

Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo  
Tavares-Dias, M. (Organizador)  
© 2009 Embrapa Amapá, Macapá.

## Capítulo 5

---

# Dieta: ferramenta importante para manejo dos peixes no cultivo

Laila Romagueira Bichara dos Santos & Eliane Tie Oba

### Resumo

*A realização de qualquer atividade requer gasto de energia e a reposição dessa energia é realizada via ingestão de alimentos. Proteínas, carboidratos e lipídios podem ser utilizados como fontes de energia, sendo as proteínas essenciais para o crescimento em peixes. Outros fatores como vitaminas e minerais também são importantes para a manutenção das atividades, crescimento e resposta aos estressores. Em piscicultura, há diversas fontes de estresse para os animais, como o aumento na concentração de matéria orgânica, o confinamento, a alta densidade de peixes e a concentração de oxigênio na água, que podem diminuir o crescimento dos animais por alterar seu metabolismo. Por isso, há necessidade de determinar as concentrações ótimas de cada componente alimentar para aumentar a resistência ao estresse e promover maior crescimento desses animais. Sendo assim, a formulação de dietas com todos os fatores nutricionais necessários a cada espécie é importante para que o produtor de pescado obtenha o crescimento dos animais em períodos mais curtos e com menor custo.*

### Abstract

*All activity requires some energetic expenditure and the reposition of this energy is made by the food ingestion. Protein, carbohydrate, and lipids are the main source of energy, but protein is the most important to fish. Some other factors as vitamins and minerals are important to the maintenance of activity, growth and stress responses. Organic matter, confinement, high density of animals and oxygen concentration in the water are sources of stress in fish farm ponds that may change the animals' growth and metabolism. Because of this it is very important determine the optimum concentrations of the diet components to increase the resistance to stress, growth and performance of fish. The diet formulation with all nutritional factors to which specie is important to culture and the production of fish with minimal costs and maximal performance.*

## Introdução

A performance de qualquer atividade a ser realizada requer gasto de energia e a reposição dessa energia é realizada via ingestão de alimentos. Proteínas, carboidratos e lipídios podem ser utilizados como fontes de energia, sendo as proteínas essenciais para o crescimento em peixes (Borba et al., 2003). Por isso, a dieta é fator essencial para o crescimento e manutenção de funções vitais, como respostas a estressores e defesas imunológicas de peixes. O funcionamento eficiente do organismo também depende da presença de certos lipídios e uma variedade de outros nutrientes (vitaminas e minerais) (Jobling, 1994), que podem ter seu requerimento alterado quando há alteração das condições da água, tais como temperatura e tensão de oxigênio.

A composição da dieta fornecida aos animais pode alterar inclusive a qualidade dos filés de peixe, produto final do processo de cultivo; por exemplo, a ausência de vitamina E na dieta gera danos à estrutura muscular, promovendo baixa qualidade do pescado. Por isso há a necessidade de determinar os níveis ótimos de cada nutriente para as diferentes espécies.

Muitos trabalhos determinam níveis tóxicos ou ideais utilizando parâmetros zootécnicos como crescimento e conversão alimentar, enquanto outros utilizam o estado de peroxidação das membranas celulares, principalmente no caso de vitaminas antioxidantes, como a vitamina E e C e micronutrientes como cobre, zinco e selênio. Sob o ponto de vista do produtor de pescado o mais importante é o crescimento dos animais em períodos mais curtos e com menor custo. Esta diminuição no período de tempo para se alcançar o crescimento dos peixes, pode ser obtida pela utilização de outros recursos como, por exemplo, manter os animais em natação constante em baixas velocidades (Oba, 2006). Além disso, muitos animais podem morrer ou despende maiores cuidados com tratamentos, caso sua alimentação não esteja adequada. A utilização de dietas adequadas ou balanceadas pode ser um pouco mais custosa, entretanto a taxa de conversão alimentar, por exemplo, pode ser maior que em dietas pobres em nutrientes.

Em pisciculturas há diversas fontes de estresse aos animais, como: aumento na concentração de matéria orgânica, o confinamento, a alta densidade de peixes e a concentração de oxigênio na água, que podem diminuir o crescimento dos animais por alterar seu metabolismo. Por isso há necessidade de determinar concentrações ótimas de cada componente alimentar para aumentar a resistência ao estresse e promover maior crescimento desses animais.

O custo da produção de peixes tem como um de seus principais componentes a dieta, que compromete 24,85% a 36,40% de seu custo total (Scorvo-Filho et al., 1998), assim sendo o melhor entendimento das características alimentares e necessidades nutricionais desses animais aperfeiçoam a piscicultura.

A utilização de dieta industrializada permite ao produtor melhor controle dos níveis de vitaminas, minerais e outros fatores na dieta. A quantidade de proteína presente na maioria das dietas varia entre 26%–32% para a maioria das espécies já estudadas. Porém, em espécies tropicais, que apresentam grande potencialidade para a piscicultura, há poucas informações

a respeito de suas exigências nutricionais. Em muitas espécies de peixes cultivados já foi observada grande relação entre o estado nutricional e imunológico.

Dentre os fatores que alteram o comportamento alimentar desses animais estão temperatura da água, tamanho do animal e qualidade da água (poluentes e tensão de oxigênio dissolvido). A ração geralmente é administrada diariamente e para animais cultivados em temperaturas próximas a 25°C pode ser fornecida duas vezes ao dia, como observado em matrinxãs (Frasca-Scorvo et al., 2001; Santos & Yoshioka, observação pessoal), com comprovado aumento em seu crescimento.

Observou-se em curimatá *Prochilodus lineatus*, que o aumento da temperatura de 20 para 30°C promove uma redução na atividade de enzimas glicolíticas, que podem reduzir a disponibilidade de energia para esses animais (Carvalho & Fernandes, 2006), o que potencialmente prejudicaria seu crescimento. Essa mesma espécie apresentou menor tolerância ao cobre (maior CL<sub>50</sub>-96h) na água quando aclimatada em 30°C quando comparada a 20°C, além de alteração em parâmetros hematológicos, que podem promover maior gasto energético e desvio dos nutrientes apenas para a manutenção da homeostase, prejudicando o crescimento (Carvalho & Fernandes, 2006). É necessário, em cultivo de peixes tropicais e amazônicos, o controle da temperatura da água dos tanques e também da frequência de alimentação. A alimentação em excesso não é recomendada, pois, além de ser mais cara (diminuindo a lucratividade do empreendimento), pode promover o excesso de matéria orgânica nos tanques, reduzindo a concentração de oxigênio e prejudicando o crescimento dos animais.

Assim, este capítulo pretende discutir brevemente todos os principais nutrientes necessários para a formulação de uma dieta para peixe. Porém, como a necessidade de muitos destes nutrientes pode variar de espécie para espécie, isso não será tratado em detalhes, apenas de forma geral.

## **Proteína e Aminoácidos**

Muitos dos trabalhos realizados utilizaram salmonídeos e tilápias como parâmetros para a concentração utilizada de muitos nutrientes em peixes tropicais, no entanto, há diferenças em suas taxas de crescimento e tolerância a estressores como temperatura e tensão de oxigênio na água.

As proteínas representam uma importante fonte energética para os teleósteos (Weber & Zwingelstein, 1995). Aminoácidos nas dietas são uma forma de gerar maior rendimento na produção de filé com menores custos, por isso a determinação de seus níveis ideais para animais de nossa fauna torna-se bastante importante. A maioria das dietas de peixes deve apresentar níveis de aminoácidos mais elevados em juvenis, em torno de 35%–50%, dependendo da espécie estudada. Os salmões, por exemplo, quando adultos requerem aproximadamente 15% de aminoácidos essenciais, mas quando juvenis esse requerimento pode subir para 50% (NRC – 1993).

Em matrinxã *Brycon amazonicum*, por exemplo, sua melhor taxa de crescimento é alcançada em 29% de proteína em sua dieta, porém a adição de outros fatores não protéicos, como lipídios, pode aumentar seu crescimento (Sá & Fracalossi, 2002).

## **Carboidratos**

Como a maioria das espécies de peixes é onívora ou carnívora, os carboidratos não são a principal fonte de energia como em outros animais. Os carboidratos também são necessários na formulação das dietas de peixes, no entanto, as concentrações requeridas por cada espécie podem variar ainda mais, já que há muitas diferenças na utilização dos carboidratos como fonte energética em peixes. Em geral, a principal fonte energética de peixes são as proteínas e os lipídios, além de outros nutrientes como vitaminas e minerais. Por isso muitos poucos estudos foram realizados a fim de se conhecer o requerimento diário de carboidratos desses animais.

Em bagres, por exemplo, os carboidratos são uma fonte importante de energia e não requerem tanto lipídio na dieta quanto os salmonídeos (Lovell, 2002). Salmonídeos e trutas são bastante eficientes em obter energia de fonte protéica e lipídica, sendo que os carboidratos são pouco utilizados, por esse motivo os carboidratos, assim como a glicose, são incorporados sob a forma de glicogênio e reduzem o consumo alimentar e o crescimento desses animais (Dabrowski & Guderley, 2002).

Em casos de estresse como o jejum, os peixes geralmente mobilizam os lipídios como fonte de energia ao invés dos carboidratos. A truta arco-íris absorve cerca de 90% da glicose, mas a glicose digestível não apresenta o mesmo efeito de poupador de proteínas que os lipídios em casos de estresse.

## **Ácidos Graxos**

Os lipídios também são importantes fontes energéticas para peixes, como salmonídeos e trutas, assim como as proteínas, entretanto, são ainda menos custosos para o produtor. Peixes não assimilam muito bem os carboidratos e seu excesso na dieta pode proporcionar reduzido crescimento e aumento na concentração de glicogênio no músculo, que proporciona pior qualidade ao filé de peixe. Dietas deficientes em ácidos graxos essenciais são a causa da maioria das doenças nutricionais em peixes cultivados (Tacon, 1996; Sutton et al., 2006). Dentre os sinais de deficiência de ácidos graxos essenciais estão redução de apetite e de crescimento.

Borba et al. (2003) não observaram aumento no crescimento de matrinxã após suplementação com ácidos graxos, porém, houve uma tendência de redução no consumo alimentar e, conseqüentemente, aumento na conversão alimentar. No entanto, estudos realizados com truta arco-íris e salmão obtiveram aumento de ganho de peso quando se utilizou 30% de ácidos graxos; nos salmões há redução da oxidação dos filés, com redução na descoloração do filé (Chaiyapechara et al., 2003; Hamre et al., 2004).

Alguns desses ácidos graxos, como o eicosapentanoico (EPA) e docohexanoico (DHA) são essenciais para o crescimento ótimo e desenvolvimento de peixes marinhos (Sargent et al., 1999, 2002). E devido a sua inabilidade ou, em alguns casos, menor habilidade de peixes em converter ácido linoléico (18:3, n-3) em n-3, ainda mais insaturados (Hamre et al., 2001; Mourente et al., 2002; Sargent et al., 1999), esses devem estar presentes em sua dieta. Tilápias requerem ácidos graxos da família n-6. A suplementação da dieta desses animais com óleos vegetais (milho e soja),

ricos em 18:2 n-6, produzem melhor desempenho que peixes marinhos alimentados com ácidos graxos n-3 (Takeuchi et al., 1979).

No entanto, esses ácidos graxos ricos em insaturações como EPA e DHA são mais susceptíveis a peroxidação lipídica e sua utilização pode afetar adversamente gerando doenças, se não houver um cuidado com a geração de radicais livres (Mourente et al., 2002; Tacon, 1996). A peroxidação desses ácidos graxos pode alterar a fluidez da membrana, a função celular, a ação de receptores e enzimas e a permeabilidade a íons (Halliwell & Chirico, 1993). Algumas vitaminas como E e C, são importantes no processo de retirada de radicais livres, promovendo maior utilização desses ácidos graxos sem peroxidação das membranas (Halliell & Gutteridge, 1989). Ng et al. (2004) observaram que a substituição do óleo de peixe pelo óleo de palma em bagre do canal *Ictalurus punctatus* promove aumento do acúmulo de vitamina E nos tecidos e diminuição da oxidação do tecido muscular. Esse estudo sugere que há necessidade de balancear a quantidade de n-3 e n-6 em dietas para peixes, pois os ácidos graxos insaturados estão mais sujeitos à oxidação.

## Vitaminas

As vitaminas são compostos necessários em quantidades pequenas para o crescimento, reprodução e saúde normais. São classificadas como hidrossolúveis (vitaminas do complexo B e a vitamina C) e lipossolúveis (vitaminas A, D, E e K) (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1993). Deficiência em vitaminas pode resultar em reduzida função imune e a demanda por elas também pode se elevar durante algumas condições fisiológicas como reprodução e estresse e ser alterada pela temperatura da água. Em geral, temperaturas elevadas requerem maior concentração de vitaminas (revisado por Woodward, 1994).

Pouca atenção é dada aos cuidados necessários para evitar perdas durante o processamento e armazenamento de ração, que pode ser bastante limitado (6–8 semanas) para vitaminas hidrossolúveis e um pouco mais para as lipossolúveis vitaminas A, D<sub>3</sub> e E.

As vitaminas hidrossolúveis do complexo B atuam como ativadores de enzimas e têm importante papel no metabolismo de proteínas, lipídios e carboidratos. Estudo extensivo foi realizado para avaliar o papel do ácido fólico, riboflavina e ácido pantotênico e sugere que os níveis recomendados pelo NRC (1981) para o crescimento ótimo, também é adequado para a função imune (Leith & Kaattari, 1989).

A vitamina C ou ácido ascórbico, também hidrossolúvel, é essencial para formação de colágeno, hematopoiese, desintoxicação de compostos, bem como de funções metabólicas, como o sistema antioxidante. Recentemente, muitos estudos têm sido realizados para determinar o papel da vitamina C no sistema imune e na resistência a doenças em peixes. Altas doses de vitamina C aumentam a resistência a algumas bactérias e alguns patógenos em peixes (revisado por Waagbo, 1997; Verlhac & Gabaudan, 1997). Também foi demonstrado que a vitamina C é capaz de reduzir os efeitos deletérios de estresse ambiental ou de manejo na saúde dos animais. Consequentemente, peixes alimentados com dietas pobres em vitamina C são mais susceptíveis ao estresse causado por alterações na qualidade da água,

tais como amônia e hipóxia (Henrique et al., 1998) e às doenças infecciosas e parasitárias (Moraes & Moraes, 2009). Hilton (1989) e Wise et al. (1988) demonstraram que peixes alimentados com dietas com níveis de vitamina C superiores a 300 mg/kg são menos afetados pelos efeitos tóxicos do cobre e nitrito.

A vitamina A e outras vitaminas lipossolúveis também estão envolvidas no metabolismo celular. A vitamina E, por exemplo, ou  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ -T) faz parte das defesas antioxidantes e tem função de proteção de membranas biológicas e lipoproteínas contra oxidação, sendo por esta razão administrada na dieta de animais em cultivo, já que estão sujeitos a diversas situações de estresse. Devlin (1997) ressaltou que, devido ao caráter lipofílico, a vitamina E acumula em membranas celulares e depósitos de gordura, onde reage rapidamente com as espécies reativas de oxigênio, ou radicais livres (ERO), atuando como removedor desses compostos e protegendo os ácidos graxos insaturados de reações de peroxidação. As membranas de peixes são ricas em ácidos graxos poliinsaturados n-3 (PUFA), o que pode resultar em maior requerimento de  $\alpha$ -T (Watanabe et al., 1981; Cowey et al., 1983; Stéphan et al., 1995). O nível e estado de oxidação dos PUFA na dieta, assim como a presença de outros antioxidantes como o selênio, podem alterar a necessidade de vitamina E na dieta dos peixes (Lovell et al., 1984; Gatlin & Wilson, 1986; Bai & Lee, 1998).

A redução na ingestão da vitamina E reduz o hematócrito e aumenta a fragilidade dos eritrócitos, os quais são sinais de perda da estabilidade das membranas causada pela ação dos radicais livres sobre elas. A ausência de vitamina E pode gerar distrofia muscular, degeneração de gorduras do fígado, anemia, hemólise eritrocitária, hemorragias e despigmentação. Sendo assim, a adição de vitamina E às dietas pode contribuir para evitar danos oxidativos nas células sanguíneas e em músculos congelados, aumentando assim a estabilidade oxidativa dos filés de peixe (Poston et al., 1976; Cowey et al., 1983; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1993; He & Lawrence, 1993). Além disso, a vitamina E é capaz de reduzir a formação de compostos derivados da oxidação das membranas de fígado e músculo post-mortem, aumentando o tempo de armazenagem dos filés (Stéphan et al., 1995). A vitamina E também é importante na resposta imune, pois aumenta a atividade de macrófagos e do sistema complemento e a produção de superóxido gerado por neutrófilos em atividade em peixes (Wise et al., 1993; Montero et al., 2001; Belo et al., 2005). Além disso, a suplementação com essa vitamina aumenta a capacidade dos peixes em curar feridas (Moraes & Moraes, 2009).

Para se determinar os níveis ideais de cada nutriente podem ser utilizados diversos parâmetros, tais como: conversão alimentar, crescimento dos animais e parâmetros bioquímicos de avaliação de oxidação dos filés e outros tecidos.

O requerimento ideal de vitamina E, assim como de outros nutrientes é bastante variável. Estudos mostram que, para peixes e crustáceos, em geral de zonas temperadas, o requerimento ideal pode variar de 20 a 100 mg/kg de alimento (Harlioglu & Barim, 2004) ou mais, dependendo da espécie de peixe. Em truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*, por exemplo, as concentrações ideais de vitamina E variam de 20 a 50 mg/kg de ração, dependendo de diversos fatores, como tamanho e idade dos animais e do parâmetro utilizado na análise, que foram o crescimento e peroxidação de

membranas (Cowey et al., 1983; Bell & Cowey, 1985). Concentrações elevadas de  $\alpha$ -T no bagre africano *Clarias gariepinus* (Baker & Davies, 1996, 1997; Ng et al., 2004) e em outras espécies de peixes como em truta arco-íris (Chaiyapechara et al., 2003), aumentam a estabilidade dos filés de peixes, reduzindo sua oxidação e melhorando o sabor (Gatlin et al., 1992; Ruff et al., 2002). A peroxidação das membranas é um parâmetro relevante a ser avaliado, uma vez que são importantes para a manutenção da atividade muscular desses animais e, conseqüentemente, da qualidade dos filés.

Vijayavel et al. (2006) observaram diminuição do acúmulo de cobre nos tecidos de *Terapon jarbua* após suplementação da dieta com as vitaminas C e E, além de melhora de alguns parâmetros oxidativos, inclusive no músculo desses animais.

A maioria das dietas comerciais contém de 150 a 400 mg de vitamina E/kg de dieta, que parece adequado para manutenção do sistema imune em salmonídeos e bagre. Quando as dietas não são estabilizadas com antioxidantes, as altas concentrações de PUFA e pró-oxidantes (cobre, ferro etc.) podem aumentar o requerimento de vitamina E na dieta para proteção da função imune. Em pirarucu *A. gigas*, dieta com vitamina E não resultou em incremento do sistema imune, mas quando associada à vitamina C, este incremento ocorreu (Menezes et al., 2006).

Ainda há escassez de estudos realizados com suplementação da dieta de peixes tropicais, por isso torna-se necessário avaliar sua eficácia em animais de nossa fauna. Menezes et al. (2006) observaram em pirarucu *Arapaimas gigas* um aumento no crescimento e sobrevivência após suplementação da dieta com vitaminas C e E. Apesar de incremento em diversos fatores indicativos de melhoria na saúde dos animais, apenas a vitamina C foi capaz de aumentar a capacidade de resposta e do seu sistema imune. Santos (2006) observou que a vitamina E não aumentou o crescimento de matrinxã *B. amazonicus*, porém aumentou o hematócrito desses animais quando associada à vitamina C, como também foi observado em pirarucu (Menezes et al., 2006). Essas divergências podem ter sido geradas por diferenças no tempo de tratamento dos animais, nas concentrações da vitamina e das espécies estudadas.

Alguns estudos (Huang et al., 2004; Santos, 2006) mostraram que muitos peixes não alteram seu crescimento quando suplementados com diferentes concentrações de vitamina E na dieta. Contudo, é importante ressaltar que esta vitamina pode melhorar o sistema imune dos peixes, quando na piscicultura (Moraes & Moraes, 2009). Portanto, deve compor a dieta de qualquer espécie na piscicultura, mas este requerimento poderá variar de acordo com a espécie de peixe.

Dessa forma, além de ensaios imunológicos, ensaios de peroxidação são bastante eficientes também para se determinar o requerimento e o "status" de vitamina E em várias espécies (Poston et al., 1976; Cowey et al., 1983). Assim, dentre os parâmetros oxidativos, a utilização da peroxidação de membranas tem se mostrado bastante eficiente para se determinar a ingestão ideal de  $\alpha$ -tocoferol na dieta (Poston et al., 1976; Bai & Gatlin, 1983; Stéphan et al., 1993; Montero et al., 2001) e a eficácia de determinada concentração de vitamina E na dieta em aumentar a estabilidade oxidativa das membranas.

## Minerais

Peixes, assim como outros animais, necessitam de fontes de minerais que utilizam para manutenção da estrutura, osmorregulação e como cofatores em diversas reações metabólicas. As dietas de salmões e trutas são suplementadas com alguns microelementos essenciais (cobre/ Cu, manganês/Mn, selênio/Se e zinco/Zn) a fim de garantir que o peixe receba quantidades suficientes destes, já que sua biodisponibilidade é reduzida pela complexação com outros componentes da ração (farinha de osso) (Lovell, 2002).

O selênio é um mineral essencial para o bom funcionamento dos organismos, sendo componente da enzima glutathione peroxidase. Lin & Shiau (2007) observaram em garoupa-malabar *Epinephelus malabaricus* uma interação entre o selênio e o cobre em excesso na dieta. Nesse estudo foi observada redução de ganho de peso após intoxicação com excesso de cobre na dieta e reversão desse efeito pela suplementação com selênio.

O ferro é um nutriente essencial para peixes e sua deficiência causa anemia microcítica em algumas espécies (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1993). A deficiência de ferro não é um problema em sistemas aquáticos, uma vez que a água e os ingredientes das dietas suprem as quantidades de ferro requeridas para as necessidades fisiológicas dos peixes. Por isso, em geral, as dietas comerciais apresentam de 150-800 mg de ferro/kg (Lall, 2002).

Apesar de muitos trabalhos mostrarem os efeitos deletérios do cobre em excesso na dieta e na água, suplementos alimentares com cobre já têm sido utilizados para tratamento de anemia em animais (Hart et al., 1928; Sampaio et al., 2008). O cobre é reconhecido como nutriente essencial tanto para hematopoiese, quanto para o funcionamento de algumas enzimas envolvidas em vários processos biológicos necessários para o desenvolvimento. A dopamina hidroxilase, a citocromo oxidase (papel vital na respiração celular apresenta dois íons cobre em sua estrutura) e a CuZn-SOD (Lehninger, 1975; Bloomer & Lee, 1978; Weser et al., 1979; Moore & Ramamoorthy, 1984; Torres et al., 1987; McCord, 2000; Gaetke & Chow, 2003) apresentam como componentes o cobre e o zinco (Bell & Cowey, 1985). A deficiência de cobre pode reduzir a atividade da ceruloplasmina, catalase e SOD (Paynter et al., 1979; Taylor et al., 1988; Sukalski et al., 1997; Pan & Loo, 2000), que são componentes do sistema de defesa antioxidante, sendo que suas reduzidas atividades podem gerar estresse nos animais.

O cobre, na dieta, auxilia no processo de absorção do ferro pelo trato gastro-intestinal e também no transporte do ferro para dentro da célula, assim sendo, ele é um elemento importante no processo de formação da hemoglobina e função do eritrócito (Clearwater et al., 2000). Dessa forma, o cobre auxiliaria no metabolismo do ferro, pois Hart et al. (1928) mostraram a eficácia do cobre no tratamento de anemia em animais. Além disso, foi observado que a suplementação da dieta somente com o ferro não é tão eficiente quanto a associação cobre/ferro (Osaki et al., 1966; Pyatskowitz & Prohaska, 2008), tanto no tratamento da anemia como no restabelecimento dos níveis de hemoglobina (Waddell et al., 1927). No entanto, o cobre também pode colaborar para o aumento da peroxidação das membranas

(Baker et al., 1998), o que pode gerar alteração no hematócrito e hemoglobina em ratos (Gatlin & Wilson, 1986; Lai et al., 1996).

Estudos nutricionais sobre o requerimento de cobre na dieta em espécies de peixes tropicais são escassos. Alguns trabalhos mostraram que o crescimento de peixes pode ser reduzido em concentrações superiores a 16-40 mg de Cu/kg na ração para o bagre do canal-alimentado durante 16 e 13 semanas; em concentrações acima de 35 mg de Cu/kg para o salmão do Atlântico *Salmo salar*; em concentrações de 125 mg de Cu/kg para o *Sebastes schlegeli* e em concentrações de 730 mg de Cu/kg para truta arco-íris *O. mykiss* (Murai et al., 1981; Gatlin & Wilson, 1986; Watanabe et al., 1997; Kim & Kang, 2004). Portanto, estes estudos mostram que a determinação do requerimento de cobre para uma determinada espécie pode variar em função de sua sensibilidade a este metal e o tempo de tratamento, alterando a resposta do peixe quanto ao crescimento e conversão alimentar. Contudo, o requerimento de cobre também pode ser influenciado pela presença de outros nutrientes tais como as vitaminas C e E, e micro nutrientes tais como o Zn e Se (Gaetke & Chow, 2003).

### **Agentes estressores e dieta - Tensão de oxigênio**

As águas tropicais são caracterizadas por temperaturas altas com pouca variação anual e pelo conteúdo elevado e estável de matéria orgânica, o que favorece a proliferação de microrganismos, podendo resultar em hipóxia ou mesmo anóxia, como resultado da respiração de animais e plantas. Por isso, a hipóxia é considerada uma situação comum para os organismos aquáticos habitantes da bacia Amazônica, principalmente os peixes. Tais variações na concentração de oxigênio (O<sub>2</sub>) dissolvido na água (OD) estão diretamente relacionadas ao denominado "pulso de inundações" que ocorre anualmente nesta região (Junk et al., 1983). Porém, as espécies amazônicas estão adaptadas a essas variações sazonais de oxigênio na água (Almeida-Val et al., 1995, 1999). Mas em cultivo, a diminuição na tensão de oxigênio na água pode ocorrer devido à grande densidade de animais em tanques, concentração elevada de matéria orgânica ou também durante o processo de limpeza desses tanques, afetando o "status" fisiológico dos peixes, e alterando assim o metabolismo e o requerimento de nutrientes essenciais desses animais.

Diversos autores têm mostrado que a hipóxia pode reduzir o crescimento dos animais devido à menor ingestão de alimento e de seu aproveitamento (Chabot & Dutil, 1999; Wilhelm Filho et al., 2005). Dessa forma, a quantidade de oxigênio dissolvido e os nutrientes disponíveis na dieta são fatores importantes para a manutenção dos peixes em cultivo intensivo. Conseqüentemente, os ajustes fisiológicos (bioquímicos e hematológicos) e adaptativos usados pelos peixes para enfrentar condições adversas são vitais para a sua sobrevivência e, em parte, para um crescimento adequado. Dentre as adaptações dos peixes para tolerar as variações diárias ou sazonais da quantidade de oxigênio dissolvido estão modificações comportamentais (respiração aquática de superfície - ASR), morfológicas (respiração aérea, distensão dos lábios), fisiológicas (depressão metabólica e ajustes na transferência de O<sub>2</sub>) e bioquímicas que vão desde a depressão metabólica (Almeida-Val et al., 1993) até a alternância entre o

metabolismo aeróbico e anaeróbico, utilizando vias oxidativas e anaeróbicas (Almeida-Val et al., 1995; Almeida-Val et al., 1999).

As respostas fisiológicas à redução nos níveis de oxigênio podem ocorrer por cinco vias: (1) aumento da frequência ventilatória, volume ventilatório e redução na frequência cardíaca; (2) aumento no número de eritrócitos circulantes, concentração de hemoglobina [Hb] e hematócrito; (3) aumento da afinidade da Hb pelo oxigênio, ajustando a proporção de fosfatos orgânicos (NTP) e [Hb]; (4) múltiplas hemoglobinas com diferentes propriedades funcionais ou (5) depressão do metabolismo (Hochachka & Somero, 1984; Wootton, 1990; Val, 1996). Esses ajustes implicam em maior gasto de energia, que é obtida a partir da dieta e de reservas, como glicogênio, proteínas e lipídios, presentes em tecidos como fígado e músculo dos peixes.

### **Agentes estressores e dietas - Poluentes**

O crescimento de um organismo é muitas vezes utilizado como um critério de avaliação em estudos crônicos de toxicologia. Isso porque níveis subletais de determinados compostos tóxicos induzem redução no crescimento de larvas ou juvenis de peixes (para mais detalhes veja Woltering, 1984; DeBoeck et al., 1997). Este baixo crescimento pode ser causado por redução na ingestão alimentar, mas também pelo aumento do gasto energético solicitado pelos processos de desintoxicação e manutenção das funções normais do organismo.

Em tanques de pisciculturas, o cobre é regularmente utilizado na forma de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) como agente terapêutico e no controle de algas e macrófitas, em concentrações próximas a 0,5 e 2,0  $\text{mg/L}^{-1}$  (Boyd & Massaut, 1999). Exposição a concentrações subletais de cobre reduz o apetite bem como o crescimento em diferentes espécies de peixes (Drummond et al., 1973; Benoit, 1975; Lett et al., 1976; Buckley et al., 1982). DeBoeck et al. (1997) observaram diminuição no crescimento de carpas após uma semana de exposição a concentrações subletais de cobre. Nas concentrações menores de cobre (0,2  $\mu\text{M}$ ) os animais voltaram aos níveis de crescimento próximos ao grupo não exposto ao cobre apenas após três semanas. Porém, ocorreu um aumento na sua ingestão alimentar, o que indica maior gasto energético desses animais para desintoxicação. Marr et al. (1996) observaram em truta arco-íris diminuição no crescimento e no consumo alimentar após exposição a concentrações subletais de cobre e zinco na água. Resultados, similares foram descritos por Santos et al. (2000) em camarão após 35 dias de exposição.

Kamunde et al. (2002) observaram interação entre a concentração de cobre na dieta e na água, influenciando a conversão alimentar e o ganho de peso em trutas arco-íris. As trutas mantidas em água sem cobre e com reduzida concentração de cobre na dieta apresentaram redução desses dois parâmetros em relação aos grupos mantidos nos níveis normais de cobre na dieta e na água. Porém, o excesso de cobre não foi capaz de reduzir o crescimento dos animais, apesar de seu aumentado acúmulo em diversos tecidos. Contudo, antes de ocorrer alterações no crescimento dos animais, modificações na composição bioquímica foram aparentes, como a utilização de estoques de energia (glicogênio e gordura) e a diminuição da síntese

protéica, o que pode alterar o requerimento de outros nutrientes na dieta. Portanto, só o crescimento não pode ser utilizado como fator de avaliação de toxicidade em peixes.

Alguns nutrientes são conhecidos por serem redutores dos efeitos do cobre na dieta e na água e outros metais por seus efeitos ao induzir o estresse oxidativo nos tecidos, dentre eles estão a vitamina E, o beta-caroteno, o ácido alfa-lipóico e os polifenóis (Gaetke & Chow, 2003). A vitamina C é um importante antioxidante, atuando como agente redutor e doando elétrons a outras moléculas redutoras como a enzima glutathione redutase, que reduz a glutathione, responsável pela redução de diversos compostos. A vitamina C ainda é responsável pela doação de elétrons a metais como ferro e cobre, que podem também catalisar a oxidação da vitamina C. Dessa forma, a associação entre vitamina C e metais de transição como Cu e Fe pode gerar capacidade antioxidante ou pró-oxidante da vitamina C, já que, em altas concentrações esta vitamina tende a ser antioxidante e em baixas concentrações tende a ser pró-oxidante (Gaetke & Chow, 2003).

### Considerações finais

Portanto, os conhecimentos básicos sobre as dietas são essenciais e de grande relevância para a produção de peixes em fazendas de criação, pois dietas formuladas inadequadamente podem afetar toda uma produção, devido a influencia negativa no crescimento e na saúde dos peixes cultivados, a exemplo do que ocorre com outros organismos aquáticos.

### Referências

- 
- ALMEIDA-VAL, V. M. F.; FARIAS, I. P.; SILVA, M. N. P.; DUNCAN, W. P.; VAL, A. L. 1995. Biochemical adjustments to hypoxia by Amazon cichlids. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 28:1257-1263.
- ALMEIDA-VAL, V. M. F.; VAL, A. L.; HOCHACHKA, P. W. 1993. Hypoxia tolerance in Amazon fishes: status of na under-explored "goldmine". In: HOCHACHKA, P. W.; LUTZ, P. L.; SICK, T.; ROSENTHAL, M.; VAN DEN THILLART, G. (Ed.). *Surviving Hypoxia: Mechanisms of control and adaptation*. Boca Raton: CRC Press, p.435-445.
- ALMEIDA-VAL, V. M. F.; VAL, A. L.; WALKER, I. 1999. Long-term and short-term adaptation to varying oxygen levels: intra-specific phenotypic plasticity and interspecific variation. In: VAL, A. L.; ALMEIDA-VAL, V. M. F. (Ed.). *Biology of Tropical Fishes*. Manaus: INPA, p.185-206.
- BAI, S. C.; GATLIN, D. M.III. 1983. Dietary vitamin E concentration and duration of feeding affect tissue  $\alpha$ -tocopherol concentrations of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 113:129-135.
- BAI, S. C.; LEE, K. J. 1998. Different levels of dietary DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate affect the vitamin E status of juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture*, 161:405-414.
- BAKER, R. T. M.; DAVIES, S. J. 1996. Changes in tissue  $\alpha$ -tocopherol status and degree of lipid peroxidation with varying  $\alpha$ -tocopherol acetate inclusion in diets for the African catfish. *Aquacult. Nutr.*, 2:71-79.

- BAKER, R. T. M.; DAVIES, S. J. 1997. The quantitative requirement for  $\alpha$ -tocopherol by juvenile African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell. *Anim. Sci.*, 65:135-142.
- BAKER, R. T. M.; HANDY, R. D.; DAVIES, S. J.; SNOOK, J. C. 1998. Chronic dietary exposure to copper affects growth, tissue lipid peroxidation, and metal composition of the gray mullet, *Chelon labrosus*. *Mar. Environ. Res.*, 45:357-365.
- BELL, J. G.; COWEY, C. B. 1985. Vitamin E and selenium in fatty acid oxidation. In: COWEY, C. B.; MACKIE, A. M.; BELL, J. G. (Ed.). *Nutrition and Feeding in Fish*. Aberdeen: Acad. Press, p. 333-347.
- BELO, M. A. A.; SCHALCH, S. H. C.; MORAES, F. R.; SOARES, V. E.; OTOBONI, A. M. M. B.; MORAES, J. E. R. 2005. Effect of dietary supplementation with vitamin E and stocking density on macrophage recruitment and giant cell formation in the teleost fish, *Piaractus mesopotamicus*. *J. Comp. Path.*, 133:146-154.
- BENOIT, D. A. 1975. Chronic effects of copper on survival, growth, and reproduction of the bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 2:353-358.
- BLOOMER, L. C.; LEE, G. R. 1978. Normal hepatic copper metabolism. In: POWELL, L. W. (Ed.). *Metals and the Liver*. New York: Marcel Decker, p. 179-239.
- BORBA, M. R.; FRACALOSI, D. M.; PEZZATO, L. E.; MENOYO, D.; BAUTISTA, J. M. 2003. Growth, lipogenesis and body composition of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) fingerlings fed different dietary protein and lipid concentrations. *Aquatic Living Res.*, 16:362-369.
- BOYD, C. E.; MASSAUT, L. 1999. Risk associated with the use of chemicals in pond aquaculture. *Aquacult. Engineer*, 20:113-132.
- BUCKLEY, J. T.; ROCH, M.; MCCARTER, J. A.; RENDELL, C. A.; MATHESON, A. T. 1982. Chronic exposure of coho salmon to sublethal concentrations of copper: I. Effects on growth, on accumulation and distribution of copper, and on copper tolerance. *Comp. Biochem. Physiol.*, 72C:15-19.
- CARVALHO, C. S.; FERNANDES, M. N. 2006. Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. *Aquaculture*, 251:109-117.
- CHABOT, D.; DUTIL, J.-D. 1999. Reduced growth of Atlantic cod in non-lethal hypoxic conditions. *J. Fish Biol.*, 55:472-491.
- CHAIYAPECHARA, S.; CASTEN, M. T.; HARDY, R. W.; DONG, F. M. 2003. Fish performance, fillet characteristics, and health assessment index of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing adequate and high concentrations of lipid and vitamin E. *Aquaculture*, 219:715-738.
- CLEARWATER, S. J.; BASKIN, S. J.; WOOD, C. M.; MCDONALD, D. G. 2000. Gastrointestinal uptake and distribution of copper in rainbow trout. *J. Exp. Biol.*, 203:2455-2466.
- COWEY, C. B.; ADRON, J. W.; YOUNGSON, A. 1983. The vitamin requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing polyunsaturated fatty acids derived from fish oil. *Aquaculture*, 30:85-93.
- DABROWSKI, K.; GUDERLEY, H. 2002. *Intermediary Metabolism. Fish Nutrition*. 3rd Edition. Elsevier Science, p.309.
- DE BOECK, G.; VLAEMINCK, A.; BLUST, R. 1997. Effects of Sublethal Copper Exposure on Copper Accumulation, Food Consumption, Growth, Energy

- Stores, and Nucleic Acid Content in Common Carp. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 33:415–422.
- DEVLIN, T. M. 1997. *Manual de Bioquímica com Correlações Clínicas*. 4th ed. São Paulo:Edgard Blucher.
- DRUMMOND, R. A.; SPOOR, W. A.; OLSON, G. F. 1973. Some short-term indicators of sublethal effects of copper on brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *J. Fish Res. Board. Can.*, 30:698–701.
- FRASCÁ-SCORVO, C. M.; CARNEIRO, D. J.; MALHEIROS, E. B. 2001. Comportamento alimentar do matrinxã (*Brycon cephalus*) no período de temperaturas mais baixas. *Bol. Inst. Pesca*, 27:1-5.
- GAETKE, L. M.; CHOW, C. K. 2003. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicol.*, 189:147-163.
- GATLIN, D.M.; WILSON, R. P. 1986. Dietary copper requirements of fingerling channel catfish. *Aquaculture*, 54:277-285.
- GATLIN, D. M. III.; BAI, S. C.; ERICKSON, M. C. 1992. Effects of dietary vitamin E and synthetic antioxidants on composition and storage quality of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 106:323-332.
- HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. 1993. Lipid-peroxidation—its mechanism, measurement, and significance. *Am. J. Clin. Nutr.*, 57:S715–S725.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. 1989. *Free Radical Biology and Medicine*. Oxford: Clarendon Press, p. 85.
- HAMRE, K.; CHRISTIANSEN, R.; WAAGBO, R.; MAAGE, A.; TORSTENSEN, B. E.; LYGREN, B.; LIE, O.; WATHNE, E.; ALBREKTSSEN, S. 2004. Anti-oxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.): effects on growth performance and fillet quality. *Aquac. Nutr.*, 10:113–123.
- HAMRE, K.; KOLAS, K.; SANDNES, K.; JULSHAMN, K.; KIESSLING, A. 2001. Feed intake and absorption of lipid oxidation products in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets coated with oxidised fish oil. *Fish Physiol. Biochem.*, 25:209–219.
- HARLIÖGLU, M. M.; BARIM, O. 2004. The effect of dietary vitamin E on the pleopodal egg and stage-1 juvenile numbers of freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Aquacult.*, 236:267-276.
- HART, E. B.; STEENBOCK, J.; WADDELL, J.; ELVEHJEM, C. A. 1928. Iron nutrition. VII. Copper is a supplement to iron for hemoglobin building in the rat. *J. Biol. Chem.*, 77:797-812.
- HE, H.; LAWRENCE, A. L. 1993. Vitamin requirement of *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 118:245-255.
- HENRIQUE, M. M. F.; GOMES, E. F.; GOUILLOU-COUSTANS, M. F.; OLIVATELES, A.; DAVIES, S. J. 1998. Influence of supplementation of practical diets with vitamin C on growth and response to hypoxic stress of seabream, *Sparus aurata*. *Aquaculture*, 161:415-426.
- HILTON, J. W. 1989. The interaction of vitamins, minerals and diet composition in the diet of fish. *Aquaculture*, 79:223-244.
- HOCHACHKA, P. W.; SOMERO, G. N. 1984. *Biochemical Adaptation*. New Jersey: Princeton University Press, p. 85-144.
- HUANG, C. H.; HIGGS, D. A.; BALFRY, S. K.; DEVLIN, R. H. 2004. Effect of dietary vitamin E level on growth, tissue lipid peroxidation, and erythrocyte fragility of transgenic coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 139A:199-204.

- JOBLING, M. 1994. *Fish Bioenergetics*. London, UK: Chapman & Hall.
- JUNK, W. J.; SOARES, G. M.; CARVALHO, F. M. 1983. Distribution of fish species in a lake of the Amazon River floodplain near Manaus (lago Camaleão), with special reference to extreme hypoxia conditions. *Amazoniana*, 7:397.
- KAMUNDE, C.; GROSELL, M.; HIGGS, D.; WOOD, C. M. 2002. Copper metabolism in actively growing rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): interactions between dietary copper exposure. *J. Exp. Biol.*, 205:279-290.
- KIM, S.-G.; KANG, J.-C. 2004. Effect of dietary copper exposure on accumulation, growth and hematological parameters of the juvenile rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Mar. Envir. Res.*, 58:65-82.
- LAI, C.; HUANG, W.; KLEVAY, L. M.; GUNNING, W. T.; CHIU, T. H. 1996. Antioxidant enzyme gene transcription in copper-deficient rat liver. *Free Rad. Biol. Med.*, 21:233-240.
- LALL, S. P. 2002. The Minerals. In: *Fish Nutrition*, Third Edition. Elsevier Science: USA.
- LEHNINGER, A. L. 1975. *Biochemistry*. New York: Worth.
- LEITH, D.; KAATARI, S. 1989. *Effects of vitamin nutrition on the immune response of hatchery-reared salmonids*: Final report. Portland, Oregon: U.S. Department of Energy, Bonneville Power Administration, Div. of Fish and Wildlife.
- LETT, P. F.; FARMER, G.J.; BEAMISH, F.W.H. 1976. Effect of copper on some aspects of the bioenergetics of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J Fish Res. Board. Can.*, 33:1335-1342.
- LIN, Y.-H.; SHIAU, S.-Y. 2007. The effects of dietary selenium on the oxidative stress of grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed high copper. *Aquaculture*, 267:38-43.
- LOVELL, R. T. 2002. Diet and Fish Husbandry. In: *Fish Nutrition*. 3. ed. New York: Elsevier Science.
- LOVELL, R. T.; MIYAZAKI, T.; RABEGNATOR, S. 1984. Requirements of  $\alpha$ -tocopherol by channel catfish fed diets low in polyunsaturated triglycerides. *J. Nutr.*, 114:894-901.
- MARR, J. C. A.; LIPTON, J.; CACELA, D.; HANSEN, J. A.; BERGMAN, H. L.; MEYER, J. S.; HOGSTRAND, C. 1996. Relationship between copper exposure duration, tissue copper concentration, and rainbow trout growth. *Aquatic Toxicol.*, 36:17-30.
- MCCORD, J. M. 2000. The evolution of free radicals and oxidative stress. *A. J. Med.*, 108:652-659.
- MENEZES, G. C.; TAVARES-DIAS, M.; ONO, E. A.; ANDRADE, J. I. A.; BRASIL, E. M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E. C.; MARCON, J. L.; AFFONSO, E. G. 2006. The influence of dietary vitamin C and E supplementation on the physiological response of pirarucu, *Arapaima gigas*, in net culture. *Comp. Biochem. Physiol.*, 145A:274-279.
- MONTERO, D.; TORT, L.; ROBAINA, L.; VERGANA, J. M.; IZQUIERDO, M. S. 2001. Low vitamin E in diet reduces resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Fish Shelfish Immun.*, 11:473-790.
- MOORE, J. W.; RAMAMOORTHY, S. 1984. Heavy metals in natural waters. Berlin: Springer, p. 77-79.
- MORAES, F. R.; MORAES, J. R. E. 2009. Nutracêuticos na inflamação e cicatrização e peixes de interesse zootécnico. In: TAVARES-DIAS, M.

- (Org.). *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Macapá: Embrapa Amapá, p. 625-723.
- MOURENTE, G.; DIAZ-SALVAGO, E.; BELL, J. G.; TOCHER, D. R. 2002. Increased activities of hepatic anti-oxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidised oil: attenuation by dietary vitamin E. *Aquaculture*, 214:343–361.
- MURAI, T.; ANDREWS, J. W.; SMITH, R. G. JR. 1981. Effects of dietary copper on channel catfish. *Aquaculture*, 22:353-357.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1981. *Nutrient requirements of coldwater fishes*. Washington: National Academy of Sciences.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1993. *Nutrient requirements of fish*. Washington: National Academy of Sciences.
- NG, W.-K.; WANG, Y.; KETCHIMENIN, P.; YUEN, K.-H. 2004. Replacement of dietary fish oil with palm fatty acid distillate elevates tocopherol and tocotrienol concentrations and increases oxidative stability in the muscle of African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*, 233:423-437.
- OBA, E. T. 2006. *Efeitos do exercício físico moderado e da suplementação da dieta com vitamina C no crescimento e no metabolismo de matrinxã, Brycon cephalus (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae)*. 99 f. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- OSAKI, S.; JOHNSON, D. A.; FRIEDEN, E. 1966. The possible significance of ferrous oxidase activity of ceruloplasmin in normal human serum. *J. Biol. Chem.*, 241:2746-2751.
- PAN, Y.; LOO, G. 2000. Effect of copper deficiency on oxidative DNA damage in Jurkat T-lymphocytes. *Free Rad. Biol. Med.*, 28:824-830.
- PAYNTER, D. I.; MOIR, R. J.; UNDERWOOD, E. J. 1979. Changes in activity of Cu-Zn superoxide dismutase enzyme in tissues of the rat with change in dietary copper. *J. Nutr.*, 109:1570-1576.
- POSTON, H. A.; GERALD, F.; COMBS, J. R.; LEIBOVITZ, L. 1976. Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*): gross, histological and biochemical deficiency signs. *J. Nutr.*, 106:892-904.
- PYATSKOWIT, J. W.; PROHASKA, J. R. 2008. Copper deficient rats and mice both develop anemia but only rats have lower plasma and brain iron levels. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 147:316–323.
- RUFF, N.; FITZGERALD, R. D.; CROSS, T. F.; KERRY, J. P. 2002. Fillet shelf-life of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* L. fed elevated levels of  $\alpha$ -tocopheryl acetate. *Aquacult. Res.*, 33:1059-1071.
- SÁ, M. V.; FRACALOSSO, D. M. 2002. Exigência protéica e relação energia/proteína para alevinos de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). *R. Brasil. Zootec.*, 31:1–10.
- SAMPAIO, F. G.; BOIJINK, C. L.; OBA, E. T.; SANTOS, L. R. B.; KALININ, A. L.; RANTIN, F. T. 2008. Antioxidant defenses and biochemical changes in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) in response to single and combined copper and hypoxia exposure. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 147:43–51.
- SANTOS, L. R. B. 2006. *Efeito da dieta suplementada com vitamina E e cobre nas respostas metabólicas e antioxidantes de matrinxã, Brycon cephalus (Günther, 1869), frente à hipóxia*. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

- SANTOS, M. H. S.; CUNHA, N. T.; BIANCHINI, A. 2000. Effects of copper and zinc on growth, feeding and oxygen consumption of *Farfantepenaeus paulensis* postlarvae (Decapoda: Penaeidae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 247:233-242.
- SARGENT, J.; BELL, G.; MCEVOY, L.; TOCHER, D.; ESTEVEZ, A. 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177:191-199.
- SARGENT, J. R.; TOCHER, D. R.; BELL, J. G. 2002. The lipids. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Ed.). *Fish Nutrition*. Amsterdam: Academic Press, p. 181-257.
- SCORVO-FILHO, J. D.; MARTINS, N. B.; AYROSA, L. M. S. 1998. Piscicultura em São Paulo: custos e retornos de diferentes sistemas de produção na safra de 1996/1997. *Inf. Econ.*, 28:41-60.
- STEPHAN, G.; GUILLAUME, J.; LAMOUR, F. 1995. Lipid peroxidation in turbot (*Scophthalmus maximus*) tissue: Effect of dietary vitamin E and dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acids. *Aquaculture*, 130:251-268.
- STÉPHAN, G.; GUILLAUME, J.; LAMOUR, F. 1995. Lipid peroxidation in turbot (*Scophthalmus maximus*) tissue: Effect of dietary vitamin E and dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acids. *Aquaculture*, 130:251-268.
- SUKALSKI, K. A.; LABERGE, T. P.; JOHNSON, W. T. 1997. In vivo oxidative modification of erythrocyte membrane proteins in copper deficiency. *Free Rad. Biol. Med.*, 22:835-842.
- SUTTON, J.; BALFRY, S.; HIGGS, D.; HUANG, C.; SKURA, B. 2006. Impact of iron-catalyzed dietary lipid peroxidation on growth performance, general health and flesh proximate and fatty acid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared in seawater. *Aquaculture*, 257:534-557.
- TACON, A. G. J. 1996. Lipid nutritional pathology in farmed fish. *Arch. Anim. Nutr.-Arch. Tierernähr.*, 49:33-39.
- TAKEUCHI, T.; WATANABE, T.; NOSE, T. 1979. Requirement for essential fatty acids of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in freshwater environment. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 45:1319-1323.
- TAYLOR, C. G.; BETTGER, W. J.; BRAY, T. M. 1988. Effect of dietary zinc or copper deficiency on the primary free radical defense system in rats. *J. Nutr.*, 118:613-621.
- TORRES, P.; TORT, L.; FLOS, R. 1987. Acute toxicity of copper to Mediterranean dofish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86:169-177.
- VAL, A. L. 1996. Surviving low oxygen levels: lessons from fishes of the Amazon. In: VAL, A. L.; ALMEIDA-VAL, V. M. F.; RANDALL, D. J. (Ed.). *Physiology and Biochemistry of the fishes of the Amazon*. Manaus: INPA, p.59-73.
- VERLHAC, V.; GABAUDAN, J. 1997. *The effect of vitamin C on Fish Health*. Switzerland: Roche Technical Bulletin.
- VIJAYAVEL, K.; GOPALAKRISHNAN, S.; THILAGAM, H.; BALASUBRAMANIAN, M. P. 2006. Dietary ascorbic acid and  $\alpha$ -tocopherol mitigates oxidative stress induced by copper in the thornfish *Terapon jarbua*. *Science Total Environ.*, 372:157-163.
- WAAGBO, R. 1997. The impact of nutritional factors on the immune system in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: A review. *Aquac. Fish. Manag.*, 25:175-197.

- WADDELL, J.; STEENBOCK, H.; ELVEHJEM, C. A.; HART, E. B. 1927. Iron in nutrition V. Iron salts and iron-containing ash extracts in the correction of anemia. *J. Biol. Chem.*, 77:777-795.
- WATANABE, T.; KIRON, V.; SATOH, S. 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquacult.*, 151:185-207.
- WATANABE, T.; TAKEUCHI, T.; MATSUI, M.; OGINO, C.; KAWABATA, T. 1981. The relationship between dietary lipid levels and  $\alpha$ -tocopherol requirement of rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 47:1463-1471.
- WEBER, J. M.; ZWINGESLSTEIN, G. 1995. Circulatory substrate fluxes and their regulation. In: HOCHACHKA, P.W. & MOMMSEN, T.P. (eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 4: 15-32.
- WESER, U.; SCHUBOFZ, L. M.; YOUNES, M. 1979. Chemistry of copper proteins and enzymes. In: NRIAGU, J. O. (Ed.). *Copper in the Environment. II. Health Effects*. New York: Willey, p.197-232.
- WILHELM FILHO, D.; TORRES, M. A.; ZANIBONI-FILHO, E.; PEDROSA, R. C. 2005. Effect of different oxygen tensions on weight gain, feed conversion, and antioxidant status in piapara, *Leporinus elongatus* (Valenciennes, 1847). *Aquacult.*, 244:349-357.
- WISE, D. J.; TOMASSO, J. R.; BRANDT, T. M. 1988. Ascorbic acid inhibition of nitrite-induced methemoglobinaemia in channel catfish. *Prog. Fish Cult.*, 50:77-80.
- WISE, D. J.; TOMASSO, J. R.; GATLIN, D. M.; BAI, S. C.; BLAZER, V. S. J. 1993. Effects of dietary selenium and vitamin E on red blood cell peroxidation, glutathione peroxidase activity, and macrophage superoxide anion production in channel catfish. *Aquat. Anim. Health.*, 5:177.
- WOLTERING, D. M. 1984. The growth response in fish chronic and early life stage toxicity tests: a critical review. *Aquat. Toxicol.*, 5:1-21.
- WOODWARD, W. 1994. Dietary vitamin requirements of cultured young fish, with emphasis on quantitative estimates for salmonids. *Aquaculture*, 124:133-168.
- WOOTONM, R. J. 1990. *Ecology of Teleost Fishes*. New York: Chapman and Hall.