

## AGRÁRIA

Revista Brasileira de Ciências Agrárias

ISSN (on line): 1981-0997

v.7, n.2, p.352-357, mar.-jun., 2012

Recife, PE, UFRPE. www.agraria.ufrpe.br

DOI:10.5039/agraria.v7i2a1435

Protocolo 1435- 22/03/2011 \*Aprovado em 27/10/2011

Micheli Zaminham<sup>1</sup>

Júnior D. Luchesi<sup>1</sup>

Juliana M. Costa<sup>1</sup>

Edionei M. Fries<sup>1</sup>

Wilson R. Boscolo<sup>1,2</sup>

Aldi Feiden<sup>1,2</sup>

# Efeito da vitamina C sobre os parâmetros hematológicos de kinguio (*Carassius auratus*)

## RESUMO

Objetivou-se avaliar a influência da vitamina C nos parâmetros hematológicos de kinguio (*Carassius auratus*). Foram utilizados 80 juvenis de kinguio distribuídos em 10 tanques-rede de 0,20 m<sup>3</sup> cada, instalados em um tanque de alvenaria circular com capacidade de 25 m<sup>3</sup>. O delineamento experimental foi totalmente ao acaso com cinco tratamentos e duas repetições sendo cada tanque composto por oito peixes, com peso médio inicial de 20,36 ± 0,30 g e com 11,37 ± 0,98 cm de comprimento, os quais foram alimentados quatro vezes ao dia. As dietas foram formuladas com 32% de proteína bruta e 3200 kcal kg<sup>-1</sup> de energia digestível. Os suplementos mineral e vitamínico foram formulados a fim de se obter concentrações de: 0 (controle), 250, 500, 1000, 2000 mg de vitamina C kg<sup>-1</sup> de ração. Para as coletas de sangue os peixes foram anestesiados com benzocaina (75 mg L<sup>-1</sup>). Avaliaram-se os seguintes parâmetros: taxa de hemoglobina, percentual de hematócrito, contagem de eritrócitos, índices hematimétricos, contagem total de leucócitos, trombócitos, e análise diferencial de leucócitos. Concluiu-se que os níveis de suplementação de vitamina C na dieta de *C. auratus* não influenciaram nos parâmetros hematológicos.

**Palavras-chave:** ácido ascórbico, hematologia, piscicultura, peixes ornamentais

## Effect of vitamin C on hematological parameters of goldfish (*Carassius auratus*)

## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the influence of vitamin C on hematology parameters of goldfish (*Carassius auratus*). A total of 80 young goldfish were used for the experiment, distributed in 10 tanks with 0.20 m<sup>3</sup> each, installed in a circular masonry tank with 25 m<sup>3</sup> capacity. The experimental design was completely randomized with five treatments and two replicas, each tank containing eight fishes, with initial average weight of 20.36 ± 0.30 g and 11.37 ± 0.98 cm of length, fed four times a day. The diets were composed of 32% of crude protein and 3200 kcal kg<sup>-1</sup> of digestible energy. The mineral and vitamin supplements were prepared in order to obtain concentrations of 0 (control), 250, 500, 1000, 2000 mg of vitamin C kg<sup>-1</sup> of ration. For blood collection, the fish were anesthetized with benzocaine (75 mg L<sup>-1</sup>). We analyzed the following parameters: hemoglobin tax, percentage of hematocrit, erythrocytes count, hematrimetrics index, total leucocytes count, trombocytes and differential leucocytes analyses. It was found that the vitamin C levels in diets does not affect the hematological parameters.

**Key words:** ascorbic acid, hematology, pisciculture, ornamental fish

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Departamento de Engenharia de Pesca, Rua da Faculdade, 645, Jardim La Salle, CEP 85903-000, Toledo-PR, Brasil. Caixa Postal 520. Fone: (45) 3379-7082 Ramal 345. Fax: (45) 3379-7002. E-mail: michelizam@hotmail.com; junior\_pesca@yahoo.com.br; juh\_agro87@yahoo.com.br; edioneimaicone@hotmail.com; wrboscolo@hotmail.com; aldifeiden@gmail.com  
Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq

## INTRODUÇÃO

O Brasil é um país privilegiado no cenário da aqüicultura, com merecido destaque a piscicultura ornamental (Pacheco, 2009), devido às exportações tornou-se um dos setores mais lucrativos da piscicultura brasileira (Lima et al., 2001).

Originário da China, o kingiuo pertence à classe Actinopterygii, ordem Cypriniformes e família Cyprinidae (Neves et al., 2004).

Entre os peixes ornamentais mais cultivados, o Kingiuo (*Carassius auratus*) destaca-se por sua beleza, elevada taxa de prolificidade, rusticidade e boa adaptação ao manejo e as variações das condições ambientais (Silva & Schulz, 2006).

Os parâmetros hematológicos podem ser utilizados como ferramentas para diagnóstico de enfermidades, indicadores do estado fisiológico, nutricional e estresse de manipulação do peixe (Tavares-Dias & Moraes, 2003).

As células sanguíneas dividem-se em células vermelhas, chamadas de eritrócitos, e células brancas, os leucócitos. O estudo das células sanguíneas é uma ferramenta fundamental para diagnósticos de doenças infecciosas, leucemias e estresse (Garcia-Navarro, 2005). No *C. auratus*, o principal sítio de formação de eritrócitos é o rim cefálico, quando comparado com a reduzida atividade eritropoietica do baço (Houston et al., 1996).

O crescimento dos peixes é influenciado por fatores ambientais como a temperatura, o fotoperíodo, o nível de oxigênio dissolvido, bem como pela assimilação de nutrientes. Similarmente os valores hematológicos podem ser influenciados pelas condições ecofisiológicas (Tavares-Dias & Moraes, 2004).

Dessa forma, alguns compostos orgânicos podem atuar no desempenho do organismo, como as vitaminas, que são essenciais para o crescimento e metabolismo. As vitaminas geralmente não são sintetizadas pelo organismo e quando sintetizadas ocorrem em quantidades insuficientes, sendo acrescentadas na dieta fornecida aos peixes cultivados para manutenção das funções fisiológicas (Lovell, 1998).

Entre elas, o ácido ascórbico tem participação em numerosos processos fisiológicos e bioquímicos, atuando como agente redutor, no transporte de hidrogênio no interior das células, além de participar nos processos enzimáticos de hidroxilação, como na formação de prolina e hidroxiprolina, que compõe o colágeno e matriz celular, na síntese da carnitina que atua na utilização do ácido fólico e no metabolismo do ferro e lipídeos (O'Keefe & Grant, 1991). No sangue está envolvido na maturação dos eritrócitos, na coagulação e na manutenção da hemoglobina em níveis normais (Nelson & Cox, 2000). Além disso, a vitamina C favorece o desempenho do sistema imunológico, sendo os linfócitos e os neutrófilos as principais células de defesa influenciadas (Lim et al., 2000). No entanto, o ácido ascórbico não é produzido por peixes teleósteos, ou em alguns casos produzidos em quantidade limitada a partir de outras substâncias, já que os mesmos não possuem a enzima gulonolactona oxidase (Baldisserotto, 2002).

Em peixes, as manifestações clínicas de deficiências nutricionais de vitamina C, estão relacionadas com alterações

morfológicas e fisiológicas como anorexia, letargia, redução do crescimento e do desempenho reprodutivo, natação errática, deformidades estruturais, escurecimento da pele, opacidade de córnea, ascite e exoftalmia hemorrágica (Wang et al., 2003). Nesse contexto, objetivou-se avaliar o efeito da vitamina C sobre os parâmetros hematológicos de *C. auratus*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na estufa do Grupo de Estudos de Manejo na Aqüicultura – GEMAQ da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Campus Toledo, por um período de 120 dias. Foram utilizados 80 juvenis de Kingiuo (*C. auratus*), com peso e comprimento inicial médio de  $20,36 \pm 0,30$  g e  $11,37 \pm 0,98$  cm, respectivamente. Os indivíduos foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e duas repetições, em 10 tanques-rede de  $0,20$  m<sup>3</sup> cada, confeccionados em malha sombrite e instalados em um tanque circular de alvenaria com capacidade de  $25$  m<sup>3</sup>, provido de aeração constante. Periodicamente foram realizadas trocas parciais de água para manutenção da qualidade e compensar as perdas por evaporação.

As dietas foram formuladas com 32% de proteína bruta e 3200 kcal kg<sup>-1</sup> de energia digestível (Tabela 1), com o objetivo de ser isoproteicas e isoenergéticas. Os suplementos mineral e vitamínico utilizados estão descritos na Tabela 2, com concentrações de: 0 (controle), 250, 500, 1000, 2000 mg de vitamina C kg<sup>-1</sup> de ração, obtidos através do produto comercial (monofosfatada não protegida com concentração de 35%). Os ingredientes selecionados e utilizados na elaboração das dietas foram moídos individualmente em moedor tipo martelo, TRAPP 2CV - 220V Monofásico - TRF-400, com peneira 0,5 mm, misturados e homogeneizados de acordo com os tratamentos.

Após a mistura dos ingredientes, a ração passou pelo processo de extrusão com matriz de 2,0 mm e a secagem foi realizada em estufa com ventilação forçada, Tecnal-TE - 39413 por um período de 48 h a 55 °C. O arraçoamento dos peixes foi realizado quatro vezes ao dia, às 8h, 11h, 14h e 17h, *ad libitum*, até a saciedade aparente dos peixes.

As variáveis físicas e químicas da água, pH, condutividade elétrica (MS cm<sup>-1</sup>) e oxigênio dissolvido (mg L<sup>-1</sup>) foram mensuradas semanalmente com os respectivos equipamentos, Hanna HI 8314, Hanna HI 99301e Hanna HI 9146, a temperatura (°C) foi monitorada diariamente, quatro vezes ao dia, com termômetro de mercúrio.

Ao final do experimento, os peixes foram mantidos em jejum por 24 h, para esvaziamento do trato gastrointestinal. Após serem retirados das unidades experimentais foram anestesiados com solução de benzocaína (75 mg L<sup>-1</sup>) (Gomes et al., 2001), durante 15 minutos, e posteriormente pesados em balança semi-analítica Gehaka-Bg 4000, classe 2. Após esse procedimento iniciou-se as coletas de sangue por punção da veia caudal (Figura 1), utilizando-se seringas descartáveis contendo EDTA (10%). Para realização do hemograma foram coletados 0,5 mL de sangue.

**Tabela 1.** Composição em ingredientes (% matéria natural) e composição nutricional utilizados na confecção experimental das rações**Table 1.** Composition of ingredients (% fresh matter) and nutritional composition used for the preparation of experimental diets

Ingredientes	(%)	Nutrientes	(%)
Milho grão	14,347	Amido	20,597
Trigo grão	20,000	Arginina	2,125
Farelo de soja	24,500	Cálcio	2,500
Visceras de aves	17,457	Energia digestível tilápia	3200,000
Óleo de soja	6,225	Fenilalanina	1,508
Farinha de anchoveta	8,750	Fibra bruta	2,470
Fosfato bicálcico	2,569	Fósforo disponível	1,225
Glúten de milho	3,159	Fósforo total	1,400
Calcário calcítico	1,571	Gordura	9,990
Suplemento (min. + vit.)	1,000	Histidina	0,741
Sal	0,300	Isoleucina	1,388
Propionato	0,100	Leucina	2,718
Antioxidante (BHT)	0,020	Linoléico	4,006
		Lisina	1,751
		Metionina + cistina	1,103
		Metionina	0,618
		Proteína bruta	32,000
		Treonina	1,287
		Triptofano	0,351
		Valina	1,617

Para contagem de eritrócitos foi utilizada câmara de Neubauer. A contagem foi feita com aumento de 10 vezes e após, em cada retículo, foi realizada a média do número de células, sendo o resultado expresso em Número de Células x  $10^6 \mu\text{L}$  de sangue, segundo Collier (1944).

A determinação da concentração de hemoglobina foi realizada através do método de Collier (1944), com o resultado expresso em  $\text{g dl}^{-1}$ . Para determinação do percentual de hematócrito, utilizou-se da técnica do microhematócrito, segundo o método de Goldenfarb et al. (1971).

Com os valores do número de eritrócitos, hematócrito e taxa de hemoglobina foram calculados três índices hematimétricos absolutos (Wintrobe, 1934), o Volume Corpuscular Médio, a Hemoglobina Corpuscular Média e a Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média.

Para contagem de leucócitos e trombócitos total, foram confeccionadas duas lâminas de extensões sanguíneas por animal. Sendo a coloração das lâminas realizada por meio da utilização de um kit de corantes rápido (Panótipo).

Para a contagem do diferencial de leucócitos foram contados 100 leucócitos em microscópio de luz comum, com objetiva de imersão 100 vezes. A contagem foi feita no corpo da extensão, percorrendo-se todo o material, movimentando-se a lâmina em “zig-zag”, de acordo com método de Martins et al. (2004). O número de cada tipo celular foi expresso em porcentagem.

Os dados foram submetidos ao teste de homogeneidade e normalidade e a análise de regressão (ANOVA) em programa estatístico SAS (Statistic Analyses System).

**Tabela 2.** Formulação do suplemento mineral e vitamínico incorporado nas rações experimentais de *C. auratus* (g por 10 kg de ração)**Table 2.** Formulation of vitamin and mineral supplement incorporated in experimental diets of *C. auratus* (g for 10 kg of ration)

Nutrientes	Tratamentos ( $\text{mg kg}^{-1}$ VIT C)				
	0	250	500	1000	2000
Vitamina A	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Vitamina D3	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
Vitamina E	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000
Vitamina K3 MNB	0,229	0,229	0,229	0,229	0,229
Vitamina B1	0,204	0,204	0,204	0,204	0,204
Vitamina B2	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250
Vitamina B6	0,102	0,102	0,102	0,102	0,102
Vitamina B12	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
Vitamina C	0,000	7,143	14,286	28,571	57,143
Niacina	1,020	1,020	1,020	1,020	1,020
Pantotenato de Cálcio	0,510	0,510	0,510	0,510	0,510
Biotina	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Ácido Fólico	0,051	0,051	0,051	0,051	0,051
Inositol	1,020	1,020	1,020	1,020	1,020
Cloreto de Colina	8,333	8,333	8,333	8,333	8,333
Sulfato de Cobre pentahidratado	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
Sulfato de Ferro monohidratado	2,667	2,667	2,667	2,667	2,667
Sulfato de Manganês	1,923	1,923	1,923	1,923	1,923
Sulfato de Zinco	2,286	2,286	2,286	2,286	2,286
Iodato de cálcio	0,016	0,016	0,016	0,016	0,016
Selenito de sódio	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009
Sulfato de Cobalto	0,033	0,033	0,033	0,033	0,033
Subtotal	22,734	29,877	37,020	51,306	79,877
Propionato	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000
Veículo	75,266	68,123	60,980	46,694	18,123
Total	100,00	100,000	100,000	100,000	100,000

**Figura 1.** Coleta do sangue de Kingiuo (*C. auratus*)**Figure 1.** Goldfish blood sampling (*C. auratus*)

Fonte: arquivo pessoal, 2010  
Source: personal files, 2010

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final do período experimental, os peixes apresentaram peso e comprimento final de  $55,85 \pm 9,89$  g e  $14,38 \pm 1,53$  cm. A temperatura da água, o pH, condutividade elétrica e o oxigênio dissolvido apresentaram valores médios de  $24,8 \pm 1,53$  °C;  $7,13 \pm 0,59$ ;  $0,10 \pm 0,07$  mS cm<sup>-1</sup>;  $5,12 \pm 0,60$  mg L<sup>-1</sup>. Estes valores encontram-se adequados ao bom desempenho produtivo dos peixes (Boyd, 1990).

Avaliando-se os dados obtidos através da análise estatística para as diferentes características hematológicas (Tabela 3) foi observado que não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos, segundo o programa estatístico SAS.

**Tabela 3.** Parâmetros hematimétricos referentes ao eritrograma de *C. auratus* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de vitamina C

**Table 3.** Parameters of the RBC erythrogram *C. auratus* fed diets containing different levels of vitamin C

Parâmetros*	Níveis de suplementação de vitamina C (mg kg <sup>-1</sup> de ração)					
	0	250	500	1000	2000	CV (%)
Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> µL)	2,0	1,9	2,0	2,3	1,9	16,5
Hemoglobina (g dL <sup>-1</sup> )	8,2	8,5	8,4	9,0	8,6	11,2
Hematócrito (%)	35,5	33,3	35,9	36,0	36,1	12,0
VCM (µ <sup>3</sup> )	168,3	170,6	180,9	163,8	189,1	17,9
HCM (pg)	41,6	43,2	42,3	40,9	44,9	16,4
CHCM (%)	24,6	25,5	23,5	25,2	24,0	11,4

VCM = volume corpuscular médio; HCM = hemoglobina corpuscular média; CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média; CV = coeficiente de variação

\* Não houve diferenças significativas ( $P > 0,05$ )

No processo metabólico a vitamina C auxilia na maturação dos eritrócitos, na coagulação sanguínea e na manutenção da hemoglobina em níveis normais, apesar de ainda não ser conhecida a dosagem ideal para cada espécie. Adham et al. (2000), constataram uma redução do hematócrito, da hemoglobina e da contagem de eritrócitos em animais que não receberam suplementação vitamínica de ácido ascórbico, caracterizando como anemia.

Não foi observada diferença significativa nos valores do eritrograma, e o nível isento de vitamina C resultou em queda da hemoglobina. O menor nível de hemoglobina, mesmo que não diferindo estatisticamente, pode ser atribuído a redução na absorção e redistribuição de Ferro e, conseqüentemente, na síntese de hemoglobina (Adham et al., 2000). Pois, a vitamina C participa na liberação do ferro da transferrina e ferritina, da forma oxidada para forma reduzida, que é subsequentemente, incorporada à hemoglobina e outros compostos essenciais, favorecendo o seu transporte no organismo (Delvin, 1998).

Resultados semelhantes aos encontrados neste estudo foram relatados por Adham et al. (2000), ao testar a suplementação com ácido L-ascórbico de 100 e 500 mg kg<sup>-1</sup> na dieta para o bagre do canal (*Clarias garapinus*), não

observando alterações no hematócrito e contagem total de eritrócitos. Lim et al. (2000) também não encontraram efeito significativo dos níveis de vitamina C na porcentagem de hematócrito de catfish (*Ictalurus punctatus*). Já Barros et al. (2002), avaliando a interação da vitamina C com o ferro nas respostas hematológicas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) observaram aumento da porcentagem de hematócrito, com o incremento de vitamina C na ração. Por outro lado, a ausência destes nutrientes na ração propiciou o aparecimento de anemia microcítica e hipocrômica. Enquanto que a presença da vitamina em doses elevadas estimulou a liberação de eritrócitos imaturos na corrente sanguínea.

Chagas & Val (2003) estudando o efeito da vitamina C sobre os parâmetros hematológicos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) demonstraram redução discreta, porém significativa, nos valores de hematócrito e contagem total de eritrócitos, no grupo de peixes que não recebeu ácido L-ascórbico, principalmente em comparação aos animais que receberam 500 mg kg<sup>-1</sup>.

Avaliando o efeito de grandes doses de ácido ascórbico (AA) na ração (400, 500, 600 e 800 mg de AA kg<sup>-1</sup>), Affonso et al. (2007) observaram aumento no percentual de hematócrito, taxa de hemoglobina e contagem de eritrócitos, na dieta contendo suplementação de 600 e 800 mg de AA kg<sup>-1</sup>, por isso sugeriram a suplementação de 800 mg de AA kg<sup>-1</sup> para o matrinxã (*Brycon amazonicus*).

O número de leucócitos totais, trombócitos e diferencial de leucócitos, também não apresentaram alterações em relação aos diferentes níveis de vitamina C (Tabela 4).

**Tabela 4.** Parâmetros do leucograma e trombograma de *C. auratus* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de vitamina C

**Table 4.** Parameters of WBC and trombograma *C. auratus* fed with diets containing different levels of vitamin C

Parâmetros*	Níveis de suplementação de vitamina C (mg kg <sup>-1</sup> de ração)					
	0	250	500	1000	2000	CV (%)
Leucócitos totais (µL)	10918	10184	10326	10721	10648	32,6
Trombócitos (µL)	9198	12380	8858	11629	8819	37,2
Linfócitos (%)	85,0	85,0	83,8	85,7	84,7	8,2
Neutrófilos (%)	11,6	10,3	11,8	10,3	10,8	47,7
Monócitos	2,3	4,2	3,8	3,5	2,6	66,0
CGE	1,5	1,1	1,1	2,2	1,7	121,5

CGE = Contagem geral de eritrócito

\* Não houve diferenças significativas ( $P > 0,05$ ).

Não houve diferenças significativas nas contagens diferenciais de leucócitos e trombócitos. Resultado devido, provavelmente, ao fato de que os peixes não foram submetidos à procedimentos estressante e/ou inflamatório, não havendo ação do sistema imunológico, fazendo, possivelmente, com que a vitamina C não tenha atuado no sistema de defesa. Respostas semelhantes foram obtidas por Martins (1995), em estudo com alevinos de pacu (*Piaractus*



*mesopotamicus*) alimentados com dietas contendo distintos níveis de vitamina C, não observou diferenças no número de linfócitos, monócitos e eosinófilos.

Adverso aos resultados obtidos neste trabalho, Araújo et al. (2009) estudando pirarucus (*Arapaima gigas*) submetidos a tratamentos com vitamina C (100, 800 e 1200), observaram aumento significativo ( $P < 0,05$ ), no número de leucócitos totais em relação ao tratamento controle, demonstrando que a vitamina C tem a capacidade de aumentar a resistência imunológica. Da mesma forma Martins (1998), utilizando suplementação de ácido ascórbico para pacu (*P. mesopotamicus*), observou um aumento na resistência a parasitas, sugerindo que um nível adequado desta suplementação vitamínica promove melhora nutricional e na resposta imunológica.

Fujimoto & Carneiro (2001) demonstraram que a suplementação de 500 mg de vitamina C  $\text{kg}^{-1}$  de ração é suficiente para prevenir a infestação e ocorrência de deformidades em alevinos de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) em fase de crescimento. Em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) a ausência de vitamina C nas dietas, prejudicou a síntese do colágeno levando a formação irregular das vértebras, sugerindo o início de um quadro de lordoses e de escoliose (Falcon et al., 2007).

No presente estudo não foram observadas alterações hematológicas importantes indicadores de deficiências alimentares, porém alertamos para a importância da suplementação da vitamina C na ração para prevenir possíveis patologias, decorrentes de estados estressantes.

## CONCLUSÃO

A suplementação de vitamina C nas concentrações testadas na dieta de *C. auratus* não provocaram alterações nos parâmetros hematológicos analisados.

## LITERATURA CITADA

- Adham, K.G.; Hashem, H.O.; Abu-Shabana, M.B.; Kamel, A.H. Vitamin C deficiency in the catfish *Clarias gariepinus*. *Aquaculture Nutrition*, v.6, n.2, p.129-139, 2000. <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2095.2000.00139.x/abstract>>. doi:10.1046/j.1365-2095.2000.00139.x. 20 Jan. 2011.
- Affonso, E.G.; Silva, E.C.; Tavares-Dias, M.; Menezes, G.C.; Carvalho, C.S. de; Nunes, E.S.; Ituassú, D.R.; Roubach, R.; Ono, E.A.; Fim, J.D.; Marcon, J.L. Effect of high levels of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.147, n.2, p.383-388, 2007. <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1095643307000621>>. doi:10.1016/j.cbpa.2007.01.004. 21 Jan. 2011.
- Araújo, C.S.O. de.; Tavares-Dias, M.; Gomes, A.L.S.; Andrade, S.M.S.; Lemos, J.R.G.; Oliveira, A.T. de; Cruz, W.R.; Affonso, E.G. Infecções parasitárias e parâmetros sanguíneos em *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae) cultivados no estado do Amazonas, Brasil. In: Tavares-Dias, M (Org.). *Manejo e Sanidade de peixes em cultivo*. Macapá: Editora Embrapa Amapá, 2009. cap. 16. p.389-424.
- Baldisserotto, B. *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. Santa Maria: UFSM, 2002. 212p.
- Barros, M.M.; Pezzato, L.E.; Kleemann, G.K.; Hisano, H.; Rosa, G.J.M. Níveis de vitamina C e ferro para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.6, p.2149-2156, 2002.
- Boscolo, W.R.; Hayashi, C.; Meurer, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.2, p.539-545, 2002. <<http://www.scielo.br/pdf/rbz/v31n2/10337.pdf>>. doi:10.1590/S1516-35982002000300001. 18 Jan. 2011.
- Boyd, C. *Water quality in ponds for aquaculture*. Alabama: Birmingham Publishing, 1990. 482p.
- Chagas, E.C.; Val, A.L. Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parâmetros hematológicos de tambaqui. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.38, n.3, p.397-402, 2003. <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v38n3/v38n3a09.pdf>>. doi:10.1590/S0100-204X2003000300009. 22 Dez. 2010.
- Collier, H.B. The standardization of blood haemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal*, v.50, n.6, p.550-552, 1944. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1581573/pdf/canmedaj00573-0133.pdf>>. 12 Jan. 2011.
- Delvin, T.M. *Manual de bioquímica com correlações químicas*. São Paulo: Editora Edgard Blucher, 1998. 1007p.
- Falcon, D.R.; Barros, M.M.; Pezzato, L.E.; Valle, E, J.B. Lipídeo e vitamina C em dietas preparatórias de inverno para tilápias do Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.5, suplemento, p.1462-1472, 2007. <<http://www.scielo.br/pdf/rbz/v36n5s0/a02v3650.pdf>>. doi:10.1590/S1516-35982007000700002. 17 Jan. 2011.
- Fujimoto, R.Y.; Carneiro, D.J. Adição de ascorbil polifosfato como fonte de vitamina C, em dietas para alevinos de pintado (*Pseudoplatystoma corruscan*) (Agassiz 1829). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v.23, n.4, p.855-861, 2001. <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/2636/2157>>. 07 Jan. 2011.
- Garcia-Navarro, C.E.K. *Manual de Hematologia Veterinária*. São Paulo: Editora Varela, 2005. 169p.
- Goldenfarb, P.B.; Bowyer, F.P.; Hall, E.; Brosius, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. *American Journal Clinical of Pathology*, v.56, n.1, p.35-39, 1971.
- Gomes, L.C.; Chippari-Gomes, A.R.; Lopes, N.P.; Roubach, R.; Araujo-Lima, C.A.R.M. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.32, n.4, p.426-431, 2001. <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-7345.2001.tb00470.x/abstract>>. doi:10.1111/j.1749-7345.2001.tb00470.x. 11 Jan. 2011.
- Houston, A.H.; Roberts, W.C.; Kennington, J.A. Hematological response in fish: pronephric and splenic

- involvements in the goldfish, *Carassius auratus* L. Fish Physiology and Biochemistry, v.15, n.6, p.481-489, 1996. <<http://www.springerlink.com/content/x63h6t2j571lrk57/>>. doi:10.1007/BF01874922. 18 Jan. 2011.
- Lim, C.; Klesius, P.H.; Li, M.H.; Robinson, M.H. Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. Aquaculture, v.185, n.3-4, p.313-327, 2000. <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004484869900352X>>. doi:10.1016/S0044-8486(99)00352-X. 11 Jan. 2011.
- Lima, A.O.; Bernardino, G.; Proença, C.E.M. Agronegócio de peixes ornamentais no Brasil e no mundo. Panorama da Aqüicultura, v.11, n.65, p.14-24, 2001.
- Lovell, R.T. Nutrition and feeding of fish. Boston: Kluwer Academic, 1998. 267p.
- Martins, M. L. Effect of ascorbic acid deficiency on the growth, gill filament lesions and behaviour of pacu fry (*Piaractus mesopotamicus* Hølemberg, 1887). Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v. 28, n.5, p. 563-568, 1995.
- Martins, M. L.; Pilarsky, F.; Onaka, M.E.; Nomura, T.D.; Fenerick, J.; Ribeiro, K.; Makoto, D.; Myiazaki, Y.; Castro, P.M.; Malheiros, E. B. Hematologia e resposta inflamatória aguda em *O. niloticus* submetidas aos estímulos único e consecutivos de estresse de captura. Boletim do Instituto de Pesca, v.30, n.1, p.71-80, 2004. <[ftp://ftp.sp.gov.br/ftpesc/Mauricio30\\_1.pdf](ftp://ftp.sp.gov.br/ftpesc/Mauricio30_1.pdf)>. 11 Jan. 2011.
- Martins, M.L. Evaluation of the addition of ascorbic acid the ration of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) on the infrapopulation of *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea). Brazilian Journal Medical and Biological Research, v.31, n.5, p.655-658, 1998. <<http://www.scielo.br/pdf/bjmr/v31n5/2798c.pdf>>. doi:10.1590/S0100-879X1998000500008. 18 Jan. 2011.
- Nelson, D.L.; Cox, M.M. Lenhing principles of biochemistry. New York: Worth Publications, 2000. 1152p.
- Neves, P.R.; Maehana, K.R.; Ribeiro, R.P.; Vargas, L.; Cavichiolo, F.; Oliveira, A.C. Avaliação do desempenho corporal de Kinguio (*Carassius auratus*) alimentados com dietas de diferentes granulometrias. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, v.7, n.2, suplemento, p.134, 2004. <[http://tapajo.unipar.br/site/ensino/pesquisa/publicacoes/revistas/revis/view03.php?ar\\_id=1728](http://tapajo.unipar.br/site/ensino/pesquisa/publicacoes/revistas/revis/view03.php?ar_id=1728)>. 21 Dez. 2010.
- O'keefe, T.; Grant, B. F. Stable form of vitamin C: essentiality, stability, and bioavailability. Singapore: American Soybean Association - United Soybean Board, 1991. <[http://www.asasea.com/technical/aq29\\_91.html](http://www.asasea.com/technical/aq29_91.html)>. 09 Set. 2010.
- Pacheco, J.T.C.; Efeito da temperatura da água e da sedação com eugenol na sobrevida do plati (*Xiphophorus maculatus* Günther). Goiânia: Universidade Católica de Goiás, 2009. 39p. Dissertação Mestrado.
- Pezzato, L.E.; Miranda, E.C.; Barros, M.M.; Pinto, L.G.Q.; Furuya, W.M.; Pezzato, A.C. Digestibilidade aparente de ingredientes para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Revista Brasileira de Zootecnia, vol. 31, n. 4, p.1595-1604, 2002. <<http://www.scielo.br/pdf/rbz/v31n4/13720.pdf>>. doi:10.1590/S1516-35982002000700001. 12 Dez. 2010.
- Silva, A.S.T.; Schulz, U.H. Crescimento de *Carassius auratus* (Actinopterygii: Cypriniformes) em Tanques com e sem Abrigo. Acta Biológica Leopoldensia v.28, n.1, p. 42-45, 2006. <[http://www.unisinos.br/arte/files/09\\_ap06\\_silva.pdf](http://www.unisinos.br/arte/files/09_ap06_silva.pdf)>. 17 Jan. 2011.
- Tavares-Dias, M. Moraes, F.R. Característica hematológica da *Tilapia rendalli* Boulenger, 1986 (Osteichthyes, Cichlidae) capturada em “pesque-pague” de Franca, São Paulo. Bioscience Journal, v.19, n.1, p.107-114, 2003. <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/6443/4177>>. 15 Dez. 2010.
- Tavares-Dias, M.; Moraes, F.R. Hematologia de Peixes Teleósteos. Ribeirão Preto-SP: Editora Eletrônica e Arte Final, 2004. 144p.
- Wang, X.; Kim, K-W.; Bai, S.C; Huh, M-D; Cho, B-Y. Effects of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). Aquaculture, v.215, n.1-4, p.203-211, 2003. <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004484860200042X>>. doi:10.1016/S0044-8486(02)00042-X. 11 Dez. 2010.
- Wintrobe, M.M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. Folia Hematologica, v.51, n.1, p.32-49, 1934.