

Suplementação de vitamina B₁₂ na dieta de alevinos de kinguio (*Carassius auratus*)

Edionei Maico Fries¹, Pedro Carvalho Rabelo², Altevir Signor³, Aldi feiden³, Wilson Rogério Boscolo³, Deividy Miranda da Silva⁴, Elenice Souza dos Reis Goes⁵ e Rodrigo Aguiar da Silva¹

¹Engenheiro de Pesca. Mestrando em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca (UNIOESTE). Rua da Faculdade 645; CEP: 85903-000 – Toledo, PR. edioneifries@hotmail.com; rodrigoaguiar_2013@hotmail.com

²Engenheiro Agrônomo. Mestrando em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca (UNIOESTE). pcr_santos@yahoo.com.br

³Professor Doutor do curso de Engenharia de Pesca. Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura (GEMaQ). Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). Altevir.signor@gmail.com; aldifeiden@gmail.com; wilsonboscolo@hotmail.com

⁴Graduando em Engenharia de Pesca. Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). deividy.miranda@hotmail.com

⁵Engenheira de Pesca. Doutoranda em Ciência de Alimentos. Universidade Estadual de Maringá (UEM). lezinha_reis@hotmail.com

Resumo: O objetivo do trabalho foi avaliar a suplementação de vitamina B₁₂ em dietas para alevinos de kinguio *Carassius auratus*. Foram utilizados 240 alevinos com peso e comprimento inicial médio de 0,58±0,21g e 3,17±0,39 cm respectivamente, distribuídos 20 em tanques rede experimentais confeccionados em malha sombrite com capacidade de 150 litros de volume útil, em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo uma unidade demonstrativa formada por um tanque rede com 12 peixes. Os alevinos foram alimentados quatro vezes ao dia (8h, 11h, 14h e 17h), com dietas contendo níveis de suplementação de vitamina B₁₂ de 0,00; 0,10; 0,20; 0,40 e 0,80 mg de vitamina B₁₂ kg⁻¹ de dieta, até a saciedade aparente, por um período de 60 dias. Os dados foram submetidos à análise de regressão (P<0,05). Não foram observadas diferenças (P>0,05) no desempenho produtivo dos peixes alimentados com as dietas suplementadas com diferentes níveis de vitamina B₁₂. Os resultados indicam que não há necessidade de suplementação de vitamina B₁₂ em dietas práticas para essa espécie, sobretudo aquelas com ingredientes de origem animal em sua composição.

Palavras-chaves: crescimento, nutrição, peixe ornamental

Supplementation in of vitamin B₁₂ in the diet of goldfish (*Carassius auratus*) fingerlings

Abstract: The aim of this study was to evaluate vitamin B₁₂ supplementation in diets for fingerlings of goldfish *Carassius auratus*. 240 fingerlings with initial average weight and length of 0.58 ± 0.21 g and 3.17 ± 0.39 cm, respectively, distributed in 20 experimental in net cages made of mesh shading network with capacity of 150 liters of storage volume, in a completely randomized design with five treatments and four replications, with a demo unit formed by a network tank with 12 fish. Fingerlings were fed four times a day (8h, 11h, 14h and 17h), diets containing levels of vitamin B₁₂ supplementation of 0.00, 0.10, 0.20, 0.40 and 0.80 mg of vitamin B₁₂ kg⁻¹ diet to apparent satiation for a period of 60 days. Data were subjected to regression analysis (P<0.05). No differences were observed (P>0.05) on growth performance of fish fed diets supplemented with vitamin B₁₂. The results indicate that there is

no need for vitamin B₁₂ supplementation in practical diets for this species, especially those with animal ingredients in its composition.

Key Words: *Carassius auratus*, growth, nutrition, vitamin B₁₂

Introdução

O kinguio *Carassius auratus* é um peixe ornamental popular, com destaque na comercialização mundial, devido sua cor vibrante e brilhante (Saxena, 1994), facilidade de manejo, rusticidade frente às condições ambientais e fácil adaptação a locais pequenos (Bandyopadhyay *et al.*, 2005). Dietas adequadas à espécie e a fase de vida do peixe são determinantes para o sucesso na aquicultura, sejam eles destinados ao consumo ou ornamento (Kaiser *et al.*, 2003; Lim *et al.*, 2003).

Dentre os vários nutrientes requeridos pelos peixes continuamente ao longo da vida, as vitaminas são substâncias exigidas na dieta em pequenas quantidades e são importantes para o crescimento, saúde e bom desempenho de várias funções no organismo (NRC, 2011). A vitamina B₁₂, faz parte de um grupo de vitaminas hidrossolúveis denominadas do complexo B (Lovell, 1998), estando envolvida com ácido fólico na hematopoiese, é necessária para o crescimento de vários microrganismos, além de atuar como fator de crescimento nos animais (NRC, 2011).

O principal componente da molécula de vitamina B₁₂ é o cobalto, que deu origem a outro nome dessa molécula: cianocobalamina. O cobalto tem importante função biológica na formação da estrutura da molécula de vitamina B₁₂, além de ser um mineral considerado essencial para os animais (Anadu *et al.*, 1990). Para animais ruminantes não se faz necessário o fornecimento de vitamina B₁₂, pois bactérias do rúmen usam 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 por Limsuwan e Lovell (1981), Lovell e Limsuwan (1982) e Shiau e Lung (1993) para o catfish, tilápias do Nilo e tilápias híbridas respectivamente, comprovando a capacidade desses microrganismos de sintetizar vitamina B₁₂. Da mesma forma, Lin *et al.* (2010), reportou forte relação entre suplementação de cobalto em dietas para garoupa com a capacidade das bactérias gastrointestinais, presentes no trato digestório dessa espécie, de produzirem vitamina B₁₂. Porém, as exigências de cobalto e vitamina B₁₂ em dietas para peixes ainda não foram determinadas. Halver (2002) sugere a suplementação de 0,015 a 0,02 mg/kg de dieta para o bom desempenho do salmão, ademais, ressalta que a deficiência desta vitamina e ácido fólico acelera o início da anemia. No entanto, para peixes de água doce sua ação tanto metabólica

quanto sua exigência é pouco conhecida. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a suplementação de vitamina B₁₂ em dietas para alevinos de kinguios *Carassius auratus*.

Material e Métodos

O estudo foi realizado na estufa experimental do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura (GEMAQ), localizada na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), *campus* Toledo, durante um período de 60 dias.

Foram utilizados 240 alevinos de kinguios com peso inicial médio de $0,58 \pm 0,21$ gramas e comprimento inicial médio de $3,17 \pm 0,39$ cm, distribuídos aleatoriamente em 20 tanques rede experimentais (12 peixes/tanque) confeccionados em malha sombrite, compondo cinco tratamentos e quatro repetições, em um delineamento inteiramente ao acaso. Os tanques rede, com capacidade de 150 litros de volume útil, foram dispostos no interior de um tanque circular de alvenaria com capacidade de 25 m³ de água, com sistema de aeração constante ligado por mangueiras a um soprador de ar central.

O suplemento mineral e vitamínico utilizado era isento de vitamina B₁₂ e a fonte de vitamina usada foi cianocobalamina (1,0%), em 0,00; 0,10; 0,20; 0,40 e 0,80 mg de vitamina B₁₂ por kg⁻¹ da dieta. Os tratamentos foram constituídos de uma dieta basal com 32% de proteína bruta e 3200 kcal kg⁻¹ de energia digestível, conforme proposto Boscolo *et al.* (2002) e Pezzato *et al.* (2002) para a tilápia do Nilo (Tabela 1). A suplementação dos níveis de vitamina B₁₂ estabelecida para cada tratamento foi realizada diluindo-se a quantidade da vitamina em uma pequena fração da mistura e posteriormente incorporada com o restante da dieta.

Os ingredientes foram processados individualmente em moinho tipo martelo e peneirados com peneira de malha 0,5 mm, a fim de reduzir o tamanho das partículas e expor maior área para ação de enzimas digestivas (Monticelli *et al.*, 1996; Laurinen *et al.*, 2000). Em seguida os ingredientes foram misturados e homogeneizados manualmente, conforme as porcentagens estabelecidas na formulação das dietas. Nesta fase, foram adicionados os valores correspondentes de vitamina B₁₂ de cada tratamento e o suplemento vitamínico de acordo com a prescrição da formulação. Posteriormente essa fração foi homogeneizada manualmente e acrescida à porção da mistura de cada tratamento. A mistura, hidratada (22% de água) e homogeneizada, foi extrusada utilizando-se uma matriz de 1,2mm a uma temperatura de 90°C. Para secagem a ração permaneceu em estufa a temperatura de 55°C por 24 horas. Toda a ração fornecida aos peixes foi pesada de acordo com o tratamento e repetição, sendo fornecidas até a saciedade aparente quatro vezes ao dia (8h, 11h, 14h e 17h).

Tabela 1 – Composição percentual e química calculada da dieta basal para alevinos de kinguios

Ingrediente %	%	Nutriente	%
Milho grão	33,86	Amido (%)	26,44
Farelo de soja 45 %	22,16	Gordura (%)	5,51
Farinha de aves	20,70	Fibra bruta (%)	2,50
Farelo de trigo	9,30	Energia digestiva (kcal kg ⁻¹) ²	3200
Farinha de peixe	8,00	Cálcio (%)	2,03
Fosfato bicálcico	2,28	Fósforo disponível (%)	1,23
Óleo de soja	1,00	Fósforo total (%)	1,40
Suplemento (min.±vit.) ¹	1,00	Arginina total (%)	2,13
Glúten de milho 60%	1,00	Fenilalanina (%)	1,45
Sal comum	0,30	Histidina (%)	0,73
Calcário	0,28	Isoleucina (%)	1,35
Propionato	0,10	Lisina total (%)	1,75
BHT	0,02	Metionina+cistina total (%)	1,09
Metionina	0,01	Metionina total (%)	0,61
Total	100,00		

¹ = Níveis de garantia por quilograma do produto – vitamina A = 0,24 mg; vitamina D₃ = 0,12 mg; vitamina E = 6mg; vitamina K₃ = 0,69mg; vitamina B₁ = 0,41 mg; vitamina B₂ = 0,50 mg; vitamina B₆ = 0,37 mg; Vitamina C = 17,14 mg; Niacina = 2,04 mg; Pantotenato de cálcio = 1,02 mg; Biotina = 1mg; ácido fólico = 0,12 mg; inositol = 3,06 mg; cloreto de colina = 16,67 mg; sulfato de cobre pentahidratado = 1,44 mg; sulfato de cobre monohidratado = 5,33mg; sulfato de manganês = 3,85mg; sulfato de zinco = 6,86mg; iodato de cálcio = 0,03mg; selenito de sódio = 0,02 mg; sulfato de cobalto = 0,06 mg; propionato = 2,00 mg.

² = valores de energia digestiva e proteína bruta proposta por Boscolo et.al. 2002 e Pezzato et. al. 2002 para tilápia do Nilo.

A qualidade da água do sistema de criação foi verificada semanalmente, pH ($7,75 \pm 0,39$), condutividade elétrica ($0,05 \pm 0,02 \mu\text{S cm}^{-1}$) e oxigênio dissolvido ($5,40 \pm 1,10 \text{ mg L}^{-1}$). A temperatura ($23,83 \pm 0,64^\circ\text{C}$) da água foi aferida quatro vezes ao dia, nos mesmos horários da alimentação, permanecendo dentro dos níveis aceitáveis para a criação de peixes de clima tropical.

Os peixes, ao final do experimento, permaneceram 24 horas sem alimentação para esvaziamento do trato digestório. Em seguida foram coletados e anestesiados com solução de benzocaína $87,5 \text{ mgL}^{-1}$ (Bittencourt *et al.*, 2012) para realização das medições e pesagens. Foi avaliado o peso final, ganho de peso, comprimento padrão, comprimento total, sobrevivência (%) e conversão alimentar aparente.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de regressão e, posteriormente, à análise de variância ANOVA para identificar possíveis diferenças ao nível de 5% de significância, pelo programa estatístico SAEG (UFV, 1997).

Resultados e Discussão

Os resultados de desempenho produtivo do kingiuo não foram alterados pela suplementação com vitamina B₁₂, conforme pode ser observado na Tabela 2. Os valores de

ganho de peso ficaram entre 1,63 e 2,31g e a conversão alimentar aparente menos eficiente foi de 2,14.

Bandyopadhyay *et al.* (2005), obteve resultados de ganho de peso de 2,59 g e conversão alimentar aparente de 2,61 em experimento realizado com kinguios com peso inicial de 1,66g. A conversão alimentar menos eficiente no trabalho realizado por esses autores pode estar no fato deles terem utilizado ração comercial, muitas vezes com baixa qualidade dos ingredientes. Yanar *et al.* (2008) avaliando ganho de peso e conversão alimentar aparente em experimento com kingiuo, observou que os dados de ganho de peso (12,90 g) e conversão alimentar (1,77) foram superiores a este estudo, podendo esse fato ser explicado pela idade e peso inicial dos peixes utilizados no estudo.

Tabela 2 - Desempenho produtivo de alevinos de kingiuo alimentados com dietas suplementadas com vitamina B₁₂

Parâmetros ¹	Níveis (mg de vitamina B ₁₂ kg ⁻¹ de dieta)					CV %
	0,00	0,10	0,20	0,40	0,80	
PIM (g)	0,63±0,01	0,64±0,01	0,64±0,01	0,64±0,02	0,64±0,01	1,80 ^{NS}
PFM (g)	2,26±0,10	2,47±0,29	2,95±0,79	2,38±0,14	2,61±0,29	16,05 ^{NS}
GPM (g)	1,63±0,09	1,83±0,28	2,31±0,79	1,74±0,14	1,98±0,29	21,25 ^{NS}
CP (cm)	3,12±0,10	3,19±0,25	3,25±0,14	3,16±0,05	3,20±0,16	4,82 ^{NS}
CT (cm)	4,58±0,15	4,72±0,39	4,83±0,09	4,72±0,05	4,73±0,25	4,70 ^{NS}
SO (%)	91,67±11,79	87,50±10,76	85,42±17,18	93,75±7,98	87,50±10,76	13,43 ^{NS}
CAA	2,01±0,35	2,14±0,28	1,89±0,36	2,00±0,19	1,94±0,53	18,08 ^{NS}

¹Médias ± desvio padrão; NS: não significativo; PIM: peso inicial médio; PFM: peso final médio; GPM: ganho de peso médio; CP: comprimento padrão; CT: comprimento total; SO: sobrevivência; CAA: conversão alimentar aparente.

Os parâmetros de desempenho produtivo não apresentarem diferenças ($P>0,05$) entre os diferentes níveis de suplementação da vitamina B₁₂, podendo esse fato ser explicado pelo uso de dieta prática composta de ingredientes de origem animal, capaz de suprir as demandas da vitamina B₁₂ (Limsuwan e Lovell, 1981). A quantidade de vitamina B₁₂ na farinha de peixe varia de acordo com a espécie utilizada e processamento. No entanto, o subproduto da tilápia, peixe utilizado para elaboração da farinha de peixe, presente na formulação da dieta usada neste estudo não é reconhecida como fonte de vitamina B₁₂ (NCR, 2011). Além disso, bactérias gastrointestinais são de grande importância na produção de vitamina B₁₂ em peixes de água doce. Quando encontradas no intestino dos peixes, estas podem complementar a exigência dessa vitamina, reduzindo a quantidade a ser suplementada na dieta (Sugita *et al.*, 1991). Reforça essa

explicação o fato dos animais serem incapazes de armazenar vitaminas hidrossolúveis, assim após a assimilação, o animal utiliza a vitamina B₁₂ para maturação dos eritrócitos, metabolismo de ácidos graxos, metilação da homocisteína em metionina e para normal reciclagem do ácido tetraidrofólico, sendo o excesso eliminado, corroborando a impossibilidade de o animal ter vitamina B₁₂ estocada no seu organismo antes da realização do experimento e indicando que as demandas foram supridas pela dieta prática.

Há relatos para algumas espécies de peixes que a microflora intestinal é capaz de sintetizar quantidade suficiente de vitamina B₁₂, atendendo as exigências nutricionais da tilápia do Nilo Lovell e Limsuwan (1982) e tilápia híbrida (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) (Shiau e Lung, 1993). Por outro lado, a garoupa atinge seu crescimento máximo com o fornecimento de 10 mg de cobalto kg⁻¹ de dieta e junto com a produção bacteriana gastrointestinal consegue quantidades suficientes de vitamina B₁₂, não sendo necessário a suplementação na dieta (Lin *et al.*, 2010). A tilapia *zillii* atinge seu máximo crescimento com dietas suplementadas com 250 e 500 mg Co kg⁻¹ de dieta, em comparação a dietas com a suplementação de 100 Co kg⁻¹ de dieta (Anadu *et al.*, 1990). Ademais, a microflora intestinal de peixe pode ser influenciada por fatores endógenos e exógenos (Sugita *et al.*, 1991), que podem variar de acordo com o estágio de desenvolvimento do mesmo (larvas, juvenis e adultos), sistema de cultivo utilizado, hábito alimentar (estrutura do trato digestório), estresse sofrido no sistema de cultivo, temperatura da água, uso de antibióticos, entre outros fatores que porventura podem influenciar no metabolismo dos peixes.

Na literatura observamos outros trabalhos em que os peixes não melhoraram seu desempenho produtivo com a suplementação da vitamina B₁₂. Pós-larvas de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) alimentadas com dietas suplementadas com níveis crescentes de vitamina B₁₂ de 0,0; 0,02; 0,04; 0,08; 0,16 e 0,32 mg de vitamina B₁₂ kg⁻¹ de ração, relataram não haver influência da suplementação da vitamina B₁₂ no desempenho produtivo dos peixes (Fernandes *et al.*, 2011). Pedron *et al.* (2011), avaliando níveis de suplementação de 0,0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg de vitamina B₁₂ kg⁻¹ de ração, em dietas para juvenis de jundiá cultivados em tanques-rede, também não observaram diferenças no desempenho produtivo. Silva *et al.* (2012), avaliando níveis de 0,0; 0,02; 0,04; 0,08 e 0,16 mg de vitamina B₁₂ kg⁻¹ de ração em dietas para carpa colorida (*Cyprinus carpio*), não observaram influência da vitamina no desempenho produtivo dos animais.

Neste trabalho, não foram observados sinais clínicos de deficiência da vitamina B₁₂ nos peixes alimentados com os diferentes níveis de suplementação desta vitamina. Teixeira *et al.* (2012), relataram piora na conversão alimentar aparente e no ganho de peso de alevinos de

tilápia alimentados com dietas ausentes de suplementação de piridoxina (vitamina B₆) em alevinos de tilápia do Nilo. Freitas *et al.* (2010), também não observaram diferenças no peso final e sobrevivência de larvas de jundiá alimentados com dietas suplementadas com vitamina B₆, além de não haver sinais clínicos visíveis de deficiência causada pela ausência dessa vitamina.

Feldman *et al.* (2000), afirmam que as vitaminas do complexo B são hidrossolúveis e essenciais para a eritropoiese dos peixes. As vitaminas hidrossolúveis não são armazenadas nos organismos, logo, são absorvidas, executam funções específicas no metabolismo e são excretadas, devendo ser ofertadas constantemente na dieta (Halver, 2002). Essas vitaminas não causam problemas de hipervitaminose, sendo contrário a vitaminas lipossolúveis que são armazenadas no organismo. Todavia, como principal sinal clínico da hipovitaminose pela vitamina B₁₂ é a anemia megaloblástica, essa ainda pode causar alterações neurológicas, podendo ser irreversíveis se os animais forem submetidos à restrição desta vitamina na dieta por longos períodos.

Signor *et al.* (2012), salientam que determinar a exigência de vitaminas hidrossolúveis em peixes é primordial, embora, elas não causam hipervitaminose nos peixes, pode aparecer sinais de hipovitaminose, depreciando o desempenho produtivo dos animais. No entanto, a suplementação em níveis elevados, ocorrido pela falta de conhecimento da exigência em peixes, ocorre constantemente nas fábricas de rações para peixes, uma vez que quantidades altas nas rações aumentam os custos de produção, podendo ainda, prejudicar a qualidade da água (Signor *et al.*, 2012). Contudo, novos estudos devem ser realizados com o objetivo de determinar as exigências dessa vitamina, essencialmente nas espécies de interesse comercial, juntamente com as bactérias gastrointestinais e sua contribuição com a produção de vitamina B₁₂ para as diversas espécies de peixes.

Conclusão

Os níveis de suplementação de vitamina B₁₂ não influenciaram no desempenho produtivo dos alevinos de kinguio, não sendo necessária a suplementação da vitamina B₁₂ em dietas práticas para alevinos de kinguios.

Referências

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.

BANDYOPADHYAY, P.; SWAIN, S.K.; MISHRA, S. Growth and dietary utilization in goldfish (*Carassius auratus* Linn.) fed diets formulated with various local agro-produces. **Bioresource Technology**, v.96, n.6, p.731-740, 2005.

BITTENCOURT, F.; SOUZA, B.E.; BOSCOLO, W.R.; RORATO, R.R.; FEIDEN, A.; NEU, D.H. Benzocaína e eugenol como anestésicos para o quinguio (*Carassius auratus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.6, p.1597-1602, 2012.

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.

FELDMAN, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1084p.

FERNANDES, D.R.A.; SIGNOR, A.; MORO, E.B.; PESSINI, J.E.; BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A. **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. 2013.

FREITAS, J.M.A.; SIGNOR, A.; BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A.; ZAMINHAN, M.; FINKLER, J.K. 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, 3p.

HALVER, J. E. **The vitamins**. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Eds.). Fish nutrition. 3. ed. London: Academic Press, 2002. p.61-141.

KAISER, H.; ENDEMANN, F.; PAULET, T.G. A comparison of artificial and natural foods and their combinations in the rearing of goldfish, *Carassius auratus* (L.). **Aquaculture Research**, v.34, n.11, p.943-950, 2003.

LAURINEN, P.; SILJANDER-RASI, H.; KARHUNEN, J.; ALAVIUEHKOALA, T.; NAËSI, M.; TUPPI, K. Effects of different grinding methods and particle size of barley and wheat on pig performance and digestibility. **Animal Feed Science and Technology**, v.83, n.1, p.1-16, 2000.

LIM, L.C.; DHERT, P.; SORGELOOS, P. Recent developments in the application of live feeds in the freshwater fish culture. **Aquaculture**, v.227, n.1-4, p.319-331, 2003.

LIMSUWAN, T.; LOVELL, R.T. Intestinal synthesis and absorption of vitamin B-12 in channel catfish. **Journal Nutrition**, v.111, n.12, 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, n.1-2, p.89-93, 2010.

LOVELL, R. T. **Nutrition and feeding of fish**. 2. ed. Boston: Kluwer Academic, 1998.

LOVELL, R.T.; LIMSUWAN, T. Intestinal synthesis and dietary nonessentiality of vitamin B₁₂ for *Tilapia nilotica*. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.111, n.4, p.485-490, 1982.

MONTICELLI, C.J.; MENTEN J.F.M.; ZANOTTO, D.L.; LIMA, G.J.M.M.; GUIDONI A.L. Efeito da granulometria do milho, da área por animal e do sexo sobre o desempenho de suínos em crescimento e terminação. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.6, p.1150-1162, 1996.

NRC (National Research Council). **Nutrient Requirements of fish and shrimp**. In: Vitamins. Washington, D.C.: National Academic Press, 2011.p186

NRC (National Research Council). **Nutrient Requirements of fish and shrimp**. In: Feed Composition Tables. Washington, D.C.: National Academic Press, 2011.p340.

PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M.; PINTO, L.G.Q. FURUYA, W.M.; PEZZATO, A.C. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.

SAXENA, A. 1994. Health; Colouration of fish. International Symposium on Aquatic Animal Health: Program and abstracts. Univ. of california, School of Veterinary Medicine, Davis, CA, U.S.A, 94pp.

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.

SIGNOR, A.A.; LUCHESI, J.D.; COSTA, J.M.; FRIES, E.M.; BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A.; SIGNOR, A. Suplementação de vitamina B₁₂ na dieta de alevinos de piaçu (*Leporinus macrocephalus*). **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v.10, n.1, p.65-71, 2012.

SILVA, D.M.; FINKLER, J.K.; FRIES, E.M.; SIGNOR, A.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W.R. Suplementação de vitamina B₁₂ em dietas para alevinos de carpa colorida *Cyprinus carpio*. In: III SIMPÓSIO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PESCA E I FEIRA TECNOLÓGICA DE AQUICULTURA E PESCA, 2012, **Anais**. Toledo: III SIMPESCA, 2012, 3p.

STANGL, G.I.; SCHWARZ, F.J.; MÜLLER, H.; KIRCHGESSNER, M. 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.

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.

TEIXEIRA, C.P.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; FERNANDES Jr, A.C.; KOCH, J.F.A.; PADOVANI, C.R. Growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed diets containing levels of pyridoxine and haematological response under heat stress. **Aquaculture Research**, v.43, n.8, p.1081-1088, 2012.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG**: Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas. Versão 7.1. Manual do usuário. Viçosa, 1997. 150p.

YANAR, M.; ERÇEN, Z.; HUNT, A.Ö.; BÜYÜKÇAPAR, H. M. The use of alfalfa, *Medicago sativa* as a natural carotenoid source in diets of goldfish, *Carassius auratus* **Aquaculture**, v.284, n.1, p. 196-200, 2008.