

# Desempenho produtivo de tilápia do Nilo alimentada com níveis de colina na dieta

Ademir Calvo Fernandes Junior<sup>1\*</sup>, Margarida Maria Barros<sup>2</sup>, Luiz Edivaldo Pezzato<sup>2</sup>, Igo Gomes Guimarães<sup>1</sup>, Vivian Gomes dos Santos<sup>1</sup> e Carlos Roberto Padovani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Nutrição e Saúde de Peixes, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Fazenda Lageado, 18610-380, Botucatu, São Paulo, Brasil. <sup>2</sup>Departamento de Nutrição e Melhoramento Animal, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, São Paulo, Brasil. <sup>3</sup>Departamento de Bioestatística, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, São Paulo, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: ademircfjunior@hotmail.com

**RESUMO.** Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o desempenho produtivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada com níveis de colina na dieta pelo período de 109 dias. Foram utilizados 192 alevinos com  $4,0 \pm 0,15$  g de peso médio, distribuídos em 32 tanques-rede de 200 L, na densidade de seis peixes por tanque-rede, dispostos em aquários de 1.000 L. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com oito tratamentos e quatro repetições. As rações foram suplementadas com 0, 100, 200, 400, 600, 800, 1.000 e 1.200 mg de colina  $\text{kg}^{-1}$  de ração. Não foram observadas diferenças para ganho de peso, taxa de sobrevivência, conversão alimentar aparente, porcentagem de extrato etéreo do filé e do fígado, índice hepatossomático e concentração de lipídeos no plasma. Concluiu-se que os diferentes níveis de colina não melhoraram o desempenho produtivo dos peixes nestas condições, pois a dieta basal supostamente supriu a exigência do peixe para colina.

**Palavra-chave:** cloreto de colina, nutrição de peixes, *Oreochromis niloticus*, vitamina.

**ABSTRACT. Growth performance of Nile tilapia fed graded choline levels in the diet.** A 109-day feeding trial was undertaken aiming to evaluate the growth performance of Nile tilapia fed graded choline levels. One hundred and ninety-two (initial weight  $4.0 \pm 0.15$  g) fingerlings were distributed into 32 net cages (200 L each), four cages per treatment and six fish per cage, placed in eight 1000L aquaria in a closed recirculation system. The treatments were assigned to the tanks comprising eight treatments and four replications arranged in a completely randomized experimental design. Diets were supplemented with choline chloride to provide 100, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 mg of choline per kg of feed and an unsupplemented diet. No significant differences were observed in growth performance, survival, apparent feed conversion, liver and fillet ether extract, hepatosomatic index and plasma lipid concentration, among treatments. Choline levels did not improve growth performance, possibly because the amount of choline in the diet had already met fish requirement.

**Key words:** choline chloride, fish nutrition, *Oreochromis niloticus*, vitamin.

## Introdução

A aquicultura brasileira vem crescendo nos últimos 20 anos, sendo a criação de tilápia a principal responsável por este aumento, representando cerca de 50% da produção nacional. O Brasil tem grande potencial aquícola pelas condições de temperatura, e principalmente, grandes recursos hidrográficos para cultivo.

O governo federal tem apresentado propostas de financiamento para a atividade, o que tem motivado o aumento na produção de peixes. Hoje, grande parte dos produtos brasileiros fica no mercado interno, pela cotação do dólar. Com isso, o consumo de peixes da população brasileira vem aumentando

apesar do consumo per capita ser pequeno. Com esses benefícios e auxílios, resta o desenvolvimento de estudos relacionados à qualidade da ração, pois a alimentação equivale de 60 a 80% do custo de produção de peixes (CAMPOS et al., 2007).

Deste modo, há a preocupação em formular dietas com preço acessível e que permitam aos peixes expressar seu potencial genético de crescimento, dentro dos padrões de saúde. Para isso, pesquisas têm sido desenvolvidas, a fim de determinar as exigências nutricionais dos peixes nas diferentes fases de vida. Vitaminas, minerais, proteínas e gorduras são essenciais para o desenvolvimento animal, em proporções adequadas de forma a atender às necessidades nutricionais do

peixe, visando seu maior potencial de crescimento e à manutenção da saúde (HALVER, 1989). As vitaminas são substâncias orgânicas presentes em pequenas quantidades nos alimentos. São essenciais para o metabolismo normal e não podem ser sintetizadas pelos animais, pelo menos em quantidades apreciáveis (GRAHAM, 1987).

Dentre as vitaminas, a colina possui grande importância, sendo essencial para o desenvolvimento dos animais. É responsável pela manutenção da integridade celular, transporte de lipídeos e síntese de metionina (aminoácido limitante para os animais) (DEVLIN, 2000; HALVER, 1989). Apesar de sua importância no metabolismo animal, pouco se sabe sobre o efeito da suplementação desta vitamina em estágios de desenvolvimento iniciais dos peixes. Este ensaio avaliou a influência da suplementação com níveis de colina na dieta de tilápia do Nilo por meio de determinação do ganho de peso, consumo de ração aparente, conversão alimentar aparente, ganho de peso médio diário, sobrevivência, índice hepatossomático, extrato etéreo do filé e fígado e quantificação de lipídeos no plasma.

## Material e métodos

Esse estudo foi realizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Unesp, Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Botucatu, Estado de São Paulo, DMNA, AquaNutri.

Foram utilizados alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), provenientes da Piscicultura Aracanguá, cidade Santo Antonio do Aracanguá, Estado de São Paulo. Os alevinos foram inicialmente alojados em tanques circulares de 250 L, para seleção e distribuição nos aquários experimentais e ficaram durante duas semanas para adaptação recebendo a dieta-controle isenta de colina. Após aclimação, os peixes com peso inicial de  $4,0 \pm 0,15$  g foram distribuídos em 32 tanques-rede com capacidade de 200 L na densidade de seis peixes por tanque-rede. Foram utilizados quatro tanques-redes de 200 L, dentro de um aquário de 1.000 L, como unidades experimental de cada tratamento. Esses aquários estavam ligados ao sistema de recirculação de água, com aquecimento controlado por sistema digital integrado, no sentido de manter a temperatura da água constante ( $25,3 \pm 0,2^\circ\text{C}$ ). A água do sistema estava acoplada à central de aeração e filtragem físico-biológica, a qual manteve sua qualidade e possibilitou dez renovações diárias. O arraçamento foi *ad libitum* quatro vezes ao dia (8, 11, 14 e 17h) de forma a não haver sobra nos aquários.

As dietas foram suplementadas com 0, 100, 200, 400, 600, 800, 1.000 e 1.200 mg de colina (cloreto de colina, 60%)  $\text{kg}^{-1}$  de ração, quatro repetições por tratamento, balanceadas segundo a exigência para a espécie (NRC, 1993). As rações continham 28% de proteína digestível e 3.100 kcal de energia digestível  $\text{kg}^{-1}$  de dieta. Os níveis de aminoácidos foram balanceados, segundo recomendação de Furuya et al. (2001), além de níveis iguais de fibra bruta. Foi utilizada dieta prática à base de farelo de soja, farelo de algodão 28, quirera de arroz e amido de milho, formuladas de modo a conter os níveis pré-estabelecidos de colina e atender às exigências nutricionais da tilápia para os demais nutrientes (Tabela 1).

**Tabela 1.** Composição percentual e químico-bromatológica das dietas experimentais.

| Ingredientes                                    | T1 (%)          | T2 (%) | T3 (%) | T4 (%) | T5 (%) | T6 (%) | T7 (%) | T8 (%) |
|---|-----------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Farelo de soja                                  | 54,15           | 54,15  | 54,15  | 54,15  | 54,15  | 54,15  | 54,15  | 54,15  |
| Farelo de algodão 28                            | 9,00            | 9,00   | 9,00   | 9,00   | 9,00   | 9,00   | 9,00   | 9,00   |
| Quirera de arroz                                | 28,00           | 28,00  | 28,00  | 28,00  | 28,00  | 28,00  | 28,00  | 28,00  |
| Amido de milho                                  | 5,00            | 4,984  | 4,968  | 4,936  | 4,904  | 4,872  | 4,84   | 4,808  |
| BHT   | 0,02            | 0,02   | 0,02   | 0,02   | 0,02   | 0,02   | 0,02   | 0,02   |
| DL-Metionina                                    | 0,18            | 0,18   | 0,18   | 0,18   | 0,18   | 0,18   | 0,18   | 0,18   |
| Vitamina. C                                     |                 |        |        |        |        |        |        |        |
| Polifosfatada 35%                               | 0,02            | 0,02   | 0,02   | 0,02   | 0,02   | 0,02   | 0,02   | 0,02   |
| Cloreto de colina 60%                           | 0,00            | 0,016  | 0,032  | 0,064  | 0,096  | 0,128  | 0,16   | 0,192  |
| Suplemento min. vit. <sup>-1</sup>              | 0,41            | 0,41   | 0,41   | 0,41   | 0,41   | 0,41   | 0,41   | 0,41   |
| Fosfato bicálcico                               | 3,12            | 3,12   | 3,12   | 3,12   | 3,12   | 3,12   | 3,12   | 3,12   |
| NaCl  | 0,10            | 0,10   | 0,10   | 0,10   | 0,10   | 0,10   | 0,10   | 0,10   |
| Total   | 100             | 100    | 100    | 100    | 100    | 100    | 100    | 100    |
| Composição químico-bromatológica                |                 |        |        |        |        |        |        |        |
| Energia digestível (kcal $\text{kg}^{-1}$ )     | 3100            | 3100   | 3100   | 3100   | 3100   | 3100   | 3100   | 3100   |
| Proteína bruta (%)*                             | 30,01           | 30,01  | 30,01  | 30,01  | 30,01  | 30,01  | 30,01  | 30,01  |
| Proteína digestível (%)                         | 28,00           | 28,00  | 28,00  | 28,00  | 28,00  | 28,00  | 28,00  | 28,00  |
| Fibra bruta (%)*                                | 8,33            | 8,33   | 8,33   | 8,33   | 8,33   | 8,33   | 8,33   | 8,33   |
| Fibra bruta (%)                                 | 4,86            | 4,86   | 4,86   | 4,86   | 4,86   | 4,86   | 4,86   | 4,86   |
| Extrato etéreo (%)*                             | 0,74            | 0,74   | 0,74   | 0,74   | 0,74   | 0,74   | 0,74   | 0,74   |
| Extrato etéreo (%)                              | 1,14            | 1,14   | 1,14   | 1,14   | 1,14   | 1,14   | 1,14   | 1,14   |
| Cálcio (%)                                      | 1,39            | 1,39   | 1,39   | 1,39   | 1,39   | 1,39   | 1,39   | 1,39   |
| Fósforo disponível                              | 0,49            | 0,49   | 0,49   | 0,49   | 0,49   | 0,49   | 0,49   | 0,49   |
| Colina <sup>2</sup> (mg $\text{kg}^{-1}$ dieta) | 0,00            | 100    | 200    | 400    | 600    | 800    | 1000   | 1200   |
| Colina <sup>2</sup> (mg $\text{kg}^{-1}$ dieta) | ND <sup>2</sup> | 160    | 290    | 440    | 810    | 1100   | 1280   | 1470   |
| Metionina                                       | 0,47            | 0,47   | 0,47   | 0,47   | 0,47   | 0,47   | 0,47   | 0,47   |
| Metionina+Cistina                               | 0,81            | 0,81   | 0,81   | 0,81   | 0,81   | 0,81   | 0,81   | 0,81   |
| Lisina  | 1,88            | 1,88   | 1,88   | 1,88   | 1,88   | 1,88   | 1,88   | 1,88   |
| Triptofano                                      | 0,36            | 0,36   | 0,36   | 0,36   | 0,36   | 0,36   | 0,36   | 0,36   |
| Treonina  | 0,99            | 0,99   | 0,99   | 0,99   | 0,99   | 0,99   | 0,99   | 0,99   |

<sup>1</sup>Suplemento vitamínico e mineral (mg  $\text{kg}^{-1}$  de dieta): Vitamina A, 16.060 mg; Vitamina D<sub>3</sub>, 4.510 mg; Vitamina E, 250 mg; Vitamina K<sub>3</sub>, 30 mg; Vitamina B<sub>1</sub>, 32 mg; Vitamina B<sub>2</sub>, 32 mg; Vitamina B<sub>12</sub>, 0,032 mg; Vitamina B<sub>6</sub>, 32 mg; Vitamina C, zero; Pantotemateno de cálcio, 80 mg; Niacina, 170 mg; Ácido fólico, 10 mg; Biotina, 10 mg; Cloreto de colina<sup>2</sup>, Óxido de cobalto, 0,5 mg; Óxido de cobre, 20 mg; Óxido de ferro, 150 mg; Iodeto de cálcio, 1 mg; Óxido de manganês, 50 mg; Óxido de selênio, 0,7 mg; Óxido de zinco, 150 mg; Veículo q.s.p., 1.000 g; \*Analisado; <sup>2</sup>ND = Não-determinado.

As rações após serem formuladas foram extrudadas, secas em estufa de recirculação forçada de ar a  $55^\circ\text{C}$  por 24h e, quando necessário, quebradas de forma a obter grânulos condizentes com o tamanho dos peixes. As análises bromatológicas das rações foram realizadas no

Laboratório de Bromatologia da FMVZ, Unesp – Câmpus de Botucatu, Estado de São Paulo.

Diariamente, foi medida a temperatura da água, semanalmente o pH, a concentração de oxigênio dissolvido e a amônia total. Os aquários foram sifonados mensalmente nos dois primeiros meses e depois de 60 dias, quinzenalmente, para manter a qualidade da água. Ao final de 109 dias experimentais foram determinados os parâmetros de ganho de peso médio por peixe, consumo de ração aparente, conversão alimentar aparente, ganho de peso médio diário, sobrevivência, índice hepatossomático, extrato etéreo do filé e fígado e quantificação de lipídeos no plasma.

Para a análise de extrato etéreo no filé e fígado, foi utilizada a metodologia de lavagem sucessiva da amostra com o solvente éter de petróleo, em aquecedor cibelin e conjunto extrator de Soxhlet (AOAC, 1975). Para análise de lipídeos totais no plasma, foi utilizada a metodologia adaptada de Tonks (1970).

Os dados de desempenho foram submetidos à análise de variância (paramétrica ou não-paramétrica) para o modelo com um fator complementado com regressão polinomial de níveis, quando o resultado de efeito de tratamentos resultou significância ( $p < 0,05$ ) (ZAR, 1999).

## Resultados e discussão

Os parâmetros físico-químicos da água se mantiveram nos seguintes valores: pH  $7,1 \pm 0,5$ ; oxigênio  $7,15 \pm 0,20$  mg L<sup>-1</sup>; amônia  $0,10 \pm 0,07$  mg L<sup>-1</sup> e alcalinidade  $100 \pm 10$ , mg L<sup>-1</sup>, adequados para a espécie, segundo Boyd (1996).

Não houve efeito ( $p > 0,05$ ) do nível de suplementação de colina sobre o desempenho produtivo em ganho de peso, consumo, conversão alimentar, ganho de peso diário e sobrevivência (Tabela 2), lipídeos no plasma, extrato etéreo do fígado e filé e índice hepatossomático (Tabela 3).

A colina é essencial para o ótimo crescimento dos peixes, previne o fígado gorduroso, hemorragias nos rins e anemia (KETOLA, 1976; HALVER, 1989). A deficiência de colina piora a conversão alimentar e o crescimento dos peixes. Entretanto, dietas à base de farelo de trigo, de soja e de leguminosas, não determinaram sinais de deficiência, pois esses ingredientes são ricos em colina (HALVER, 1989). Resultados semelhantes foram encontrados neste trabalho, e o desempenho produtivo não foi alterado de acordo com os níveis de colina nas dietas. Para o desempenho produtivo, estes níveis de colina não influenciaram, provavelmente, pela ração basal conter a quantidade de colina exigida pela espécie, já que a dieta utilizada foi à base de ingredientes práticos, diferentes das pesquisas realizadas com ingredientes purificados.

A colina também é utilizada para formação da lecitina ou fosfatidilcolina, sendo este composto responsável pelo transporte de lipídeos e formação das membranas. É importante para a prevenção de fígado gordo, uma vez que mobiliza lipídeos do fígado, para tecido e sangue (DEVLIN, 2000). Isso foi observado nesse experimento cujo maior valor absoluto de índice hepatossomático foi encontrado nos animais que receberam dieta sem suplementação de colina.

**Tabela 2.** Média e desvio-padrão do ganho de peso do peixe (GP), consumo (CD), ganho de peso diário (GPD), conversão alimentar (CA) e sobrevivência (SV) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas com níveis crescentes de colina do teste estatístico de tratamento.

| Colina (mg kg <sup>-1</sup> ) | GP (g)         | CD (g peixe <sup>-1</sup> ) | CA          | GPD (g)     | SB (%)         |
|-------------------------------|----------------|-----------------------------|-------------|-------------|----------------|
| 0                             | 168,96 ± 31,52 | 232,24 ± 19,43              | 1,32 ± 0,20 | 1,55 ± 0,20 | 91,67 ± 8,34   |
| 100                           | 143,31 ± 18,64 | 194,97 ± 15,26              | 1,37 ± 0,11 | 1,39 ± 0,16 | 83,33 ± 8,33   |
| 200                           | 152,35 ± 18,34 | 208,59 ± 23,08              | 1,38 ± 0,04 | 1,40 ± 0,06 | 100,00 ± 8,34  |
| 400                           | 158,70 ± 34,52 | 222,08 ± 35,70              | 1,37 ± 0,11 | 1,45 ± 0,09 | 100,00 ± 16,67 |
| 600                           | 164,88 ± 12,58 | 225,90 ± 15,84              | 1,37 ± 0,07 | 1,52 ± 0,11 | 91,67 ± 8,34   |
| 800                           | 166,07 ± 22,86 | 213,55 ± 22,92              | 1,26 ± 0,08 | 1,52 ± 0,14 | 100,00 ± 8,34  |
| 1000                          | 162,03 ± 34,38 | 209,93 ± 33,12              | 1,29 ± 0,10 | 1,56 ± 0,10 | 91,67 ± 16,65  |
| 1200                          | 156,15 ± 42,35 | 211,95 ± 37,65              | 1,31 ± 0,20 | 1,56 ± 0,24 | 83,33 ± 8,34   |

**Tabela 3.** Mediana e valores de mínimo e máximo do extrato etéreo do fígado, filé (matéria natural) e média e desvio-padrão para o índice hepatossomático e lipídeos no plasma e resultado do teste estatístico.

| Colina (mg kg <sup>-1</sup> ) | Extrato etéreo (%)  |                    | Índice hepatossomático | Lipídeos plasmático (mg mL <sup>-1</sup> ) |
|-------------------------------|---------------------|--------------------|------------------------|--|
|                               | Fígado #            | Filé #             |                        |  |
| 0                             | 19,82 (14,41;21,59) | 5,64 (5,06;7,60)   | 2,75 ± 0,20            | 7,34 ± 0,38                                |
| 100                           | 7,54 (3,09;11,34)   | 4,40 (4,25;5,97)   | 2,00 ± 0,26            | 7,63 ± 1,36                                |
| 200                           | 5,35 (1,71;16,24)   | 5,51 (2,92;6,66)   | 1,23 ± 0,09            | 7,12 ± 0,51                                |
| 400                           | 24,69 (16,05;24,80) | 4,12 (4,08;5,70)   | 2,08 ± 0,16            | 6,98 ± 0,32                                |
| 600                           | 16,31 (5,04;16,56)  | 7,80 (6,68;9,51)   | 1,83 ± 0,19            | 6,87 ± 1,49                                |
| 800                           | 8,14 (7,16;18,00)   | 5,89 (4,99;10,00)  | 1,50 ± 0,08            | 6,44 ± 1,49                                |
| 1000                          | 6,87 (6,29;8,18)    | 10,23 (7,56;11,49) | 1,81 ± 0,22            | 6,67 ± 1,60                                |
| 1200                          | 13,59 (5,86;13,67)  | 5,19 (3,62;15,54)  | 1,80 ± 0,10            | 7,60 ± 1,15                                |

#Mediana (valor mínimo; valor máximo).

Era esperado também que o extrato etéreo do fígado fosse influenciado pelo nível de colina, porém isso não foi observado. Uma das razões pode ser pelo curto período experimental, fazendo com que os peixes não tivessem acúmulo de gordura no fígado. Ressaltamos que embora alguns valores de EE do fígado e filé tenham apresentado variação alta entre as repetições, tais respostas retratam o ocorrido.

A deficiência de colina em carpa comum (*Cyprinus carpio*) não alterou o crescimento, mas determinou aumento de 10% na concentração de lipídeo no fígado (OGINO et al., 1970), Resultados semelhantes foram observados em bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) (WILSON; POE, 1988), “hybrid striped bass” (*Morone saxatilis* x *M. chrysops*) (GRIFFIN et al., 1994), “red drum” (*Sciaenops ocellatus*) (CRAIG; GATLIN III, 1996) e em leitões (KROENING; POND, 1967). No entanto, Viera et al. (2001) não observaram diferenças significativas no extrato etéreo no fígado de tilápia do Nilo.

Outra função da colina é a liberação de radicais metil, que sofrem reação de metilação participando assim do processo de formação da metionina (McDOWELL, 1989; HALVER, 1989). Visto este efeito, Tsiagbe et al. (1992) constataram que a colina pode ser substituída e substituir parcialmente a metionina nas rações de aves de postura, sem prejudicar a produção e qualidade dos ovos. Neste experimento, foi utilizado 0,47% de metionina, nível recomendado por Furuya et al. (2001), e aquém do recomendado pelo NRC que indica 0,75%. Dessa forma, minimizou-se o possível de metionina, já que diversos pesquisadores tiveram problemas quando a colina era exigida e a metionina estava em excesso. Resultado semelhante foi obtido por Michael et al. (2006) com juvenis de camarão (*Marsupenaeus japonicus*), quando compararam o efeito da colina e metionina como doador de radical metil, e observaram que quando a metionina se apresenta com níveis inadequados na dieta é preciso que o teor de colina seja maior para suprir a exigência de radicais metil. A exigência de colina do bagre do canal pode ser aumentada quando não se tem excesso de metionina, usando-se 0,39% de metionina e 400 mg de colina kg<sup>-1</sup> de ração, com os melhores resultados de desempenho (WILSON; POE, 1988).

## Conclusão

Concluiu-se que a suplementação de colina não influenciou o desempenho produtivo dos peixes, possivelmente pela dieta basal suprir a exigência do peixe para colina.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Mogiana Alimentos, pelo fornecimento do suplemento mineral, vitamínico e cloreto de colina.

## Referências

- AOAC-Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 12. ed. Washington, D.C.: AOAC, 1975.
- BOYD, C. E. **Water quality in ponds for aquaculture**. Songkhala: Shrimp Mart, 1996.
- CAMPOS, C. M.; GANECO, L. N.; CASTELLANI, D.; MARTINS, M. I. E. Avaliação econômica da criação de tilápia sem tanque-rede, município de zacarias, sp. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 33, n. 2, p. 265-271. 2007.
- CRAIG, S. R.; GATLIN III, D. M. Dietary choline requirements of juvenile Red drum (*Sciaenops ocellatus*). **The Journal of Nutrition**, v. 126, n. 6, p. 1696-1700, 1996.
- DEVLIN, T. M. **Manual de bioquímica com correlações químicas**. São Paulo: Edgard Blucher, 2000.
- FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; MIRANDA, M. M. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 4, p. 1143-1149, 2001.
- GRAHAM, S. **Stedman's dicionário médico**. 23. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987.
- GRIFFIN, M. E.; WILSON, K. A.; WHITE, M. R.; BROWN, P. B. Dietary choline requirements of juvenile Hybrid Striped bass. **The Journal of Nutrition**, v. 124, n. 9, p. 1685-1689, 1994.
- HALVER, E. J. **Fish nutrition**. San Diego: Academic Press, 1989.
- KETOLA, H. G. Choline metabolism and nutritional requirement of Lake trout (*Salvelinus namaycush*). **Journal of Animal Science**, v. 43, n. 1, p. 474-477, 1976.
- KROENING, G. H.; POND, W. G. Methionine, choline and threonine interrelationships for growth and lipotropic action in the baby pig and rat. **Journal of Animal Science**, v. 26, n. 1, p. 352-360, 1967.
- McDOWELL, L. R. **Vitamins in animal nutrition**. Comparative aspects to human nutrition. San Diego: Academic Press, 1989.
- MICHAEL, F. R.; KOSHIO, S.; TESHIMA, S.; ISHIKAWA, M.; UYAN, O. Effect of choline and methionine as methyl group donors on juvenile Kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus* Bate. **Aquaculture**, v. 258, n.4, p. 521-528, 2006.
- NRC-National Research Council. **Nutrient requirements of fish**. Washington, D.C.: National Academic Press, 1993.

- OGINO, C.; UKI, N.; WATANABE, T.; LIDA, Z.; ANDO, K. B. Vitamin requirements of carp. IV. requirement for choline. **Bulletin Japanese Society Science Fish**, v. 36, n. 1, p. 1140-1146, 1970.
- TONKS, D. B. **Quality control in clinical laboratories diagnostic reagents**. Ontario: Division, 1970.
- TSIAGBE, V. K.; HARPER, A. E.; SUNDE, M. L. A feather-sexed strain of laying hens was more responsive to dietary supplements of choline and metionine than a vent-sexed strain. **Poultry Science**, v. 71, n. 8, p. 1271-1276, 1992.
- VIERA, I.; CYRINO, J. E. P.; PEZZATO, L. E. Colina e betaína em rações purificadas na nutrição da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciencia Agrícola**, v. 58, n. 4, p. 675-680, 2001.
- WILSON, R. P.; POE, W. E. Choline nutrition of fingerling channel catfish. **Aquaculture**, v. 68, n. 1, p. 65-71, 1988.
- ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4<sup>th</sup> ed. New Jersey: Prentice hall, 1999.

*Received on November 26, 2009.*

*Accepted on March 29, 2010.*

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.