



**WESLEY FERNANDES BRAGA**

**SUPLEMENTAÇÃO DE FOSFOLIPÍDEO E  
VITAMINA C NA DIETA DE PÓS-LARVAS DE  
PIRACANJUBA *Brycon orbignyanus*  
(VALENCIENNES, 1849)**

**LAVRAS - MG**

**2015**

**WESLEY FERNANDES BRAGA**

**SUPLEMENTAÇÃO DE FOSFOLIPÍDEO E VITAMINA C  
NA DIETA DEPÓS-LARVAS DEPIRACANJUBA  
*Brycon orbignyanus* (VALENCIENNES, 1849)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de Produção e Nutrição de Não-Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador:

Dr. Luis David Solis Murgas

Coorientador:

Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo

**LAVRAS - MG**

**2015**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Braga, Wesley Fernandes.

Suplementação de fosfolípídeo e vitamina C na dieta de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus* (VALENCIENNES, 1849) / Wesley Fernandes Braga. – Lavras: UFLA, 2015.

72 p. : il.

Dissertação(mestrado acadêmico) –Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador: Luis David Solis Murgas.

Bibliografia.

1. Lecitina de soja. 2. Ácido ascórbico. 3.Larvicultura. 4.Peixe nativo. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

**WESLEY FERNANDES BRAGA**

**SUPLEMENTAÇÃO DE FOSFOLIPÍDEO E VITAMINA C**

**NA DIETA DE PÓS-LARVAS DE PIRACANJUBA**

*Brycon orbignyanus* (VALENCIENNES, 1849)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de Produção e Nutrição de Não-Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de fevereiro de 2015.

Dra. Daniella Aparecida de Jesus Paula - UFLA

Dra. Estefânia de Souza Andrade - UFLA

Dr. Galileu Crovatto Veras - UFPA

Dr. Luis David Solis Murgas

Orientador

**LAVRAS - MG**

**2015**

“A todos os meus familiares,  
amigos, colegas e professores,  
pelo apoio dado em todos os  
momentos de minha vida”.

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

Acima de tudo agradeço a Deus, pela dádiva da vida e por ter iluminado o meu caminho, colocando pessoas certas em minha vida, que me ajudaram chegar até aqui.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Zootecnia (DZO), pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro que viabilizou este estudo.

Ao Professor, orientador, Dr. Luís David Solis Murgas, pela orientação, compartilhando inúmeras informações, conhecimentos e grandes experiências as quais foram preciosas para a realização deste trabalho.

Ao professor, Dr. Silvio Luiz de Oliveira que sempre me acolheu e apoiou nas minhas decisões tomadas durante a graduação e o mestrado. Às vezes, foram necessárias correções mais severas, mas que foram bem-vindas para o meu aprendizado.

Ao professor, Dr. Raimundo Vicente de Souza, pelo companheirismo, amizade e ensinamentos. Para mim, foi um prazer muito grande ter conhecido uma pessoa tão maravilhosa e inteligente como ele é.

Aos amigos e colegas do Biotério Central da Universidade Federal de Lavras, pela ajuda na condução do experimento.

Aos meus pais e família pelo incentivo, carinho, amor e compreensão durante todo o período que passei longe de casa em busca desse sonho.

A todos que, de alguma forma, contribuíram com a realização deste sonho.

Um grande abraço a todos! E o meu Muito Obrigado!

## RESUMO

Com este trabalho objetivou-se avaliar a suplementação de fosfolípídeo e vitamina C, bem como a interação destes dois nutrientes sobre o crescimento, sobrevivência, composição da carcaça e resistência ao estresse térmico em pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus*. Para isso, foram utilizados 12 aquários, nos quais foram alojados 120 pós-larvas com peso inicial de 0,07g. Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado, arranjado em esquema fatorial 2x2, com quatro tratamentos e três repetições. Os tratamentos, foram compostos por dietas isoenergéticas (3582 Kcal de energia digestível kg<sup>-1</sup>) e isoprotéicas (32% de proteína digestível kg<sup>-1</sup>), variando quanto aos níveis de suplementação de fosfolípídeos (FL) e vitamina C (VC) sendo a Dieta 1 (0g kg<sup>-1</sup> de FL; 0g kg<sup>-1</sup> de VC), Dieta 2 (0g kg<sup>-1</sup> de FL; 2g kg<sup>-1</sup> de VC), Dieta 3 (20g kg<sup>-1</sup> de FL; 0g kg<sup>-1</sup> de VC) e Dieta 4 (20g kg<sup>-1</sup> de FL; 2g kg<sup>-1</sup> de VC). As pós-larvas foram alimentadas quatro vezes ao dia, durante 34 dias. No início e final do experimento obteve-se o comprimento padrão e o peso. Foram calculados os parâmetros de desempenho: consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar, taxa de crescimento específico e taxa de sobrevivência. No final do experimento, foi realizado o teste de resistência ao estresse térmico, no qual as pós-larvas foram submetidas à baixa temperatura (14°C) e observado o comportamento de sua movimentação. Realizou-se também a análise química das carcaças dos animais restantes de cada tratamento. Não foram observadas diferenças significativas (P>0,05) entre os tratamentos, para as variáveis comprimento padrão, consumo de ração, conversão alimentar e sobrevivência. Para as variáveis ganho de peso e taxa de crescimento específico, houve efeito significativo (P<0,05) da interação, sendo observados melhores valores para as larvas que receberam a dieta 1. Para o teste de estresse térmico, os animais que receberam a dieta 3 apresentaram-se mais resistentes. Em relação à composição química das carcaças, foram observados valores significativamente (P<0,05) maiores de ácidos graxos poliinsaturados nos animais que receberam a dieta 3. Para os teores de proteína e extrato etéreo, houve efeito significativo (P<0,05) de tratamento, sendo maiores nos peixes que não receberam suplementação. Efeito significativo (P<0,05) da interação, foi observado sobre o conteúdo de cálcio, sendo maiores nos animais que receberam a dieta 3 e menores nos animais que receberam a dieta 4. Não houve diferença significativa (P>0,05) para os teores de fósforo nas carcaças. Em conclusão, com base nos dados de desempenho, composição corporal e resistência ao estresse térmico de pós-larvas de piracanjuba, preconiza-se a dieta 3 suplementada com 0,0 g kg<sup>-1</sup> de vitamina C (0,350 g kg<sup>-1</sup> de vitamina C) e 20,0 g kg<sup>-1</sup> de fosfolípídeo.

Palavras-chave: Lecitina de soja. Ácido ascórbico. Larvicultura. Peixe nativo.

## ABSTRACT

This work aimed at evaluating the supplementation of phospholipids and vitamin C, as well as the interaction of these two nutrients, over growth, survival, carcass composition and resistance to thermal stress in post-larvae piracanjuba *Brycon orbignyianus*. For this, we used 12 tanks, in which were housed 120 post-larvae piracanjuba with initial weight of 0.07g. We used an entirely randomized design arranged in a 2x2 factorial scheme, with four treatments and three replicates. The treatments were comprised of isoenergetics (3582 kcal digestible energy kg<sup>-1</sup>) and isoproteics (32% protein digestible kg<sup>-1</sup>) diets, with varying levels of phospholipid (FL) and vitamin C (VC) supplementation. Diet 1 consisted of 0 g kg<sup>-1</sup> FL; 0g kg<sup>-1</sup> VC, Diet 2, of 0 g kg<sup>-1</sup> FL, 2 g kg<sup>-1</sup> VC, Diet 3, of 20g<sup>-1</sup> Kg FL; 0g kg<sup>-1</sup> VC and Diet 4, of 20 g kg<sup>-1</sup> FL, 2 g kg<sup>-1</sup> VC. The post-larvae were fed four times a day, during period of 34 days. At the beginning and end of the experiment, we determined standard length and weight. In addition, we calculated the performance parameters of feed intake, weight gain, feed conversion, specific growth rate and survival rate. At the end of the experiment, we performed a heat stress resistance test, in which the post-larvae were subjected to low temperature (14 °C), observing their drive. We also performed chemical analysis of the carcasses of the animals in each treatment. There was no significant difference (P>0.05) between treatments for the variables of standard length, feed intake, feed conversion and survival. For weight gain and specific growth rate, we observed significant interaction (P<0.05), with the best values observed for larvae fed diet 1. For the thermal stress test, the animals that received diet 3 became more resistant. Regarding carcass chemical composition, we observed significantly higher (P<0.05) values of polyunsaturated fatty acids in the animals fed the diet 3. For protein and ether extract, there was a significant effect (P<0.05), appearing higher in fish that did not receive supplementation. There was also significant effect (P<0.05) over calcium content with higher values found in animals that received diet 3, and lower values in the animals fed diet 4. There was no significant difference (P>0.05) for phosphorus content in the carcasses. In conclusion, based on the performance data, body composition and resistance to thermal stress of post-larvae piracanjuba, we recommended diet 3 supplemented with 0.0 g kg<sup>-1</sup> of vitamin C (0.350 g kg<sup>-1</sup> of vitamin C) and 20.0 g kg<sup>-1</sup> of phospholipid.

Keywords: Soybean lecithin. Ascorbic acid. Larviculture. Native fish.



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Composição dos ingredientes e bromatologia das dietas experimentais de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyana* .....38
- Tabela 2 Composição dos ácidos graxos nas dietas experimentais de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyana* .....40
- Tabela 3 Desempenho de pós-larvas de *Brycon orbignyana* alimentadas durante 34 dias com dietas suplementadas com diferentes níveis de vitamina C e fosfolipídeos\* .....45
- Tabela 4 Valores médios de ganho de peso (GP) e taxa de crescimento específico (TCE) de pós-larvas de *Brycon orbignyana* alimentadas durante 34 dias com dietas suplementadas com diferentes níveis de vitamina C e fosfolipídeos\* .....46
- Tabela 6 Composição de ácidos graxos do corpo inteiro das pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyana*, alimentadas com diferentes conteúdos de fosfolipídeo e vitamina C, durante 34 dias\* .....53
- Tabela 7 Composição de extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB) do corpo inteiro de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyana* alimentadas com diferentes conteúdos de fosfolipídeos (FL) e vitamina C (VC), durante 34 dias (%do peso seco).\* .....56
- Tabela 8 Composição de Cálcio e fósforo do corpo inteiro de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyana* alimentadas com diferentes conteúdos de fosfolipídeos (FL) e vitamina C (VC), durante 34 dias (g kg<sup>-1</sup> do peso seco).\* .....57

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estrutura química da vitamina C (Adaptado de Darias et al.2011)...	17
Figura 2 Oxidação e degradação do ácido ascórbico (Masumoto et al., 1991)	18
Figura 3 Síntese de colágeno (Masumoto et al., 1991). .....	19
Figura 4 Biossíntese da carnitina (Masumoto et al., 1991). .....	20
Figura 5 Biossíntese da noradrenalina (Masumoto et al., 1991). .....	21
Figura 6 Biossíntese do cortisol (adaptado de Peake, 2003). .....	21
Figura 7 Redução do Oxigênio (COITINHO et al., 1997) .....	22
Figura 8 Principais classes de fosfolípidos (Motta, c2009).....	26
Figura 9 Estrutura química a) glicerol-3-fosfato; b) ácido fosfatídico (Motta, c2009) .....	27
Figura 10 Estrutura anfipática dos lípidos de membranas (Motta, c2009)....	28
Figura 11 Principais lipoproteínas responsáveis no transporte dos lípidos (Motta, c2009) .....	28
Figura 12 Formação de micelas mistas (Adaptado de Motta, c2009) .....	29
Figura 13 Representação esquemática dos principais eicosanóides.....	30
Figura 14 Representação esquemática das vias envolvidas na oxidação dos ácidos graxos para a geração de energia. ....	31
Figura 15 Etapas da lipoperoxidação e ação do antioxidante $\alpha$ -tocoferol (Adaptado de Cerqueira et al., 2007).....	35
Figura 16 Redução do $\alpha$ -tocoferolxil em $\alpha$ -tocoferol pelo ácido ascórbico (Rodríguez, 1997). .....	36
Figura 17 Proporção de pós-larvas de piracanjuba mantidas sobre estresse por baixa temperatura (14°C) durante uma hora. ....	50

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivo específico.....</b>	<b>13</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>14</b>
<b>3.1</b>	<b>Piracanjuba (<i>Brycon orbignyanus</i>).....</b>	<b>14</b>
<b>3.2</b>	<b>Vitamina C .....</b>	<b>17</b>
<b>3.2.1</b>	<b>Funções da vitamina C nos peixes.....</b>	<b>18</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Vitamina C na nutrição de pós-larvas .....</b>	<b>23</b>
<b>3.3</b>	<b>Fosfolipídeos.....</b>	<b>26</b>
<b>3.3.1</b>	<b>Funções do fosfolipídeo nos peixes .....</b>	<b>27</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Fosfolipídeos na nutrição de pós-larvas.....</b>	<b>32</b>
<b>3.4</b>	<b>Vitamina C x fosfolipídeos .....</b>	<b>34</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>37</b>
<b>4.1</b>	<b>Local e instalações .....</b>	<b>37</b>
<b>4.2</b>	<b>Delineamento experimental .....</b>	<b>37</b>
<b>4.3</b>	<b>Dietas experimentais.....</b>	<b>37</b>
<b>4.4</b>	<b>Procedimento experimental .....</b>	<b>41</b>
<b>4.5</b>	<b>Parâmetros de desempenho .....</b>	<b>42</b>
<b>4.6</b>	<b>Teste de estresse térmico.....</b>	<b>42</b>
<b>4.7</b>	<b>Composição química das carcaças e dietas experimentais.....</b>	<b>43</b>
<b>4.8</b>	<b>Análises estatísticas .....</b>	<b>44</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>45</b>
<b>5.1</b>	<b>Parâmetros de desempenho .....</b>	<b>45</b>
<b>5.2</b>	<b>Teste de estresse Térmico.....</b>	<b>49</b>
<b>5.3</b>	<b>Composição química das carcaças .....</b>	<b>51</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>59</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>60</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se como um dos países de maior potencial para a expansão da aquicultura, principalmente neste momento em que é crescente a demanda mundial por alimentos de origem aquática, não apenas em função da expansão populacional, mas também em busca de alimentos mais saudáveis. No entanto, o atendimento à crescente demanda, depende de soluções eficazes para os problemas ainda existentes nos processos de criação.

Inevitavelmente, em todas as fases do processo de produção intensivo, ocorrem procedimentos considerados adversos aos peixes. As práticas comuns da piscicultura, tais como, captura, transporte, confinamento, entre outros, geram estresse nos animais, aumentando a incidência de doenças e mortalidade. O período larval apresenta-se como uma fase crítica dentro de um sistema de produção, uma vez que, os animais, nessa fase, são mais sensíveis.

Durante a fase larval, os peixes apresentam sistema imunológico e digestório imaturo em comparação à fase adulta, no entanto, possui rápido crescimento, necessitando de bom suporte nutricional. Observa-se, nessa fase, uma alta taxa de mortalidade, que pode ser decorrente da alta densidade populacional, baixa renovação da água, canibalismo, alta oscilação na temperatura da água e a alta contagem de patógenos na água. A manutenção dessas variáveis dentro de uma faixa aceitável para a espécie se torna difícil quando se trabalha a campo, principalmente com espécies que não têm seus limites bem estabelecidos.

Esses fatores dificultam a adaptação dos peixes durante a larvicultura, atuando como agentes estressores. Assim, um aspecto importante é o fornecimento de alimentos capazes de sustentar o crescimento e de atenuar os efeitos desses agentes estressores em peixes quando mantidos em sistema intensivo de criação. Portanto, a formulação de uma dieta apropriada para supriras

deficiências nutricionais e metabólicas torna-se essencial para o sucesso da produção.

A vitamina C, tem sido bastante utilizada na formulação de dieta para peixes, por atuar em muitas funções fisiológicas e metabólicas do animal, sendo imprescindível para o crescimento dos peixes, uma vez que, são incapazes de sintetizá-la. A suplementação de vitamina C pode prevenir problemas de deformidades, melhorar o ganho de peso, além de prevenir contra o estresse e auxiliar na resistência contra bactérias patogênicas. Em geral, atua como suporte para o desenvolvimento e o sistema imune, refletindo em uma melhor sobrevivência das pós-larvas.

Os fosfolipídios, também apresentam grande importância para os peixes, principalmente na fase inicial de desenvolvimento, onde as pós-larvas possuem rápido crescimento e o seu perfil enzimático, por ser ainda rudimentar, não consegue sintetizar as quantidades necessárias de fosfolipídios para proporcionar uma melhor taxa de desenvolvimento. A inclusão de fosfolipídeo na dieta tem demonstrado efeitos positivos sobre a sobrevivência, o crescimento, a resistência ao estresse, assim como a diminuição da incidência de má formação em pós-larvas.

A piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) é uma espécie com grande potencial para a piscicultura, por possuir características zootécnicas desejáveis, tais como: rápido crescimento, hábito alimentar onívoro, boa aceitação de alimentos artificiais e elevado valor de sua carne. Entretanto, durante a sua fase larval apresenta um comportamento agressivo, sendo observada a ocorrência de canibalismo e baixos índices de sobrevivência. Além disso, é uma espécie sensível ao manejo diário e ao cultivo intensivo, o que ocasiona estresse para as larvas durante o processo de criação.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

- Com este trabalho, objetivou-se avaliar a suplementação de fosfolípídeo e vitamina C, bem como a interação desses dois nutrientes sobre o crescimento, sobrevivência, composição da carcaça e resistência ao estresse térmico em pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus*.

### **2.2 Objetivo específico**

- Observar o efeito da vitamina C e do fosfolípídeo no ganho de peso, na taxa de crescimento específico, no consumo de ração, na conversão alimentar e na taxa de sobrevivência.
- Observar o efeito da vitamina C e do fosfolípídeo sobre a resistência das pós-larvas submetidas ao estresse em baixa temperatura (14°C).
- Observar o efeito da vitamina C e do fosfolípídeo sobre a composição corporal de ácidos graxos, proteína bruta, extrato etéreo, cálcio e fósforo das pós-larvas.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*)

A espécie *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849), conhecida popularmente como piracanjuba, na região Sudeste do Brasil, é da ordem Characiforme, família Characidae e subfamília Bryconinae. É uma espécie onívora, alimentando-se preferencialmente de insetos e vegetais, principalmente frutos e sementes (HOWES, 1982). Prefere ambientes lóticos de águas claras, sendo encontrada nos locais em que as árvores se deitam sobre o rio, onde obtêm os frutos que lhes servem de alimento. É uma espécie nativa das bacias formadas pelos rios Uruguai e Paraná, amplamente distribuída na América do Sul, mas encontrada principalmente nos Rios Grande e Paraná (CASTAGNOLLI, 1992; CAVALCANTI, 1998; GERY; MAHNERT; LOUHY, 1987).

Considerado um peixe de grande porte, a fêmea de piracanjuba pode atingir 80 cm de comprimento e 8,2 Kg de peso vivo, enquanto o macho pode alcançar aproximadamente 68 cm e 3,6 Kg (VAZ; TORQUATO; BARBOSA, 2000). É bastante apreciada na pesca esportiva, em razão do seu comportamento arisco e agressivo que apresenta quando fisgada, motivo pelo qual tem sido muito procurada para o povoamento de tanques de pesque-pague, além do sabor delicado e aparência róseo-salmão de sua carne (MURGAS; FRANCISCATTO; SANTOS, 2003; VAZ; TORQUATO; BARBOSA, 2000).

É uma espécie reofílica, bem como todos da subfamília Bryconinae, subindo os rios entre os meses de setembro e outubro para desovar entre os meses de novembro e janeiro. Apresenta fecundação externa e sem cuidado parental da prole (NAKATANI; AGOSTINHO; BAUMGARTNER, 2001). Entretanto, com a sobrepesca e a presença de uma grande quantidade de barragens hidrelétricas, que impedem sua migração reprodutiva, têm reduzido e restringindo suas

populações para pequenas regiões da bacia do Rio Uruguai (ZANIBONI-FILHO; SCHULZ, 2003) e do Rio Paraná (GERY; MAHNERT; LOUHY, 1987).

Como consequência da excessiva exploração dos estoques naturais e construção de represas, as populações naturais dessa espécie vêm diminuindo drasticamente. Esse fato, aliado às boas características zootécnicas, tais como, rápido crescimento em cativeiro, hábito alimentar onívoro, boa aceitação de alimentos artificiais, baixas taxas de conversão alimentar e elevado valor de sua carne, tem despertado grande interesse de pesquisadores e produtores para sua criação em cativeiro, seja para fins comerciais ou para repovoamento do ambiente natural (CAVALCANTI, 1998; MENDONÇA, 1994).

É crescente o número de pesquisas para aprimorar a tecnologia de seu cultivo intensivo, viabilizando a produção em larga escala. Assim, a piracanjuba vem recebendo atenção especial dos pesquisadores em estudos sobre reprodução, desenvolvimento inicial e cultivo. Apesar de algumas técnicas, como a reprodução induzida, já terem bons resultados, o mesmo não acontece na larvicultura, fase em que se observam as maiores perdas do processo produtivo, associadas principalmente a problemas na alimentação das larvas e ao comportamento agressivo que elas apresentam logo após a reabsorção do saco vitelino (GANECO et al., 2001; SENHORINI; GASPAR; FRANZOZO, 2002).

As larvas de piracanjuba eclodem com aproximadamente 18,5 horas pós fertilização, apresentando comprimento total de 4,46 milímetros. Com 10,5 horas após a eclosão, as larvas atingem um comprimento de 5,65 milímetros com a abertura da boca logo em seguida. Entretanto, o início do canibalismo só é observado com 36 horas após eclosão, onde as larvas apresentam olhos e boca bem desenvolvidos, além de apresentar dentes e trato digestivo completo (REYNALTE-TATAJE; ZANNIBONI-FILHO; ESQUIVEL, 2004).

Vários estudos têm sido conduzidos para melhor compreender o comportamento alimentar dessa espécie na fase inicial de desenvolvimento, uma



vez que, as pós-larvas apresentam trato digestivo rudimentar ou incompleto, não sendo capazes de aproveitar de imediato as rações, necessitando ingerir organismos vivos como primeiro alimento. Segundo Senhorini, Gaspar e Fransozo (2002), avaliando a alimentação com organismos zooplânctônicos para *Brycon cephalus* e *Brycon orbignyanus* em viveiros, concluíram que o zooplâncton Cladóceras foi o mais selecionado pelas duas espécies. Entretanto, segundo o mesmo autor, no cultivo em cativeiro dos gêneros *Salminus* e *Brycon*, observa-se a preferência dessas larvas por larvas de outros peixes, como curimba, piauí, tambaqui, pacu, entre outros.

De acordo com Reynalte-Tataje, Zaniboni-Filho e Esquivel (2004), avaliando o conteúdo estomacal de larvas de piracanjuba, observaram que as larvas só começaram a se alimentar de rações artificiais após o 12º dia de vida, dando preferência aos alimentos vivos nos primeiros dias de vida. Mas, Pedreira e Sipaúba-Tavares (2002), relataram que os melhores resultados, em estudo de comportamento alimentar, foram obtidos com ração acrescida de plâncton.

O problema do canibalismo enfrentado durante a alimentação de larvas que apresentam um comportamento agressivo torna-se um fator limitante para esta fase de vida. Entretanto, durante toda a larvicultura e alevinagem, podem surgir problemas secundários relacionados ao estresse como variação da temperatura da água, diferença de tamanho das larvas, manejo, qualidade de água, parasitas, entre outros, o que também pode prejudicar o cultivo dessa espécie em escala comercial, uma vez que, situações estressantes induzem ao canibalismo (AUSTIN; AUSTIN, 2007).

Portanto, modificações na dieta que permitem um aporte necessário de nutriente para atender ao rápido desenvolvimento da espécie na larvicultura e alevinagem, bem como, reduzir o estresse que as mesmas sofrem durante o cultivo intensivo, é de fundamental importância para se obter maiores taxas de sobrevivência e crescimento.

### 3.2 Vitamina C

As vitaminas são nutrientes orgânicos requeridos em pequenas quantidades para uma série de funções bioquímicas e que, geralmente, não podem ser sintetizadas pelo organismo, o que as torna essenciais, devendo, portanto, ser obtidas por meio da alimentação (MURRAY et al., 2002). As vitaminas são classificadas em dois grupos, de acordo com a sua solubilidade. As vitaminas que são solúveis em lipídeos, são classificadas como lipossolúveis, sendo representadas pelas vitaminas A (retinol), D (calcitriol), E (tocoferol) e K (menadiona). Em contrapartida, as vitaminas solúveis em água, são classificadas como hidrossolúveis, incluindo as vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piridoxina, biotina, ácido fólico e cobalamina) e vitamina C (MURRAY et al., 2002; WOODWARD, 1994).

A Vitamina C, também chamada de ácido L-ascórbico, é um composto hidrossolúvel, com fórmula molecular  $C_6H_8O_6$  (Figura 1). Essa vitamina foi isolada e suas propriedades anti-escorbuto demonstrada por King e Waugh em 1932 (HALVER, 2002).

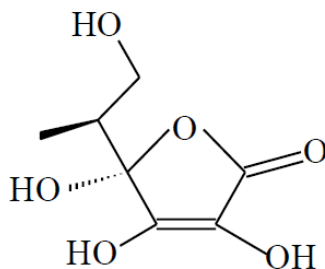


Figura 1 Estrutura química da vitamina C (Adaptado de Darias et al.2011b).

No metabolismo, o ácido ascórbico pode ser oxidado pelos radicais livres, formando o ácido dehidroascórbico (Figura 2). Essa forma oxidada, não é tão hidrofílica como o ácido ascórbico, o que permite seu movimento, por meio das

membranas. O ácido dehidroascórbico pode ser reconvertido para ácido ascórbico, por meio de redutases e cofatores específicos, como a enzima glutationa e o NADPH ou pode ter o seu anel quebrado irreversivelmente, formando o ácido 2,3-dicetogulônico (ROTTA, 2003).

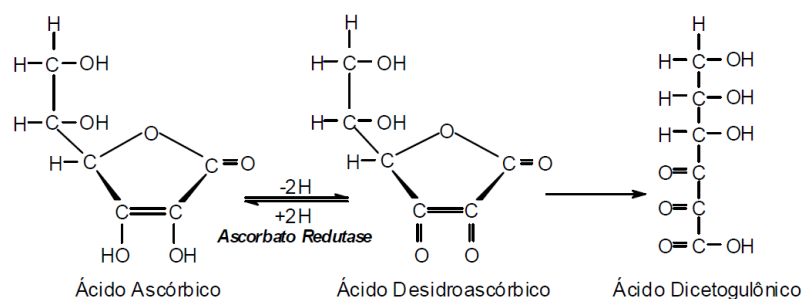


Figura 2 Oxidação e degradação do ácido ascórbico (MASUMOTO; HOSOKAWA; SHIMENO, 1991).

### 3.2.1 Funções da vitamina C nos peixes

A vitamina C é um nutriente essencial para a manutenção das funções fisiológicas e metabólicas das células animais. Sua forma reduzida de íon ascorbato atua como um poderoso agente redutor em uma variedade de reações de hidroxilação, que são prejudicadas na sua deficiência. As mais caracterizadas, são as reações onde a vitamina C funciona como co-substrato para as hidroxilase e oxigenase, enzimas envolvidas na biossíntese de colágeno, carnitina e neurotransmissores. Além disso, ainda está envolvida em outros processos fisiológicos e metabólicos como os da tirosina e dos íons metálicos, além da proteção das células contra processos oxidativos (TOLBERT, 1979).

A participação da vitamina C para a formação do colágeno é fundamental. Ela atua como cofator das enzimas lisil e prolil hidroxilase, o que permite catalisar a hidroxilação de prolina e lisina na molécula de procolágeno, possibilitando a formação e estabilização da tripla hélice e subsequente eliminação de colágenos

maduros para o meio extracelular (NAKAGAWA et al., 2000). A lisil e a prolil hidroxilase são enzimas férricas e a vitamina C previne a oxidação do ferro, evitando a sua auto-inativação (Figura 3). Dessa forma, ela contribui para a formação de cartilagem, pele, bem como formação e remodelação de osso e, por conseguinte, para o crescimento (DARIAS et al., 2011b; KRAUS et al., 2004).

A deficiência de vitamina C nos peixes pode gerar escoliose, cifose e lordose, além de problemas nas brânquias, já que, sua presença foi detectada na pele, nadadeira caudal, cabeça, mandíbulas, cartilagem das brânquias e áreas de colágeno do osso (HALVER, 1972; MASUMOTO; HOSOKAWA, 1991).

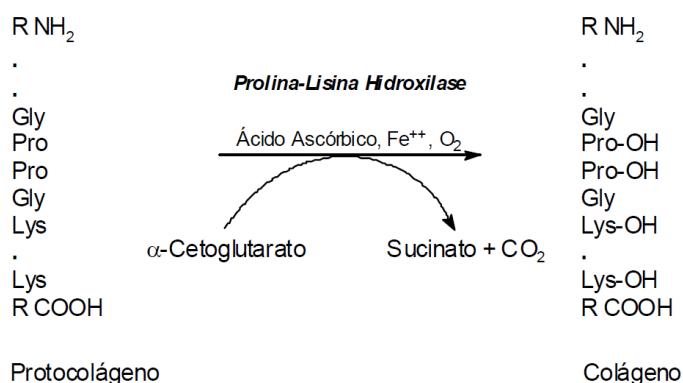


Figura 3 Síntese de colágeno (MASUMOTO; HOSOKAWA, 1991).

A vitamina C também atua como cofator das enzimas trimetil lisina e beta-buritol betaína hidroxilase, responsáveis pela conversão do aminoácido lisina em carnitina, a qual exerce importante papel no metabolismo de energia (Figura 4) (PEAKE, 2003). Para sofrer beta oxidação, os ácidos graxos precisam entrar na mitocôndria, sendo que, para isso, eles precisam ser ativados e transportados. A carnitina é responsável pelo transporte de alguns ácidos graxos de cadeia longa para o interior das mitocôndrias, onde, posteriormente, pela beta oxidação, são utilizados como fonte de energia (BURTLE; NEWTON; BLURN, 1991).

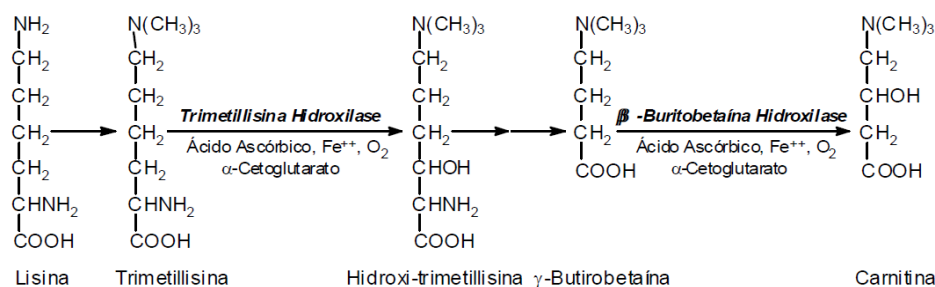


Figura 4 Biossíntese da carnitina (MASUMOTO; HOSOKAWA, 1991).

Outro importante papel da vitamina C está relacionado a produção de catecolaminas e corticosteróides, ambos relacionados ao metabolismo do estresse. Esses hormônios produzidos e liberados principalmente pela glândula interrenal dos peixes, pode influenciar o equilíbrio catiônico e aniônico, o que gera um desequilíbrio osmorregulatório. Essas alterações metabólicas resultam em diminuição da capacidade de resposta inflamatória e a resistência às doenças nos animais (ANDRÉS; MARTÍ; ARMARIO, 1999; BARTON; IWAMA, 1991; FRISCH; ANDERSON, 2000).

Nos teleósteos, a glândula interrenal, não apresenta uma região cortical e outra medular como os demais vertebrados. No entanto, possuem células cromafins, que são análogas às existentes na medula adrenal, e as interrenais, equivalentes às do córtex de outros vertebrados (BALDISSEROTTO, 2009).

Nas células cromafins, ocorre a produção de duas catecolaminas: adrenalina e noradrenalina. O ácido ascórbico auxilia na biossíntese dessas catecolaminas, mantendo o cobre reduzido. A forma reduzida do íon cobre é necessária para a atuação como cofator da enzima dopamina β-hidroxilase, a qual é responsável pela conversão da dopamina em noradrenalina (Figura 5) (MASUMOTO; HOSOKAWA, 1991).

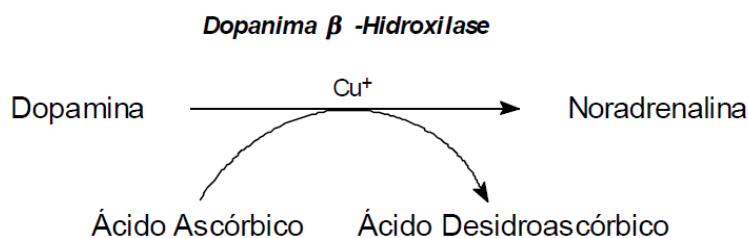


Figura 5 Biossíntese da noradrenalina (MASUMOTO; HOSOKAWA, 1991).

As células interrenais, são responsáveis pela produção de corticosteróides, como o cortisol. O efeito do ácido ascórbico na biossíntese ou na liberação do cortisol ainda é muito contraditório. Entretanto, acredita-se que o ácido ascórbico atue como suporte para a síntese do cortisol, neutralizando radicais superóxidos que são gerados durante a conversão do colesterol até a formação do cortisol (PEAKE, 2003). Durante a síntese, o colesterol recebe oxigênio e um par de elétrons fornecido pelo NADPH. Essa transferência de elétrons pode gerar radicais superóxidos que inibem a ação da enzima 11- $\beta$ -hidroxilase, a qual é responsável por catalisar o último passo da síntese do cortisol. Com a atuação do ácido ascórbico neutralizando esses radicais, impede a inibição da 11- $\beta$ -hidroxilase, favorecendo a formação do cortisol (Figura 6).

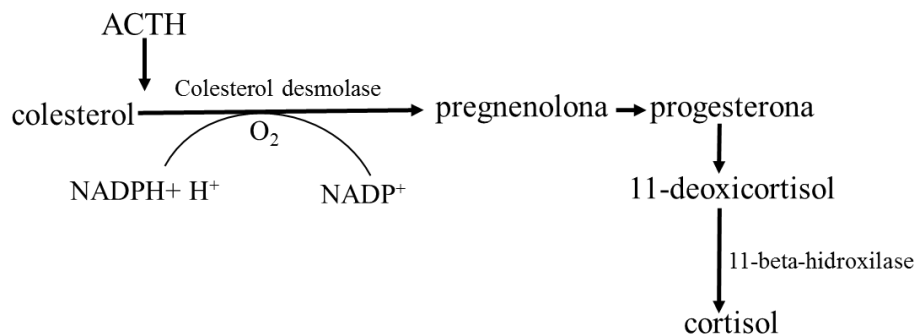


Figura 6 Biossíntese do cortisol (adaptado de PEAKE, 2003).

Apesar de toda a importância da vitamina C em diversos processos fisiológicos e metabólicos já citados anteriormente, a vitamina C é conhecida, principalmente, pela sua atuação como antioxidante. Essa característica se dá, em razão da sua capacidade de combater radicais livres. Contudo, em determinadas condições, o ácido ascórbico também pode atuar como um pró-oxidante. (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997).

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são radicais livres derivados do oxigênio e, parcialmente, reduzidos (Figura 7). As EROs são formadas no organismo durante os diversos processos fisiológicos como, por exemplo, fosforilação oxidativa, destruição de organismos estranhos pelos macrófagos, sinalização celular (recrutamento de macrófagos para o reparo do tecido danificado), controle da pressão sanguínea, da divisão celular e da apoptose (BENZIE, 2003; DAVIES, 2000; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999; HERMES-LIMA; STOREY; STOREY, 2001; SIES, 1986).

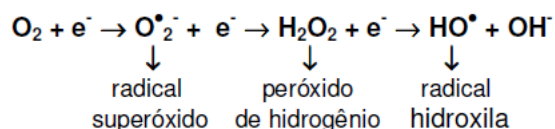


Figura 7 Redução do Oxigênio (COITINHO; DUTRA-FILHO; SALBEGO, 1997)

Os radicais livres, em excesso, são moléculas que podem ser tóxicas ao nosso organismo, lesionando os tecidos, por meio de diversos mecanismos: alteração da permeabilidade da membrana celular, em decorrência da ação sobre os lipídeos; ação sobre o núcleo celular, interferindo no DNA; ativação de enzimas proteolíticas, que atuam sobre os aminoácidos, alterando estruturalmente as proteínas ou aumentando a permeabilidade vascular (COITINHO; DUTRA-FILHO; SALBEGO, 1997). Os antioxidantes, como a vitamina C, podem ser reduzidos em sua concentração, em razão da sua utilização durante a neutralização dos radicais livres.

Assim, a vitamina C, quando presente na dieta pode diminuir riscos de doenças e danos oxidativos ocasionados pelas espécies reativas de oxigênio, além de apresentarem ação como agente doador de elétrons (agente redutor), o que permite que participem da desintoxicação de vários radicais (BENZIE, 2003; GAETKE; CHOW, 2003).

### 3.2.2 Vitamina C na nutrição de pós-larvas

A necessidade de uma fonte exógena da vitamina C é atribuída à ausência da enzima gulonolactona oxidase, responsável por catalisar a conversão do ácido glucurônico em ácido ascórbico (SMITH; BROWN; RITAR, 2004a). Mesmo os peixes que sintetizam essa vitamina, em certas circunstâncias, não são capazes de sintetizá-la na velocidade necessária para um ótimo desempenho (GUILLOU-COUSTANS; BERGOT; KAUSHIK, 1998). Um exemplo é o esturjão *Acipenser fulvescens*, em decorrência da sua capacidade de sintetizar o ácido L-ascórbico, por possuir a L-gulono-1,4-lactona oxidase nos rins, não precisam de suplementação adicional de ácido ascórbico na dieta (MOREAU et al., 1999). No entanto, verificou-se que o ácido ascórbico na dieta para o esturjão pode ser necessário para obter melhores respostas imunológicas, particularmente nas fases iniciais do desenvolvimento (XIE et al., 2006).

Vários autores demonstraram que o suporte dietético de vitamina C é essencial para os peixes (AI et al., 2006; BARROS et al., 2002; SHIAU; HSU, 1995; TOYAMA; CORRENTE; CYRINO, 2000). Isso se deve ao fato de que a maioria dos peixes teleósteos não possuem a capacidade de sintetizar essa vitamina em suas vias metabólicas (AI et al., 2006; DARIAS et al., 2011b; FRACALOSSO et al., 2001; ROTTA, 2003).

A exigência de vitamina C foi estudada em juvenis, sendo proposto que a concentração ideal é espécie específica. A dosagem de 30 mg kg<sup>-1</sup> na dieta de



Vitamina C melhorou a sobrevivência e crescimento em perca-gigante, *Lates calcarifer* (PHROMKUNTHONG; BOONYARATPALIN; STARCH, 1997), enquanto que a inclusão de 118 mg kg<sup>-1</sup> na dieta foi necessária para máximo crescimento em peixe papagaio, *Oplegnathus fasciatus* (WANG et al., 2003).

Entretanto, em razão da elevada taxa metabólica e rápido crescimento que as pós-larvas apresentam, as reservas corporais de vitamina C sofrem rápido declínio, sendo observado um consumo mais rápido das reservas de vitamina C nessa fase do que quando juvenis (GOUILLOU-COUSTANS; BERGOT; KAUSHIK, 1998). Portanto, as exigências de vitamina C para pós-larvas podem ser maiores do que para os juvenis (DABROWSKI, 1992). Em larvicultura, os resultados são muito contraditórios, sendo observadas respostas de 20 a 100 mg de vitamina C kg<sup>-1</sup> de ração durante o desenvolvimento e até 1.000 mg de vitamina C contra as consequências do estresse (OKAMURA et al., 2007).

Toyama, Corrente e Cyrino (2000), ao estudarem a suplementação de vitamina C para pós-larvas de tilápia do Nilo, observaram melhores resultados de ganho de peso quando suplementaram, níveis acima de 800 mg kg<sup>-1</sup> da dieta, sendo observados piores desempenhos com níveis abaixo de 50 mg kg<sup>-1</sup>. Já Soliman, Jauncey e Roberts (1994), determinaram a exigência de 1.250 mg de vitamina C kg<sup>-1</sup> da dieta, para ótimo desenvolvimento da tilápia, destacando que esse valor equivale a 420mg kg<sup>-1</sup> de dieta no momento da ingestão.

Em geral, doses relativamente baixas de vitamina C são suficientes para um bom crescimento e conversão alimentar, que são as respostas desejadas na criação comercial de peixes. Entretanto, para se obter uma resposta adaptativa máxima, como a resistência a doenças e tolerância ao estresse ambiental, são necessárias doses maiores (ROTTA, 2003). Sendo assim, níveis de exigência de vitamina C que garantam uma taxa de crescimento adequada podem ser insuficientes para as reações imunológicas e resposta ao estresse ambiental (CYRINO, 2000).

Segundo Ortuño et al. (2003), em estudo com altas doses de vitamina C na dieta ( $3000 \text{ mg kg}^{-1}$ ), foram observados efeitos positivos sobre o sistema imune e redução do estresse em dourada exposta a estressores comumente encontrados na piscicultura. De acordo com Betancor et al. (2012), o aumento da suplementação dietética de vitamina C de  $1.800$  a  $3.600 \text{ mg kg}^{-1}$  melhorou significativamente a proteção contra a peroxidação lipídica, poupando vitamina E que estava com concentrações elevadas em tecidos de larvas, e reduzindo efetivamente a incidência de lesões musculares.

Em rações para pós-larvas, a utilização de megadoses de vitamina C é altamente recomendada para compensar eventuais perdas desse nutriente quando estiver em contato com a água. As rações comerciais existentes para pós-larvas possuem a textura muito fina, o que estão sujeitas a excessivas perdas de nutrientes por dissolução ou lixiviação na água, principalmente nutrientes hidrossolúveis que se encontram na composição da ração como é o caso da vitamina C (KUBITZA, 1999). Além disso, outro problema enfrentado quando se trata de adição de vitamina C em alimentos para organismos aquáticos, é a instabilidade dessa vitamina que, em razão da sua labilidade em altas temperaturas e propensão à oxidação, acaba se perdendo durante o processamento e estocagem do alimento (FRACALOSSO et al., 1998).

Nesse sentido, de uma forma geral, altas dosagens de vitamina C na ração, podem compensar as perdas sofridas desse nutriente, decorrentes de suas propriedades químicas, bem como, prevenir problemas de deformidades, cicatrização e melhorar o ganho de peso nos animais. Além disso, previne contra o estresse e auxilia na resistência contra bactérias patogênicas, atuando como suporte para o sistema imune, refletindo em uma melhora da sobrevivência das pós-larvas (GAPASIN et al., 1998; LAVENS et al., 1999; MERCHIE et al., 1996; SMITH; BROWN; RITAR, 2004b).

### 3.3 Fosfolipídeos

Fosfolipídeo é um termo geral que abrange todos os lipídeos contendo fósforo. Existem dois tipos de fosfolipídeos, os glicerofosfolipídeos, o mais comum dos fosfolipídeos e as esfingomielinas (Figura 8).

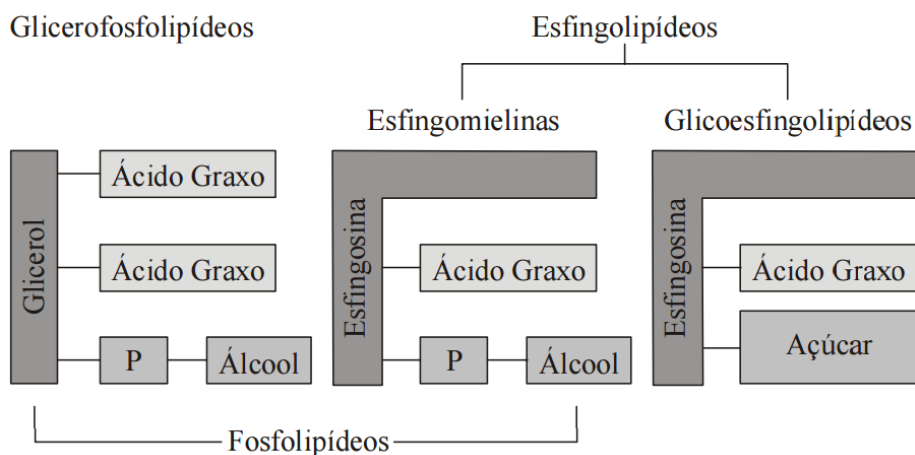


Figura 8 Principais classes de fosfolipídeos (MOTTA, c2009)

Os glicerofosfolipídeos ou também chamados de fosfoglicerídeos, são lipídeos de membranas caracterizados por uma estrutura comum de ácido fosfatídico, o qual é formado a partir do L-glicerol-3-fosfato com dois ácidos graxos esterificados nas posições um e dois da molécula de glicerol (Figura 9). O ácido fosfatídico é a molécula precursora de outros fosfoglicerídeos. Os principais fosfoglicerídeos de animais, incluindo tecidos de peixes, são: fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina e fosfatidilinositol, os quais são formados pela ligação fosfodiéster de um grupo fortemente polar ou carregado de colina, etanolamina, serina e inositol no grupo fosfato do ácido fosfatídico, respectivamente (MOTTA, c2009).



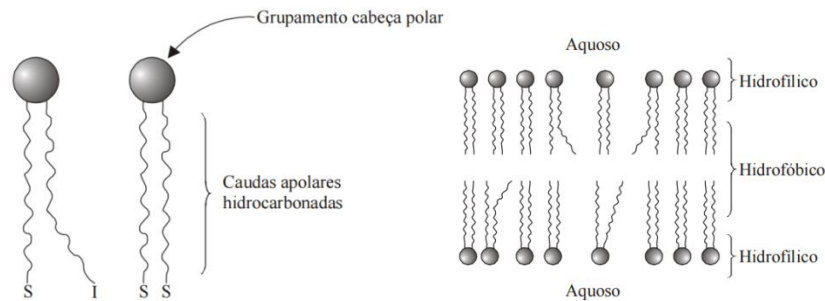


Figura 10 Estrutura anfipática dos lipídeos de membranas (MOTTA, c2009)

A anfipaticidade dos fosfolípídeos, também é essencial para o papel que eles exercem na estrutura de lipoproteínas que são importantes para o transporte extracelular de lipídeos no sangue e na linfa (Figura 11). Permitindo, assim, os lipídeos hidrofóbicos, tais como: triglicerídeos e ésteres de estéril a serem transportados em meios aquosos, formando, juntamente com o colesterol e proteínas, as interfaces lipídeo/água (TOCHER, 1995).

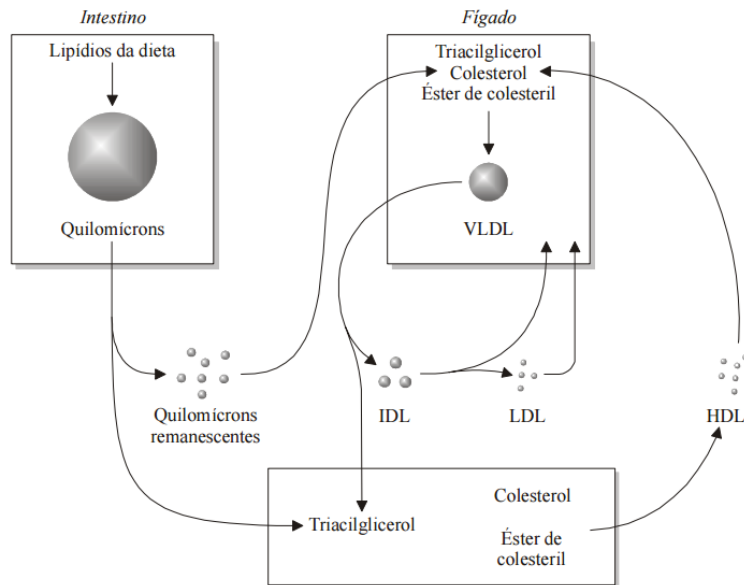


Figura 11 Principais lipoproteínas responsáveis no transporte dos lipídeos (MOTTA, c2009)

Outro papel estrutural importante dos fosfolipídeos é durante a digestão dos lipídeos, uma vez que eles são essenciais juntamente com sais biliares e lipídeos da dieta para a formação das micelas mistas intra-luminais (Figura 12) (OLSEN; RINGO, 1997). Esse papel dos fosfolipídeos pode ser desempenhado por fosfolipídeos de origem dietética e biliar, já que a bile de peixe pode conter quantidades variáveis de fosfolipídeos (MOSCHETTA et al., 2005).

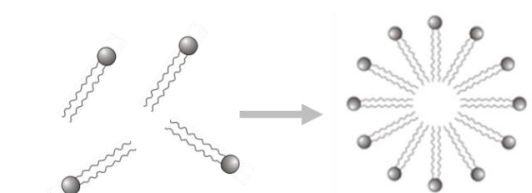


Figura 12 Formação de micelas mistas (Adaptado de MOTTA, c2009)

Além do papel estrutural, os fosfolipídeos são importantes precursores para uma série de mediadores biologicamente ativos do metabolismo e fisiologia, incluindo eicosanóides, diacilglicerol, fosfatos de inositol e fatores de ativação de plaquetas. Com exceção dos eicosanóides, o metabolismo de fosfolipídeos é relativamente pouco estudado em peixes. No entanto, há evidências de ocorrências de todas essas vias no peixe e que os mediadores derivados de fosfolipídeos desempenham funções semelhantes em peixes como o fazem em mamíferos (TOCHER, 1995, 2003).

Os eicosanóides são um grupo de substâncias altamente bioativas, sendo os fosfolipídeos a fonte de substratos de ácidos graxos para a formação desses compostos, em particular os ácidos graxos  $C_{20}$  altamente insaturados (HUFA), especialmente o ácido araquidônico (ARA, 20:4 n-6) e ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5 n-3). Esses ácidos graxos são liberados dos fosfolipídeos de membranas, por meio da ação de fosfolipase  $A_2$  e são convertidos por enzimas cicloxigenase, produzindo derivados oxigenados cíclicos, denominados coletivamente de prostanóides, incluindo as prostaglandinas, prostaciclina e

tromboxanos. Mas também, podem sofrer ação de enzimas lipoxigenase, produzindo derivados lineares oxigenado, incluindo ácidos graxos hidroperoxi e hidroxi, leucotrienos e lipoxinas (Figura 13) (SARGENT et al., 1989, 2002).

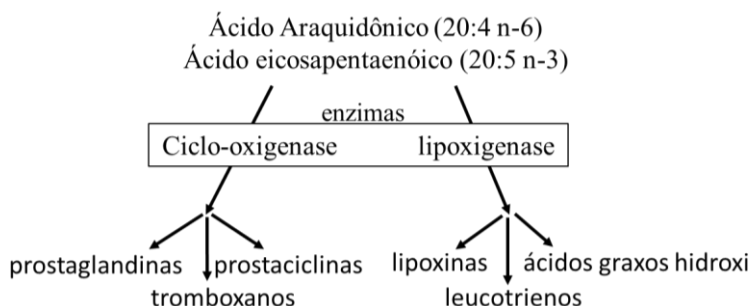


Figura 13 Representação esquemática dos principais eicosanóides.

Os eicosanóides são produzidos por diversos tecidos em resposta a vários estímulos extracelulares e são substâncias autócrinas (ou seja, atuam nas imediações do local de produção), eficazes em baixíssimas concentrações com tempo de vida muito curto. De modo geral, os eicosanóides estão envolvidos em numerosos processos fisiológicos, como na coagulação sanguínea, resposta imune, resposta inflamatória, tônus cardiovascular, função renal e neural, bem como na reprodução (SARGENT et al., 1989, 2002; TOCHER, 1995, 2003).

Outra função importante dos fosfolipídeos é na geração de energia. Os triacilglicerídeos são a principal classe de lipídeos utilizados como reserva e fonte energética. Entretanto, em determinadas circunstâncias, como durante o desenvolvimento embrionário e no crescimento inicial das larvas, os peixes podem utilizar fosfolipídeos como fonte de energia (TOCHER et al., 2008).

De certa forma, qualquer classe de lipídeos contendo os ácidos graxos pode atuar como uma fonte de energia. Esse processo se dá pela  $\beta$ -oxidação das cadeias acil, produzindo o acetil-CoA e coenzimas reduzidas NADH e FADH<sub>2</sub>. O acetil-CoA produzido é, então, direcionado para ser oxidado, através do ciclo

do ácido tricarboxílico e as coenzimas reduzidas para serem reoxidadas através da fosforilação oxidativa (Figura 14). Assim, a  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos que ocorre nas mitocôndrias e nos peroxissomos produz energia disponível na forma de adenosina trifosfato (ATP), para ser utilizada pelo organismo (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2002; NELSON; COX, 2008).

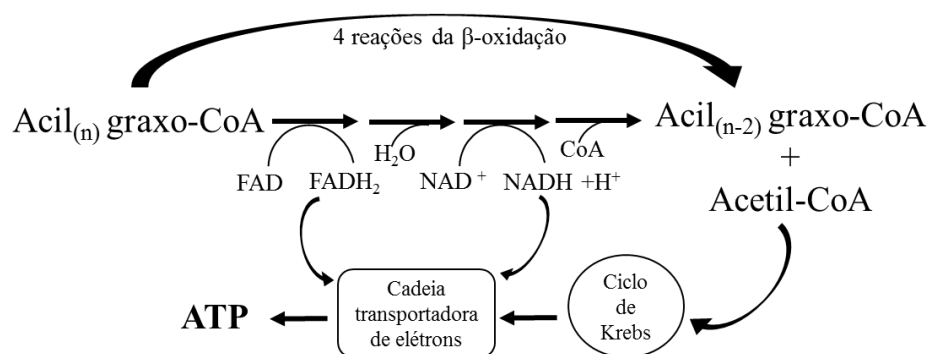


Figura 14 Representação esquemática das vias envolvidas na oxidação dos ácidos graxos para a geração de energia.

Os principais ácidos graxos utilizados pelos peixes como fonte de energia, tanto para o desenvolvimento, crescimento e natação, bem como para reprodução são os C16:0, C18:1 n-9, C20:1 n-9, C22:1 n-11 e os ácidos graxos altamente insaturados (HUFA n-3), eicosapentaenóico (EPA) e docosaexaenóico (DHA) (SARGENT; HENDERSON; TOCHER, 2002). Entretanto, os ácidos graxos C16:0, C18:1 n-9, C20:1 n-9, C22:1 n-11 são metabolizados em grandes quantidades para a produção de energia durante o crescimento de juvenis e maturação gonadal das fêmeas (HENDERSON; ALMATAR, 1989; HENDERSON; SARGENT; HOPKINS, 1984). Ambos EPA e DHA podem ser utilizados para a produção de energia, mas o EPA é rapidamente oxidado nas mitocôndrias, enquanto o catabolismo do DHA requer  $\beta$ -oxidação nos peroxissomos e, por isso, esse ácido graxo é proporcionalmente menos utilizado para a produção de energia (SARGENT; HENDERSON; TOCHER, 2002).



### 3.3.2 Fosfolipídeos na nutrição de pós-larvas

Em decorrência do rápido crescimento e desenvolvimento, as larvas de peixe requerem uma grande quantidade de fosfolipídeo, para a formação de novos componentes celulares. Já se sabe que são necessários vários precursores e enzimas para a biossíntese de fosfolipídeo. A falta desses precursores e enzimas pode comprometer a biossíntese *de novo* fosfolipídeo em peixe (IRITANI et al., 1984; KANAZAWA et al., 1981).

As vias metabólicas de fosfolipídeos, incluindo os de biossíntese *de novo* fosfolipídeos em peixes, são bem semelhantes como a que ocorre em mamíferos. No entanto, larvas e juvenis de algumas espécies, tanto marinhas quanto de água doce, possuem capacidade limitada de síntese *de novo* fosfolipídeos (COUTTEAU et al., 1997). Possivelmente, isso é reflexo da abundância desse nutriente na dieta natural das larvas. Durante o período larval, os peixes obtêm esse nutriente do vitelo, por meio da alimentação endógena e, posteriormente, das presas capturadas pelas pós-larvas, quando começa a alimentação exógena.

A suplementação adicional de fosfolipídeo pode ser usada diretamente ou indiretamente para a formação da membrana da célula, para a manutenção do desenvolvimento e crescimento, bem como para melhores respostas de desempenho. Os fosfolipídeos podem promover a absorção de lipídeos por meio de suas propriedades emulsificantes e, assim, compensar a falta de secreção de bile em larvas de peixes e em juvenis (SALHI et al., 1994). Além disso, na dieta, o fosfolipídeo pode beneficiar a maturação do trato digestivo das pós-larvas de peixes (ZAMBONINO-INFANTE; CAHU, 2001).

Outros benefícios também são encontrados com a utilização de fosfolipídeo dietético, como o aumento da palatabilidade da dieta, a melhora da estabilidade da alimentação na água e o fornecimento de nutrientes essenciais, por

exemplo, ácidos graxos essenciais, fósforo, colina e inositol (HALVER, 2002; TOCHER et al, 2008).

As pós-larvas são bastante sensíveis a deficiências de fosfolídeos na dieta e exigem níveis mais elevados que os juvenis (COUTTEAU et al., 1997; TOCHER et al., 2008). Portanto, valores de exigências de fosfolídeos têm sido mais relatados em pós-larvas e juvenis iniciais, já que a exigência diminui conforme o desenvolvimento.

De modo geral, a exigência por fosfolídeos para pós-larvas e juvenis de peixes está entre 2 a 12% da dieta (TOCHER et al., 2008). Entretanto, é importante ressaltar que nem sempre é apropriado fazer comparações entre exigências nutricionais de fosfolídeos de diferentes espécies de peixes, uma vez que, na maioria dos estudos não leva em consideração o conteúdo real de fosfolídeos presente na dieta. Além disso, as diferenças de tamanho inicial de larvas ou juvenis utilizados, e as durações dos ensaios de alimentação, são aspectos importantes para a geração dos dados (TOCHER et al., 2008).

Em situação de cultivo, a inclusão de fosfolídeos na dieta melhorou o desempenho de várias espécies de peixes, entre elas da truta e do salmão. Além disso, aumentaram a sobrevivência das larvas e juvenis, provocando menor incidência de malformação e deformidade esquelética nesses animais (POSTON, 1990a, 1990b).

Dessa forma, os indicadores de desempenho total, incluindo o crescimento e sobrevivência, são critérios que têm sido utilizados para medir as exigências de fosfolídeos. Vários outros estudos também analisaram a resistência ao estresse e mostraram que a resistência pode ser aumentada pela suplementação de fosfolídeos (KANAZAWA, 1997; TAKEUCHI et al., 1992; WEIRICH; REIGH, 2001).

### 3.4 Vitamina C x fosfolídeos

Mudanças intensas na temperatura da água têm impactos profundos sobre processos fisiológicos em peixes. No metabolismo aeróbico, a variação de temperatura afeta, tanto o metabolismo energético bem como o consumo de oxigênio (JOHNSTON; BENNETT, 2008; LIN; DECUYPERE; BUYSE, 2006), alterando assim a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são o subproduto do metabolismo aeróbico e gerado, principalmente, pela respiração mitocondrial (RICE et al., 2002; SKJAERVEN et al., 2013). O excesso de produção de EROs ou baixa capacidade antioxidante pode conduzir à oxidação irreversível de macromolécula incluindo a peroxidação lipídica, oxidação de proteínas, e danos no DNA, resultando, assim, num estado de estresse oxidativo (HERMES-LIMA; STOREY; STOREY, 2001).

Os peixes apresentam em sua composição ácidos graxos insaturados os quais são bastante vulneráveis ao ataque por EROs a temperaturas baixas, o que leva a peroxidação lipídica e aos danos oxidativos no tecido (BLAGOJEVIĆ, 2014; VENDITTI; DI STEFANO; DI MEO, 2010).

Os fosfolídeos, contendo cadeias de ácidos graxos insaturadas são também susceptíveis a peroxidação lipídica. Esse processo acontece, devido aos ataques de oxigênio a ligação dupla em ácidos graxos, ocorrendo a formação de hidroperóxidos de lipídeos (FRANKEL, 1998). Hidroperóxidos de lipídeos são os produtos primários da oxidação de lipídeos. São moléculas instáveis e que se decompõem, facilmente, sob a ação dos radicais de ácidos graxos, reagindo com biomembranas celulares, proteínas e DNA, causando lesões severas e, posteriormente, elevada mortalidade (CORTESI; PRIVETT, 1972). Por outro lado, para proteger células e tecidos dos danos oxidativos, os peixes contam com o sistema de defesa antioxidante, o que ajuda a neutralizar a atividade dos radicais livres (Figura 15).

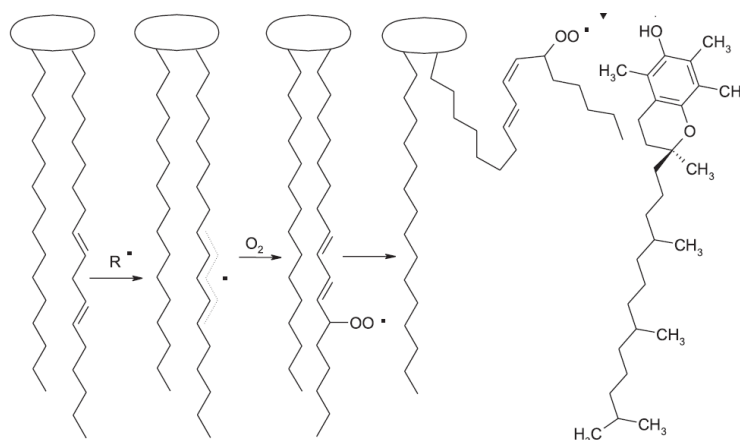


Figura 15 Etapas da lipoperoxidação e ação do antioxidante  $\alpha$ -tocoferol (Adaptado de CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007)

A Vitamina C é um nutriente essencial para a função fisiológica da maioria das espécies de animais (LIM; LOVELL, 1978). Esse nutriente desempenha um importante papel como antioxidante solúvel em água. A principal ação do sistema de defesa antioxidante contra os radicais pela vitamina C é impedindo a peroxidação lipídica no plasma (NORDBERG; ARNER, 2001). A vitamina C também promove efeitos benéficos sobre a atividade bactericida do soro, a atividade fagocitária, nos níveis de anticorpos e da atividade de lisozima (HARDIE et al., 1993; LIN; SHIAU, 2005; REN et al., 2005).

Portanto, a vitamina C é um importante componente na prevenção da peroxidação lipídica, e a sua atuação em moléculas contendo ácidos graxos, tais como os fosfolipídeos, garante a proteção dos danos causados pelo estresse oxidativo. Essa proteção se dá pela capacidade que a vitamina C tem de regenerar a vitamina E (HAMRE et al., 1997; MONTERO et al., 1999; NIKI et al., 1982).

É proposto que a vitamina E ( $\alpha$ -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, assim, acessível aos componentes solúveis em água, como o ácido ascórbico (Figura 16). Este pode reduzir o radical do  $\alpha$ -tocoferolxil formado quando o  $\alpha$ -tocoferol doa um H para um peróxido de lipídeo. Os produtos formados pela reação do ácido ascórbico e o  $\alpha$ -tocoferolxil são um radical ascorbil e um  $\alpha$ -tocoferol (ácido dehidroascórbico e a vitamina E, respectivamente).

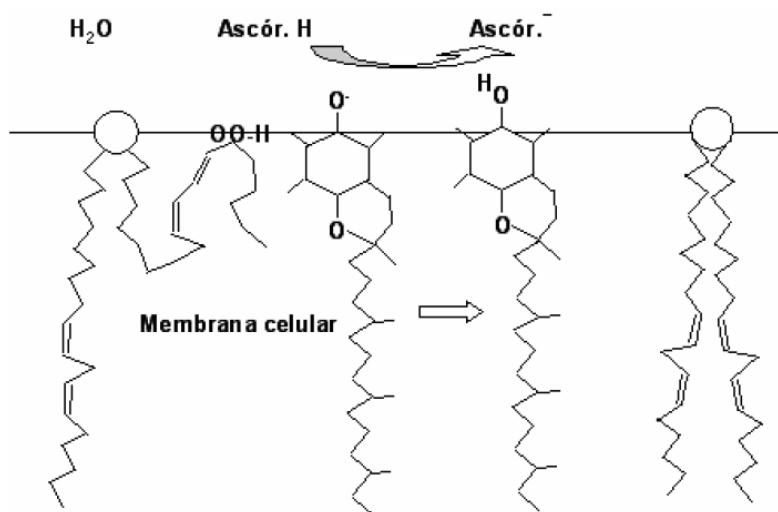


Figura 16 Redução do  $\alpha$ -tocoferolxil em  $\alpha$ -tocoferol pelo ácido ascórbico (RODRÍGUEZ, 1997).

Dessa forma, a adição de vitamina C inibe a perda do  $\alpha$ -tocoferol presente nas membranas, atrasando a oxidação dos lipídeos, conseqüentemente protegendo os fosfolipídeos, principal componente lipídico nas membranas celulares. Esse mecanismo de ação sugere que os radicais produzidos nas membranas celulares são transportados para a fase aquosa via vitamina E e vitamina C (BUETTNER, 1993; HAMRE et al., 1997).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Local e instalações**

O experimento foi realizado na Universidade Federal de Lavras (UFLA), no Biotério Central localizado no Departamento de Medicina Veterinária. Foi utilizado um sistema de recirculação de água, contendo 12 aquários com capacidade de 20 litros cada. Para a manutenção da qualidade da água, junto a esse sistema, estava acoplado um filtro físico e biológico, aeradores e termostato regulado para manter a temperatura em torno de 28°C.

### **4.2 Delineamento experimental**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado arranjado em esquema fatorial 2x2, com quatro tratamentos e três repetições, sendo dois níveis de suplementação de fosfolipídeos, FL (0; 20 g kg<sup>-1</sup> da dieta) e dois níveis de vitamina C, VC (0; 2 g kg<sup>-1</sup> da dieta).

### **4.3 Dietas experimentais**

Para a formulação das dietas, foram utilizados ingredientes convencionais de forma a se apresentarem isoenergéticas e isoprotéicas com aproximadamente 3582 Kcal de energia digestível kg<sup>-1</sup> e 32% de proteína digestível kg<sup>-1</sup> na dieta, com base nas exigências da espécie encontradas por Sá e Fracalossi et al. (2002). As quatro dietas experimentais variam quanto aos níveis de suplementação de fosfolipídeo (FL) e vitamina C (VC), sendo a Dieta 1 (0g kg<sup>-1</sup>de FL; 0g kg<sup>-1</sup>de VC), Dieta 2 (0g kg<sup>-1</sup> de FL; 2g kg<sup>-1</sup> de VC), Dieta 3 (20g kg<sup>-1</sup>deFL; 0g kg<sup>-1</sup> de VC) e Dieta 4 (20g kg<sup>-1</sup>de FL; 2g kg<sup>-1</sup> de VC) (Tabela 1).

Tabela 1 Composição dos ingredientes e bromatologia das dietas experimentais de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus*

Ingredientes (g kg <sup>-1</sup> )	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
	FL <sup>1</sup> 0		FL 20	
	VC <sup>1</sup> 0	VC 2	VC 0	VC 2
Farelo de Soja	400,00	400,00	400,00	400,00
Farinha de Peixe	150,00	150,00	150,00	150,00
Fubá de Milho	210,00	210,00	210,00	210,00
Farelo de Trigo	60,00	60,00	60,00	60,00
Glúten de Milho	50,00	50,00	50,00	50,00
Gelatina	50,00	50,00	50,00	50,00
Óleo de Soja	45,00	45,00	15,00	15,00
Lecitina de Soja <sup>2</sup>	0,00	0,00	30,00	30,00
Fosfato bicálcico	19,80	19,80	19,80	19,80
Cloreto de sódio	5,00	5,00	5,00	5,00
Inerte	5,00	0,00	5,00	0,00
Vitamina C <sup>3</sup>	0,00	5,00	0,00	5,00
Premix <sup>4</sup>	5,00	5,00	5,00	5,00
BHT	0,20	0,20	0,20	0,20
Total	1000	1000	1000	1000
<i>Composição química (g kg<sup>-1</sup>)</i>				
Energia digestível <sup>5</sup>	3582,00	3582,00	3582,00	3582,00
Proteína Bruta	396,00	398,00	399,00	404,00
Lipídeo total	74,62	73,97	74,06	74,34
Cálcio	14,40	13,97	15,13	15,09
Fósforo	12,65	12,49	12,63	13,64

<sup>1</sup>FL, fosfolipídeos; VC, vitamina C; <sup>2</sup>Lecitina de soja emulsão Grings, com 66% de FL; <sup>3</sup>Vitamina C Fagron, com 40% de estabilidade; <sup>4</sup>Níveis de Garantia Premix kg<sup>-1</sup> do produto: Fe 19,6g; Cu 2,8g; Zn 28,0g; Mn 5,2g; Se 119mg; Co 40mg; iodo 120mg; vitA 1995KUI; vitD3 798KUI; vitE 19,9g, vitK3 1,0g; B1 4,9g; B2 4,9g; B6 4,9g; B12 5985 mcg; B3 19,9g; B5 9,9g, ácido fólico 1,0g, B7 159600 mcg, inositol 10,0g, vitC 70,0g, etoiquina 24,7g; <sup>5</sup>Valor calculado e apresentado em Kcal de energia digestível kg<sup>-1</sup>.

Durante a preparação, os ingredientes foram moídos a uma granulometria menor que 0,5 mm e pesados com auxílio de balança de precisão. Após a pesagem, realizou-se a mistura dos ingredientes, sendo homogeneizados manualmente com inclusão de óleo e aproximadamente 40% de água a 60°C. Posteriormente, cada dieta foi identificada e mantida no freezer a -18,0 °C por 12 horas. As dietas congeladas foram levadas para o liofilizador e mantidas por um período de 48 horas.

A granulometria das dietas foi ajustada de acordo com a fase de desenvolvimento. Para isso, os pellets foram quebrados manualmente e selecionados com o auxílio de peneiras com malhas entre 0,5 à 1 mm de diâmetro.

A suplementação de FL na dieta foi obtida pela inclusão de lecitina de soja contendo, aproximadamente, 66% de FL total. Para a suplementação de VC, foi utilizado o L-ácido ascórbico, possuindo em torno de 40% de estabilidade nas formulações.

Os valores encontrados do perfil de ácidos graxos de cada dieta experimental estão apresentados na Tabela 2.



Tabela 2 Composição dos ácidos graxos nas dietas experimentais de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyana*

Ácidos graxos (% total de ácidos graxos)	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
	FL <sup>1</sup> 0		FL 20	
	VC <sup>1</sup> 0	VC 2	VC 0	VC 2
C14:0	26,80	26,67	21,18	21,57
C16:0	9,80	9,84	11,51	11,52
C18:0	2,32	2,36	2,68	2,58
C20:0	3,30	3,33	3,33	3,28
Σ SFA <sup>2</sup>	42,23	41,21	38,70	38,95
C14:1	0,47	0,49	0,58	0,59
C16:1	0,65	0,65	0,78	0,77
C18:1n-9	19,16	18,83	20,23	19,92
Σ MUFA <sup>3</sup>	20,28	19,96	21,59	21,28
C18:2n-6	35,96	36,57	38,96	37,97
C18:3n-6	0,20	0,20	0,20	0,20
C20:2n-6	0,12	0,12	0,17	0,16
C20:3n-6	0,82	0,81	0,99	1,00
Σ n-6 PUFA <sup>4</sup>	37,11	37,70	40,32	39,32
C18:3n-3	0,07	0,07	0,07	0,08
C20:3n-3	0,86	0,82	1,01	1,28
Σ n-3 PUFA <sup>5</sup>	0,93	0,89	1,08	1,36
Σ PUFA <sup>6</sup>	38,04	38,59	41,40	40,68

<sup>1</sup> FL, fosfolipídeos; VC, vitamina C

<sup>2</sup> SFA: Ácidos graxos saturados

<sup>3</sup> MUFA: Ácidos graxos monoinsaturados

<sup>4</sup> n-6 PUFA: Ácidos graxos poliinsaturados n-6

<sup>5</sup> n-3 PUFA: Ácidos graxos poliinsaturados n-3

<sup>6</sup> PUFA: Ácidos graxos poliinsaturados

#### 4.4 Procedimento experimental

Ovos de piracanjuba foram obtidos da estação de piscicultura da CEMIG e transportados para o Biotério Central da Universidade Federal de Lavras. Em seguida, os ovos foram mantidos em incubadora experimental até a eclosão. Após a eclosão, as larvas foram transferidas para duas caixas de 20 litros, com aeração constante e com temperatura da água em torno de 28°C, sendo alimentadas com larvas de curimba (*Prochilodus lineatus*) nos três primeiros dias de vida. Após quatro dias de eclosão, as larvas foram alimentadas quatro vezes por dia com zooplâncton e ração comercial de 40% de proteína bruta até completarem 14 dias após a eclosão.

Para compor os aquários experimentais, um grupo homogêneo de 120 pós-larvas de piracanjuba (machos e fêmeas) com 15 dias pós-eclosão, possuindo comprimento padrão de  $1,60 \pm 0,12$  cm e peso médio individual de  $0,069 \pm 0,0088$  g foram selecionadas e distribuídas aleatoriamente em 12 aquários com capacidade de 20 litros na densidade de 10 peixes por aquário.

As pós-larvas foram alimentados manualmente quatro vezes ao dia (8h; 11h; 14h; 17 horas), por um período de 34 dias, sendo mantidas em um fotoperíodo de 12L:12E. O arraçoamento foi *ad libitum* até a saciedade aparente. Foi realizado o sifonamento dos aquários a cada dois dias, para a retirada das fezes acumuladas e manutenção da limpeza.

A temperatura da água dos aquários foi mantida a  $28,0 \pm 0,53$ °C, sendo aferida diariamente no momento do arraçoamento através de termômetros. Já os parâmetros de pH (7,24), amônia (0,001ppm) e oxigênio dissolvidos na água (6,8ppm) foram aferidos semanalmente, por meio de kits comerciais da Labcon. Durante o arraçoamento, eram observados o comportamento alimentar a ocorrência ou não de ataques entre os peixes de cada tratamento, bem como, sinais de deficiência de vitamina C.

#### 4.5 Parâmetros de desempenho

No início e no final do experimento, os peixes foram deixados em jejum alimentar durante 12 horas e com o emprego de balança analítica e paquímetro, foram determinados o peso e o comprimento padrão do grupo de peixes de cada aquário, respectivamente. Foram calculados os parâmetros de desempenho, utilizando as médias obtidas em cada unidade experimental.

- Consumo de ração aparente médio

$$CR (g) = (\text{Peso inicial da ração} - \text{peso final da ração}) / N^{\circ} \text{ peixes final}$$

- Ganho de peso médio

$$GP (g) = (\text{Peso final} - \text{Peso inicial}) / N^{\circ} \text{ peixes final}$$

- Conversão alimentar aparente médio

$$CA = \text{consumo de ração médio e mg} / \text{ganho de peso médio e mg}$$

- Taxa de crescimento específico médio

$$TCE (\% \text{ dia}^{-1}) = (\text{Ln Peso final} - \text{Ln Peso inicial}) \times 100 / \text{dias experimentais}$$

- Taxa de sobrevivência

$$S (\%) = 100 \times (\text{n}^{\circ} \text{ peixes final}) / \text{n}^{\circ} \text{ de peixe inicial}$$

#### 4.6 Teste de estresse térmico

Ao final do experimento, 14 animais de cada tratamento foram mantidos em quatro aquários separados para o teste de estresse térmico. Após serem identificados e alojados nos aquários correspondentes, a temperatura da água foi alterada de 27°C para 14°C em uma taxa de 6°C h<sup>-1</sup>. Os animais foram mantidos nesta temperatura por um período de uma hora. A cada 15 minutos foi observado e anotado o estado físico dos peixes, considerando-se debilitados aqueles que se encontravam vivos, mas que apresentavam perda de postura no fundo dos aquários, e normais àqueles que se encontravam nadando na coluna d'água. Com

esses dados obteve-se a resistência ao estresse ao frio. Os aquários foram equipados com aeradores individuais para o controle do oxigênio dissolvido.

#### **4.7 Composição química das carcaças e dietas experimentais**

No final do experimento, os animais restantes de cada tratamento foram eutanasiados em solução de eugenol 285 mg/L, armazenados em freezer com temperatura regulada para -18°C. Posteriormente, os animais foram liofilizados e moídos em um moedor de carne para, em seguida, realizar as análises químicas do corpo inteiro. As análises químicas das dietas e das carcaças foram realizadas no Laboratório de Análise Avançadas do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA, segundo metodologia descrita por AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1995).

As dietas e os peixes foram homogeneizados e analisados para proteína bruta, extrato etéreo, composição mineral (cálcio e fósforo) e perfil de ácidos graxos. O teor de proteína bruta foi determinado pela quantidade de nitrogênio ( $N \times 6,25$ ) utilizando o método de Kjeldal. O teor de extrato etéreo foi determinado por extração com éter etílico, com o auxílio do sistema de extração Soxhlet. Para a determinação da concentração dos minerais cálcio e fósforo, as amostras foram primeiramente digeridas em mistura de ácido nítrico e perclórico e diluídas com água deionizada para posterior quantificação. Cálcio e fósforo foram quantificados por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (FAAS), segundo metodologia de Cookbook Shimadzu (2002).

Os procedimentos para a análise dos perfis de ácidos graxos, foram realizados de acordo com o método descrito por Folch, Lees e Sloane-Stanley (1957). Foram utilizados 100 mg de cada amostra, os lipídeos foram extraídos com clorofórmio: metanol (2:1v/v). Posteriormente, foram saponificados com 2 mL de NaOH 0,5 M em metanol (w:v) e esterificados com 2,5 mL de reagente

esterificante (10g NH<sub>4</sub>Cl: 300mL de CH<sub>3</sub>OH:15mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) em banho, no ponto de ebulição (5 min por processo). Após a adição de 4 ml de solução saturada de NaCl, os ésteres metílicos foram extraídos com 2,5 ml de hexano e preservados em seco com ar de nitrogênio a -80°C antes das análises química.

Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram analisados por cromatografia gasosa, através do cromatógrafo (GC Solution, Shimadzu, Italy), equipado com detector por ionização de chama e coluna capilar Carbowax (30 m x 0,25 mm). Para a separação cromatográfica, 1 µL de amostra foi injetado com auxílio de seringa de 10 µL (Hamilton®) em sistema Split = 10. O gás Nitrogênio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 43,2 cm/s. Os gases Hidrogênio e Ar sintético formaram a chama no detector.

As temperaturas do injetor e do detector foram controladas isotérmicas em 200°C e 220°C. A temperatura inicial da coluna foi de 150°C (mantida por 5 minutos), aumentando em 4°C por minuto até atingir 220°C (mantida por 20 minutos). O Fluxo do gás de arraste na coluna foi de 1,0 mL/minuto. Os picos dos ácidos graxos foram integrados e quantificados, usando o software GC Solution (Shimadzu, Italy), e a identificação feita por comparação dos tempos de retenção com o padrão interno certificado (*Supelco® 37 Component FAME Mix*).

#### **4.8 Análises estatísticas**

Para as variáveis de desempenho e composição corporal, os dados foram verificados quanto à normalidade (Shapiro-Wilk), correlação (teste de Durbin Watson) e homogeneidade de variâncias (teste de Levene F) dos resíduos. Os dados de cada tratamento foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os efeitos dos tratamentos e da interação verificados pelo teste de F. Para verificar o efeito do tratamento sobre estresse térmico e sobrevivência, foi utilizada a metodologia de modelos lineares generalizados (Mc Cullagh & Nelder, 1989)

com Distribuição Binomial e funções de ligação logit e probit, e verificado o intervalo de confiança dos parâmetros. As análises estatísticas foram realizadas, utilizando o programa computacional R versão 3.1.0 (R CORE TEAM, 2014).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Parâmetros de desempenho

Os resultados obtidos para os parâmetros de desempenho estão apresentados na Tabela 3 e 4. Não foram observados efeitos significativos ( $P>0,05$ ) da interação e nem de tratamento, para as variáveis comprimento padrão, consumo de ração, conversão alimentar e sobrevivência (Tabela 3).

Tabela 3 Desempenho de pós-larvas de *Brycon orbignyanus* alimentadas durante 34 dias com dietas suplementadas com diferentes níveis de vitamina C e fosfolipídeos\*

PL <sup>1</sup>	Vit. C <sup>1</sup> (g kg <sup>-1</sup> )	CPI <sup>2</sup>	CPF <sup>3</sup>	CR <sup>4</sup>	CA <sup>5</sup>	S <sup>6</sup>
0	0	1,61	5,08±0,25	2,01±0,13	0,64±0,06	50,00±20
	2	1,61	4,87±0,09	1,91±0,22	0,74±0,08	56,67±40
20	0	1,61	4,72±0,23	1,82±0,09	0,75±0,06	70,00±10
	2	1,61	4,81±0,07	2,07±0,21	0,77±0,08	50,00±36
CV <sup>7</sup>		-	3,69	8,72	10,05	26,31

\* Valores estão expressos em média ± DP. As médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente pelo teste F.

<sup>1</sup> FL, fosfolipídeos; VC, vitamina C.

<sup>2</sup>CPI, comprimento padrão inicial (cm)

<sup>3</sup>CPF, comprimento padrão final (cm)

<sup>4</sup> CR, consumo de ração (g)

<sup>5</sup> CA, conversão alimentar

<sup>6</sup> S, sobrevivência (%)

<sup>7</sup>CV, coeficiente de variação (%)

Entretanto, foi observado efeito da interação ( $P < 0,05$ ) para as variáveis ganho de peso e taxa de crescimento específico (Tabela 4). Foram verificados maiores valores de ganho de peso para as pós-larvas alimentadas com a dieta controle (Dieta 1), não havendo diferença significativa para os demais tratamentos. Para a variável taxa de crescimento específico, foram observados também maiores valores para os animais que receberam a dieta controle, seguido pela dieta quatro.

Tabela 4 Valores médios de ganho de peso (GP) e taxa de crescimento específico (TCE) de pós-larvas de *Brycon orbignyanus* alimentadas durante 34 dias com dietas suplementadas com diferentes níveis de vitamina C e fosfolídeos\*

Fosfolípídeo	Vitamina C ( $\text{g kg}^{-1}$ )			
	s	0	2	0
( $\text{g kg}^{-1}$ )	GP (g)		TCE ( $\% \text{ dia}^{-1}$ )	
0	3,11 $\pm$ 0,14Aa	2,58 $\pm$ 0,01b	11,34 $\pm$ 0,11Aa	10,67 $\pm$ 0,08Bb
20	2,45 $\pm$ 0,27B	2,69 $\pm$ 0,06	10,56 $\pm$ 0,36Bb	11,03 $\pm$ 0,05Aa
CV <sup>1</sup>	5,72		1,77	

\* Valores estão expressos em média  $\pm$  DP. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e por letras maiúsculas diferentes na coluna da mesma variável, diferem significativamente entre si pelo teste F.

<sup>1</sup> CV, coeficiente de variação (%)

Durante todo o período experimental, não foi observado nenhum sinal de deficiência de vitamina C, tais como, escoriose, lordose e cifose, sendo todas as dietas bem aceitas pelas pós-larvas. Esse fato indica, que os tratamentos não suplementados com vitamina C (Dieta 1 e Dieta 3), possuíam níveis suficientes vitamina C para o desenvolvimento das pós-larvas. O suplemento mineral e vitamínico utilizado (PREMIX) forneceu cerca de 350 mg de vitamina C  $\text{kg}^{-1}$  da dieta, o que pode ter atendido as quantidades exigidas pelas pós-larvas.

Entretanto, os peixes que receberam a dieta controle (Dieta 1) apresentaram comportamento mais agressivo em todos os aquários, sendo

observada diferença no tamanho das pós-larvas e maior ocorrência de ataques entre os peixes. Os animais desse tratamento apresentaram maiores valores médios de ganho de peso e taxa de crescimento específico e uma tendência a uma melhor conversão alimentar. Mas, esses valores foram influenciados pelo comportamento agressivo apresentado por esses animais durante o experimento, sendo alterada a densidade de estocagem, em razão da morte dos animais.

Nas pós-larvas que receberam suplementação de vitamina C (Dieta 2 e Dieta 4), foi observado dominância de um dos peixes. Esse comportamento ocasionou um aumento da mortalidade em um dos aquários de ambos os tratamentos. Essa dominância pode ter sido causada, por maiores valores de vitamina C na dieta. Segundo Okamura et al. (2008), aumentos crescentes na concentração de ascorbil palmitato (derivado da vitamina C) na ração, proporcionaram aumentos cada vez maiores da altura da cabeça em pós-larvas de dourado (*Salminus brasiliensis*). O mesmo pode ter acontecido no presente estudo, favorecendo os animais que mais se adaptaram com a dieta contendo níveis elevados de vitamina C, deixando o grupo de animais do mesmo aquário, heterogêneo. Segundo Kestemont et al. (2003), o crescimento heterogêneo é o principal problema da larvicultura em espécies com hábitos predatórios.

De acordo com relatos observados por Baras et al. (2000), a variação do tamanho no estágio larval geralmente possui consequências mais drásticas que em juvenis ou adultos, em decorrência do grande diâmetro da boca das pós-larvas em relação ao corpo, ocorrendo predação de presas menores. Segundo o mesmo autor, para algumas espécies, as pós-larvas são capazes de atacar suas irmãs, mesmo apresentando maior comprimento corporal, sendo que, muitas vezes, não conseguem consumi-las por inteiro e acabam morrendo.

Como, neste trabalho, não se objetivou avaliar o aumento ou diminuição do canibalismo e sim a taxa de sobrevivência, o canibalismo não foi quantificado. Entretanto, sabe-se que o tamanho heterogêneo está relacionado ao aumento do



canibalismo e a uma menor taxa de sobrevivência. Apesar de ser uma característica comum da espécie estudada, assim como de outras do gênero *Brycon* (LOPES; SENHORINI; SOARES, 1994; PEDREIRA et al., 2008; SACCOL-PEREIRA; NUÑER, 2003), o canibalismo foi mais intenso nos animais que receberam as dietas 1, 2 e 4 o que interferiu na taxa de sobrevivência entre os tratamentos, fazendo com que tivessem uma tendência a menores taxas.

Ao contrário dos outros tratamentos, os animais que receberam somente a suplementação de fosfolípídeo (Dieta 3), apresentaram-se mais homogêneos e menos agressivos. As pós-larvas de piracanjuba desse tratamento, tiveram maiores valores de sobrevivência. Contudo, essa diferença não foi significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos (Tabela 3). Talvez não tenha sido encontrada diferença, em razão do número pequeno de animais utilizados nas parcelas (10 animais/aquário). Assim, a morte de um animal no aquário representa muito para a taxa de sobrevivência (10% a menos), aumentando o desvio em torno da média e, dificultando a significância dos dados. De qualquer forma, os animais que receberam a dieta 3, apresentaram sobrevivência de 70%. Isso demonstra que a biossíntese *de novo* fosfolípídeos não poderia atender à exigência desse nutriente, para essa espécie, nessa fase de desenvolvimento.

Os resultados de sobrevivência encontrados com a suplementação de fosfolípídeos, neste estudo, corroboram aos encontrados por Zhao et al. (2013), obtendo-se resultados maiores de sobrevivência em pós-larvas de grande corvina amarela *Larmichthys crocea*, quando estas receberam níveis relativamente mais elevados de fosfolípídeos dietéticos.

De um modo geral, os valores de sobrevivência obtidos neste estudo utilizando dietas, sem ou com suplementação de fosfolípídeos, variaram entre 50% a 70%. Para pós-larvas de piracanjuba, são valores relativamente altos, uma vez que é uma espécie que está em extinção, e durante a sua larvicultura muitas vezes

é necessário entrar com espécies forrageiras, por apresentar alto índice de canibalismo (SACCOL-PEREIRA; NUÑER, 2003).

Em relação aos resultados de desempenho encontrados neste estudo, estão diferentes aos encontrados por Peng et al. (2013), que apesar de não terem observado diferenças significativas, avaliando níveis mais altos de vitamina C (450 e 800 mg kg<sup>-1</sup>) para juvenis de pomfret prata *Pampus argenteus*, observaram um ligeiro aumento no ganho de peso, taxa de crescimento específico e sobrevivência, além de uma possível melhora na conversão alimentar, quando comparados com a dieta controle (100 mg kg<sup>-1</sup>). Entretanto, a dieta controle, deste estudo, apresenta valores de 350 mg kg<sup>-1</sup> da dieta e que pode ter atingido as necessidades das pós-larvas melhorando o desempenho. Enquanto que as dietas suplementadas com níveis altos de vitamina C (2000 mg kg<sup>-1</sup> da dieta) pode ter sido muito para essa espécie, proporcionando piores resultados.

## 5.2 Teste de estresse Térmico

A proporção de pós-larvas normais (nadando na coluna d'água), durante o teste de resistência a baixa temperatura (14°C) está apresentado na Figura 17.

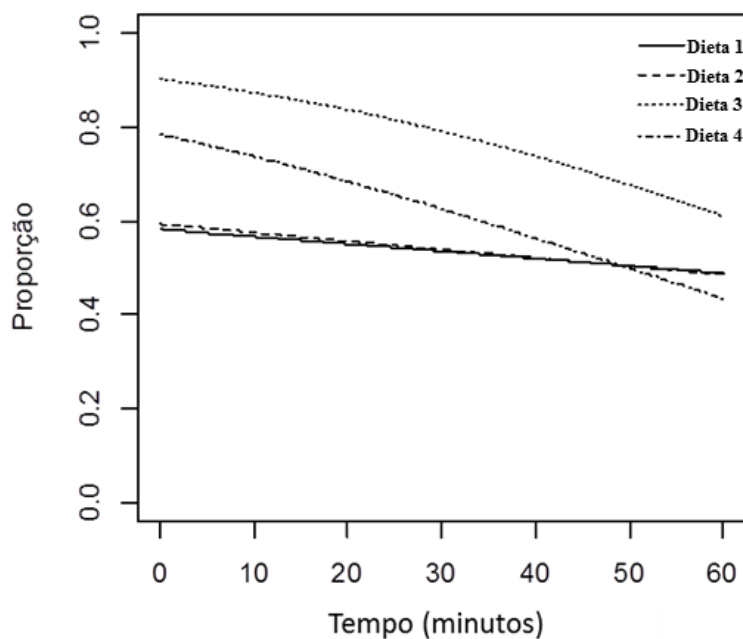


Figura 17 Proporção de pós-larvas de piracanjuba mantidas sobre estresse por baixa temperatura (14°C) durante uma hora.

De acordo com a análise de modelo binomial, aos animais que não receberam suplementação de fosfolipídeos na dieta (Dieta 1 e Dieta 2), não houve efeito significativo do tempo sobre a resposta ao estresse e, portanto, esses tratamentos não se ajustaram ao modelo binomial e suas estimativas não diferiram de zero. Entretanto, para os animais que receberam dietas suplementadas com fosfolipídeos (Dieta 3 e Dieta 4), houve efeito do tempo sobre o estresse dos animais, ajustando-se o modelo binomial. De acordo com o modelo, as pós-larvas que receberam a dieta 3, apresentaram maior resistência a baixas temperaturas quando comparados com animais que receberam a dieta 4.

Neste estudo, observou-se que os fosfolipídeos dietético possuem grande importância em pós-larvas de piracanjuba, para aumentar a resistência desses animais quando submetidos a baixas temperaturas. Esse resultado foi consistente aos encontrados com várias outras espécies (JING-KE et al., 2002;

KANAZAWA, 1997; ZHAO et al. 2013). Estudos têm demonstrado que os fosfolipídeos dietéticos podem aumentar a fluidez da membrana celular, aumentando o teor de ácidos graxos insaturados e, conseqüentemente, aumentando a resistência dos animais em temperaturas baixas (CAO; LIN; LAO, 1997).

Entretanto, para os animais que receberam suplementação de fosfolipídeos e vitamina C (Dieta 4), apresentaram-se menos resistentes à baixa temperatura, quando comparado com animais que receberam somente suplementação de fosfolipídeos (Dieta 3). Esse fato, pode estar ligado ao efeito pró-oxidante que a vitamina C apresenta quando consumida em altas doses. Segundo estudos realizados *in vitro*, mostraram que essa vitamina na presença de metais de transição, tais como o ferro, pode atuar como uma molécula pró-oxidante e gerar radicais livres e peróxido de hidrogênio. Geralmente, esses metais estão disponíveis em quantidades muito limitadas e as propriedades antioxidantes dessa vitamina predominam *in vivo* (ODIN, 1997).

No entanto, a vitamina C auxilia na absorção gástrica de ferro, reduzindo-o no estômago, ao estado ferroso, forma a qual, é absorvido (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1993). Assim, no presente estudo, provavelmente ocorreu maior absorção de ferro, o que levou à produção de radicais livres pelo excesso de vitamina C na dieta e, conseqüentemente, promoveu a oxidação de ácidos graxos presentes nos fosfolipídeos das membranas, prejudicando a eficiência da membrana plasmática como camada fluida e semipermeável.

### **5.3 Composição química das carcaças**

Os resultados encontrados para a composição de ácidos graxos das carcaças das pós-larvas podem ser observados na Tabela 6. Os animais não

suplementados com fosfolipídeos dietéticos, obtiveram em suas carcaças teores significativamente ( $P < 0,05$ ) elevados de C14:0, dieta 1 (48,88%) e dieta 2 (48,74%). Enquanto isso, as pós-larvas suplementadas com fosfolipídeos na dieta apresentaram teores menores de C14:0, dieta 3 (35,23%) e dieta 4 (36,80%). Da mesma forma, a soma de ácidos graxos saturados foi significativamente ( $P < 0,05$ ) maior para as pós-larvas não suplementadas com fosfolipídeos, dieta 1 (64,03%) e dieta 2 (65,86%) do que quando comparadas com as que receberam fosfolipídeos, dieta 3 (53,78%) e dieta 4 (54,85%).

Também foi obtida, diferença significativa ( $P < 0,05$ ), para os conteúdos de ácidos graxos essenciais, C18:2n-6 e C18:2n-3, sendo encontrados menores valores de C18:2n-6 para as pós-larvas que receberam a dieta 1 (18,12%) em relação as demais, dieta 2 (21,60%), dieta 3 (23,82%) e dieta 4 (23,07%). Para o C18:3n-3, foram encontrados maiores valores nas carcaças das pós-larvas que receberam somente a suplementação de fosfolipídeos dieta 3 (0,29%).

Não foi detectada a presença do araquidônico (C20:4 n-6) na carcaça dos animais. Entretanto, os seus precursores C20:2 n-6 e o C20:3 n-6 foram identificados, sendo encontrados maiores quantidades em pós-larvas que receberam a dieta 3 (0,94% e 0,32%) e menores nas que receberam a dieta 1 (0,61% e 0,17%). Da mesma forma, não foram identificados os ácidos graxos C20:5 n-3(EPA) e C22: 6n-3 (DHA). Mas, foram encontrados valores de C20:3 n-3, sendo observados em maiores quantidades nos peixes que receberam a dieta 3 (0,40%) e dieta 2 (0,35%) e menores para os que receberam a dieta 1 (0,25%) e dieta 4 (0,28%). Contudo, maiores valores da soma dos PUFA-n3 foram encontrados para as pós-larvas que somente receberam suplementação de fosfolipídeos, dieta 3 (0,68%) e menores valores para a dieta 1 (0,44%).

Tabela 5 Composição de ácidos graxos do corpo inteiro das pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus*, alimentadas com diferentes conteúdos de fosfolípideo e vitamina C, durante 34 dias\*

% total de ácidos graxos	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
	FL <sup>1</sup> 0		FL 20	
	VC <sup>1</sup> 0	VC 2	VC 0	VC 2
C14:0	48,88±3,98a	48,74±0,62a	35,23±1,81b	36,80±6,28b
C16:0	10,48±0,99	11,82±1,45	12,60±0,25	12,46±1,22
C18:0	3,46±0,44	3,87±0,50	4,38±0,10	4,07±0,37
C20:0	1,21±0,11	1,43±0,21	1,57±0,07	1,52±0,17
Σ SFA <sup>2</sup>	64,03±2,44a	65,86±2,05a	53,78±1,48b	54,85±4,55b
C14:1	0,44±0,06	0,51±0,06	0,54±0,01	0,50±0,04
C16:1	0,59±0,06	0,59±0,08	0,69±0,03	0,70±0,08
C18:1n-9	15,76±1,23	17,02±2,15	18,87±0,58	20,31±3,10
Σ MUFA <sup>3</sup>	16,80±1,34	18,12±2,29	20,11±0,61	21,51±3,20
C18:2n-6	18,12±1,66b	21,60±2,95a	23,82±0,72a	23,07±2,39a
C18:3n-6	0,08±0,01	0,09±0,01	0,10±0,01	0,09±0,01
C20:2n-6	0,61±0,05c	0,78±0,12b	0,94±0,04a	0,79±0,10b
C20:3n-6	0,17±0,01c	0,28±0,04b	0,32±0,01a	0,25±0,03b
Σ n-6 PUFA <sup>4</sup>	18,98±1,72b	22,76±3,11a	25,18±0,78a	24,20±2,50a
C18:3n-3	0,19±0,02b	0,24±0,03b	0,29±0,01a	0,22±0,02b
C20:3n-3	0,25±0,01b	0,35±0,03a	0,40±0,04a	0,28±0,01b
Σ n-3 PUFA <sup>5</sup>	0,44±0,01c	0,59±0,07b	0,68±0,05a	0,52±0,03b
Σ PUFA <sup>6</sup>	19,42±1,73d	23,35±3,21c	25,87±0,82a	24,70±2,52b

\* Valores estão expressos em média ± DP. As médias seguidas por letras diferentes na mesma linha, diferem significativamente entre si pelo teste F.

<sup>1</sup> FL, fosfolípideos; VC, vitamina C. Apresentados em g kg<sup>-1</sup> da dieta

<sup>2</sup>SFA: Ácidos graxos saturados

<sup>3</sup>MUFA: Ácidos graxos monoinsaturados

<sup>4</sup>n-6 PUFA: Ácidos graxos poliinsaturados n-6

<sup>5</sup>n-3 PUFA: Ácidos graxos poliinsaturados n-3

<sup>6</sup> PUFA: Ácidos graxos poliinsaturados

Em peixes, assim como em outras espécies de animais monogástricos, a composição lipídica tecidual reflete a alimentação e pode ser alterada pela manipulação da dieta. Normalmente, as fontes de ácidos graxos mais utilizadas na alimentação animal são as de origem vegetal, por possuírem preços mais acessíveis no mercado (RIBEIRO et al., 2008)

No presente estudo, foram utilizadas como principais fontes de lipídeos, o óleo de soja e a lecitina de soja. Ambos os óleos, são fontes ricas de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados da família ômega-6. No entanto, durante os processos normais de refinação de óleos, como o de soja, os fosfolipídeos são separados pelo processo de degomagem do óleo bruto, obtendo-se a lecitina. Assim, os ácidos graxos presentes no óleo de soja estão contidos principalmente nas moléculas de triacilgliceróis. Enquanto, na lecitina de soja, os ácidos graxos encontram-se principalmente nos fosfolipídeos (TOCHER et al., 2008).

Na análise de composição química dos ácidos graxos presentes nas dietas experimentais (Tabela 2), pode-se perceber que as dietas que tiveram inclusão de fosfolipídeos, apresentaram maiores valores de ácidos graxos poliinsaturados e menores valores de ácidos graxos saturados, quando comparados com as dietas, nas quais não se incluíram fosfolipídeos. Por conseguinte, as pós-larvas que receberam suplementação de fosfolipídeos (Dieta 3 e Dieta 4), apresentaram valores significativamente maiores ( $P < 0,05$ ) de ácidos graxos poliinsaturados e valores significativamente menores ( $P < 0,05$ ) de ácidos graxos saturados em sua composição, quando comparados com os animais que receberam a dieta sem inclusão de fosfolipídeos (Dieta 1 e Dieta 2).

No entanto, foi observado que nas carcaças das pós-larvas que receberam somente a suplementação de fosfolipídeos (Dieta 3), obtiveram valores significativamente maiores ( $P < 0,05$ ) de ácidos graxos poliinsaturados quando comparados com os animais que receberam a suplementação de fosfolipídeos e

vitamina C (Dieta 4). Esse fato, comprova o motivo pelo qual as pós-larvas que receberam a dieta 4, apresentaram menores resistências em temperaturas baixas (14°C), quando comparado com o dos animais que receberam a dieta 3, observado na figura 17. Os altos níveis de vitamina C contidos na dieta 4, provavelmente, promoveram efeitos pró-oxidantes no metabolismo do animal, causando a peroxidação lipídica e diminuição dos teores de ácidos graxos poliinsaturados nos tecidos das pós-larvas que receberam essa dieta.

Estudos realizados por Ren et al. (2010) avaliando diferentes níveis de vitamina C e fosfolipídeos em dietas para larvas de goraz sobre o crescimento, sobrevivência e resistência ao estresse, concluíram que a utilização de 800 mg de ácido ascórbico e 40g de fosfolipídeos $\text{kg}^{-1}$  na dieta, são necessários para as larvas de goraz com 26 a 40 dias pós eclosão, para proporcionar maior sobrevivência em ambientes estressante. O presente estudo, demonstrou que as pós-larvas de piracanjuba alimentadas com a dieta suplementada apenas com fosfolipídeos (dieta 3) apresentaram maiores valores de ácidos graxos poliinsaturados o que, possivelmente, promoveu melhor resposta ao estresse térmico. No entanto, vale ressaltar que, na dieta 3, apesar de não ter sido suplementada com vitamina C, o Premix utilizado, nesse experimento, continha níveis de 350 mg de vitamina C  $\text{kg}^{-1}$  da dieta, o que pode ter atuado como antioxidante melhorando a resposta.

Os resultados da composição de extrato etéreo e proteína bruta do corpo inteiro das pós-larvas de piracanjuba, estão apresentados na Tabela 7. Não houve interação significativa ( $P>0,05$ ) dos níveis de vitamina C e fosfolipídeos sobre a composição corporal de proteína bruta e extrato etéreo nas pós-larvas. Mas, foi observado efeito significativo de tratamento ( $P<0,05$ ), onde os valores de proteína bruta e extrato etéreo nos animais que receberam fosfolipídeos dietéticos foram significativamente menores ( $P<0,05$ ). Além disso, foi encontrada diferença significativa ( $P<0,05$ ) na suplementação de vitamina C sobre os valores de



proteína bruta, sendo observado que houve diminuição da proteína bruta das larvas suplementadas com vitamina C.

Tabela 6 Composição de extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB) do corpo inteiro de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus* alimentadas com diferentes conteúdos de fosfolipídeos (FL) e vitamina C (VC), durante 34 dias (%do peso seco). \*

Conteúdo (g kg <sup>-1</sup> )	FL		VC		CV (%)
	0	20	0	2	
EE	17,43±0,38a	14,98±0,65b	16,05±1,71	16,35±1,09	3,02
PB	57,38±2,20a	53,84±2,40b	57,40±2,48a	53,82±2,06b	2,41

\* Valores estão expressos em média ± DP. As médias seguidas por letras diferentes na linha do mesmo suplemento, não diferem significativamente entre si pelo teste F.

Os resultados encontrados neste trabalho estão diferentes aos obtidos por Zhao et al. (2013). Esses autores obtiveram maiores valores de proteína bruta e extrato etéreo em pós-larvas da grande corvina amarela *Larmichthys crocea* alimentadas com dietas moderadas de fosfolipídeos. Entretanto, vale ressaltar que, no presente estudo, os animais que não receberam suplementação de fosfolipídeo e vitamina C (Dieta 1), apresentaram problemas como agressividade dos animais nos aquários, provocando a morte dos mesmos e, alterando a densidade de estocagem, além de terem obtidos nutrientes que estavam contidos na carcaça de outros animais. Portanto, essas pós-larvas apresentaram melhor crescimento e maiores teores de proteína bruta e extrato etéreo.

A composição mineral de Cálcio (Ca) e fósforo (P) encontrados na carcaça das pós-larvas de piracanjuba, está apresentada na Tabela 8. Não houve efeito significativo da interação (P<0,05) entre os níveis de fosfolipídeo e vitamina C da dieta, sobre a concentração de P. Para as concentrações de Ca, a interação foi significativa (P<0,05), sendo a maior concentração de Ca obtida para as pós-larvas que receberam somente a suplementação de fosfolipídeo na dieta

(Dieta 3). A menor concentração de Ca foi encontrada para pós-larvas suplementadas com fosfolipídeos e vitamina C (Dieta 4).

Tabela 7 Composição de Cálcio e fósforo do corpo inteiro de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus* alimentadas com diferentes conteúdos de fosfolipídeos (FL) e vitamina C (VC), durante 34 dias ( $\text{g kg}^{-1}$  do peso seco). \*

Conteúdos de FL ( $\text{g kg}^{-1}$ )	VC			
	0		2	
	Fósforo		Cálcio	
0	27,44 $\pm$ 0,76	27,95 $\pm$ 0,84	44,08 $\pm$ 0,20B	43,74 $\pm$ 0,08A
20	28,80 $\pm$ 0,30	26,66 $\pm$ 0,42	46,74 $\pm$ 0,18Aa	38,68 $\pm$ 0,49Bb
CV (%)	2,24		0,65	

\* Valores estão expressos em média  $\pm$  DP. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha e por letras maiúsculas diferentes na coluna da mesma variável, diferem significativamente entre si pelo teste F.

Uma possível explicação para o baixo valor de Ca encontrado na carcaça das pós-larvas que receberam a dieta com suplementação de fosfolipídeos e vitamina C (Dieta 4) se deve, principalmente, à alta concentração de vitamina C na dieta. Segundo Darias et al. (2011a), em estudo de dose-resposta com vitamina C, em larvas de robalo europeu, foi observada uma diminuição na quantidade de transcritos de SVCT-1 (principal transportador de vitamina C no intestino) e TRPV-6 (principal transportador de Cálcio no intestino), com o aumento da vitamina C na dieta, sugerindo a existência de um mecanismo de controle para a absorção de vitamina C e Ca a nível de transcrição. De acordo ainda com os mesmos autores, para a transcrição de SVCT-1 requer íons de Ca, logo, baixa expressão de TRPV-6 poderia implicar baixa síntese de transportador de TRPV-6, impedindo, assim, a absorção intestinal suficiente de Ca para promover altos níveis de expressão de SVTCT-1. Dessa forma, a dieta com vitamina C poderia modular a expressão de TRPV-6, um gene que é modulado pelo receptor da vitamina D.

No presente estudo, a menor concentração de Ca nas carcaças foi encontrada em pós-larvas que receberam dieta contendo maior valor de vitamina C e fosfolípídeo (Dieta 4), não sendo observada diferença significativa na concentração de Ca quando os animais receberam somente altas doses de vitamina C (Dieta 2) em comparação com a dieta controle. Assim, provavelmente, além dos altos níveis de vitamina C influenciando a redução da concentração de Ca nas pós-larvas que receberam a dieta 4, a inclusão de fosfolípídeos dietéticos pode ter influenciado também nessa diminuição. Sabe-se que os fosfolípídeos favorecem a absorção de vitaminas lipossolúveis, incluindo a vitamina D. Essa vitamina, por meio de seus receptores (VDR) induz a expressão de várias proteínas de ligação de transporte de Ca no intestino, estimulando a absorção ativa de Ca, preservando, assim, a normocalcemia e, indiretamente, a manutenção de mineralização óssea. Como o principal transportador de Ca no intestino (TRPV-6), possivelmente, estivesse com sua expressão sendo inibida pelo excesso de vitamina C na dieta, a manutenção da normocalcemia pela vitamina D, foi por meio da reabsorção de Ca nos ossos e assim, diminuiu a concentração de Ca na carcaça das pós-larvas.

Para os animais que receberam dieta somente com a suplementação de fosfolípídeo (Dieta 3), a concentração de Ca na carcaça foi significativamente superior ( $P < 0,05$ ) que dos demais tratamentos, demonstrando que uma possível melhora na absorção de vitamina D, nesse grupo, foi obtida pela inclusão de fosfolípídeo. Provavelmente, essa vitamina promoveu uma maior absorção de Ca no intestino, em decorrência de que a expressão dos transportadores de Ca no intestino, não estivesse inibida pela alta concentração de vitamina C na dieta.

O mesmo não foi observado para a concentração de P na carcaça das pós-larvas, onde não houve efeito significativo ( $P > 0,05$ ) para as diferentes dietas. Apesar disso, houve uma pequena tendência de níveis mais altos de P para as pós-larvas que receberam a dieta 3 e níveis mais baixos para as pós-larvas que receberam a dieta 4, possivelmente, em razão de que Ca e o P estivessem

estritamente relacionados entre si no metabolismo e fisiologia animal. Estudos têm demonstrado que a suplementação de fosfolípido pode afetar o desenvolvimento do intestino, aumentando a atividade de algumas enzimas intestinais, sendo a fosfatase alcalina uma delas (ZHAO et al., 2013). A atividade dessa enzima está, positivamente, correlacionada com a absorção de lipídeos, glicose, cálcio e fósforo inorgânico (TENGGARONKUL; SMITH; CACECI, 2000).

Os resultados obtidos com este trabalho, demonstram que a utilização de altas doses de vitamina C pode não ser a forma mais eficiente de aumentar a concentração de vitamina C no corpo do animal. Isso está em conformidade com estudos anteriores que mostraram que a vitamina C é bem absorvida em doses baixas, mas a absorção diminui à medida que aumenta o nível na sua dieta (PADAYATTY; LEVINE, 2001).

## **6 CONCLUSÃO**

Em conclusão, com base nos dados de desempenho, composição corporal e resistência ao estresse térmico de pós-larvas de piracanjuba, preconiza-se a dieta 3 suplementada com 0,0 g kg<sup>-1</sup> de vitamina C (0,350 g kg<sup>-1</sup> de vitamina C) e 20,0 g kg<sup>-1</sup> de fosfolípídeos.

## REFERÊNCIAS

- AI, Q. et al. Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, n. 1, p. 327–336, Nov. 2006.
- ANDRÉS, R.; MARTÍ, O.; ARMARIO, A. Direct evidence of acute stress induced facilitation of ACTH response to subsequent stress in rats. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 277, n. 3, p. 863-868, Sept. 1999.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analyses**. 16<sup>th</sup> ed. Washington: AOAC, 1995. 2000 p.
- AUSTIN, B.; AUSTIN, D. **Bacterial fish pathogens: diseases of farmed and wild fish**. 4. ed. Chichester: Springer, 2007. 594 p.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à aquicultura**. 2. ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2009. 352 p.
- BARAS, E. et al. Sibling cannibalism in dorada under experimental conditions. I. Ontogeny, dynamics, bioenergetics of cannibalism and prey size selectivity. **Journal of Fish Biology**, London, v. 57, n. 4, p. 1001-1020, Oct. 2000.
- BARROS, M. M. et al. Níveis de vitamina C e ferro para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 2149-2156, nov./dez. 2002.
- BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**, Danvers, v. 1, p. 3-26, 1991.
- BENZIE, I. F. F. Evolution of dietary antioxidants (review). **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular and Integrative Physiology**, New York, v. 136, n. 1, p. 113-126, Sept. 2003.
- BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. (Ed.). **Biochemistry**. New York: W. H. Freeman, 2002. 541 p.
- BETANCOR, M. B. et al. Vitamin C enhances vitamin E status and reduces oxidative stress indicators in sea bass larvae fed high DHA microdiets. **Lipids**, Champaign, v. 47, p. n. 12, p. 1193-1207, Dec. 2012.

BLAGOJEVIĆ, D. P. Free radical biology in hypothermia. **Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants**, Amsterdam, p. 375–391, May 2014.

BUETTNER, G. R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation,  $\alpha$ -tocopherol, and ascorbate. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 300, n. 2, p. 535-543, Feb. 1993.

BURTLE, G. J.; NEWTON, G. L.; BLURN, S. A. L-Carnitine supplemented catfish diet. **US Patentn.5030657**. Geórgia: University of Georgia Research Foundation, 1991.

CAO, J. M.; LIN, D.; LAO, C. L. Effect of dietary soybean phospholipids on fatty acid composition of grass carp hepatopancreas lipids. **Journal of Fisheries of China**, China, v. 21, n. 1, p. 32–38, 1997.

CASTAGNOLLI, N. **Criação de peixes de água doce**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1992. 189 p.

CAVALCANTI, C. de A. **Proteases digestivas em juvenis de piracanjuba ((*Brycon orbignyanus*) Eigenmann, 1909) e aplicações da técnica de digestibilidade “in vitro”**. 1998. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1998. 101 p.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 441-449, mar./abr. 2007.

COITINHO, A. S.; DUTRA-FILHO, C. S.; SALBEGO, C. G. **A vitamina E e o seu uso como antioxidante**. 1997. 67 p. Monografia (Trabalho de Conclusão da Disciplina de Estágio Curricular em Farmácia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.

COOKBOOH SHIMADZU. **Operation manual**: atomic absorption spectrophotometer AA 6800. Osaka: Academic Press, 2002. 157 p.

CORTESI, R.; PRIVETT, O. S. Toxicity of fatty ozonides and peroxides. **Lipids**, Champaign, v. 7, n. 11, p. 715–721, Nov. 1972.

COUTTEAU, P. et al. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. **Aquaculture**, Amsterdam, v.155, n. 1-4, p. 149–164, Sept. 1997.

CYRINO, J. E. P. Suplementação de vitamina C em rações para reversão sexual da tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 221-228, abr./jun. 2000.

DABROWSKI, K. Ascorbate concentration in fish ontogeny. **Journal of Fish Biology**, London, v. 40, n. 2, p. 273-279, Feb. 1992.

DARIAS, M. J. et al. Imbalanced dietary ascorbic acid alter molecular pathways involved in skeletogenesis of developing European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus, 1758). **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular and Integrative Physiology**, New York, v. 159, n. 1, p. 46-55, May 2011a.

DARIAS, M. J. et al. Overview of vitamin D and C requirements in fish and their influence on the skeletal system. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 315, n. 1-2, p. 49-60, May 2011b.

DAVIES, K. J. A. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems (critical review). **IUBMB Life**, London, v. 50, n. 4-5, p. 279-289, Oct./Nov. 2000.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biology Chemistry**, Baltimore, v. 226, n. 1, p. 497-509, May 1957.

FRACALOSSO, D. M. et al. Ascorbic acid biosynthesis in Amazonian fishes. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 192, n. 2-4, p. 321-332, Jan. 2001.

FRACALOSSO, D. M. et al. Oscars, *Atrionotus ocellatus*, have a dietary requirement for vitamin C. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 128, n. 10, p. 1745-1751, Oct. 1998.

FRANKEL, E. N. **Lipid oxidation**. Dundee: The Oily Press, 1998. 303 p.

FRISCH, A. J.; ANDERSON, T. A. The response of coral trout (*Plectropomus leopardus*) to capture, handling and transport and shallow water stress. **Fish Physiology and Biochemistry**, Baltimore, v. 23, n. 1, p. 23-34, July 2000.

GAETKE, L. M.; CHOW, C. K. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. **Toxicology**, Amsterdam, v. 189, n. 1-2, p. 147-163, July 2003.

GANECO, L. N. et al. Análise morfológica do desenvolvimento ovocitário de piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, durante o ciclo reprodutivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 131-138, Nov. 2001.

GAPASIN, R. S. J. et al. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish (*Chanos chanos*) larval performance. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 162, n. 3, p. 269–286, Mar. 1998.

GERY, J.; MAHNERT, V.; LOUHY, D. Poissons characoides non Characidae du Paraguay (Pisces, Ostariophysi). **Revue Suisse de Zoologie**, Geneve, v. 94, n. 2, p. 357-464, July 1987.

GOUILLOU-COUSTANS, M. F.; BERGOT, P.; KAUSHIK, S. J. Dietary ascorbic acid needs of common carp (*Cyprinus carpio*) larvae. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 161, n. 1-4, p. 453–461, Feb. 1998.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 3. ed. Oxford: Clarendon Press, 1999. 900 p.

HALVER, J. E. **Fish nutrition**: school of aquatic and fishery sciences. 3. ed. Washington: University of Seattle, 2002. 824 p.

HALVER, J. E. The role of ascorbic acid in fish disease and tissue repair. **Japanese Society of Fisheries Science**, Kyushu, v. 38, n. 1, p. 79–92, 1972.

HAMRE, K. et al. Vitamins C and E interact in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*, L). **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 22, n. 1-2, p. 137–149, 1997.

HARDIE, L. J. et al. In vitro addition of vitamin-C affects rainbow trout lymphocyte responses. **Fish Shellfish Immunology**, Amsterdam, v. 3, n. 3, p. 207–219, May 1993.

HENDERSON, R. J.; ALTAMAR, S. M. Seasonal changes in the lipid composition of herring (*clupea harengus*) in relation to gonad maturation. **Marine Biology**, Berlin, v.69, n. 2, p. 323-334, May 1989.

HENDERSON, R. J.; SARGENT, J. R.; HOPKINS, C. C. E. Changes in the content and fatty acid composition of lipid in an isolated population of capelin *Mallotus villosus* during sexual maturation and spawning. **Marine Biology**, Berlin, v.78, n. 3, p. 255-263, Feb. 1984.



HERMES-LIMA, M.; STOREY, J. M.; STOREY, K. B. Antioxidant defenses and animal adaptation to oxygen availability during environmental stress. **Cell and Molecular Response to Stress**, Amsterdam, v.2, p. 263–287, 2001.

HOWES, G. Review of the generous *Brycon* (Teleostei: Characoidei). **Bulletin of the British Museum Natural History**, Oxford, v. 43, n. 1, p. 1-4, July 1982.

IRITANI, N. et al. Comparative study of lipogenic enzymes in several vertebrates. **Lipids**, Champaign, v. 19, n. 11, p. 825–835, Nov. 1984.

JING-KE, L. et al. Effects of fish oil, DHA oil and lecithin in microparticulate diets on stress tolerance of larval gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, China, v. 20, n. 4, p. 338–343, Dec. 2002.

JOHNSTON, I. A.; BENNETT, A. F. **Animals and temperature: phenotypic and evolutionary adaptation**. Cambridge: Cambridge University Press, 2008. 436 p.

KAGAN, V. E. et al. Are changes in the microviscosity and an asymmetrical distribution of phospholipids in the membrane necessary conditions for signal transmission? A comparison of the mechanisms of signal transmission in plasma membranes of brain synaptosomes and photoreceptor membranes of the retina. **Zhurnal Evoliutsionnoĭ Biokhimii i Fiziologii**, Moscow, v. 20, n. 1, p. 6–11, Jan./Feb. 1984.

KANAZAWA, A. Effects of docosahexaenoic acid and phospholipids on stress tolerance of fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v.155, n. 1-4, p. 129–134, Sept. 1997.

KANAZAWA, A. et al. Effects of phospholipids on survival rate and incidence of malformation in the larval ayu. **Memoirs of the Faculty of Fisheries**, Kagoshima, v. 30, p. 301–309, Dec. 1981.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. The vitamins. In: RUCKER, R.B.; MORRIS, J. G. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997. p. 703-739.

KESTEMONT, P. et al. Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae; biotic and abiotic influences. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 227, n. 1-4, p. 333-356, Nov. 2003.

KRAUS, V. B. et al. Ascorbic acid increases the severity of spontaneous knee osteoarthritis in a guinea pig model. **Arthritis Rheumatism**, Atlanta, v. 50, n. 6, p. 1822–1831, June 2004.

KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação dos peixes cultivados**. 3. ed. rev. e ampl. Jundiaí: F. Kubitza, 1999. 123 p.

LAVENS, P. et al. Supplementation of ascorbic acid 2-monophosphate during the early postlarval stages of the shrimp *Penaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 5, n. 3, p. 205-209, Dec. 1999.

LIM, C.; LOVELL, R. T. Pathology of the vitamin C deficiency syndrome in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 108, n.7, p. 1137–1146, July 1978.

LIN, H.; DECUYPERE, E.; BUYSE, J. Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular and Integrative Physiology**, New York, v. 144, n. 7, p. 11–17, July 2006.

LIN, M. F.; SHIAU, S. Y. Dietary L-ascorbic acid affects growth, nonspecific immune responses and disease resistance in juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 244, n. 1, p. 215–221, May 2005.

LOPES, R. N. M.; SENHORINI, J. A.; SOARES, M. C. F. Crescimento e sobrevivência de larvas de matrinxã *Brycon cephalus* Gunther, 1869, (Pisces, Characidae) sob diferentes dietas alimentares. **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v. 7, p. 41-48, 1994.

MASUMOTO, T.; HOSOKAWA, H.; SHIMENO, S. Ascorbic acid's role in aquaculture nutrition. In: AQUACULTURE FEED PROCESSING AND NUTRITION WORKSHOP, 1991, Thailand. **Proceedings...** Singapore: American Soybean Association, 1991.

McCULLAGH, P.; NELDER, J. A. **Generalized linear model**. 2. ed. London: Chapman and Hall, 1989. 511 p.

MENDONÇA, J. O. J. Criação de espécies do gênero *Brycon* no CEPTA/IBAMA. In: I SEMINÁRIO SOBRE CRIAÇÃO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *BRYCON*, 1994, Pirassununga. **Anais...** Pirassununga: CEPTA, 1994. p. 31-49.

MERCHIE, G. et al. Dietary ascorbic acid requirements during the hatchery production of turbot larvae. **Journal of Fish Biology**, London, v. 49, n. 4, p. 573-583, Oct. 1996.

MONTERO, D. et al. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 171, n. 3-4, p. 269-278, Feb. 1999.

MOREAU, R. et al. Vitamin C-vitamin E interaction in juvenile lake sturgeon (*Acipenser fulvescens* R.), a fish able to synthesize ascorbic acid. **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 15, n. 4-5, p. 250-257, Sept. 1999.

MOSCHETTA, A. et al. A phylogenetic survey of biliary lipids in vertebrates. **Journal of Lipid Research**, Memphis, v. 46, n. 10, p. 2221-2232, Oct. 2005.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações**. 5. ed. Rio de Janeiro: Medbook, c2009. 382 p.

MURGAS, L. D. S.; FRANCISCATTO, R. T.; SANTOS, A. G. O. Avaliação espermática pós-congelamento em piracanjuba (*Brycon orbignyianus*, Valenciennes, 1849). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1810-1814, nov./dez. 2003.

MURRAY, R. K. et al. **Harper: bioquímica**. 9. Ed. São Paulo: Atheneu, 2002. 919 p.

NAKAGAWA, H. et al. Effect of dietary catechin and *Spirulina* on vitamin C metabolism in red sea bream. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 66, n. 2, p. 321-326, Apr. 2000.

NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A. A.; BAUMGARTNER, G. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação**. Maringá: EDUEM, 2001. 378 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of fishes**. Washington: National Academy of Sciences, 1993. 128 p.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 5. ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2008. 1100 p.

NIKI, E. et al. Regeneration of vitamin E from alphachromanoxyl radical by glutathione and vitamin C. **Chemistry Letters**, Tokyo, v. 11, p. 789-792, 1982.

NORDBERG, J.; ARNER, E. S. J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 31, n. 11, p. 1287–1312, Dec. 2001.

ODIN, A. P. Vitamins as antimutagens: advantages and some possible mechanisms of antimutagenic action. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 386, n. 1, p. 39-67, Mar. 1997.

OKAMURA, D. et al. Efeito da vitamina C sobre o hematócrito e glicemia de alevinos de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) em transporte simulado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 4, p. 883-888, ago. 2007.

OKAMURA, D. et al. Palmitato de ascorbil e acetato de tocoferol como antioxidantes metabólicos em larvas de dourado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 8, p. 1061-1068, ago. 2008.

OLSEN, R. E.; RINGØ, E. Lipid digestibility in fish: a review. **Recent Research Developments in Lipids**, Amsterdam, v. 1, p. 199–265, 1997.

ORTUÑO, J.; ESTEBAN, M. A.; MESEGUER, J. The effect of dietary intake of vitamins C and E on the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). **Fish Shellfish Immunology**, Amsterdam, v. 14, n. 2, p. 145-156, Feb. 2003.

PADAYATTY S. J.; LEVINE M. New insights into the physiology and pharmacology of vitamin C. **CMAJ**, Ottawa, v. 164, n. 3, p. 353–355, Feb. 2001.

PEAKE, J. M. Vitamin C: effects of exercise and requirements with training. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, Champaign, v. 13, n. 2, p. 125-151, June 2003.

PEDREIRA, M. M. et al. Larvicultura de matrinxã em tanques de diferentes cores. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1365-1369, 2008.

PEDREIRA, M. M.; SIPAÚBA-TAVARES, L. H. Effect of prey size selection and ration addition on the rearing of piracanjuba larvae, *Brycon orbignyanus*. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, Diamantina, v. 14-15, n. 1, p. 99–110, Oct. 2002.

PENG, S. M. et al. Effect of high-dose vitamin C supplementation on growth, tissue ascorbic acid concentrations and physiological response to transportation

stress in juvenile silver pomfret, *Pampus argenteus*. **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 29, n. 6, p. 1337–1341, Dec. 2013.

PHROMKUNTHONG, W.; BOONYARATPALIN, V.; STARCH, V. Different concentrations of ascorbyl-2-monophosphate-magnesium as dietary sources of vitamin C for seabass, *Lates calcarifer*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 151, n. 1-4, p. 225-243, May 1997.

POSTON, H. A. Effect of body size on growth, survival and chemical composition of Atlantic salmon fed soy lecithin and choline. **The Progressive Fish-Culturist**, Washington, v. 52, n. 4, p. 226–230, 1990b.

POSTON, H. A. Performance of rainbow trout fed supplemental soybean lecithin and choline. **The Progressive Fish-Culturist**, Washington, v. 52, n. 4, p. 218–225, 1990a.

R CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2014. 258 p.

REN, T. et al. Interactive effects of dietary vitamin C and phospholipid in micro-bound diet for growth, survival, and stress resistance of larval red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 16, n. 4, p. 475-482, Dec. 2010.

REN, T. et al. Optimum dietary level of L-ascorbic acid for Japanese eel, *Anguilla japonica*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 36, n. 5, p. 437–443, Oct. 2005.

REYNALTE-TATAJE, D.; ZANIBONI-FILHO, E.; ESQUIVEL, J. R. Embryonic and larvae development of piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1849 (Pisces, Characidae). **ActaScientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 67-71, 2004.

RIBEIRO, P. A. P. et al. Efeito do uso de óleo na dieta sobre a lipogênese e o perfil lipídico de tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 8, p. 1331-1337, ago. 2008.

RICE, M. et al. Brain antioxidant regulation in mammals and anoxia-tolerant reptiles: balanced for neuroprotection and neuromodulation. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Toxicology and Pharmacology**, New York, v. 133, n. 4, p. 515–525, Dec. 2002.

RODRÍGUEZ, G. P. Funciones de la vitamina E en la nutrición humana. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición, Cuba*, v. 11, n. 1, p. 46-57, 1997.

ROTTA, M. A. **Utilização do ácido ascórbico (Vitamina C) pelos peixes**. Corumbá:Embrapa Pantanal, 2003. 54 p.

SÁ, M. V. C.; FRACALOSSI, D. M. Exigência protéica e relação energia/proteína para alevinos de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 1-10, jan./fev. 2002.

SACCOL-PEREIRA, A.; NUÑER, A. P. O. Utilização de diferentes densidades, dietas e formatos de tanque na larvicultura da piracanjuba, *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1849 (Characiformes, Characidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 55-61, 2003.

SALHI, M. et al. Effect of lipid and n-3 HUFA levels in microdiets on growth, survival and fatty acid composition of larval gilthead seabream (*Sparus aurate*). **Aquaculture**, Amsterdam, v.124, p. 275-282, 1994.

SARGENT, J. R.; HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. The lipids, In: HALVER, J. E. (Ed.). **Fish nutrition**. 2. ed. New York: Academic Press, 1989. p. 153-218.

SARGENT, J. R.; HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. The lipids, In: HALVER, J. E. (Ed.). **Fish nutrition**. 3. ed. San Diego: Academic Press, 2002. p. 181-257.

SENHORINI, J. A.; GASPAR, L. A.; FRANSOZO, A. Crescimento, sobrevivência e preferência alimentar de larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) e de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) em viveiros. **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v. 15, p. 9-21, 2002.

SHIAU, S.; HSU, T. L-Ascorbyl-2-sulfate has equal antiscorbutic activity as L-ascorbyl-2-monophosphate for tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 133, n. 2, p. 147-157, June 1995.

SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. **Angewandte Chemie**, Weinheim, v. 25, n. 12, p. 1058-1071, Dec. 1986.

SKJAERVEN, K. H. et al. Redox regulation in Atlantic cod (*Gadus morhua*) embryos developing under normal and heat-stressed conditions. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 57, p. 29-38, Apr. 2013.

SMITH, G. G.; BROWN, M. R.; RITAR, A. J. Feeding juvenile *Artemia* enriched with ascorbic acid improves larval survival in the spiny lobster *Jasus edwardsii*. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 10, p. 105-112, 2004b.

SMITH, G. G.; BROWN, M. R.; RITAR, A. J. Uptake and metabolism of a particulate form of ascorbic acid by *Artemia nauplii* and juveniles. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 10, n. 2, p. 1-8, Apr. 2004a.

SOLIMAN, A. K.; JAUNCEY, K.; ROBERTS, R. J. Water-soluble vitamin requirements of tilapia: ascorbic acid (vitamin C) requirement of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 269-278, Mar. 1994.

TAKEUCHI, T. et al. Supplemental effect of phospholipids and requirement of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid of juvenile striped jack. **Nippon Suisan Gakkaishi**, Tokyo, v.58, n. 4, p. 707-713, 1992.

TENGJAROENKUL, B.; SMITH, B. J.; CACECI, T. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 182, n. 3-4, p. 317-327, Feb. 2000.

TOCHER, D. R. et al. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 280, n. 1-4, p. 21-34, Aug. 2008.

TOCHER, D. R. Glycerophospholipid metabolism. In: HOCHACHKA, P. W.; MOMMSEN, T. P. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of fishes. Metabolic and adaptational biochemistry**: volume 4. Amsterdam: Elsevier Press, 1995. p. 119-157.

TOCHER, D. R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Reviews in Fisheries Science**, London, v. 11, n. 2, p. 107-184, Apr. 2003.

TOLBERT, B. M. Ascorbic acid metabolism and physiological function. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, Berne, v. 19, p. 127-142, 1979.

TOYAMA, G. N.; CORRENTE, J. E.; CYRINO, J. E. P. Suplementação de vitamina c em rações para reversão sexual da tilápia do Nilo. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 221-228, abr./jun. 2000.

VAZ, M. M.; TORQUATO, V. C.; BARBOSA, N. D. C. **Guia ilustrado de peixes da bacia do Rio Grande**. Belo Horizonte: CEMIG, 2000. 144 p.

VENDITTI, P.; DI STEFANO, L.; DI MEO, S. Oxidative stress in cold-induced hyperthyroid state. **Journal of Experimental Biology**, London, v. 213, n. 17, p. 2899–2911, Sept. 2010.

WANG, X. et al. Effects of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 215, n. 1-4, p. 203-211, Jan. 2003.

WEIRICH, C. R.; REIGH, R. C. Dietary lipids and stress tolerance of larval fish. In: LIM, C.; WEBSTER, C. D. (Ed.). **Nutrition and fish health**. New York: Food Products Press, 2001. p. 301–312.

WOODWARD, B. Dietary vitamin requirements of cultured young fish, with emphasis on quantitative estimates for salmonids. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 124, n. 1-4, p. 133-168, July 1994.

XIE, Z. et al. Dietary ascorbic acid may be necessary for enhancing the immune response in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*), a species capable of ascorbic acid biosynthesis. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular and Integrative Physiology**, New York, v. 145, n. 2, p. 152–157, Oct. 2006.

ZAMBONINO-INFANTE, J. L.; CAHU, C. L. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Comparative Pharmacology**, New York, v. 130, n. 4, p. 477–487, Dec. 2001.

ZANIBONI FILHO, E.; SCHULZ, U. Migratory fishes of the Uruguay River. In: CAROLSFELD, J. et al. (Ed.). **Migratory fishes of South America: biology, fisheries, and conservation status**. Victoria: World FisheriesTrust, 2003. p. 157-194.

ZHAO, J. et al. Effects of dietary phospholipids on survival, growth, digestive enzymes and stress resistance of large yellow croaker, *Larmichthys crocea* larvae. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 410-411, p. 122-128, Oct. 2013.