

Suplementação de vitamina B12 na dieta de alevinos de piauçu (*Leporinus macrocephalus*)

Supplementation of vitamin B12 in the diet of piauçu (Leporinus macrocephalus) fingerling

Arcângelo Augusto Signor^[a], Júnior Dasoler Luchesi^[b], Juliana Mara Costa^[c], Edionei Maico Fries^[d], Wilson Rogério Boscolo^[e], Aldi Feiden^[f], Altevir Signor^[g]

^[a] Engenheiro de Pesca, doutor em Produção Animal pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), professor do Instituto Federal do Paraná (IFPR), Foz do Iguaçu, PR - Brasil, e-mail: arcangelo.signor@ifpr.edu.br

^[b] Engenheiro de Pesca, mestrando em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Toledo, PR - Brasil, e-mail: junior_pesca@yahoo.com.br

^[c] Engenheira-agrônoma, mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Toledo, PR, doutoranda em Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, SP - Brasil, e-mail: juh_agro87@yahoo.com.br

^[d] Acadêmico do curso de Engenharia de Pesca, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Toledo, PR - Brasil, e-mail: edioneimaicone@hotmail.com

^[e] Zootecnista, doutor em Produção Animal pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), professor adjunto da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Toledo, PR - Brasil, e-mail: wilsonboscolo@hotmail.com

^[f] Engenheiro-agrônomo, doutor em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), professor adjunto da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Toledo, PR - Brasil, e-mail: aldifeiden@gmail.com

^[g] Engenheiro de Pesca, doutor em Zootecnia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Toledo, PR - Brasil, e-mail: altevir.signor@gmail.com

Resumo

As vitaminas são essenciais para o adequado funcionamento dos organismos, sendo importantes em diversas reações do metabolismo e influenciando na saúde do animal. O objetivo do presente trabalho foi avaliar níveis de suplementação de vitamina B12 em dietas para alevinos de piauçu (*Leporinus macrocephalus*). Foram utilizados 300 alevinos de piauçu, com peso inicial de $0,44 \pm 0,12$ g, distribuídos inteiramente ao acaso em 20 tanques-rede (cinco tratamentos e quatro repetições), com 150 litros de volume útil, dispostos em um tanque circular de alvenaria de 25 m³. Formulou-se uma dieta básica contendo 36% de proteína digestível e 3.600 kcal/kg de energia digestível para a tilápia, sendo confeccionadas, a partir destas, cinco dietas experimentais suplementadas com vitamina B12 (0,00; 0,02; 0,04; 0,08 e 0,16 mg de cianocobalamina (1,0%)/kg de ração). Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia (às 8, 11, 14 e 17 horas). Os parâmetros de sobrevivência e conversão alimentar não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) em função dos níveis de suplementação de vitamina B12. No entanto, os resultados de peso final, ganho em peso e comprimento final apresentaram diferença entre os níveis de vitamina B12 na dieta. Os melhores resultados



foram observados nos animais alimentados com as rações isentas de vitamina B12, porém, não diferiram dos animais alimentados com a suplementação de 0,08 e 0,16 mg de vitamina B12/kg de dieta. Concluiu-se que em rações para alevinos de piauçu, não se faz necessário suplementar as rações com vitamina B12 na dieta, quando esta apresenta farinha de origem animal na sua composição.

Palavras-chave: Piscicultura. Nutrição de peixes. Vitaminas. Cianocobalamina. *Leporinus macrocephalus*.

Abstract

*Vitamins are essential for proper function of living organisms, since they are important in various metabolic reactions and influence the animal health. The aim of this study was to evaluate the supplementation with different levels of vitamin B12 in the diet of piauçu (*Leporinus macrocephalus*) fingerlings. Three hundred piauçu fingerlings with initial weight of 0.44 ± 0.12 g were used. They were distributed in 20 cages using a completely randomized design (five treatments and four replicates). These cages had 150 liters of useful volume, arranged in a circular masonry tank with 25 m³. The control diet was formulated containing 32% of digestible protein and 3600 kcal.kg⁻¹ of digestible energy for tilapia. Then, five experimental diets supplemented with vitamin B12 were also prepared based on the control diet (0.00; 0.02; 0.04; 0.08 and 0.16 mg of cyanocobalamin (1.0%).kg⁻¹ of diet). The fish were fed four times a day (8 am, 11 am, 2 pm and 5 pm). Survival and feed conversion rates did not differ significantly ($p > 0.05$) in function of the vitamin B12 supplementation levels. But, the results of final weight, weight gain and final length showed differences among the experimental diets. The best results were observed for the animals fed with a diet free of vitamin B12. However, it was not significantly different from the animals fed with 0.08 and 0.16 mg vitamin supplementation. In conclusion, the piauçu fingerling feed does not need vitamin B12 supplementation when it is composed by animal-derived meal.*

Keywords: Pisciculture. Fish nutrition. Vitamin. Cyanocobalamin. *Leporinus macrocephalus*.

Introdução

O crescimento saudável e eficiente dos animais decorre do fornecimento de uma dieta completa atendendo às exigências básicas em proteínas, lipídios, carboidratos, vitaminas e minerais. As rações precisam atender às exigências sobre os nutrientes necessários para as espécies e utilizar tecnologias apropriadas no preparo das dietas (NAVARRO et al., 2007). As vitaminas são classificadas em lipossolúveis (vitaminas A, D, E e K) e hidrossolúveis (vitamina C e complexo B) (NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC, 1993). As vitaminas do complexo B estão envolvidas no metabolismo energético (tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico e biotina), catalizadores enzimáticos (peridoxina e a colina) e hematopoiese (ácido fólico e a cianocobalamina).

A exigência de vitaminas depende não apenas das condições ambientais e da inter-relação com outros nutrientes presentes na dieta, como também da homeostase do peixe, que pode comprometer

sua digestão, a absorção e a utilização metabólica (HALVER, 1988). A suplementação apropriada de vitaminas é fundamental no desenvolvimento dos peixes (MARCHETTI et al., 1999), que demandam proporcionalmente mais vitaminas que outras espécies de animais (SILVA; ANDERSON, 1998; WOODWARD, 1994).

A vitamina B12 (cianocobalamina) é necessária para a maturação e desenvolvimento dos eritrócitos e metabolismo dos ácidos graxos, atuando na conversão da homocisteína em metionina (NRC, 1993). A molécula da vitamina B12 possui cobalto, um mineral considerado essencial para os animais (ANADU; ANOZIE; ANTHONY, 1990). Para animais ruminantes, o fornecimento de vitamina B12 não é necessário, pois as bactérias do rúmen utilizam o cobalto da dieta para a produção da cianocobalamina (STANGL et al., 2000).

Em peixes, a síntese de vitamina B12 pela microflora intestinal foi reportada para a tilápia do Nilo (LOVELL; LIMSUWAN, 1982), para a tilápia híbrida

(SHIAU; LUNG, 1993) e para o catfish (LIMSUWAN; LOVELL, 1981). No entanto, as exigências quantitativas de cobalto e de vitamina B12 em dietas de peixes não foram determinadas. Halver (2002) recomenda a suplementação de 0,015 a 0,02 mg/kg de ração para o bom desempenho produtivo do salmão, e destaca que a deficiência de vitamina B12 e ácido fólico acelera o início da anemia. Em peixes de água doce, sua ação metabólica é pouco conhecida e as exigências de vitamina B12 nas dietas não foram estabelecidas. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar diferentes níveis de suplementação de vitamina B12 em dietas para alevinos de piauçu (*L. macrocephalus*) criados em tanques-rede.

Materiais e métodos

O presente trabalho foi realizado na estufa experimental do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura (GEMAQ), anexo da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Câmpus Toledo, durante os meses de março a maio de 2010, totalizando 70 dias experimentais.

Foram utilizados 300 alevinos de piauçu com peso e comprimento inicial médio de $0,44 \pm 0,12$ g e $3,56 \pm 0,27$ cm, respectivamente, distribuídos inteiramente ao acaso em 20 tanques-rede (cinco tratamentos e quatro repetições), confeccionados em malha sombrite com capacidade de 150 litros de volume útil, dispostos no interior de um tanque circular de alvenaria de 25 m³, munido de aeração constante ligada por mangueiras a um soprador de ar central.

O suplemento vitamínico e mineral adicionado era isento de vitamina B12 e a fonte utilizada da vitamina foi a cianocobalamina (1,0%), em 0,00; 0,02; 0,04; 0,08 e 0,16 mg de vitamina B12/kg de uma ração básica, contendo 36% de proteína digestível e 3600 kcal/kg de energia digestível para a tilápia do Nilo (Tabela 1), com base nos valores propostos por Boscolo, Hayashi e Meurer (2002), Meurer et al. (2003) e Boscolo et al. (2008). A suplementação dos níveis de vitamina B12 foi realizada diluindo-se a quantidade de vitamina B12 a ser fornecida na dieta em uma pequena fração da mistura e posteriormente homogeneizada com a dieta completa.

Para a elaboração das rações, os alimentos foram processados individualmente em moinho tipo faca (HAYASHI et al., 1999), com peneira de malha 0,5 mm.

Tabela 1 - Composição percentual e química da dieta.

Ingredientes	%
Farelo de soja	44,55
Farinha de vísceras de aves	30,74
Milho	16,03
Óleo de soja	7,42
Suplemento (min. + vit.) ¹	0,50
Sal	0,50
Antioxidante (BHT)	0,02
Metionina	0,24
Total	100
Nutrientes	
Cálcio	1,50
Energia digestível (kcal/kg) ²	3600
Fibra (%)	3,38
Fósforo disponível (%)	0,89
Fósforo total (%)	1,10
Gordura (%)	12,04
Histidina (%)	0,91
Linoléico (%)	5,01
Lisina (%)	2,27
Metionina + cistina (%)	1,47
Metionina (%)	0,90
Proteína digestível (%) ²	36,00
Amido (%)	9,98

Legenda: ¹ = Níveis de garantia por quilograma do produto - Vit. A, 2400000 UI; Vit. D3, 600000 UI; Vit. E, 30000 UI; Vit. K3, 3000 mg; Vit. B1, 4000 mg; Vit. B2, 4000 mg; Vit. B6, 3600 mg; Vit. C, 60000 mg; Niacina, 20000 mg; Pantotenato Ca, 10000 mg; Biotina, 200 mg; Ác. Fólico, 1200 mg; Inositol, 30000 mg; Cloreto de Colina, 100000 mg; Sulfato de Cobre pentahidratado, 3600 mg; Sulfato de Ferro monohidratado, 16000 mg; Sulfato de Manganês, 10000 mg; Sulfato de Zinco, 24000 mg; Iodato de cálcio, 160 mg; Selenito de sódio, 100 mg; Sulfato de Cobalto, 120 mg; ² = Valores de energia e proteína digestíveis propostos por Boscolo, Hayashi e Meurer (2002), Meurer et al. (2003) e Boscolo et al. (2008) para a tilápia.

Em seguida, os ingredientes foram misturados e homogeneizados manualmente, respeitando-se as porcentagens estabelecidas na formulação; depois, foram adicionados o suplemento mineral e o vitamínico, os quais continham as concentrações pré-definidas, atendendo à exigência estabelecida para o salmão (HALVER, 2002). As rações foram armazenadas em

sacos plásticos e estocadas em freezer. O fornecimento (*ad libitum*) das dietas deu-se em quatro vezes ao dia (às 8, 11, 14 e 17 horas) até a saciedade aparente.

As rações foram submetidas à extrusão com matriz de 2,0 mm, e os “*pellets*” obtidos foram desidratados em estufa de circulação forçada a 55 °C por 24 horas, com temperatura de extrusão de 90 °C. Após a secagem da ração, uma porção desta foi moída e fornecida na forma farelada do primeiro ao 15º dia e do 16º ao final do período experimental, sendo as rações fornecidas na forma desintegrada.

Os parâmetros físicos e químicos da água, pH, condutividade elétrica (mS.cm⁻¹) e oxigênio dissolvido (mg.L⁻¹) foram mensurados semanalmente, e a temperatura (°C) da água foi monitorada quatro vezes ao dia.

Ao final do experimento, os peixes permaneceram por 24 horas em jejum para o esvaziamento do trato gastrointestinal, anestesiados em solução de benzocaína 75 mg.L⁻¹ (GOMES et al., 2001); os peixes foram contados, pesados e medidos, para os cálculos de ganho de peso, comprimento final, conversão alimentar aparente e sobrevivência.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de regressão e, posteriormente, à análise de variância ao nível de 5% de significância; em caso de diferenças, foi aplicado o teste de Tukey pelo programa estatístico SAEG (UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV, 1997).

Resultados e discussão

Os valores médios de temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica foram

de 23,3 ± 1,8 °C, 7,02 ± 0,44, 5,13 ± 0,31 mg/L e 0,10 ± 0,10 µS/cm, em acordo com os valores recomendados por Boyd (1990) e Sipaúba-Tavares (1995) para o bom desenvolvimento de peixes.

Os parâmetros de sobrevivência e conversão alimentar aparente não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) quanto aos níveis de suplementação de vitamina B12 na dieta (Tabela 2). Entretanto, os resultados de peso final, ganho em peso e comprimento final apresentaram diferença entre os níveis de vitamina B12 na dieta. Os melhores resultados foram observados para os animais alimentados com as rações isentas de vitamina B12, porém não diferiram dos animais alimentados com a suplementação de 0,08 e 0,16 mg de vitamina B12/kg de dieta. Para os dados de comprimento total, os melhores resultados foram observados para os peixes alimentados com rações isentas de vitamina B12, não diferindo daqueles alimentados com 0,04, 0,08 e 0,12 mg de vitamina na ração.

Esses resultados corroboram os de Fernandes et al. (2011) para pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo suplementação de vitamina B12 (0,0; 0,02; 0,04; 0,08; 0,16 e 0,32 mg de vitamina B12/kg de ração), ao não observarem influência da vitamina sobre o desempenho produtivo dos peixes. Para juvenis de jundiá cultivados em tanques-rede, também não foram observadas diferenças no peso final, ganho de peso e conversão alimentar aparente dos peixes alimentados com 0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg de vitamina B12/kg de ração (PEDRON et al., 2011).

Dependendo da qualidade e fonte dos ingredientes utilizados na fabricação das rações para peixes tropicais não se faz necessária a suplementação de

Tabela 2 - Desempenho de alevinos de piaçu (*L. macrocephalus*) alimentados com rações suplementadas com diferentes níveis de vitamina B12.

Parâmetros ¹	Níveis de vitamina B12 (mg/kg)					CV (%)
	0,00	0,02	0,04	0,08	0,16	
Ganho de peso (g)(x±s)	5,57±0,12a	4,82±0,21b	4,97±0,09b	5,25±0,07ab	5,20±0,08ab	4,87*
Comprimento total (cm) (x±s)	7,83±0,12a	7,50±0,18b	7,53±0,10ab	7,65±0,11ab	7,65±0,17ab	1,90*
Sobrevivência (%) (x±s)	98,25±3,33	96,5±3,85	100,0	96,75±6,67	96,5±3,85	4,28 ^{ns}
Conversão alimentar aparente(x±s)	0,89±0,03	0,95±0,04	0,90±0,02	0,92±0,04	0,92±0,01	3,09 ^{ns}

Legenda: ¹ = Médias seguidas de letras distintas diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey; * = ($p < 0,05$); ^{ns} = Não significativo.

Fonte: Dados da pesquisa.

vitamina B12 na dieta (LIMSUWAN; LOVELL, 1981). Os dados do presente estudo confirmam os relatos de Fernandes et al. (2011) e de Pedron et al. (2011), em virtude da similitude dos resultados obtidos ao se suplementar vitamina B12 na dieta de alevinos de piaçu. Por outro lado, em algumas espécies de peixes há relatos de que a microflora intestinal sintetiza quantidade suficiente de vitamina B12, atendendo às exigências nutricionais da tilápia do Nilo (LOVELL; LIMSUWAN, 1982) e da tilápia híbrida (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) (SHIAU; LUNG, 1993). Ao tratar-se, porém, da garoupa, o seu crescimento ótimo ocorre com o fornecimento de 10 mg de cobalto/kg de dieta, promovendo juntamente com a produção bacteriana gastrointestinal quantidades suficientes de vitamina B12, dispensando a suplementação dessa vitamina na dieta (LIN; WU; SHIAU, 2010). Para a tilápia zillii alimentada com dietas contendo 1.000 e 2.000 mg de cloreto de cobalto/kg, haverá respectivamente o suprimento de cerca de 250 e 500 mg Co/kg na dieta, melhorando significativamente o crescimento ao se comparar com os peixes alimentados com rações abaixo de 500 mg de cloreto/kg (gerando menos que 100 mg Co/kg na dieta) (ANADU; ANOZIE; ANTHONY, 1990).

As bactérias gastrointestinais apresentam grande importância na produção de vitamina B12 em peixes de água doce. Quando estabelecidas no intestino dos peixes, elas podem complementar a exigência, reduzindo a suplementação da dieta (SUGITA; MIYAJIMA; DEGUCHI, 1991). Essa informação pode justificar o crescimento similar entre os peixes alimentados com e sem vitamina B12 na dieta (FERNANDES et al., 2011; LOVELL; LIMSUWAN, 1982; PEDRON et al., 2011; SHIAU; LUNG, 1993). No entanto, a microflora intestinal do pescado pode ser influenciada por fatores endógenos e exógenos (SUGITA; MIYAJIMA; DEGUCHI, 1991), variando de acordo com o estágio de desenvolvimento do peixe (larvas, juvenis e adultos), modelo de cultivo empregado, hábito alimentar (estrutura do trato digestório), sistema de cultivo (estresse), temperatura da água, uso de antibióticos, dentre outros fatores que podem influenciar o metabolismo dos peixes.

As exigências em vitaminas para peixes variam de acordo com a espécie, fase de cultivo, taxa de crescimento, composição da dieta e interações entre nutrientes, capacidade de síntese dos micro-organismos gastrointestinais, condições ambientais e sistemas de

produção (HEPHER, 1988; LOVELL, 1991; LOVELL, 1998; STEFFENS, 1989; TACON, 1990). As vitaminas do complexo B são hidrossolúveis (piridoxina, folato, riboflavina, niacina, tiamina e cianocobalamina) e essenciais para a eritropoiese dos peixes (FELDMAN et al., 2000). Por serem vitaminas hidrossolúveis, não são armazenadas nos organismos, ou seja, são absorvidas, executam suas funções no metabolismo e são excretadas, devendo ser fornecidas constantemente nas dietas (HALVER, 2002).

A inclusão de vitaminas nas rações é uma prática necessária nas dietas de peixes, principalmente nos modelos intensivos de produção, nos quais a utilização dos alimentos naturais praticamente inexistente. Contudo, suplementá-los adequadamente torna-se particularmente difícil devido à alta degradabilidade das moléculas das vitaminas durante o processamento e armazenamento das rações, por causa do aquecimento, da umidade e da oxidação (ALMEIDA, 2003).

Por não serem armazenadas no organismo, as vitaminas não provocam problemas de hipervitaminose, contrariamente às vitaminas lipossolúveis que são armazenadas no organismo. Contudo, o principal sinal clínico provocado pela hipovitaminose de vitamina B12 é a anemia megaloblástica, podendo causar também alterações neurológicas, que podem ser irreversíveis quando os animais são submetidos à restrição desta vitamina na dieta por períodos prolongados.

No presente trabalho, não foram detectados sinais de deficiência nos peixes alimentados com as rações contendo os diferentes níveis de suplementação de vitamina B12. Por outro lado, Teixeira (2009), avaliando a vitamina B6 (piridoxina), observou sinais clínicos visíveis de deficiência dessa vitamina em alevinos de tilápia no Nilo tais como apatia, natação errática e hipersensibilidade, ocorrendo, ainda, piora na conversão alimentar aparente quando arraçoados com dietas isentas de suplementação de vitamina B6. O oposto foi relatado por Freitas et al. (2010), ao trabalharem com larvas de jundiá *R. voulezi* alimentadas com dietas suplementadas com vitamina B6. Esses pesquisadores relataram não haver diferença entre o peso final e a sobrevivência dos animais, assim como não observaram sinais clínicos visíveis de deficiência de vitamina.

Determinar a exigência das vitaminas hidrossolúveis aos peixes é fundamental. Embora elas não provoquem hipervitaminose nos animais, podem

ocorrer sinais de hipovitaminose, prejudicando o desempenho produtivo dos peixes. A suplementação em excesso (falta do conhecimento das exigências em peixes) é uma prática comum dos fabricantes de rações para peixes, uma vez que o excesso nas rações eleva os custos de rações e pode prejudicar a qualidade da água. Outras pesquisas devem ser desenvolvidas, visando determinar as exigências principalmente das espécies de interesse comercial, avaliando-se o quanto as bactérias contribuem com a produção de vitamina B12 em cada espécie de peixe. Nesse sentido, sugere-se elaboração de rações sem a inclusão de alimentos de origem animal, avaliação de rações através de dietas purificadas e, se possível, inclusão da vitamina por aspersão após o processamento e armazenagem em ambientes com baixa temperatura, evitando-se a oxidação das rações e a consequente perda de vitamina.

Conclusão

Em rações para alevinos de piaçu, não se faz necessário suplementar a dieta com vitamina B12, quando esta apresenta farinha de origem animal na sua composição.

Referências

- ALMEIDA, G. S. C. **Suplementação dietética de vitamina C, desenvolvimento e sanidade do pacu (*Piaractus mesopotamicus* - Holmberg, 1887)**. 2003. 47 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- ANADU, D. I.; ANOZIE, O. C.; ANTHONY, A. D. Growth responses of Tilapia zillii fed diets containing various levels of ascorbic acid and cobalt chloride. **Aquaculture**, v. 88, p. 329-336, 1990.
- 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. 13, n. 2, p. 539-545, 2002.
- BOSCOLO, W. R. et al. Composição química e digestibilidade aparente da farinha de resíduos da indústria de filetagem de tilápias, para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Rural**, v. 38, n. 9, p. 2579-2586, 2008.
- BOYD, C. **Water quality in ponds for aquaculture**. Alabama: Birmingham Publishing, 1990.
- FELDMAN, B. F. et al. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
- FERNANDES, D. R. A. et al. **Vitamina B12 em dietas para pós-larvas de tilápia do Nilo**. Disponível em: <<http://www.gemaq.org.br/upload/2010071911220359.pdf>>. Acesso em: 26 ago. 2011.
- FREITAS, J. M. A. et al. Suplementação de vitamina B6 em dietas para larvas de jundiá *Rhamdia voulezi*. In: I CONGRESSO SUL BRASILEIRO DE PRODUÇÃO ANIMAL SUSTENTÁVEL, 2010, Chapecó. **Anais...** Chapecó: ANISUS, 2010.
- GOMES, L. C. et al. 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.
- HALVER, J. E. **Fish nutrition**. San Diego: Academic Press, 1988.
- HALVER, J. E. The vitamins. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Eds.). **Fish nutrition**. 3. ed. London: Academic Press, 2002. p. 61-141.
- HAYASHI, C. et al. Uso de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase de crescimento. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 21, n. 3, p. 733-737, 1999.
- HEPHER, B. **Nutrition of pond fishes**. Cambridge: Cambridge University Press, 1988.
- LIMSUWAN, T.; LOVELL, R. T. Intestinal synthesis and absorption of vitamin B-12 in channel catfish. **Journal Nutrition**, v. 111, p. 2125-2132, 1981.
- LIN, Y. H.; WU, J. Y.; SHIAU, S. Y. Dietary cobalt can promote gastrointestinal bacterial production of vitamin B12 in sufficient amounts to supply growth requirements of grouper, *Epinephelus malabaricus*. **Aquaculture**, v. 302, p. 89-93, 2010.
- LOVELL, R. T.; LIMSUWAN, T. Intestinal synthesis and dietary nonessentiality of vitamin B12 for Tilapia nilotica. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 111, p. 485-490, 1982.
- LOVELL, R. T. **Nutrition and feeding of fish**. 2. ed. Boston: Kluwer Academic, 1998.

- LOVELL, R. T. Nutrition of aquaculture species. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 5, p. 4193-4200, 1991.
- MARCHETTI, M. et al. Stability of crystalline and coated vitamins during manufacture and storage of fish feeds. **Aquaculture Nutrition**, v. 5, n. 2, p. 115-120, 1999.
- MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R. Digestibilidade aparente de alguns alimentos protéicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1801-1809, 2003.
- NAVARRO, R. D. et al. Níveis de energia digestível da dieta sobre o desempenho de piauçu (*Leporinus macrocephalus*) em fase pós-larval. **Acta Scientiarum Animal Science**, v. 29, p. 109-114, 2007.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrients requirements of fish**. Washington, DC: National Academies Press, 1993.
- PEDRON, F. A. et al. Vitamin B12 in the diet of Silver catfish (*Rhamdia voulezi*) reared in cages. In: 4º SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE SAÚDE E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 2011, Botucatu. **Anais...** Botucatu: AQUANUTRI, 2011.
- SHIAU, S. Y.; LUNG, C. Q. No dietary vitamin B12 required for juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 105, p. 147-150, 1993.
- SILVA, S. S. de; ANDERSON, T. A. **Fish nutrition in aquaculture**. London: Chapman & Hall, 1998.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H. S. **Limnologia aplicada à aqüicultura**. Jaboticabal: Funep, 1995.
- STANGL, G. I. et al. Evaluation of the cobalt requirement of beef cattle based on vitamin B12, folate, homocysteine and methylmalonic acid. **British Journal of Nutrition**, v. 84, n. 5, p. 645-653, 2000.
- STEFFENS, W. **Principles of fish nutrition**. Chichester: Ellis Horwood, 1989.
- SUGITA, H.; MIYAJIMA, C.; DEGUCHI, Y. The vitamin B12: producing ability of the intestinal microflora of freshwater fish. **Aquaculture**, v. 92, p. 267-276, 1991.
- TACON, A. G. J. The essential nutrients. In: TACON, A. G. J. **Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp**. Redmond: Argent Laboratories Press, 1990. p. 1-117.
- TEIXEIRA, C. P. **Suplementação de vitamina B6 em dietas práticas e purificadas no desempenho produtivo e resposta hemática da tilápia do Nilo submetida a estímulo térmico**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, 2009.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG: Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas. Versão 7.1. Manual do usuário**. Viçosa, 1997. 150p.
- WOODWARD, B. Dietary vitamins requirements of cultured young fish, with emphasis on quantitative estimates for salmonids. **Aquaculture**, v. 124, p. 133-168, 1994.

Recebido: 24/05/2012
Received: 05/24/2012

Aprovado: 14/08/2012
Approved: 08/14/2012