaculture*, 221:451-468.
- SÁ, M. V. C.; PEZZATO, L. E.; LIMA, M. M. B. F.; PADILHA, P. M. 2004. Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles diets. *Aquaculture*, 238:385–401.
- SAARI, J. C. 1994. Retinoids in photosensitive system. 2. ed. New York: Raven Press.
- SADO, R. Y. 2008. *Imunoestimulantes dietéticos e respostas biológicas, bioquímicas e hematológicas de juvenis de Piaractus mesopotamicus (Holmberg, 1887)*. 136 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- SAHOO, P. K.; MUKHERJEE, S. C. 2002. Influence of fish dietary α -tocopherol intakes on specific immune response, non-specific immune resistance factors and disease resistance of healthy and aflatoxin B1-induced immunocompromised Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquac. Nutr.*, 8:159–167.
- SAKABE, R. 2007. *Suplementação alimentar com ácidos graxos essenciais para tilápia do Nilo: desempenho produtivo, hematológico e granuloma por corpo estranho*. Dissertação (Mestrado) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- SAKAI, M. 1999. Current research status of immunostimulants. *Aquaculture*, 172:63-92.
- SAKAI, M.; TANIGUCHI, K.; MAMOTO, K.; OGAWA, H.; TABATA, M. 2001. Immunostimulant effects of nucleotide isolated from yeast RNA on carp, *Cyprinus carpio* L. *J. Fish Dis.*, 24:433-438.
- SALVADOR, R. 2008. *Imunização e inflamação por Streptococcus agalactiae em tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) alimentadas com ração suplementada com parede celular de Saccharomyces cerevisiae*. Tese (Doutorado) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- SALZE, G.; McLEAN, E.; SCHWARZ, M. H.; CRAIG, S. R. 2008. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval cobia. *Aquaculture*, 274:148-152.
- SANTARÉM, M.; NOVOA, B.; FIGUERAS, A. 1997. Effects of β -glucans on the non-specific immune responses of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish Shellfish Immunol.*, 7:429-437.
- SANTOS, L. D.; FURUYA, W. M.; MATSUSHITA, M.; SILVA, L. C. R.; SILVA, T. S. C.; BOTARO, D. 2007. Ácido linoléico conjugado (CLA) em dietas para tilápia-do-nilo: desempenho produtivo, composição química e perfil de ácidos graxos. *R. Bras. Zootec.*, 36(5):1481-1488.
- SARGENT, J. R.; BELL, J. G.; BELL, M. V.; HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. 1995. Requirement criteria for essential fatty acids. *J. Appl. Ichthyol.*, 11:183-198.

- SARGENT, J. R.; HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. 1989. The lipids. In: HALVER, J. E. (Ed.). *Fish Nutrition*. New York: Academic Press, p. 154-218.
- SARGENT, J. R.; TOCHER, D. R.; BELL, J. G. 2002. The lipids. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. (Ed.). *Fish Nutrition*. 3. ed. [S.l.]: Elsevier, p. 181-257.
- SARKER, P. K.; FUKADA, H.; MASUMOTO, T. 2009. Phosphorus availability from inorganic phosphorus sources in yellowtail (*Seriola quinqueradiata* Temminck and Schlegel). *Aquaculture*, 289:113-117.
- SARMA, K.; PAL, A. K.; SAHU, N. P.; AYYAPPAN, S.; BARUAH, K. 2009. Dietary high protein and vitamin C mitigates endosulfan toxicity in the spotted murrel, *Channa punctatus* (Bloch, 1793). *Scien. Total Environ.*, 407:3668-3673.
- SATOH, S.; POE, W. E.; WILSON, R. P. 1989a. Effect of dietary n-3 fatty acids on weight gain and liver polar lipid fatty acid composition of fingerling channel catfish. *J. Nutr.*, 119:23-28.
- SATOH, S.; POE, W. E.; WILSON, R. P. 1989b. Studies on the essential fatty acid requirement of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 79:121-128.
- SATOH, S.; TAKEUCHI, T.; WATANABE, T. 1987. Requirement of tilapia for α -tocopherol. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53:119-124.
- SCARPA, J.; LEWIS, D. H.; GATLIN III, D. M. 1992. Effects of dietary zinc and calcium on select immune functions of channel catfish. *J. Aquat. Anim. Health*, 4:24-31.
- SCHNEIDER, C. 2005. Chemistry and biology of vitamin E. *Mol. Nutr. Food Res.*, 49:7-30.
- SCHORER, M. 2008. *Utilização do β -glucano sobre o desempenho produtivo, indicadores de estresse, perfil hematológico e sobrevivência do pacu (*Piaractus mesopotamicus*)*. Dissertação (Mestrado) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- SEALEY, W. M.; BARROWS, F. T.; HANG, A.; JOHANSEN, K. A.; OVERTURF, K.; LAPATRA, S. E.; HARDY, R. W. 2008. Evaluation of the ability of barley genotypes containing different amounts of β -glucan to alter growth and disease resistance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Animal Feed Science and Technology*, 141:115-28.
- SEALEY, W. M.; GATLIN III, D. M. 2002. Dietary supplementation of vitamin C and/or vitamin E before or after experimental infection with *Streptococcus iniae* has limited effects on survival of hybrid striped bass. *J. Aq. Anim. Health*, 14:165-175.
- SECOMBES, C. J. 1985. The *in vitro* formulation of teleost multinucleate giant cells. *J. Fish Dis.*, 8:461-464.
- SECOMBES, C. J.; CLEMENTS, K.; ASHTON, I.; ROWLEY, A. F. 1994. The effect of eicosanoids on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, leucocyte proliferation. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 42:367-378.
- SECOMBES, C. J.; FLECHER, T. C. 1992. The role of phagocytes in the protective mechanisms of fish. *Annu. Rev. Fish Dis.*, 2:53-71.
- SELVARAJ, V.; SAMPATH, K.; SEKAR, V. 2005. Use of glucan from *Saccharomyces cerevisiae* as an immunostimulant in carp: impact on hematology, phagocyte function and infection with *Aeromonas hydrophila*. *Israeli J. Aquacult.*, 57(1):39-48.
- SELVARAJ, V.; SAMPATH, K.; SEKAR, V. 2006. Adjuvant and immunostimulatory effects of β -glucan administration in combination with

- lipopolysaccharide enhances survival and some immune parameters in carp challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 114:15-24.
- SGARBIERI, V. C. 1987. *Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento*. Campinas: Editora da UNICAMP.
- SHAO, Q.; MA, J.; XU, Z.; HU, W.; XU, J.; XIE, S. 2008. Dietary phosphorus requirement of juvenile black seabream, *Sparus macrocephalus*. *Aquaculture*, 277:92-100.
- SHEARER, K. D.; ASGARD, T. 1992. The effect of water-borne magnesium on the dietary magnesium requirement of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish. Physiol. Biochem.*, 9(5-6):387-392.
- SHELDON JUNIOR, W. M.; BLAZER, V. S. 1991. Influence of dietary lipid and temperature on bactericidal activity of channel catfish macrophage. *J. Aquat. Anim. Health*, 3:87-93.
- SHERWOOD, E. R.; WILLIAMS, D. L.; McNAME, R. B.; JONES, E. L.; BROWDER, I. W.; DI LUZIO, N. R. 1987. Enhancement of interleukin-1 and interleukin-2 production by soluble glucan. *Int. J. Immunopharm.*, 9:261-267.
- SHIAU, S. Y.; CHEN, M. J. 1993. Carbohydrate utilization by Tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) as Influenced by Different Chromium Sources. *J. Nutr.*, 123:1747.
- SHIAU, S. Y.; HSU, C. Y. 2002. Vitamin E sparing effect by dietary vitamin C in juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture*, 210:335-342.
- SHIAU, S. Y.; HSU, T. S. 1993. Stability of ascorbic acid in shrimp feed during the analysis. *Nip. Suis. Gakkaishi*, 59:1535-1537.
- SHIAU, S. Y.; HUANG, S. Y. 1993. Dietary folic requirement for maximal growth of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Fish. Sci.*, 67:655-659.
- SHIAU, S. Y.; JAN, F. L. 1992. Dietary ascorbic acid requirement of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 58:671-675.
- SHIAU, S. Y.; NING, Y. C. 2003. Estimating of dietary copper requirements for juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Anim. Sci.*, 77:287-292.
- SHIAU, S. Y.; SHIAU, L. F. 2001. Reevaluation of the vitamin E requirements of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 105:147-150.
- SHIAU, S. Y.; SU, L. W. 2003. Ferric citrate is half as effective as sulfate in meeting the iron requirement of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *J. Nutr.*, 133:483-488.
- SHIAU, S.-Y.; TSENG, H.-C. 2007. Dietary calcium requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*, reared in fresh water. *Aquacult. Nutr.*, 13:298-303.
- SHIM, K. F.; TAN, C. H. 1990. The dietary requirement of vitamin A in guppy (*Poecilia reticulata* Peters). In: TAKEDA, M.; WATANABE, T. (Ed.). *Proceedings of the Third International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish: the Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture*. Toba, Japan, p.133-140.

- SHIMMA, Y.; SUZUKI, R.; YAMAGUCHI, M.; AKIYAMA, T. 1977. On the lipids of adult carps raised on fishmeal and SCP feeds, and hatchabilities of their eggs. *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*, 27:35-48.
- SIGNOR, A. 2007. *Desempenho produtivo e resistência ao estresse pelo frio da tilápia do Nilo alimentada com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco*. Dissertação (Mestrado) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- SILVA DA, L. P.; NÖRNBERG, J. L. 2003. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. *Ciênc. Rural*, 33:983-990.
- SIWICKI, A. K.; ANDERSON, D. P.; RUMSEY, G. L. 1994. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Vet. Immunol. Immunopath.*, 41:125-139.
- SIWICKI, A. K.; ZAKES, Z.; TERECH-MAJEWSKA, E.; KOWALSKA, A.; MALACZEWSKA, J. 2009. Supplementing the feed of pikeperch [*Sander lucioperca* (L.)] juveniles with MacroGard and its influence on nonspecific cellular and humoral defense mechanisms. *Aquacult. Res.*, 40:405-411.
- SMITH, E. L.; HILL, R. L.; LEHMAN, I. R. 1983. *Principles of biochemistry: mammalian biochemistry*. 7. ed. New York: McGraw-Hill.
- SMITH, V. J.; BROWN, J. H.; HAUTON, C. 2003. Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection?. *Fish Shellfish Immun.*, 15:71-90.
- SOLIMAN, A. K.; JAUNCEY, K.; ROBERTS, R. J. 1994. Water-soluble vitamin requirements of tilapia: ascorbic acid (vitamin C) requirement of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquacult. Fish. Manage.*, 25:269-278.
- SORUM, H. 2006. Antimicrobial drug resistance in fish pathogens. In: AARESTRUP, F. M. (Ed.). *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. Washington DC: ASM Press, p. 213-238.
- SOUZA, S. M. G.; ANIDO, R. J. V.; TOGNON, F. C. 2007. Ácidos graxos Ômega-3 e Ômega-6 na nutrição de peixes – fontes e relações. *Rev. de Ciências Agrov.*, 6(1):63-71.
- SPRING, P.; WENK, C.; DAWSON, A.; NEWMAN, K. E. 2000. The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. *Poultry Science*, 79:205-211.
- STANKOVA, J.; ROLA-PLESZCZYNSKI, M. 1993. Eicosanoids in defence. In: SIM, E. (Ed.). *Humoral Factor*. Oxford: IRL Press, p. 319-335.
- STAYKOV, Y.; SPRING, P.; DENEV, S.; SWEETMAN, J. 2007. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult. Int.*, 152:153-161.
- STOREBAKKEN, T.; GOSWAMI, U. C. 1996. Plasma carotenoid concentration indicates the availability of dietary astaxanthin for Atlantic salmon, *Salmon salar*. *Aquaculture*, 146:147-153.
- SUGIURA, S. H.; GABAUDAN, J.; DONG, F. M.; HARDY, R. W. 2001. Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout [*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)] fed soybean meal-based diets. *Aquacult. Res.*, 32:583-592.
- SUZUKI, T.; OOHARA, I.; KUROKAWA, T. 1999. Retinoic acid given at late embryonic stage depresses sonic hedgehog and Hoxd-4 expression in the pharyngeal area and induces skeletal malformation in flounder (*Paralichthys olivaceus*) embryos. *Dev. Growth Differ.*, 41:143-152.

- TACHIBANA, K.; YAGI, M.; HARA, K.; MISHIMA, T.; TSUCHIMOTO, M. 1997. Effects of feeding b-carotene supplemented rotifers on survival and lymphocyte proliferation reaction of fish larvae of Japanese parrotfish (*Oplegnathus fasciatus*) and spotted parrotfish (*Oplegnathus punctatus*): preliminary trials. *Hydrobiologia*, 358:313-316.
- TACON, A. G. J. 1990. *Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp*. Washington DC: Argent Laboratories Press.
- TACON, A. G. 1991. Vitamin nutrition in shrimp and fish. In: AQUACULTURE FEED PROCESSING AND NUTRITION WORKSHOP, 1991, Thailand and Indonesia. *Proceedings...* Singapore: Americam Soybean Association.
- TACON, A. G. 1992. *Nutritional Fish Pathology*. Rome, Italy: United Nations Development Programme: FAO.
- TAKEUCHI, T. 1997. Essential fatty acid requirements of aquatic animals with emphasis in fish larvae and fingerlings. *Rev. Fish. Sci.*, 5(1): 1-25.
- TAKEUCHI, T.; ARAI, S.; WATANABE, T.; SHIMMA, Y. 1980. Requirement of eel *Anguilla japonica* for essential fatty acids. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 46:345-353.
- TAKEUCHI, T.; SATOH, S.; WATANABE, T. 1983. Requirement of Tilapia nilotica for essential fatty acids. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 49:1127-1134.
- TAKEUCHI, T.; TOYOTA, M.; SATOH, S.; WATANABE, T. 1990. Requirement of juvenile red sea bream *Pagrus major* for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *Nipp. Suis. Gak.*, 56:1263-1269.
- TAKEUCHI, T.; WATANABE, K.; YONG, W.-Y.; WATANABE, T. 1991. Essential fatty acids of grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Nipp. Suis. Gak.*, 57:467-473.
- TAKEUCHI, T.; WATANABE, T. 1977a. Requirement of carp for essential fatty acids. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 43:541-551.
- TAKEUCHI, T.; WATANABE, T. 1977b. Dietary levels of methyl laurate and essential fatty acid requirement of rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 43: 893-898.
- TAOKA, Y.; MAEDA, H.; JO, J. Y.; JEON, M. J.; BAI, S. C.; LEE, W. J.; YUGE, K.; KOSHIO, S. 2006. Growth, stress tolerance and non-specific immune response of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* to probiotics in a closed recirculating system. *Fish. Sci.*, 72:310-321.
- TAVEEKIJARAN, P.; MIYAZAKI, T.; MATSUMOTO, M. 1994. Vitamin A deficiency in cherry salmon. *J. Aquat. Anim. Health*, 6:251-259.
- TESKEREDZIC, Z.; TESKEREDZIC, E.; HACMANJEK, M. 1989. High mortality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fry caused by deficiency of vitamins C and B2 in commercial fish farms in Yugoslavia. *Aquaculture*, 79:245-248.
- TEWARY, A.; PATRA, B. C. 2008. Use of vitamin C as an immunostimulant. Effect on growth, nutritional quality, and immune response of *Labeo rohita* (Ham.). *Fish Physiol. Biochem.*, 34:251-259.
- THAKUR, M. L.; SRIVASTAVA, U. S. 1996. Vitamin-E metabolism and its application. *Nutr. Res.*, 16(10):1767-1809.
- THOMPSON, I.; CHOUBER, C.; HOULIHAN, D. F. 1995. The effect of dietary vitamin A and astaxanthin on the immunocompetence of rainbow trout. *Aquaculture*, 133: 91-102.
- THOMPSON, I.; WHITE, A.; FLETCHER, T. C.; HOULIHAN, D. F.; SECOMBES, C. J. 1993. The effect of stress on the immune response of Atlantic salmon

- (*Salmo salar*) fed diets containing different amounts of vitamin C. *Aquaculture*, 114(1-2):1-18.
- THOMPSON, K. D.; TATNER, M. F.; HENDERSON, R. J. 1996. Effects of dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acid ratio on the immune response of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquacult. Nutr.*, 2:21-31.
- TOCHER, D. R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev. Fisheries Sci.*, 11:107-184.
- TOCHER, D. R.; BENDIKSEN E. A.; CAMPBELL, P. J.; BELL, J. G. 2008. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture*, 280:21-34.
- TOCHER, D. R.; FONSECA-MADRIGAL, J.; BELL, J. G.; DICK, J. R.; HENDERSON, R. J.; SARGENT, J. R. 2002. Effects of dietary vitamin E on antioxidant defense mechanism of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquacult. Nutr.*, 8:195.
- TORRECILLAS, S.; MAKOL, A.; CABALLERO, M. J.; MONTERO, D.; ROBAINA, L.; REAL, F.; SWEETMAN, J.; TORT, L.; IZQUIERDO, M. S. 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. *Fish Shellfish Immunol.*, 23:969-981.
- TOUHATA, K.; TOYOHARA, H.; MITANI, T.; KINOSHITA, M.; SATOU, M.; SAKAGUCHI, M. 1995. Distribution of L-gulonolactone oxidase among fishes. *Fish. Sci.*, 61(4):729-730.
- TOYAMA, G. N.; CORRENTE, J. E.; CYRINO, J. E. P. 2000. Suplementação de vitamina C em rações para reversão sexual da tilápia do Nilo. *Sci. Agric.*, 57(2):221-228.
- TRECHSEL, U.; EVEQUOZ, V.; FLEISCH, H. 1985. Stimulation of interleukin 1 and 3 production by retinoic acid in vitro. *Bioch. J.*, 230:339-344.
- TRONCO, A. P.; RADINÜZ NETO, J.; MEDEIROS, T. S.; LIMA, R. L. 2007. Alimentação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) com dietas semipurificadas e fontes lipídicas. *B. Inst. Pesca*, 33(1):9-17.
- TRUST, T. J.; BULL, L. M.; CURRIE, B. R.; BUCKLEY, J. T. 1979. Obligate anaerobic bacteria in the gastrointestinal microflora of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), goldfish (*Carassius auratus*), and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish Res. Bd. Can.*, 36:1174-1179.
- TUCKER, B. W.; HALVER, J. E. 1984. Ascorbate-2-sulfate metabolism in fish. *Nutr Rev*, 42:173-179.
- UHING, R. J.; COWLEN, M. S.; ADAMS, D. O. 1990. Mechanisms regulating the production of arachidonate metabolites in mononuclear phagocytes. *Curr. Top. Membr. Transp.*, 35:349-374.
- VAINIKKA, A.; JOKINEN, E. I.; KORTET, R.; PAUKKU, S.; PIRHONEN, J.; RANTALA, M. J.; TASKINEN, J. 2005. Effects of testosterone and β -glucan on immune functions in tench. *J. Fish Biol.*, 66:348-361.
- VARANDAS, D. N. 2009. *Suplementação com vitamina C e cromo para pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) mantidos em alta densidade de estocagem: Desempenho produtivo, parâmetros hematológicos e desafio com *Aeromonas hydrophila**. Tese (Doutorado) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- VERAKUNPIRIYA, V.; WATANABE, K.; MUSHIAKE, K.; KAWANO, K.; KOBAYASHI, T.; HASEGAWA, I.; KIRON, V.; SATOH, S.; WATANABE, T.

1997. Effect of krill meal supplementation in soft-dry pellets on spawning and quality of egg of yellowtail. *Fisheries Sci.*, 63:433-439.
- VERLHAC, V.; OBACH, A.; GABAUDAN, J.; SCHUEP, W.; HOLE, R. 1998. Immunomodulation by dietary vitamin C and glucan in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immun.*, 8:409-424.
- VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 64:655-671.
- VIELMA, J.; LALL, S. P. 1998. Phosphorus utilization by Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater is not influenced by higher dietary calcium intake. *Aquaculture*, 160:117-128.
- VILLENEUVE, L. A. N.; GISBERT, E.; DELLIOU, H. L.; CAHU, C. L.; INFANTE, J. L. Z. 2005. Dietary levels of all-trans retinol affect retinoid nuclear receptor expression and skeletal development in European sea bass larvae. *Br. J. Nutr.*, 93:791-801.
- VILLENEUVE, L. A. N.; GISBERT, E.; MORICEAU, J.; CAHU, C. L.; INFANTE, J. L. Z. 2006. Intake of high levels of vitamin A and polyunsaturated fatty acids during different developmental periods modifies the expression of morphogenesis genes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Br. J. Nutr.*, 95:677-687.
- VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MAKOTO, M.; HAYASHI, C.; FRANCO, M. R. B. 2005. Influence of diets enriched with flaxseed oil on the α -linolenic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic fatty acid in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food Chem.*, 90:557-560.
- WAAGBO, R. 1994. The impact of nutritional factors on the immune system in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: a review. *Aquat. Fish Man.*, 25:175-197.
- WAHLI, T.; VERLHAC, V.; GABAUDAN, J.; SCHUEP, W.; MEIER, W. 1998. Influence of combined vitamins A and E on non-specific immunity disease resistance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Dis.*, 12:127-137.
- WAHLI, T.; VERLHAC, V.; GIRLING, P.; GABAUDAN, J.; AEBISCHER, C. 2003. Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 225:371-386.
- WANG, C.; LOVELL, T. 1997. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast have higher bioavailability than inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 152:223-234.
- WANG, C.; LOVELL, R. T.; KLESIUS, P. H. 1997. Response to *Edwardsiella ictaluri* Challenge by Channel Catfish Fed Organic and Inorganic Sources of Selenium. *J. Aquat. Anim. Health.*, 9(3):172-179.
- WANG, J.-T.; LIU, Y.-J.; TIAN, L.-X.; MAI, K.-S.; DU, Z.-Y.; WANG, Y.; YANG, H.-J. 2005. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 249:439-447.
- WANG, Y.; HAN, J.; LI, W.; XU, Z. 2007. Effect of different selenium source on growth performances, glutathione peroxidase activities, muscle composition and selenium concentration of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Anim. Feed Sci. Technol.*, 134:243-251.
- WATANABE, T.; KIRON, V.; DATOH, S. 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*, 151:185-207.

- WATANABE, T.; OGINO, C.; KOSHIISHI, Y.; MATSUNAGA, T. 1974. Requirement of rainbow trout for essential fatty acids. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 40:493-499.
- WATANABE, T.; TAKEUCHI, T.; MATSUI, M.; OGINO, C.; KAWABATA, T. 1977. Effects of α -tocopherol deficiency on carp: VII. The relationship between dietary levels of linoleate and α -tocopherol requirement. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 43:935-946.
- WATANABE, T.; TAKEUCHI, T.; OGINO, C. 1975. Effect of dietary methyl linoleate and linolenate on growth of carp-2. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 41:263-269.
- WATANABE, T.; TAKEUCHI, T.; WADA, M.; VEHARA, R. 1981. The relationship between dietary lipid levels and α -tocopherol requirement of rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 47:1463-1471.
- WEBSTER, C. D. 2007. Minerals and fish health. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE DE PEIXES, 2., 2007, Botucatu. *Anais...Botucatu: Unesp*, 2007. p. 21-34.
- WEBSTER, C. D.; LOVELL, R. T.; CLAWSON, J. A. 1994. Ratio of 20:3(n-9) to 20:5(n-3) in phospholipids as an indicator of dietary essential fatty acid sufficiency in striped bass, *Morone saxatilis*, and Palmetto bass, *Morone saxatilis* x *Morone chrysops*. *J. Appl. Aquacult.*, 4(4):75-90.
- WEDEMEYER, G. A. 1997. Effects of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture. In: IWAMA, G. K.; PICKERING, A. D.; SUMPTER, J. P.; SCHRECK, C. B. (Ed.). *Fish stress and health in aquaculture*. Cambridge: Cambridge University Press, p. 35-72.
- WELKER, T. L.; LIM, C.; YILDRIM-AKSOY, M.; SHELBY, R.; KLESIUS, P. H. 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing commercial whole-cell or yeast subcomponents. *J. World Aquac. Soc.*, 38:24-35.
- WENDELAAR BONGA, S. E. 1997. The stress response in fish. *Physiol. Rev.*, 77(3):591-625.
- WHALEN, K. S.; BROWN, J. A.; PARRISH, C. C.; LALL, S. P.; GODDARD, J. S. 1999. Frequency of feeding in juvenile yellowtail flounder (*Pleuronectes ferrugineus*): Possible regimes for grow-out. *Bull. Aquacult. Assoc. Can*, 98(2):25-26.
- WHIGHAM, L. D.; COOK, M. E.; ATKINSON, R. L. 2000. Conjugated linoleic acid: implications for human health. *Pharmacol. Res.*, 42(6):503-510.
- WHITTINGTON, R.; LIM, C.; KLESIUS, P. H. 2005. Effect of dietary β -glucan levels on the growth response and efficacy of *Streptococcus iniae* vaccine in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 248:217-25.
- WILSON, R. P.; BOWSERAZAND, P.; POE, W. E. 1984. Dietary Vitamin E Requirement of Fingerling Channel Catfish. *J. Nutr.*, 114:2053-2058.
- WILSON, R. P.; GATLIN III, D. M. 1986. Dietary copper requirement of fingerling channel catfish. *Aquaculture*, 4:277-285.
- WOODWARD, B. 1994. Dietary vitamin requirements of cultured young fish, with emphasis on quantitative estimates for salmonids. *Aquaculture*, 124:133-168.
- YAMAMOTO, S.; WANG, M. F.; ADJEI, A. A.; AMEHO, C. K. 1997. Role of nucleosides and nucleotides in the immune system, gut reparation after injury, and brain function. *Nutrition*, 13:372-374.

- YANBO, W.; ZIRONG, X. 2006. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Animal Feed Sci. Techn.*, 127:283-292.
- YAQOOB, P.; CALDER, P. C. 1995. The effects of dietary lipid manipulation on the production of murine T-cell derived cytokines. *Cytokine*, 7:548-557.
- YAQOOB, P.; NEWSHOLME, E. A.; CALDER, P. C. 1994. Inhibition of natural killer cell activity by dietary lipids. *Immunol. Lett.*, 41:241-247.
- YASMIN, A.; TAKEUCHI, T. 2002. Influence of dietary levels of conjugated linoleic acid (CLA) on juvenile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish. Sci.*, 68:991-992.
- YE, C.-X.; LIU, Y.-J.; TIAN, L.-X.; MAI, K.-S.; DU, Z.-Y.; YANG, H.-J.; NIU, J. 2006. Effect of dietary calcium and phosphorus on growth, feed efficiency, mineral content and body composition of juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*, 255:263-271.
- YE, C.-X.; TIAN, L.-X.; YANG, H.-J.; LIANG, J.-J.; NIU, J.; LIU, Y.-J. 2008. Growth performance and tissue mineral content of juvenile grouper (*Epinephelus coioides*) fed diets supplemented with various levels of manganese. *Aquacult. Nutr.*, doi: 10.1111/j.1365-2095.2008.00628.x.
- YILDIRIM-AKSOY, M.; LIM, C.; DAVIS, D. A.; SHELBY, R.; KLESIUS, P. H. 2007. Influence of dietary lipid sources on the growth performance, immune response and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Streptococcus iniae* challenge. *J. Appl. Aquacult.*, 19:29-49.
- YOO, G.; LEE, S.; KIM, Y. C.; OKORIE, O. E.; PARK, G. J.; HAN, Y. O.; CHOI, S. M.; KANG, J. C.; SUN, M.; BAI, S. 2007. Effects of dietary β -1,3 glucan and feed stimulants in juvenile Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. World Aquacult. Soc.*, 38:138-145.
- YU, T. C.; SINNHUBER, R. O. 1979. Effect of dietary n-3 and n-6 fatty acids on growth and feed conversion efficiency of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, 16:31-38.
- ZHAO, Z.; ROSS, C. 1995. Retinoic acid repletion restores the number of leukocytes and their subsets and stimulates natural cytotoxicity in vitamin A deficiency rats. *J Nutr.*, 125:2064-2073.
- ZHONG, Y.; LALL, S. P.; SHAHIDI, F. 2007. Effects of oxidized dietary oil and vitamin E supplementation on lipid profile and oxidation of muscle and liver of juvenile atlantic cod (*Gadus morhua*). *J. Agric. Food Chem.*, 55:6379-6386.
- ZIBDEH, M.; MATSUI, S.; FURUICHI, M. 2001. Requirements of tiger pufferfish *Takifugu rubripes* for dietary iron. *J. Fac. Agr.*, U45:473-479.

Capítulo 8

Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável

Eliane Tie Oba, Wagner dos Santos Mariano & Laila Romagueira
Bichara dos Santos

Resumo

Alimentação balanceada e fatores ambientais, dentro de níveis ideais, são alguns requisitos básicos necessários para se conseguir a lucratividade desejada dentro da piscicultura. Entretanto, o ambiente em que os peixes são mantidos durante o cultivo pode proporcionar uma grande variedade de agentes estressores, tanto de natureza química, quanto de natureza física. Entre os diversos agentes estressores presentes num sistema de cultivo intensivo a qualidade da água (concentração de O₂ dissolvido, de amônia e de nitrito, presença de poluentes orgânicos e inorgânicos), a manipulação (captura ou transporte), a alimentação e as interações biológicas (alta densidade populacional, confinamento) são os mais importantes. De forma geral, a resposta ao estresse apresenta três níveis: as respostas primárias pela ativação dos centros cerebrais resultam na liberação de catecolaminas e de corticosteroides; as respostas secundárias incluem aumentos do débito cardíaco, da capacidade de transporte de O₂, da mobilização de substratos energéticos e dos distúrbios no balanço hidromineral; e as respostas terciárias se estendem para o nível de organismo e populacional, apresentando efeitos como inibição do crescimento, da reprodução e da resposta imune, além da redução da capacidade de tolerância a agentes estressores adicionais. Assim, o entendimento básico da fisiologia do estresse e das alterações ambientais durante o cultivo, possibilita a identificação das condições adversas e o desenvolvimento de métodos que mitiguem os seus efeitos na saúde dos peixes cultivados.

Abstract

Balanced nutrition and environmental factors, within optimal levels, are some basic requirements to achieve desired profitability in fish. However, the environment where fish were maintained can provide a variety of stressors, from chemical and physical nature. In intensive cultivation system the water quality (dissolved O₂ concentration, ammonia and nitrite, inorganic and organic pollutants presence), handling (capture or transport), food and biological interactions (high stock density, confinement) are the most important stressors. In general, the stress response has three levels: primary responses are activation of brain centers, resulting in a massive release of catecholamines and corticosteroids; secondary responses include increases in cardiac output, O₂ uptake and mobilization of energy substrates and disturbance of hydromineral balance; and tertiary responses extend to the level of organism and population, promoting inhibition of growth, reproduction and immune response, and reduced capacity to tolerate subsequent or additional stressors. Thus, the understanding of the mechanisms involved on the physiology of stress and of the environmental changes during cultivation, allows the identification of adverse conditions and development of methods to mitigate their effects on the health of farmed fish.

Introdução

Os peixes compõem um grupo bastante diverso, apresentando uma ampla variedade de hábitos alimentares, métodos reprodutivos, crescimento, ciclos de vida e respostas às alterações ambientais, de modo que para um cultivo algumas particularidades devem ser consideradas, além de se compreender (ao menos um pouco), o funcionamento de alguns sistemas do corpo destes animais. Deste modo, o estudo da fisiologia de peixes é importante para a piscicultura, pois com isto se tem o conhecimento não apenas do funcionamento dos diferentes sistemas corporais dos peixes, mas também das respostas às diversas alterações ambientais, e consequentemente é possível determinar as melhores condições de cultivo para cada espécie (Baldiasserotto, 2002).

A piscicultura, como qualquer atividade de cultivo, tem como objetivo alcançar uma alta produtividade, com um mínimo de despesa, de modo a se obter o máximo de lucro possível. Alguns requisitos são necessários para se conseguir a lucratividade desejada, como a organização do criador quanto à administração de seu trabalho e de seus empregados e o conhecimento adequado da biologia da espécie utilizada no cultivo (Valenti et al., 2000). O maior desejo do piscicultor é que seus peixes cresçam rapidamente e apresentem boa conversão alimentar. Entretanto, para que este crescimento ocorra é importante que os animais recebam um manejo adequado, como alimentação balanceada, e que os fatores ambientais sejam mantidos dentro de níveis ideais (o termo manejo se refere às intervenções realizadas durante a criação, utilizadas de modo a otimizar a produção e a rentabilidade nas pisciculturas, de maneira compatível com a manutenção de adequada qualidade ambiental, possibilitando a oferta de produtos seguros ao consumidor). Deve-se considerar a preservação do meio ambiente e o

desenvolvimento social, além da produção lucrativa, tornando possível a realização desta atividade produtiva por longo tempo.

Estresse

O ambiente aquático é extremamente dinâmico com mudanças rápidas ou extremas na concentração de O₂ dissolvido, no pH e na salinidade. Os animais que vivem nesse ambiente enfrentam essas e outras alterações, que podem ocasionar estresse e reduzir a habilidade na manutenção da homeostase. Assim temos agentes estressores de natureza química, como por exemplo, variação na concentração de O₂ dissolvido; concentração elevada de amônia e nitrito, decorrente da degradação da matéria orgânica (Costa et al., 2004); presença de poluentes orgânicos e inorgânicos (Jorgensen, et al., 2002; Carvalho & Fernandes, 2006); e os de natureza física, como manuseio, alta densidade populacional, confinamento, captura ou transporte (Urbinati et al., 2004); e redução do nível de água dos corpos d'água, caracterizados pelos períodos de estiagem em regiões tropicais e subtropicais (Cadavid Garcia, 1984). Os fatores estressantes têm sido a principal causa das perdas de lucros na piscicultura, pois afetam o metabolismo e, conseqüentemente, o crescimento dos peixes.

E o que é estresse? Mesmo antes de se definir o termo estresse, piscicultores buscavam práticas de se melhorar a saúde dos peixes e diminuir a mortalidade. Existem diversas formas de se definir o que é estresse, basicamente poderíamos descrevê-lo como um estímulo que promove alterações na homeostase, envolvendo o Sistema Nervoso Autônomo (Cannon, 1935). Selye (1950, 1973) considerou o estresse como uma série de respostas, denominada como Síndrome Geral de Adaptação, a qual apresenta três estágios: (1) *reação de alarme*: uma série de alterações fisiológicas, como resposta inicial ao estímulo, ocorre de forma a compensar o distúrbio; (2) *resistência*: respostas fisiológicas de ajuste ou compensatórias para retorno à homeostase; (3) *exaustão*: a duração ou severidade dos distúrbios causados pela exposição ao estressor excede os limites, podendo levar a uma condição patológica ou morte. Segundo Brett (1958) estresse é um estado produzido pelo ambiente ou outro fator, que promove respostas adaptativas além da faixa normal de funcionamento do organismo, de modo que as chances de sobrevivência tornam-se significativamente reduzidas. Assim, a resposta ao estresse é como uma forma de adaptação, que promove uma melhor chance de sobrevivência frente a uma situação de medo ou ansiedade, permitindo uma divisão de recursos (para crescimento ou para reprodução, por exemplo), favorecendo a sobrevivência nessas situações. Entretanto, quando o agente estressor é crônico, o valor adaptativo à resposta pode ser comprometido e efeitos deletérios podem tornar-se aparentes.

Quando o peixe é exposto a um agente estressor ocorre a ativação de dois eixos neuroendócrinos: o eixo hipotálamo-sistema nervoso simpático-células cromafins (HSC), que resulta na liberação de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina), como produtos finais; e o eixo hipotálamo-hipófise-interrenal (HHI) que libera os corticosteroides (cortisol e cortisona) (Figura 1). Mazeaud et al. (1977) introduziram a ideia de efeitos primários (nível endócrino, com liberação de cortisol) e secundários (metabolismo e

osmorregulação, com imunossupressão) de estresse em peixes. Assim, a ação destes hormônios em diversos órgãos-alvo, resulta em modificações bioquímicas e fisiológicas denominadas respostas secundárias ao estresse (Perry & Laurent, 1993; Wendelaar Bonga, 1997; Castro & Fernandes, 2009). Esta idéia se expandiu com o trabalho de Wedemeyer & McLeay (1981) devido à inclusão de um terceiro nível de estresse, relacionado à doença ou à resistência a ela. De forma geral, a resposta ao estresse apresenta três níveis (primário, secundário e terciário), que se inicia no sistema endócrino e apresenta um aumento sucessivo até o nível de animal como um todo. Assim, temos as respostas primárias pela ativação dos centros cerebrais, o que resulta na liberação de catecolaminas (CAs) e de corticosteroides; as respostas secundárias incluem aumentos do débito cardíaco, da capacidade de transporte de oxigênio (O_2), da mobilização de substratos energéticos e dos distúrbios no balanço hidromineral; e as respostas terciárias se estendem para o nível de organismo e populacional, apresentando efeitos como inibição do crescimento, da reprodução e da resposta imune, além da redução da capacidade de tolerância a agentes estressores adicionais.

Resposta Primária – o Sistema Endócrino

Os agentes estressores são detectados pelo organismo e esta informação chega ao hipotálamo, o centro integrativo cerebral. Vias neurais aferentes do Sistema Nervoso Simpático partem do hipotálamo e seguem ao tecido cromafin (células cromafins), no rim cefálico, e este estímulo promove a liberação de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina).

Os níveis destas CAs podem se elevar rapidamente e persistir por algumas horas. A liberação na corrente sanguínea leva a uma distribuição por todo o organismo, iniciando uma série de efeitos secundários, por exemplo, nos sistemas respiratório e cardiovascular (Mazeaud & Mazeaud, 1981). Estas rápidas alterações são denominadas como Respostas Primárias ao Estresse, sendo que o eixo que comanda a liberação destas CAs é conhecido como eixo HSC (Figura 1).

A resposta ao estresse em peixes inclui um grande aumento da taxa de captação de O_2 pelas brânquias, como resultado dos aumentos da taxa ventilatória, do fluxo sanguíneo branquial, da capacidade de difusão e do transporte de O_2 pelo sangue. Muitos destes efeitos ocorrem pela presença das catecolaminas circulantes, através dos mecanismos b-adrenérgicos (Randall & Perry, 1992; Castro & Fernandes, 2009). De modo a demonstrar este efeito das CAs, no trabalho realizado por Gallagher et al. (1992), trutas arco-íris foram forçadas a nadar após a retirada cirúrgica do baço e mostraram redução significativa na tensão de O_2 arterial, enquanto que os valores de Hct não se alteraram; entretanto, nos peixes submetidos à mesma situação, sem a retirada do baço, a tensão arterial foi mantida e o Hct aumentou significativamente. Isto mostra claramente que a liberação de CAs promove a elevação dos valores de hematócrito, tanto devido ao aumento do volume dos eritrócitos, quanto pelo aumento do número de eritrócitos circulantes (contração esplênica), com consequente elevação da concentração de hemoglobina (Soldatov, 1996; Mariano, 2006). O estresse agudo causado pela captura, manejo, transporte, hipóxia, mudanças bruscas de temperatura entre outros, resulta em rápido aumento dos níveis de lactato plasmático e

muscular, diminuição do pH e da concentração de O_2 sanguíneos. Estas mudanças estão também associadas à liberação de CAs pelas células cromafins (Randall & Perry, 1992; Pickering & Pottinger, 1995; Castro & Fernandes, 2009). O aumento da perfusão branquial também ocorre devido ao efeito das CAs, entretanto, isto favorece a perda de íons por difusão do sangue para o meio externo, ocasionando um desequilíbrio iônico. As CAs também estimulam a glicogenólise, resultando na liberação de glicose do fígado para o sangue, levando a uma hiperglicemia (Nolan, 2000; Castro & Fernandes, 2009).

Neuropeptídeos, conhecidos como fatores liberadores de corticotrofinas (CRFs), são transportados a partir do hipotálamo para a hipófise e estimulam a produção e secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), mediada pelo hormônio melanócito estimulante (α MSH) e, possivelmente, por β -endorfina (Wendelaar Bonga, 1997). Este hormônio é liberado na corrente sanguínea, chegando às células interrenais (do rim cefálico), onde estimula a produção e liberação de hormônios corticosteroides (Donaldson, 1981). Na maioria dos peixes teleósteos, o cortisol é o principal hormônio corticosteroide. Os níveis plasmáticos de ACTH podem se elevar rapidamente após a exposição a um estressor, sendo isto seguido pela elevação dos níveis de cortisol circulantes. Esta liberação é controlada por *feedback*, sendo que altos níveis de cortisol na circulação promovem o *feedback* negativo na produção e liberação de ACTH pela hipófise. O cortisol também pode apresentar um *feedback* sobre o hipotálamo e influenciar na liberação dos CRFs. Estas interações entre hipotálamo e a liberação de ACTH e de cortisol são comandadas pelo eixo HHI (ver Figura 1).

As brânquias, intestino e fígado são órgãos-alvo do cortisol em peixes. Estes órgãos refletem as principais ações do cortisol em peixes: balanço hidromineral e metabolismo energético. Outras ações do cortisol incluem a redução do crescimento e a supressão dos sistemas reprodutivo e imune (Wendelaar Bonga, 1997; Castro & Fernandes, 2009). Este hormônio, o cortisol, apresenta funções mineralocorticoide e glicocorticoide. Uma função mineralocorticoide do cortisol é a estimulação da captação de íons como Na^+ e Cl^- em peixes quando em água doce, e a eliminação deste íons quando em água salgada (Laurent & Perry, 1989). O cortisol também promove a diferenciação das células-cloreto (encontradas, principalmente, nas brânquias), que aumentam a atividade de enzimas envolvidas no transporte de íons, como a Na^+/K^+ -ATPase e Ca^{2+} -ATPase, e contêm muitas mitocôndrias (McCormick, 1995). As brânquias são importantes para os peixes, não apenas para as trocas gasosas, como também para o controle hidromineral, o equilíbrio ácido-base e o metabolismo nitrogenado (trocadores iônicos como Na^+/H^+ e Na^+/NH_4^+). O cortisol apresenta também efeitos sobre o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios, dentro de sua função glicocorticoide. A administração de cortisol é frequentemente seguida de hiperglicemia em peixes, entretanto, isto ocorre exclusivamente pela ação glicogenolítica da CAs. Provavelmente, esta ação do cortisol sobre a produção de glicose hepática seja devido à gliconeogênese (Pickering, 1981; Vijayan et al., 1991; Wendelaar Bonga, 1997; Castro & Fernandes, 2009) e isto pode contribuir para a perda de peso durante um estresse crônico. Além disso, o cortisol pode promover o aumento dos níveis de ácidos graxos livres no plasma, devido à estimulação da lipólise (Sheridan, 1994).

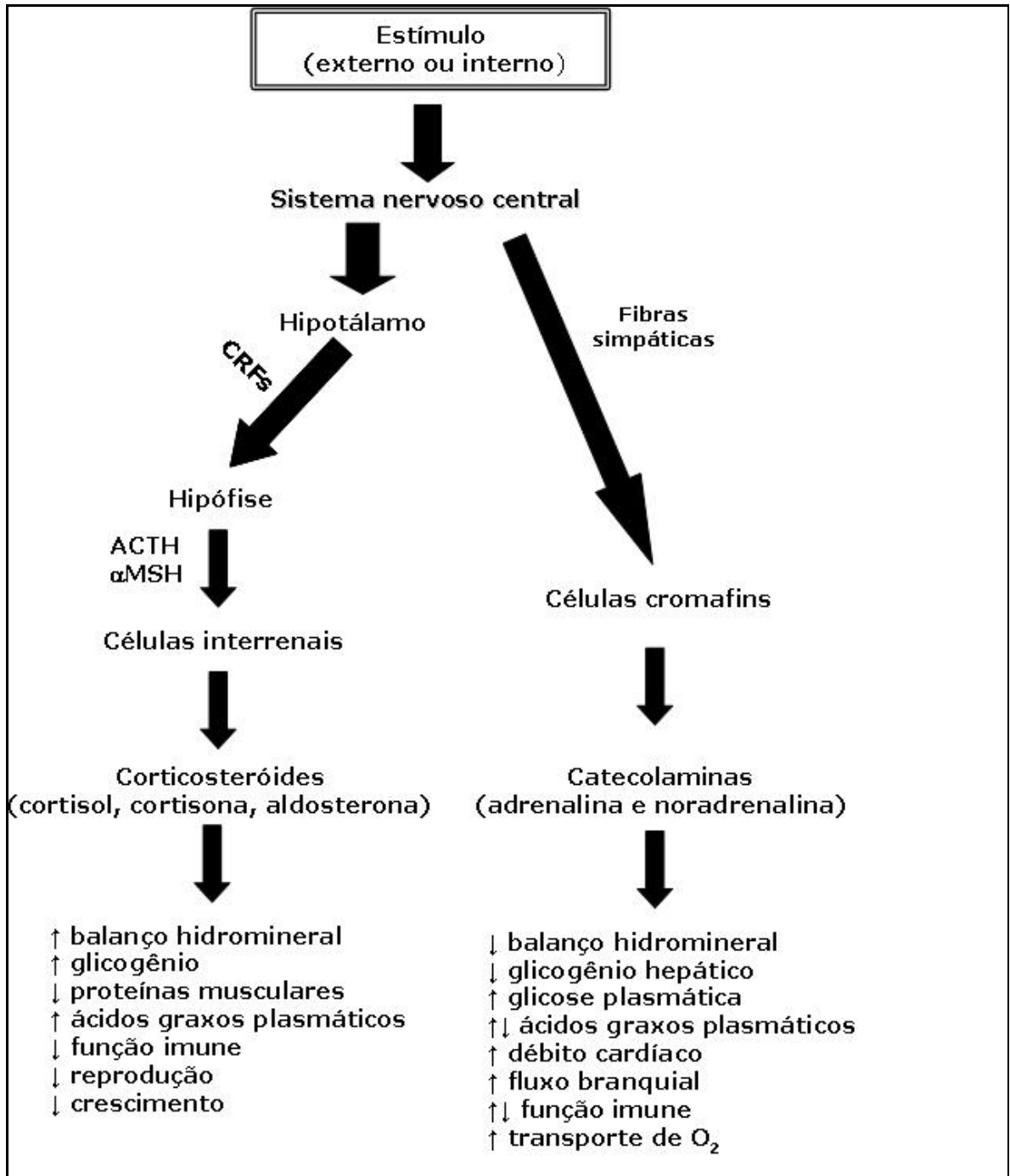


Figura 1. Diagrama ilustrativo das respostas ao estresse em peixes. ACTH: hormônio adenocorticotrófico; CRF: fatores liberadores de corticotrofinas; αMSH: hormônio melanócito estimulante; ↑: efeito estimulatório; ↓: efeito inibitório. Modificado de Wendelaar Bonga (1997).

O nível basal de cortisol plasmático varia entre as diferentes espécies de peixes. Por exemplo, em salmonídeos em condições de repouso, o valor se encontra em torno de 10 ng.mL^{-1} ; em *Oreochromis niloticus*, o nível basal de cortisol está entre $22\text{-}78 \text{ ng.mL}^{-1}$ (Barreto, 2002); em *Leuciscus cephalus* é de, aproximadamente, 250 ng.mL^{-1} (Pottinger et al., 2000) e em *Brycon amazonicus* em torno de 90 ng.mL^{-1} (Martins da Rocha et al., 2004; Oba, 2006). Entretanto, em situações de estresse agudo, como manipulação do animal, pode ocorrer um rápido aumento do cortisol plasmático, chegando a valores entre $40\text{-}200 \text{ ng.mL}^{-1}$ nos salmonídeos. Estes níveis de cortisol plasmático podem retornar aos valores basais em 24 h. Entretanto, quando o peixe é exposto a estressores repetidamente ou cronicamente (de modo contínuo), o nível de cortisol plasmático se mantém elevado por dias, e até mesmo semanas (Pickering & Pottinger, 1989). Existem evidências de que a exposição crônica ao agente estressor leva a uma redução em número ou na sensibilidade dos receptores de cortisol nos tecidos dos peixes, podendo apresentar consequências nas respostas apresentadas frente a outros agentes estressores (Jobling, 1994).

Resposta Secundária – Alteração tecidual

A liberação de CAs e de cortisol tem como consequência alterações bioquímicas e fisiológicas conhecidas como Respostas Secundárias ao Estresse. Os efeitos metabólicos incluem hiperglicemia, hiperlactacemia, depleção das reservas glicogênicas, lipólise e inibição da síntese proteica. Um aumento do catabolismo de proteínas musculares e alterações nos níveis plasmáticos de aminoácidos, ácidos graxos livres e colesterol podem ocorrer (Pickering & Pottinger, 1995; Milligan, 2003; Martins da Rocha et al., 2004). Além disso, depleção das reservas de ácido ascórbico, particularmente do tecido interrenal, pode ocorrer. Alguns indicadores destas respostas secundárias ao estresse em peixes estão apresentados na Tabela 1.

Acreditava-se que as CAs eram a causa inicial da elevação dos níveis de glicose plasmáticos, devido à mobilização das reservas glicogênicas do fígado (glicogenólise), entretanto os corticosteroides podem contribuir para a manutenção da hiperglicemia, pela estimulação da gliconeogênese a partir de aminoácidos. Distúrbios osmóticos e iônicos podem ocorrer como resultado da diurese e da perda de eletrólitos sanguíneos. Podem também ocorrer mudanças hematológicas, tanto nos eritrócitos, quanto nos leucócitos (leucopenia). As CAs apresentam grande influência sobre o sistema cardiovascular, levando a alterações no fluxo sanguíneo, aumento na perfusão branquial, alteração na capacidade de transporte de O_2 pelo sangue, enquanto que os corticosteroides estimulam os mecanismo de transporte iônico presentes nas brânquias e nos rins. Estes efeitos são particularmente importantes durante o período de recuperação do estresse, quando o peixe procura manter o suprimento de O_2 para os tecidos e recuperar o equilíbrio osmótico e iônico.

A exposição dos peixes aos diferentes estressores ambientais pode levar ao aumento de sua susceptibilidade aos agentes infecciosos (vírus, bactérias e fungos) e parasitários (protozoários, monogeneas, nematodas e crustáceos). O parasitismo é também considerado um agente estressor para os peixes e promove alterações osmorregulatórias e hematológicas (Castro,

2006; Tavares-Dias et al., 2007; Araújo et al., 2009; Castro & Fernandes, 2009).

Tabela 1. Alguns exemplos de respostas secundárias utilizadas como indicadores de estresse em peixes (Barton & Iwama, 1991).

Metabolismo	Glicose plasmática
	Ácido láctico plasmático
	Glicogênio hepático e muscular
	Colesterol plasmático
Hematologia	Hematócrito
	Leucócrito
	Contagem de eritrócitos
	Contagem de trombócitos
	Tempo de coagulação
Hidrominerais	Concentração de hemoglobina
	Cloreto plasmático
	Sódio plasmático
	Potássio plasmático
	Proteína plasmática
Estruturais	Osmolalidade plasmática
	Tamanho e número das células interrenais
	Diâmetro do núcleo das células interrenais
	Morfologia do tecido gástrico
	Índice organossomático
	Fator de condição

Resposta Terciária – Efeitos duradouros

A exposição crônica aos agentes estressores pode induzir uma série de alterações patológicas, como redução no sucesso reprodutivo, diminuição da taxa de crescimento e da resistência a doenças, sendo estas conhecidas como Respostas Terciárias ao Estresse.

De acordo com Jobling (1994) a exposição a agentes estressores como águas ácidas e níveis subletais de agentes tóxicos, levam à redução do sucesso reprodutivo em várias espécies de peixes e isto parece ser mediado pelos corticosteroides. Em salmonídeos isto ocorre devido à supressão do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, resultando na redução dos níveis dos hormônios sexuais. Nos machos, a exposição crônica aos estressores pode resultar na redução do conteúdo de gonadotropina (GtH) na hipófise, redução dos níveis plasmáticos de testosterona e 11-ceto-testosterona, diminuindo o tamanho dos testículos e a contagem de espermatozoides, quando comparado com peixes não-estressados. Em fêmeas, a redução do conteúdo de GtH pode ser acompanhado pela redução de estradiol circulante e diminuição de vitelogenina plasmática, precursor do vitelo. O resultado geral pode ser o impedimento da vitelogênese, reduzido tamanho do ovário e dos ovos e pode ocorrer atraso no tempo de ovulação, quando comparado com peixes não-estressados (Pankhurst & Van der Kraak, 1997). Outro efeito do estresse sobre o sucesso reprodutivo está relacionado com a mortalidade de ovos e sobrevivência de larvas. Tais efeitos foram demonstrados em truta arco-íris, que após a exposição a agentes estressores durante o período de vitelogênese e desenvolvimento gonadal ocorreu a redução significativa da sobrevivência da prole (60% *versus* 85% de sobrevivência, dos peixes estressados e não-estressados, respectivamente) (Jobling, 1994).

Uma das respostas mais notáveis do peixe, após a exposição a alguma forma de estressor ambiental, é a cessação da alimentação. Este aspecto acompanhado dos efeitos catabólicos das CAs e dos corticosteroides sobre as reservas energéticas dos tecidos corporais, resulta num reduzido crescimento nos peixes estressados. O cortisol, provavelmente, exerce um efeito inibitório sobre a síntese proteica e isto pode ser utilizado como indicador de crescimento somático. A razão dos ácidos nucleicos (RNA: DNA) nos tecidos corporais dos peixes (tecidos muscular e hepático) é grandemente influenciada pelo jejum e pela restrição alimentar. Por exemplo, peixes expostos a metais pesados, cianeto e outros compostos orgânicos mostraram diminuição da taxa de RNA:DNA e marcante diminuição do crescimento. Deste modo, quando o peixe é exposto a agentes estressores uma série de respostas é iniciada, sendo que se o estresse é severo ou duradouro, os níveis mais altos da organização biológica tornam-se afetados (Jobling, 1994).

Regulação do crescimento

O hormônio do crescimento (GH) é liberado na corrente sanguínea pela hipófise, sendo controlado por dois hormônios secretados pelo hipotálamo: o hormônio liberador do hormônio do crescimento (GHRH), que exerce função estimuladora, e a somatostatina (SST), com ação inibidora. O GH estimula a produção e liberação de IGF-1 ("insulin-like growth factor"), que afeta a divisão e a diferenciação celular. A insulina, produzida pelo pâncreas, possui efeitos promotores do crescimento, podendo tanto reagir com receptores de IGF-1, quanto otimizar a produção de IGF-1, através da modulação da afinidade dos receptores hepáticos do GH. Os hormônios tireoidianos, tiroxina (T₄) e triiodotironina (T₃) estão envolvidos no processo de crescimento

somático, apresentando efeitos na secreção de GH e na resposta celular ao IGF-1 (Figura 2).

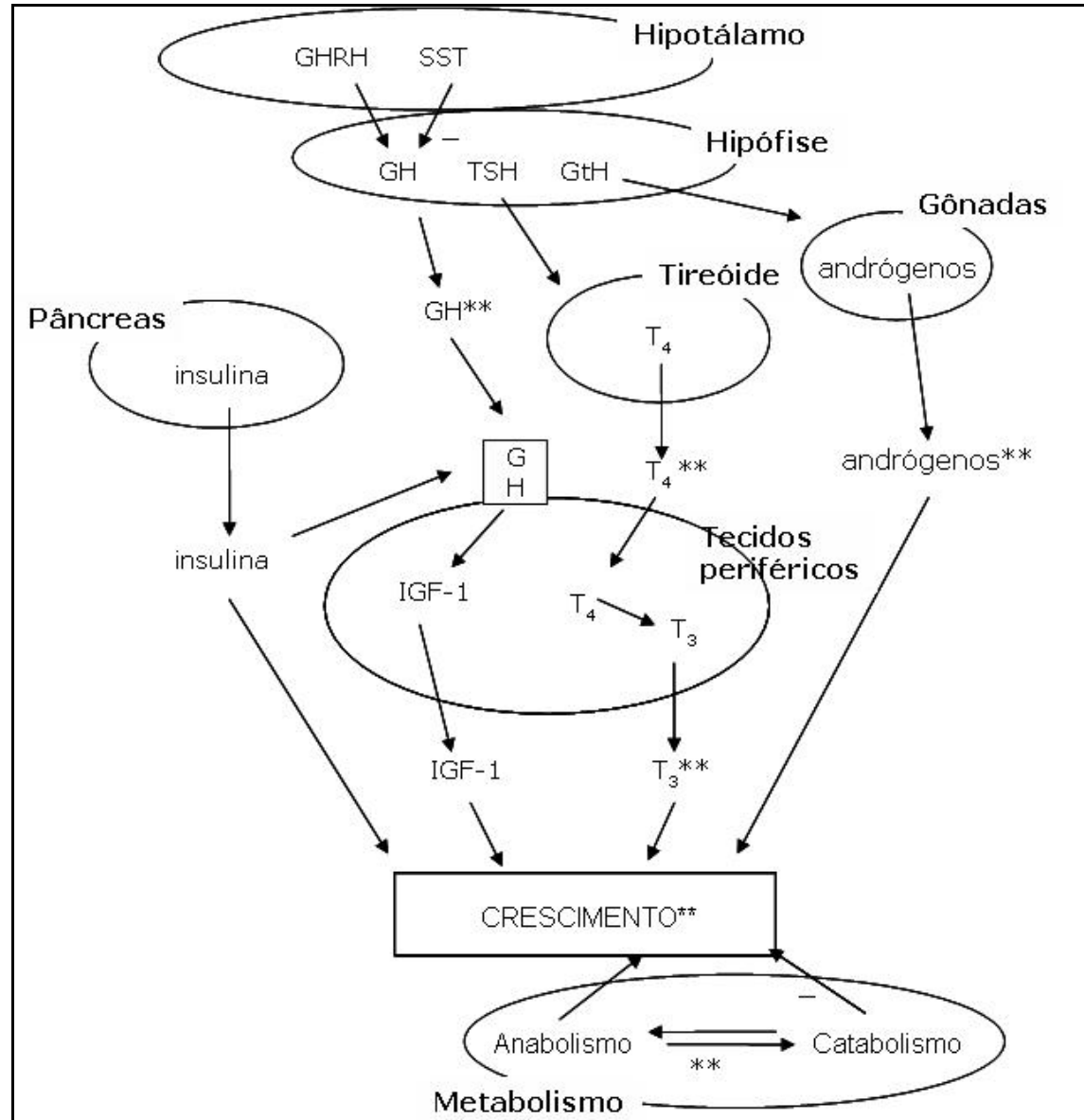


Figura 2. Resumo ilustrativo dos processos endócrinos e metabólicos do controle do crescimento em peixes teleósteos, mostrando os níveis nos quais o estresse apresenta efeitos inibitórios (asteriscos). GH, hormônio do crescimento; GHRH hormônios liberadores de GH; GtH gonadotrofina; IGF-1 "insulin-like growth factor; SST somatostatina; TSH hormônio estimulador da tireoide; T₃ triiodotironina; T₄ tiroxina. Fonte: Pankhurst & Van der Kraak (1997).

O estresse pode interferir de várias formas no sistema de regulação do crescimento. Uma das formas é a ação inibitória sobre o crescimento, através dos níveis plasmáticos de T_3 e T_4 , direta ou indiretamente, pela alteração nutricional causada pela redução na quantidade de ingestão de alimento induzida pelo estresse, com efeito do cortisol sobre este processo (Pickering, 1993). Os efeitos anabólicos de andrógenos, principalmente a testosterona e o 11-ceto-testosterona, parecem ser suprimidos pelo estresse, tanto o estresse agudo quanto o crônico, nos peixes teleósteos, sendo estas alterações ligadas ao aumento dos níveis plasmáticos de cortisol (Pankhurst & Van der Kraak, 1997).

Situações de estresse

Dentre os diversos agentes estressores, que podem estar presentes em cultivo intensivo, a qualidade da água, manipulação dos peixes, alimentação e interações biológicas são os mais importantes do ponto de vista da produção.

A - Qualidade da água

A qualidade da água na saúde e condição fisiológica dos peixes varia consideravelmente em função da espécie, tamanho e idade, entre outros fatores. A dureza total, pH, O_2 dissolvido, temperatura, por exemplo, podem alterar os efeitos fisiológicos. Por exemplo, concentrações de metais pesados, como zinco e cobre, provocam danos nas brânquias em água ácida e com baixa dureza total, entretanto, em água alcalina e de dureza total acima de $200 \text{ mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, são pouco problemáticas. Outro exemplo: a quantidade de O_2 dissolvido pode promover mudanças na velocidade do batimento opercular, modificando assim o nível tóxico de outros elementos presentes na água, devido ao aumento ou diminuição da exposição do epitélio branquial. Entretanto, existe um consenso com relação aos parâmetros da qualidade da água necessários para garantir e proteger a saúde dos animais em piscicultura intensiva (Tabela 2).

Tabela 2. Limites recomendados de alguns parâmetros químicos para garantir as melhores condições de saúde de peixes em condições de criação intensiva (Wedemeyer, 1997).

Parâmetros	Limites recomendados
Alcalinidade total	$>20 \text{ mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$
Alumínio	$<0,075 \text{ mg.mL}^{-1}$
Amônia (não-ionizada)	$<0,02 \text{ mg.L}^{-1}$
Arsênico	$<0,4 \text{ mg.L}^{-1}$
Cádmio	$<0,0005 \text{ mg.L}^{-1}$ (água mole) $<0,005 \text{ mg.L}^{-1}$ (água dura)
Cálcio	$>5 \text{ mg.L}^{-1}$
Chumbo	$<0,02 \text{ mg.L}^{-1}$
Cloreto	$>4,0 \text{ mg.L}^{-1}$
CO ₂	$<5-10 \text{ mg.L}^{-1}$
Cobre	$<0,0006 \text{ mg.L}^{-1}$ (água mole) $<0,03 \text{ mg.L}^{-1}$ (água dura)
Ferro	$<0,1 \text{ mg.L}^{-1}$
Mercúrio	$<0,0002 \text{ mg.L}^{-1}$
Nitrato (NO ₃ ⁻)	$<1,0 \text{ mg.L}^{-1}$
Nitrito (NO ₂ ⁻)	$<0,1 \text{ mg.L}^{-1}$
Oxigênio	$>6 \text{ mg.L}^{-1}$ (águas frias) $>4 \text{ mg.L}^{-1}$ (águas quentes)
pH	entre 6 e 9
Selênio	$<0,01 \text{ mg.L}^{-1}$
Sólidos totais dissolvidos	$<200 \text{ mg.L}^{-1}$
Sólidos totais em suspensão	$<80 \text{ mg.L}^{-1}$
Zinco	$<0,005 \text{ mg.L}^{-1}$

B - Práticas de cultivo

O manejo é um procedimento presente em quase todas as práticas comuns da piscicultura, devido à necessidade de realização de biometrias, separação ou repicagem do lote e também para o transporte dos peixes. Muito embora possa ser uma condição de curta duração, pode alterar muito os parâmetros fisiológicos do animal. Estes procedimentos são causadores de

estresse agudo, promovendo inclusive injúrias físicas nos animais, devendo ser realizados de maneira cautelosa e rápida, sendo muitas vezes necessário o uso de anestésicos e outros produtos, como sal e antibióticos, e o treinamento do pessoal responsável pela tarefa. Os anestésicos são utilizados para reduzir o metabolismo e, com isto, o objetivo é reduzir o consumo de O_2 e a excreção de metabólitos tóxicos, além de prevenir as injúrias físicas causadas pela hiperatividade dos peixes, em decorrência do manejo pré-transporte.

O uso do sal ($NaCl$ ou $CaCl_2$) pode reduzir alterações fisiológicas como a hiperglicemia e a hipercortisolemia, que ocorrem após o transporte. Além disso, nas mais variadas condições adversas que os peixes podem estar expostos, acentuam-se a perda de sais do sangue para a água. Consequentemente, promovendo excessiva hidratação do corpo, desta maneira sais minerais adicionados à água durante o transporte, protegem contra a perda de eletrólitos e contra as disfunções osmorregulatórias (Carmichael et al., 1984; Carneiro & Urbinati, 1999). Para restabelecer o equilíbrio osmorregulatório, os peixes gastam energia extra, deprimindo a sua resistência e o seu sistema imunológico, tornando-os mais susceptíveis às doenças (Carneiro & Urbinati, 2001). De acordo com Kubitza (2007), para fins de alívio do estresse do manuseio e transporte podem ser utilizadas concentrações de sal entre 0,5% a 0,8%, valores próximos à concentração de sais no sangue dos peixes. Assim, para tratamentos de infecções por parasitos, fungos e bactérias, o sal pode ser aplicado na forma de banhos rápidos sob alta concentração (2% a 3%). Assim, o sal pode ser usado em diversas situações nas pisciculturas como na prevenção e controle de doenças; alívio do estresse relacionado às despescas, biometrias, classificações por tamanho, transferências dos peixes e confinamento durante a depuração; alívio do estresse do transporte de curta e longa duração; e como amenizador de condições ambientais adversas (toxicidade por nitrito, inflamação das brânquias, entre outros).

Os danos e inflamações causadas ao epitélio branquial podem ocorrer devido à infestação por parasitos, ao uso de produtos químicos irritantes, à presença de argila em suspensão na água, ao excesso de material orgânico particulado e à frequente exposição dos peixes a baixos níveis de O_2 e outras condições inadequadas de qualidade de água (Kubitza, 2007; Cavichio, 2009). Os herbicidas são utilizados na prevenção de infestação em um determinado local por vegetação indesejável, como por exemplo, em taludes de viveiros de piscicultura para minimizar o crescimento exagerado da vegetação. Todavia, estudos com um tipo específico, o Roundup®, demonstrou que sua toxicidade se deve a um componente de ação secundária utilizado em sua composição, não precisamente ao glifosato em si (Porto, 2005).

Em situações de hipóxia, que podem ocorrer, por exemplo, quando o número de peixes no tanque está acima do normal (alta densidade de estocagem), devido ao aumento da demanda por O_2 , ocorre aumento de resíduos metabólicos como o dióxido de carbono e a amônia. A hipóxia também ocorre à noite, no momento em que todos os seres do reservatório, inclusive algas e macrófitas (plantas aquáticas), consomem O_2 . A recomendação é de que a concentração de O_2 esteja entre 4 a 7 $mg.L^{-1}$. Na piscicultura intensiva deve-se ter disponibilidade de água de boa qualidade,

com vazão adequada para o fornecimento do O₂ e para diluir os resíduos metabólicos (Carneiro & Urbinati, 1999). Durante períodos de 12h de exposição à hipóxia, os peixes apresentam os níveis de cortisol e de lactato plasmático alterados e quando o peixe retorna à normóxia, os níveis desses parâmetros também retornam, em menos de 6h. Uma alternativa para solucionar o problema é a utilização de aeradores, para permitir a renovação do O₂ na água (Porto, 2005).

Entre os desafios ambientais naturais da Amazônia temos as oscilações dos níveis de O₂, valores extremos de pH de alguns corpos de água e vazantes extremas, que são situações potencialmente estressantes para os peixes. A respiração aérea em peixes pode ocorrer por meio do uso de várias estruturas: pulmão em piramboia *Lepidosiren paradoxa*; vascularização bucal e opercular em poraquê *Electrophorus electricus*; vascularização do estômago e do intestino em calictídeos e loricariídeos; bexiga natatória modificada em pirarucu *Arapaima gigas* e em jeju *Hoplerythrinus unitaeniatus*, possibilitando uma melhor utilização do O₂ disponível no ar atmosférico (Reid et al., 2000; Val et al., 2006; Mariano, et al., 2009).

C - Alimentação

A alimentação dos peixes é uma atividade imprescindível durante o cultivo, visto que, os animais estão confinados em ambientes com pouca chance de obtenção de nutrientes. Normalmente, o estresse associado à alimentação está relacionado à redução da resistência a doenças e ao ataque por parasitas observado após o fornecimento contínuo de alimento deficiente em macro ou micronutrientes.

A identificação das doenças nutricionais é algo muito complexo, devido à presença de um estado infeccioso mais evidente. Estudos de manipulação de dietas com o intuito de aumentar a resistência às doenças e a função imune dos peixes são bastante promissores. Assim, formulações de dietas são constantemente revisadas a fim de fornecer o melhor balanço dos componentes essenciais na dieta, principalmente, em piscicultura intensiva (Nutrient Research Council, 1993).

De acordo com Pavanelli et al. (2008), a produção de dietas equilibradas ocorre para um grande número de espécies de peixes. Entretanto, muitas espécies, especialmente as tropicais, têm demonstrado grande potencialidade para a piscicultura, porém ainda pouco se conhece sobre suas exigências nutricionais, dificultando a formulação de dietas adequadas. Existe uma relação estreita entre um bom estado nutricional e a resistência a certas doenças, o que reflete no estado geral dos peixes cultivados. Os sintomas mais relevantes das doenças de etiologia nutricional são: escoliose ou lordose, catarata, erosão das nadadeiras, fígado com excesso de gordura, exoftalmia e hemorragia nas nadadeiras e no tegumento (Tabela 4). O estresse provocado por uma nutrição deficiente potencializa a infecção por bactérias oportunistas como *Aeromonas hydrophila* ou *Flexibacter columnaris*, bem como facilita a infecção por certos protozoários.

O conhecimento das exigências nutricionais de macronutrientes, como carboidratos, lipídios e proteínas, dos peixes são extremamente importantes, pois sua deficiência está ligada ao estresse e às doenças. Um exemplo é que

o metabolismo de carboidratos é significativamente afetado pelas respostas primárias e secundárias ao estresse (Mazeaud et al., 1977). A perda de peso ou a redução do crescimento dos peixes são aspectos ligados à inadequação dos níveis proteicos na dieta, inclusive podendo ter relação com as respostas secundárias ao estresse (gliconeogênese, por exemplo) (Pickering, 1981; Wendelaar Bonga, 1997). Além disso, a deficiência em proteínas na dieta pode afetar negativamente o sistema imunológico, visto que, as imunoglobulinas, citocinas, hormônios e enzimas, são proteínas (Carneiro & Urbinati, 1999). Os lipídios da dieta fornecem os ácidos graxos essenciais necessários para o adequado crescimento e desenvolvimento, inclusive determinados ácidos graxos poliinsaturados estão envolvidos em processos imunológicos (Fletcher, 1997).

Já os micronutrientes (minerais e vitaminas) são importantes na alimentação dos peixes. Entretanto, a deficiência dos minerais é complicada de ser detectada, visto que os peixes podem absorver alguns elementos como cálcio, magnésio, sódio, potássio, ferro, zinco, cobre e selênio, do ambiente. Estes elementos estão envolvidos em processos vitais, como componentes de hormônios e enzimas. Antioxidantes (glutathione, arginina, citrulina, taurina, creatina, selênio, zinco, vitamina E, vitamina C, vitamina A e polifenóis) e enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase, glutathione redutase e glutathione peroxidase) exercem ações sinérgicas na retirada de radicais livres do organismo. Esses radicais livres quando não eliminados do organismo podem promover o estresse oxidativo levando à oxidação de biomoléculas e danos celulares (Fang et al., 2002; Wilhelm Filho, et al., 2000; Oba, 2006; Santos, 2006). As vitaminas, como a vitamina C, têm sido utilizadas em experimentos de nutrição com o objetivo de aumentar a competência imunológica e a resistência dos peixes a doenças (Fletcher, 1997; Andrade et al., 2006). Suplementação de vitamina C na dieta de matrinxã *B. amazonicus* não aumentou a resistência à infecção por *Aeromonas hydrophila*, mas após 15 dias da inoculação desta bactéria, os peixes retornaram à sua homeostase fisiológica (Andrade et al., 2006). A administração de vitamina C na dieta de tambaqui, *Colossoma macropomum*, melhora de forma significativa a resistência a agentes estressores, em particular a hipóxia e resulta em menor infestação por monogenóides. A substituição de parte da ração por frutos ricos em vitamina C, advindos da região de várzea da Amazônia, como o camu-camu, promoveu uma maior resistência a agentes estressores diversos. De acordo com Val et al. (2006), a dieta natural das espécies de peixes da Amazônia é que promove a rusticidade natural desses peixes, o que inclui a resistência ao estresse e a doenças.

Tabela 4. Principais doenças provocadas por deficiência ou toxicidade de nutrientes (Pavanelli et al., 2008).

Doença	Deficiência de	Toxicidade de
Escoliose ou lordose	Triptofano, magnésio, fósforo, vitamina C, ácidos graxos essenciais	Leucina, vitamina A, óleo oxidado de peixe
Catarata	Metionina, triptofano, zinco, magnésio, cobre, selênio, manganês, vitamina A, riboflavina	Colina, óleo oxidado de peixe
Erosão das nadadeiras	Lisina, triptofano, riboflavina, inositol, niacina, zinco, vitamina C	Vitamina A
Fígado com excesso de gordura	Colina, ácidos graxos essenciais	Óleo oxidado de peixe
Exoftalmia	Ácido pantotênico, niacina, ácido fólico, vitamina A, vitamina E	Óleo oxidado de peixe
Hemorragia	Riboflavina, ácido pantotênico, niacina, tiamina, inositol, vitamina C, vitamina A	Óleo oxidado de peixe

D - Interações biológicas

As interações biológicas são importantes fontes de estresse em piscicultura. Interações de dominância entre os indivíduos são relativamente comuns em sistemas aquícolas. Os animais subordinados podem apresentar problemas como danos nas nadadeiras, perda de escamas, crescimento reduzido, alterações patológicas no tecido gastrointestinal e aumento na susceptibilidade a doenças infecciosas. O crescimento reduzido pode ocorrer devido à diminuição ao acesso ao alimento e à maior demanda energética causada pelo estresse crônico. A separação dos peixes por tamanho e redistribuição em viveiros diferentes, permite o monitoramento e o controle, de modo que a retirada dos peixes maiores (geralmente dominantes) permite o crescimento dos peixes, anteriormente subordinados, dentro da hierarquia de dominância. Além disso, uma ampla distribuição do alimento em sistema intensivo de criação pode minimizar os problemas de formação de classes de tamanho diferentes entre os peixes (Schreck et al., 1997; Liao & Chang, 2002; Dou et al., 2004).

A utilização do exercício físico em peixes de natureza reofílica pode trazer benefícios, como diminuição da hierarquia de dominância entre os indivíduos, além de permitir o crescimento dos animais de modo homogêneo (Davison & Goldspink, 1977; Woodward & Smith, 1985; Totland et al., 1987; Davison, 1997). Estudos com matrinxã *Brycon cephalus*, indicaram que o exercício físico em velocidades moderadas (treinamento de baixa intensidade) promove o crescimento dos animais (cerca de três vezes maior que os animais não exercitados), com maior homogeneidade de tamanho entre os animais, possibilitando ao produtor obter melhor relação custo-benefício. Além disso, obteve-se redução nos níveis plasmáticos de cortisol e de glicose e manutenção da concentração de glicogênio hepático, indicando que o treinamento em baixa intensidade promove a diminuição do estresse em peixes (Oba, 2006).

Considerações finais

Em piscicultura, o aumento da produção pode ser alcançado com o maior número de peixes por área cultivada, controle de alimentação e dos níveis de oxigênio dissolvido na água. Entretanto, a elevação das densidades de animais e a imposição das atividades rotineiras, que tais sistemas exigem, ocasionam estresse e, conseqüentemente, risco ao desempenho dos peixes. O sucesso reprodutivo de espécies economicamente importantes é decisivo para os demais setores da cadeia produtiva, visto que os processos de maturação e desova estão estreitamente associados com a fisiologia do estresse em peixes, sendo assim os agentes estressores são ameaças à qualidade dos gametas e da progênie. Deve-se atentar ao fato de que no ambiente em que os peixes são mantidos durante o cultivo, pode-se proporcionar uma grande variedade de agentes estressores, com possibilidade de diversas interações. Isto torna a tomada de decisões extremamente complicada e muito mais cuidadosa, de modo a amenizar o nível de estresse e minimizar perdas. Deste modo, o entendimento básico da fisiologia do estresse e das alterações ambientais que o peixe possa estar exposto, possibilita a identificação das condições adversas e o desenvolvimento de métodos que atenuem os seus efeitos na saúde de peixes cultivados.

Agradecimentos

Ao CNPq e CAPES, pelas bolsas concedidas aos autores; à Piscicultura Águas Claras pelo fornecimento dos peixes e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Convênio UFSCar/Unesp.

Referências

-
- ANDRADE, J. I. A.; BRASIL, E. M.; ONO, E. A.; MATSUURA, T.; MENEZES, G. C.; FERNANDES, E. B.; SOUZA, R. Y. T. B.; OLIVEIRA, S. R.; TAVARES-DIAS, M.; AFFONSO, E. G. 2006. Influência de dieta suplementada com vitamina C nas respostas fisiológicas do matrinxã, *Brycon amazonicus*,

- após infecção por *Aeromonas hydrophila*. CIVA2006, 955-961. Disponível em: <http://www.civa2006.org>.
- ARAÚJO, C. S. O.; TAVARES-DIAS, M.; GOMES, A. L. S.; ANDRADE, S. M. S.; LEMOS, J. R. G.; OLIVEIRA, A. T.; CRUZ, W. R.; AFFONSO, E. G. Infecções parasitárias e parâmetros sanguíneos em *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae) cultivados no estado do Amazonas, Brasil. In: TAVARES-DIAS, M. (Org). *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Macapá: Embrapa Amapá, p. 389-424.
- BALDISSEROTTO, B. 2002. *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. Santa Maria, RS: Editora UFSM.
- BARRETO, R. E. 2002. Estressor social facilita estresse na tilápia-do-Nilo? 38 f. Dissertação (Mestrado) – Unesp, Botucatu.
- BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Ann. Rev. Fish Dis.*, 1:3-26.
- BRETT, J. R. 1958. Implications and assessment of environmental stress. In: LARKIN, P. A. (Ed.). *The investigation of fish-power problems*. Vancouver: MacMillan Lectures in Fisheries, p. 69-83.
- CADAVID GARCIA, E. A. 1984. *O clima do Pantanal Mato-grossense*. Corumbá: Embrapa Pantanal.(Circular técnica, 14).
- CANNON, W. 1935. Stress and strains of homeostasis. *American Journal of the Medical Sciences*, 189:1-14.
- CARMICHAEL, G. J.; TOMASSO, J. R.; SIMCO, B. A.; DAVIS, K. B. 1984. Confinement and water quality induced stress in largemouth bass. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 113:767-777.
- CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. 1999. "Stress" e crescimento de peixes em piscicultura intensiva. In: CYRINO, J. E. P.; MIYADA, V. S.; PEZZATO, L. E. (Ed.). *III Simpósio sobre manejo e nutrição de peixes*. Campinas, p. 25-40.
- CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. 2001. Salt as a stress response mitigator of matrinxã *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae) during transport. *Aquac. Research*, 32:297-304.
- CARVALHO, C. S.; FERNANDES, M. N. 2006. Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. *Aquaculture*, 251:109-117.
- CASTRO, F. J. 2006. Relação parasito-hospedeiro entre pacu, *Piaractus mesopotamicus* e o ectoparasito *Dolops carvalhoi* (Lemos de Castro, 1949). Respostas Fisiológicas, Morfofuncionais e do Sistema Imune Não-adaptativo do Hospedeiro Frente à Infestação Experimental. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- CASTRO, F. J.; FERNANDES, M. N. 2009. Efeitos da infestação por parasitos argulídeos na fisiologia e mecanismos de defesa inata em peixes cultivados. In: TAVARES-DIAS, M. (Org). *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Macapá: Embrapa Amapá, p. 361-388.
- CAVICHIOLO, F. 2009. Histologia: ferramenta relevante para peixes cultivados. In: TAVARES-DIAS, M. (Org). *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Macapá: Embrapa Amapá, p. 602-624.
- COSTA, O. F. T.; FERREIRA, D. J. S.; MENDONÇA, F. L. P.; FERNANDES, M. N. 2004. Susceptibility of the Amazonian fish, *Colossoma macropomum*

- (Serrasalminae) to short-term exposure to nitrite. *Aquaculture*, 232:627-636.
- DAVISON, W. 1997. The effects of exercise training on teleost fish, a review of recent literature. *Comp. Biochem. Physiol.*, 117A:67-75.
- DAVISON, W.; GOLDSPIK, G. 1977. The effect of prolonged exercise on the lateral musculature of the brown trout (*Salmo trutta*). *J. Exp. Biol.*, 70:1-12.
- DONALDSON, E. M. 1981. The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. In: PICKERING, A.D. *Stress and fish*. London: Academic Press, p. 11-47.
- DOU, S.-Z.; MASUDA, R.; TANAKA, M.; TSUKAMOTO, K. 2004. Size hierarchies affecting the social interactions and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 233:237-249.
- FANG, Y.-Z.; YANG, S.; WU, G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18:872-879.
- FLETCHER, T. C. 1997. Dietary effects on stress and health. In: IWAMA, G. K.; PICKERING, A. D.; SUMPETER, J. P.; SCHRECK, C. B. (Ed.). *Fish stress and health in aquaculture*. Cambridge: University Press, p. 223-245.
- GALLAUGHER, P. M.; AXELSON, M.; FARRELL, A. P. 1992. Swimming performance and haematological variables in splenectomized rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Exp. Biol.*, 171:301-314.
- JOBLING, M. 1994. *Fish Bioenergetics*. London: Chapman & Hall.
- JORGENSEM, E. H.; VIJAYAN, M. M.; ALURU, N.; MAULE, A. G. 2002. Fasting modifies Aroclor 1254 impact on plasma cortisol, glucose, and lactate responses to a handling disturbance in *Arctic charr*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 132C:235-245.
- KUBITZA, F. 2007. A versatilidade do sal na piscicultura. *Panorama da Aquicultura*, 103:14-23.
- LAURENT, P.; PERRY, F. 1989. Effects of cortisol on gill chloride cell morphology and ionic uptake in the freshwater trout, *Salmo gairdneri*. *Cell Tissue Res.*, 250:429-442.
- LIAO, I. C.; CHANG, E. Y. 2002. Timing and factors affecting cannibalism in red drum *Sciaenops ocellatus* larvae in captivity. *Environ. Biol. Fish*, 63:229-233.
- MARIANO, W. S. 2006. Respostas fisiológicas e bioquímicas do jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Characiformes, Erythrinidae) a exposição aérea. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- MARIANO, W. S.; OBA, E. T.; SANTOS, L. R. B.; FERNANDES, M. N. 2009. Respostas fisiológicas de jeju, *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Characiformes, Erythrinidae) expostos ao ar atmosférico. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, 10:210-223.
- MARTINS DA ROCHA, R.; CARVALHO, E. G.; URBINATI, E. C. 2004. Physiological responses associated with capture and crowding stress in matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). *Aquaculture Research*, 35:245-249.
- MAZEAUD, M. M.; MAZEAUD, F. 1981. Adrenergic responses to stress in fish. In: PICKERING, A. D. *Stress in fish*. London: Academic Press, p. 49-75.

- MAZEAUD, M. M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E. M. 1977. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 106:201-212.
- McCORMICK, S. D. 1995. Hormonal control of gill Na^+ , K^+ -ATPase and chloride cell function. In: WOOD, C. M.; SHUTTLEWORTH, T. J. (Ed.). *Cellular and molecular approaches to fish ionic regulation*. San Diego: Academic, p. 285-315.
- MILLIGAN, C. L. 2003. A regulatory role for cortisol in muscle glycogen metabolism in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. *J. Exp. Biology*, 206:3167-3173.
- NOLAN, D. T. 2000. *Skin response of fish to stressors*. Tese (Doutorado) – Universidade Católica de Nijmegen, Holanda.
- NUTRIENT RESEARCH COUNCIL. 1993. *Nutrient Requirement in Fish*. Washington, DC: National Academic Press.
- OBA, E. T. 2006. Efeitos do exercício físico moderado e da suplementação da dieta com vitamina C no crescimento e no metabolismo de matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae). 99 f. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- PANKHURST, N. W.; VAN DER KRAAK, G. 1997. Effects of stress on reproduction and growth of fish. In: IWAMA, G. K.; PICKERING, A. D.; SUMPTER, J. P.; SCHRECK, C. B. (Ed.). *Fish stress and health in aquaculture*. United Kingdom: Cambridge University Press, p. 73-93.
- PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. 2008. *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*. 3. ed. Maringá: EDUEM.
- PERRY, S. F.; LAURENT, P. 1993. Environmental effects on fish gill structure and function. In: RANKIN, J. C.; JENSEN, F. B. *Fish Ecophysiology*. London: Chapman & Hall, p. 231-264.
- PICKERING, A. D. 1981. *Stress and fish*. London: Academic Press.
- PICKERING, A. D. 1993. Growth and stress in fish production. *Aquaculture*, 111:51-63.
- PICKERING, A. D.; POTTINGER, T. G. 1989. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiol. Biochem.*, 7:253-258.
- PICKERING, A. D.; POTTINGER, T. G. 1995. Biochemical effects of stress. In: HOCHACHKA, P. W.; MOMMSEN, T. P. (Ed.). *Environmental and ecological biochemistry*. Amsterdam: Elsevier, p. 349-379.
- PORTO, M. S. A. 2005. *Indicadores de estresse em peixes da Amazônia: sensibilidade em face do tipo de estressor*. 38 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Manaus, Manaus.
- POTTINGER, T. G.; CARRICK, T. R.; APPLEBY, A.; YEOMANS, W. E. 2000. High blood cortisol levels and low cortisol receptor affinity: is the chub, *Leuciscus cephalus*, a cortisol-resistant teleost? *Gen. Comp. Endocrinol.*, 120:108-117.
- RANDALL, D. J.; PERRY, S. F. 1992. Catecholamines. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J.; FARRELL, A. P. *Fish Physiology*. San Diego: Academic Press, p. 255-300.
- REID, S. G.; SUNDIN, L.; KALININ, A. L.; RANTIN, F. T.; MILSOM, W. K. 2000. Cardiovascular and respiratory reflexes in the tropical fish traíra (*Hoplias malabaricus*): CO_2/pH chemoreceptors. *Respiration Physiology*, 120:47-59.

- SANTOS, L. R. B. 2006. *Efeito da dieta suplementada com vitamina E e cobre nas respostas metabólicas e antioxidantes de matrinxã, Brycon cephalus (Günther, 1869), frente à hipóxia*. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- SCHRECK, C. B.; OLLA, B. L.; DAVIS, M. W. 1997. Behavioral responses to stress. In: IWAMA, G. K.; PICKERING, A. D.; SUMPTER, J. P.; SCHRECK, C. B. (Ed.). *Fish stress and health in aquaculture*. United Kingdom: Cambridge University Press, p. 145-170.
- SELYE, H. 1950. Stress and the general adaptation syndrome. *British Medical Journal*, 1(4667):1383-1392.
- SELYE, H. 1973. The evolution of the stress concept. *American Scientist*, 61:692-699.
- SHERIDAN, M. A. 1994. Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* 107B:495-508.
- SOLDATOV, A. A. 1996. The effect of hypoxia on red blood cells of flounder: a morphologic and autoradiographic study. *J. Fish Biol.*, 48:321-328.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R.; ONAKA, E. M.; REZENDE, P. C. B. 2007. Changes in blood parameters of hybrid tambacu fish parasitized by *Dolops carvalhoi* (Crustacea, Branchiura), a fish louse. *Vet. Arhiv*, 77:355-363.
- TOTLAND, G. K.; KRYVI, H.; JØDESTØL, K. A.; CHRISTIANSEN, E. N.; TANGERÅS, A.; SLINDE, E. 1987. Growth and composition of the swimming muscle of adult Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during long-term sustained swimming. *Aquaculture*, 66:299-313.
- URBINATI, E. C.; ABREU, J. S.; CAMARGO, A. C. S.; LANDINES, M. A. 2004. Loading and transport stress in juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*) at various densities. *Aquaculture*, 229:389-400.
- VAL, A. L.; MENEZES, A. C. L.; FERREIRA, M. S.; SILVA, M. N. P.; ARAÚJO, R. M.; ALMEIDA-VAL, V. M. F. 2006. Estresse em peixes: respostas integradas para a sobrevivência e a adaptação. In: SILVA-SOUZA, A. T. (Org.). *Sanidade de organismos aquáticos no Brasil*. Maringá: Abrapoa, p. 211-228.
- VALENTI, W. C.; POLI, C. R.; PEREIRA, J. A.; BORGHETTI, J. R. 2000. *Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável*. Brasília, DF: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq: Ministério da Ciência e Tecnologia.
- VIJAYAN, M. M.; BALLANTYNE, J. S.; LEATHERLAND, J. F. 1991. Cortisol induced changes in some aspects of the intermediary metabolism of *Salvelinus fontinalis*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 82:476-486.
- WEDEMEYER, G. A. 1997. Effects of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture. In: IWAMA, G. K.; PICKERING, A. D.; SUMPTER, J. P.; SCHRECK, C. B. (Ed.). *Fish stress and health in aquaculture*. United Kingdom: Cambridge University Press, p. 35-71.
- WEDEMEYER, G. A.; MCLEAY, D. J. 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: PICKERING, A. D. (Ed.). *Stress and Fish*. London: Academic Press, p. 247-275.
- WENDELAAR BONGA, S. E. 1997. The stress response of fish. *Physiol. Rev.*, 77:591-625.

- WILHELM FILHO, D.; TORRES, M. A.; MARCON, J. L.; FRAGA, C. G.; BOVERIS, A. 2000. Comparative antioxidant defences in vertebrates – emphasis on fish and mammals. *Trends Comp. Biochem. Physiol.*, 7:33-45.
- WOODWARD, J. J.; SMITH, L. S. 1985. Exercise training and the stress response in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 26:435-447.

Capítulo 9

Anestésicos usados para minimizar estrés en peces en la piscicultura

Mónica Pérez-Gianeselli & Carolina Flores-Quintana

Resumen

En acuicultura los anestésicos son usados durante el transporte con el objetivo de prevenir las lesiones físicas y reducir el metabolismo para disminuir el consumo de oxígeno y excreción de metabolitos. Los métodos químicos o físicos utilizados para producir sedación y/o anestesia general o local en animales acuáticos son herramientas necesarias para el manejo de rutina en la piscicultura, e assim seron discutidos nieste capítulo. El anestésico ideal debe asegurar una inducción rápida con mínima hiperactividad, de fácil de administración, ser efectivo a bajas dosis, tener amplio margen de seguridad y brindar una rápida recuperación. Es la técnica más utilizada y la velocidad e intensidad de los efectos depende de la concentración de la droga en la solución acuosa. Existe una amplia variedad de agentes anestésicos de variadas características químicas, rango de dosis para diferentes especies de peces. Es de uso indispensable en todas las operaciones de manejo de peces, tales como vacunación, transporte, aplicación de medicamentos, clasificación, muestreo, pesaje. Así mismo, se utilizan los anestésicos para la eutanasia, que deben llevarse a cabo con el mínimo de sufrimiento físico y mental, en situaciones tales como en algunos casos donde será necesario para matar a los animales con humanidad, o terminar un procedimiento experimental.

Abstract

The anesthetics are used in world aquaculture activities, especially for transportation, and then its several uses will be reported and discussed in this chapter. The aim of it is to prevent physical injuries, diminish the metabolism rates leading to lower oxygen consumption and metabolites excretion. The chemical and physical techniques using by to produce sedation and/or general or local anesthesia in aquatics organism are important tools for routine in aquaculture management. The ideal anaesthetics must be safe, harmless with fast induction with minimal

hyperactivity, easy administration and effective in minimal doses, provide a wide security marginal and quickly recovery. This method it is often used and the velocity and intensity of velocity depends from drug concentration in water solution. There are many kinds for chemical anaesthetics with a wide doses range for different type of fish species. It is an essential technique to use in every aquaculture routine operations such as vaccination, transport, medical injection, classification, sampling and weighting activities. Therefore, using anesthetics drugs for other objectives like euthanasia with the goal of diminish physical and mental suffer in situations such as its necessary killed the animals kindly or finished an experimental assay or finish animal painful.

Introduccion

Anestesia proviene del griego *pérdida o disminución de la sensibilidad*. El estado preliminar de la anestesia es la sedación, definida como un efecto calmante, en la cual se induce a la somnolencia, con embotamiento de la percepción sensorial y quizás con algo de analgesia. La anestesia general total puede definirse como una perdida reversible y generalizada de la percepción sensorial acompañada de un estado de sueño similar al fisiológico inducido por drogas o métodos físicos (Ross & Ross, 1999). Involucra un estado de depresión general del SNC que comprende analgesia, hipnosis, supresión de los reflejos y relajación del músculo estriado (Heavner, 1981; Green, 1979).

Los métodos efectivos utilizados para producir anestesia general o local en animales acuáticos van desde la inducción a la hipotermia hasta la administración de químicos por vía inhalatoria, parenteral y oral, y estos serán mostrados e discutidos a seguir.

Mecanismo de la anestesia

La depresión del sistema nervioso central esta dada por acción a nivel de los axones, provocando la liberación de neurotransmisores o aumentando la excitabilidad de la membrana. El principio unificado de la anestesia general es que los anestésicos interactúan con los componentes de la membrana y no con los mecanismos celulares simples (Winlow et al., 1992). En algunos anestésicos existen una relación inversa entre la dosis necesaria para inducir una determinada profundidad de la anestesia y el estado evolutivo del pez.

Estadios de la anestesia

Los estadios de la anestesia descritos por Mcfarland & Klontz (1969) fueron basados en la observación de los efectos que oscilan entre sedación, anestesia o muerte dependiendo de la combinación de la dosis y el tiempo de exposición. En la práctica algunas especies no cumplen con todos los estadios observados.

A fin de establecer un criterio simple en las fases de la anestesia, se caracterizan tres fases:

a) Fase de Inducción: se registra hiperactividad como respuesta al efecto irritante de la droga. Este periodo puede ser observado en pocos segundos a minutos, dependiendo del anestésico.

b) Fase de Mantenimiento: involucra el estado de sedación y narcosis, donde el pez se mantiene estable. Diferentes factores como tamaño, estadio fisiológico o salud del pez, o bien por modificaciones en la calidad de agua, es recomendable reducir la dosis de la droga, para evitar la fase de parálisis bulbar.

c) Fase de Recuperación: en esta fase el agente anestésico se excreta rápidamente por las branquias y el pez recupera su estado normal, en un periodo que varía de segundos a minutos, debiendo ser una fase rápida y sin efectos colaterales (Tabla 1).

Cada una de las fases varía en la duración de acuerdo a la droga y al método utilizado.

Tabla 1. Estadio, fase y comportamiento en peces con sedación. Adaptada de Stoskopf (1985).

Estadio	Fase	Comportamiento de los peces
0	Normal	Natación activa. Reacción motora a estímulos externos.
1	Sedación leve	Leve pérdida de reacción a estímulos visuales y táctiles
	Sedación profunda	Pérdida total de reflejos Movimientos operculares disminuidos. Equilibrio normal
2	Narcosis leve	Fase de excitación precede a aumento de la frecuencia respiratoria. Pérdida parcial del equilibrio. Disminución de la frecuencia respiratoria y tono muscular.
	Narcosis profunda	Pérdida total del equilibrio Disminución marcada del movimiento opercular y tono muscular (fase adecuada para toma de muestras)
3	Anestesia leve	Pérdida total del tono muscular (<i>adecuado para cirugías menores</i>)
	Anestesia quirúrgica	Pérdida total de reacción. Muy baja frecuencia cardíaca y respiratoria
4	Parálisis bulbar	Pérdida total de los movimientos operculares. Fallo cardiorrespiratorio.

Si bien existe un gran dilema acerca de la percepción del dolor en los peces y la magnitud del mismo, la sedación y anestesia son herramientas necesarias para el manejo de rutina en la piscicultura. La manipulación, el transporte prolongado o el manejo en la reproducción constituyen instancias