

EFFECTO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SOBRE LA RESPUESTA DE LOS PECES ANTE CONDICIONES DE ESTRÉS

Corredor AS¹, Landines, MA²

Departamento de Producción Animal
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá

RESUMEN

El creciente desarrollo de la acuicultura ha generado la intensificación de los sistemas de producción, aumentando así los problemas de estrés ocasionados por las prácticas rutinarias de manejo; por este motivo es necesario investigar sobre estrategias que contribuyan a disminuir el impacto de los diferentes factores estresantes a los que son sometidos los peces durante su proceso de producción en cautiverio. Este documento contiene una revisión acerca de la vitamina C (ácido ascórbico) y su posible efecto benéfico sobre el crecimiento, inmunidad, resistencia al estrés y supervivencia de los peces, a fin de dar a conocer posibles estrategias de suplementación que contribuyan a mejorar las respuestas productivas de las diferentes especies susceptibles de ser cultivadas.

Palabras clave: estrés, ácido ascórbico, peces, vitamina C.

EFFECT OF ASCORBIC ACID ON THE FISH RESPONSE OF STRESS CONDITION

ABSTRACT

The increasing development of aquaculture has generated the intensification of the production systems, increasing therefore the problems of stress caused by the routine practices of handling, for this reason it is necessary to implement strategies that contribute to diminish the impact of the different stressor factors to which the fish during their process of production in captivity are put under. This document contains a revision about vitamin C, and its possible beneficial effect on the growth, the immunity, the resistance to the stressor factors and survival of fish. The aim of review is present strategies suplementación that they contribute to improve the productive answers of the different species from susceptible fish of operation in captivity.

Key words: stress, ascorbic acid, fish, vitamin C.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura se ha constituido en una de las principales fuentes de proteína para la seguridad alimentaria mundial y una actividad generadora de empleo e ingresos para la mayoría de los países en desarrollo (1). Adicionalmente, en los últimos años se ha convertido en la principal alternativa de producción, frente a la drástica disminución en los volúmenes de pesca tanto marina como continental, al punto que en el último año, del total

1 ascorredorc@unal.edu.co

2 malandinezp@unal.edu.co

de pescado consumido en el mundo cerca del 50% provino de la acuicultura, lo cual la ubica como la única forma de atender una demanda creciente que se hacía insostenible con la producción pesquera (2). Asimismo, es el sistema de producción animal que ha registrado mayor crecimiento en los últimos años; en Colombia llegó a representar en 2003 un ingreso de 158.185 millones de pesos (3).

Este creciente desarrollo ha generado la intensificación de los sistemas de producción, en los cuales son más evidentes los problemas de estrés ocasionados por las prácticas rutinarias de manejo, como la captura, el hacinamiento y el transporte, entre otros, lo que aumenta la incidencia de enfermedades y en casos más críticos la mortalidad de individuos con el consiguiente perjuicio económico para el productor (4-6).

Por estas razones es necesario implementar estrategias que contribuyan a disminuir el impacto de los diferentes factores estresantes a los que son sometidos los peces durante su proceso de producción en cautiverio. Tal es el caso de la adición de ácido ascórbico, el cual es un nutriente esencial para los peces y es uno de los inmunostimulantes más utilizados en acuicultura (7, 8), pues se ha comprobado su acción benéfica en la disminución del estrés y la mortalidad, atribuida a las prácticas normales de cultivo.

EL ESTRÉS

Se define como una condición en la cual el equilibrio dinámico u homeostasis de un determinado organismo es perturbado o influenciado por estímulos internos o externos denominados agentes estresantes, los cuales ocasionan en el pez respuestas que incluyen una serie de reacciones bioquímicas y fisiológicas que pretenden adaptar el individuo a la nueva situación (9).

En estas respuestas el organismo activa tanto el eje hipotálamo-simpático-cromafín como el eje hipotálamo-hipofisario-interrenal (10). El primero consiste en la activación del tejido cromafín en el riñón cefálico por fibras oriundas del sistema nervioso simpático y la liberación de catecolaminas, mientras que el segundo estimula la cascada del hipotálamo aumentando los niveles de hormona liberadora de corticotropina (CRH) para promover la liberación de corticotropina por la hipófisis y de cortisol por el tejido interrenal (11).

Esas respuestas pueden ser primarias, secundarias o terciarias, y pueden ser utilizadas como indicador de cualquier alteración homeostática de los peces (12, 13). Las respuestas primarias son mediadas por el sistema neuro-endocrino e incluyen la liberación rápida de las hormonas del estrés: adrenalina, noradrenalina y cortisol (9, 12-14). Las respuestas secundarias son ajustes bioquímicos y fisiológicos y son mediadas, hasta cierto punto, también por estas hormonas. Entre estas respuestas están los efectos metabólicos, como alteración de la glicemia, el ácido láctico y el glucógeno hepático y muscular; efectos hematológicos, como alteración en el número de células rojas y blancas, y por último efectos electro-líticos, como alteración en la concentración plasmática de cloro, sodio y potasio, así como en la osmolaridad (5).

Las respuestas terciarias son cambios asociados al estrés tanto a nivel individual como de la población, e incluyen cambios en el comportamiento, disminución en la reproducción y crecimiento, y aumento de la susceptibilidad a enfermedades (15). Las respuestas al estrés pueden ser determinadas cuantitativamente dependiendo del grado de severidad del agente estresante (4). Independientemente del tipo de estrés que se aplique a un organismo, este reacciona en primera instancia produciendo adrenalina, hormona

que a su vez desencadena toda una serie de respuestas hormonales y nerviosas. Fisiológicamente existen muchas alteraciones; las principales son la rápida pérdida intrarrenal de ácido ascórbico, la hemoconcentración, la leucocitosis y el incremento del cortisol circulatorio; este último es frecuentemente utilizado como indicador de respuesta ante la condición estresante debido a que el aumento en los niveles circulantes de esta hormona es una de las principales alteraciones fisiológicas cuando un ser vivo es sometido a un agente estresante (16).

En los peces la respuesta al estrés se evidencia desde edad temprana. Barry *et al.* (17) demostraron que en ejemplares de *Oncorhynchus mykiss* el eje hipotálamo-pituitario-interrenal es sensible al estrés desde las dos semanas de edad ya que, después de ser expuestos a situaciones adversas, sus niveles de cortisol se incrementaron. Por otro lado, en juveniles de *Brycon cephalus* sometidos a estrés de transporte se observó que el solo hecho de retirarlos del agua y colocarlos en las bolsas provocó alteraciones fisiológicas en los individuos (18); este tipo de prácticas son frecuentes dentro del sistema productivo y pueden afectar severamente a los peces (18, 19). Por ejemplo, al exponer a hipoxia ejemplares de *Oncorhynchus mykiss* se comprobó que presentaron severos cambios fisiológicos al compararlos con peces mantenidos bajo condiciones normales (8, 20). En la misma especie se observó un aumento plasmático en el cortisol al exponer los individuos al aire por espacio de 30 segundos (21). Asimismo, en juveniles de *Brycon cephalus* se observaron alteraciones hematológicas, hormonales, metabólicas y electrolíticas como respuesta de estrés al exponer los animales fuera del agua durante 15, 30 y 60 segundos (22).

EL ÁCIDO ASCÓRBICO

Las vitaminas se utilizan frecuentemente en la formulación de dietas para peces ya que contribuyen, entre otras cosas, a mejorar la resistencia a enfermedades. La principal utilizada con estos fines es la vitamina C (ácido ascórbico) (23), la cual es un componente esencial para el normal funcionamiento de los animales, incluyendo los peces. Adicionalmente, es un nutriente correlacionado con su inmunidad, es un cofactor enzimático implicado en reacciones fisiológicas como la hidroxilación (10, 24). Es necesaria para la síntesis de colágeno y de los glóbulos rojos y contribuye al buen funcionamiento del sistema inmunitario; desempeña una función en el metabolismo del hierro, participa en la formación de ciertos neurotransmisores como la serotonina, en la transformación de dopamina en noradrenalina y en otras reacciones de hidroxilación que incluyen a los aminoácidos aromáticos y a los corticoides (23, 25-27). Su concentración disminuye bajo situaciones de estrés, en las cuales, generalmente, hay mucha actividad de las hormonas de la corteza suprarrenal (16).

La vitamina C pertenece al grupo de las vitaminas hidrosolubles, es muy vulnerable a la degradación ya que sus cristales de ácido ascórbico son oxidados y destruidos ante múltiples factores como el contacto con el oxígeno, el agua clorada e incluso el contacto con la luz. Presenta cuatro formas estereoisómeras diferentes: ácido L-ascórbico, ácido D-ascórbico, ácido L-isoascórbico y ácido D-isoascórbico. El ácido L-ascórbico y el D-isoascórbico son epímeros, ya que difieren únicamente en la configuración de uno de los átomos de carbono. A pesar de estas pequeñas diferencias, los estereoisómeros del ácido ascórbico son inactivos en el organismo, dado que las enzimas reconocen específicamente al L-ascórbico (28).

Se conoce con el nombre de vitamina C a todos los compuestos que poseen la actividad biológica del L-ácido ascórbico que actúa en el organismo como sistema de óxidorreducción (29), mientras el ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) es el nombre común del 2-3 didehidro-L-threo hexano 1,4-lactona y el ascorbato es usado para describir la forma ionizada del ácido ascórbico en los tejidos (30).

ÁCIDO ASCÓRBICO EN PECES

Varios estudios sugieren que, en el curso de la evolución, la capacidad de sintetizar ácido ascórbico desapareció en los reptiles, anfibios, en algunas especies de aves y en muchos peces (31-33); la mayoría de ellos son incapaces de producir este importante nutriente. La incapacidad de sintetizar ácido ascórbico se debe a la falta de actividad de la L-gulonolactona oxidasa "GLO" (34). Fracalossi *et al.* (35) estudiaron la actividad de la GLO en el riñón y el hígado de 13 especies de peces con diferentes hábitos alimenticios, y encontraron que solo dos especies (las que no pertenecían al grupo de los teleósteos) mostraron actividad de GLO en el riñón, con lo que corroboraron la hipótesis de que los teleósteos son incapaces de sintetizar ácido ascórbico; además comprobaron que la posición filogénica es más importante que los hábitos alimenticios en la determinación de la habilidad para sintetizar ácido ascórbico.

En los peces, la deficiencia de ácido ascórbico ocasiona graves problemas en el crecimiento y respuesta inmune, así como también favorece el aumento de malformaciones e incidencia de parásitos (23, 36-38). De la misma manera, pueden existir deformidades estructurales, lordosis y anormalidades en los ojos, al tiempo que la pigmentación abdominal se incrementa, la recuperación de heridas se hace lenta y la eficiencia reproductiva se reduce (35).

CRECIMIENTO, INMUNIDAD Y RESISTENCIA AL ESTRÉS

Numerosos estudios han demostrado efectos benéficos de la utilización de vitamina C sobre los parámetros inmunológicos (25-27) y aumento en la resistencia al estrés y a las enfermedades (39, 40). Algunos trabajos sugieren que la suplementación con ácido ascórbico en la dieta puede ser benéfica para los peces debido a que favorece el sistema inmunológico y la capacidad de prevención de los efectos negativos causados por el estrés (10).

Por ejemplo, al suplementar la dieta de *Lateolabrax japonicus* con vitamina C, la respuesta inmune fue mejor, al tiempo que los individuos tratados tuvieron mayor ganancia de peso y sobrevivencia (41). Wang *et al.* (42) compararon el L-ascorbil-2-monofosfato-Ca y L-ascorbil-2-monofosfato-Na/Ca sobre el crecimiento de *Sebastes schlegeli*, utilizando una dieta control sin vitamina y dietas con niveles de suplementación de 50, 100, 200, 400 y 800 mg/kg de ácido ascórbico durante 12 semanas, y lograron establecer que el grupo sin suplementación mostró un crecimiento significativamente menor con respecto a los grupos con dietas suplementadas; no observaron diferencias entre las dos sustancias utilizadas durante el estudio.

A pesar de esto, la suplementación con ácido ascórbico no debe ser excesiva. Ramesha *et al.* (43) realizaron un estudio en *Cyprinus carpio* en el que se probó una dieta control sin adición de ácido ascórbico (L-ascorbil-2-fosfato-Mg) y cuatro dietas con diferentes niveles de este: 50, 100, 200 y 300 mg/kg. Se encontró que el peso promedio final de los individuos que recibieron la dieta control fue significativamente menor que el de los peces alimentados con los otros tratamientos; no obstante, los ejemplares suplementados con 50 y 100 mg/

kg mostraron un mejor crecimiento que los que se alimentaron con niveles más altos de ácido ascórbico. En otro estudio en esta misma especie, con el fin de determinar los requerimientos de vitamina C a diferentes temperaturas de cultivo y la incidencia de este suplemento en la composición lipídica del animal, se encontró que a mayor temperatura había mayor requerimiento de ácido ascórbico; asimismo se concluyó que la temperatura y la vitamina C influyen en la composición lipídica en el hígado y el músculo (44).

En otro trabajo (45) se probaron seis dietas que contenían ácido ascórbico en niveles de 0, 25, 50, 75, 150 y 1.500 mg/kg en juveniles de *Paralichthys olivaceus* y se encontró que los animales alimentados con la dieta sin inclusión de ácido ascórbico presentaban ganancias de peso significativamente menores que los alimentados con las otras dietas, y que además manifestaban síntomas de deficiencia de vitamina C, como anorexia, escoliosis, cataratas y exoftalmia, mientras que los animales alimentados con inclusión de ácido ascórbico tuvieron mejores resultados en cuanto a crecimiento, y cuando se analizaron muestras de riñón, branquias e hígado para determinar su concentración de ácido ascórbico, hubo diferencias significativas entre los diferentes niveles de inclusión, según lo cual, los niveles óptimos de vitamina C para el crecimiento de la especie estarían entre 91 y 93 mg/kg y una inclusión mayor de 150 mg/kg sería recomendable para lograr mayor saturación en los tejidos de los individuos experimentales. Sin embargo, tales resultados dependen de la edad de los animales, debido a que la tasa metabólica es el principal factor regulador de los requerimientos de ácido ascórbico; por esta razón las larvas de los peces que presentan un crecimiento y metabolismo más rápido que los juveniles y adultos pueden necesitar mayores niveles de ácido ascórbico para su

óptimo crecimiento y condición fisiológica (46). Además se han observado altas concentraciones de ácido ascórbico en huevos de *Oncorhynchus mykiss*, lo cual podría indicar la importancia de este micronutriente durante el desarrollo temprano (47).

Lin *et al.* (48) llevaron a cabo un estudio para determinar los requerimientos de vitamina C y el efecto de dos derivados de la misma: L-ascorbil-2-monofosfato-Mg (C2MP-Mg) y L-ascorbil-2-monofosfato-Na (C2MP-Na), en la respuesta inmune de *Epinephelus malabaricus*. Probaron 13 dietas, seis de ellas contenían C2MP-Mg, seis con adición de C2MP-Na en cantidades de 20, 50, 80, 150, 250 y 400 mg/kg de dieta, y una dieta control sin adición de ningún tipo de ácido ascórbico. Los valores de suplementación con los que se obtuvieron mejores resultados para la variable supervivencia fueron de 50 mg/kg, en las dietas con adición de C2MP-Mg, mientras que para las dietas con adición de C2MP-Na la mejor fue aquella con 400 mg/kg de suplemento. Eo y Lee (49) estudiaron los requerimientos de ácido ascórbico para *Takifugu rubripes* y la importancia de su suplementación en la dieta. Probaron cinco niveles diferentes de L-ascorbil-2-monofosfato: 0, 40, 80, 160 y 700 mg/kg y observaron que, después de 10 semanas de aplicación de los tratamientos, los ejemplares alimentados con la dieta sin ácido ascórbico tuvieron un peso corporal significativamente más bajo comparado con el de los ejemplares suplementados. Asimismo, la actividad fagocitaria fue significativamente más baja en los ejemplares alimentados con la dieta sin ácido ascórbico que en los suplementados. Adicionalmente, la actividad de la lisosoma plasmática de los ejemplares alimentados con 80 y 160 mg/kg fue mayor que la observada en los ejemplares no suplementados. Por otro lado, Adham *et al.* (50) realizaron un estudio acerca de la deficiencia de vitamina C en *Clarias*

gariiepinus y encontraron que los animales adultos que eran privados de este importante nutriente sufrían cambios en su integridad física y aumento de la susceptibilidad a agentes patógenos; en estos individuos también se observaron pigmentos amarillentos en el hígado. De acuerdo con esto, los autores sugieren que el uso de vitamina C puede actuar como un potente antioxidante que ofrece protección contra los daños oxidativos de los diferentes tejidos en los peces.

Gusmão *et al.* (51) probaron 5 diferentes niveles de suplementación con vitamina C (0, 400, 500, 600 y 800 mg/kg) en dietas para juveniles de *Brycon amazonicus*. Los autores observaron que los peces suplementados con el nivel más alto de vitamina C presentaron mayor ganancia de peso y supervivencia. El total de leucocitos fue significativamente mayor en los ejemplares suplementados con respecto al control; los mayores valores se presentaron en los tratamientos con 600 y 800 mg/kg de vitamina C. Los niveles plasmáticos de iones (Na^+ y Cl^-) fueron significativamente menores para los tratamientos con 500, 600 y 800 mg/kg con respecto a los observados en el tratamiento con 400 mg/kg y el control. Los autores concluyeron que dietas suplementadas con 800 mg/kg pueden mejorar el perfil fisiológico, el crecimiento y la supervivencia de juveniles de *Brycon amazonicus*.

En *Labeo rohita* se probaron diferentes dosis de ácido ascórbico (0, 100, 200 y 500 mg/kg) durante 56 días; para evaluar su efecto en la inmunidad, crecimiento y supervivencia se sometieron los animales a dos agentes patógenos, *Aeromonas hydrophila* y *Edwardsiella tarda*. Se determinó actividad de la lisosima a los 14, 28, 42 y 56 días del experimento; se observó que los ejemplares sin suplementación presentaron menores valores de actividad que los suplementados; los autores comprobaron además que los ejemplares suplementados con 500

mg/kg de ácido ascórbico tuvieron los mejores valores de tasa de crecimiento específico y conversión alimenticia, por lo cual concluyeron que niveles elevados de ácido ascórbico en la dieta son recomendables para mejorar la inmunidad y el crecimiento de la especie (52).

En otro estudio se comparó el efecto del L-ascorbil-2-monofosfato-Na/Ca (AMP-Na/Ca) en dosis de 0, 12, 43, 88, 440 y 881 mg/kg con el L-ascorbil-2-monofosfato-Mg (AMP-Mg) en dosis de 0, 16, 52, 106, 595 y 1.164 mg/kg sobre el crecimiento, el contenido de ácido ascórbico en los tejidos y los parámetros hematológicos en juveniles de *Seriola quinqueradiata*. Se observó que las tasas de supervivencia de los ejemplares no suplementados fueron significativamente inferiores a las de todos los grupos tratados. Similares resultados se encontraron para ganancia de peso, que fue mayor en los cuatro niveles más altos de suplementación; no hubo diferencias significativas entre las dos fuentes utilizadas de ácido ascórbico. En un segundo experimento se realizaron pruebas de estrés por salinidad y exposición aérea; se observó que los peces suplementados con 440 mg/kg presentaron mayor tolerancia al estrés causado por baja salinidad. Sin embargo, no se presentaron diferencias significativas en cuanto a respuesta a exposición aérea en los parámetros hematológicos evaluados (53).

INCLUSIÓN EN ALIMENTO VIVO

Dentro de las investigaciones con respecto a la suplementación con ácido ascórbico en las dietas para las especies de peces, se han realizado diversos experimentos enfocados a lograr su inclusión en el alimento vivo, con el objetivo de obtener herramientas que permitan comprender los requerimientos nutricionales y la función de la vitamina C durante la fase larval de varias especies. Es así como se han desarrollado metodolo-

gías para enriquecer nauplios de *Artemia* y rotíferos tanto en laboratorio como a escala comercial (54).

Smith *et al.* (55) experimentaron enriqueciendo *Artemia* con ascorbil-2-fosfato (A2P) y observaron variables como el consumo y asimilación de este componente. Al final del ensayo demostraron que el A2P puede ser asimilado como ácido ascórbico en diferentes tejidos corporales de la *Artemia* y, por ende, las larvas de peces podrían consumir esta *Artemia* enriquecida como fuente de ácido ascórbico.

En un estudio en que se adicionó ácido ascórbico en el alimento vivo para larvas de *Scophthalmus maximus* con palmitato de ascorbilo, se observó que las larvas alimentadas con el tratamiento que contenía alto nivel de ácido ascórbico mostraron una mejor proporción de pigmentación, comparada con los otros grupos. Además se realizaron evaluaciones de la condición fisiológica de los animales, aplicando una fuente de estrés (salinidad), y se pudo comprobar que las mortalidades eran más lentas en los peces nutridos con el alimento vivo que contenía el nivel más alto de ácido ascórbico (56).

En otra de las investigaciones enfocadas a enriquecer el alimento vivo con vitamina C, se realizó un experimento con rotíferos (*Brachyonus plicatilis*), utilizando diferentes concentraciones de ácido ascórbico, suplementado en microalgas de dos especies: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis* sp. y una levadura: *Saccharomyces cerevisiae*. Los niveles de ácido ascórbico fueron 2.600, 4.200 y 77 µg/g, respectivamente, y se utilizó un grupo de rotíferos alimentados con levadura como grupo control. Las concentraciones de ácido ascórbico fueron medidas a las 24 horas y se encontró que los rotíferos alimentados con *Isochrysis* tuvieron un aumento de 310% y los alimentados con *N. oculata* del 180%, mientras que la concentración en los rotíferos alimentados

con levadura no presentó cambios durante ese tiempo. Cuando hicieron la siguiente medición de la concentración de ácido ascórbico, encontraron que no hubo cambio significativo en ninguno de los grupos de rotíferos entre las horas 24 y 48. Se concluyó que el proceso de enriquecimiento con ácido ascórbico ocurre rápida y eficazmente en los rotíferos alimentados con algas y que el grado de enriquecimiento se relaciona con la concentración de la vitamina en ellas; además se comprobó que los rotíferos retienen eficazmente el ácido ascórbico por lo menos 24 horas. Así pues, los rotíferos enriquecidos con vitamina C pueden ser un alimento particularmente valioso para las larvas de peces con altos requerimientos de esta vitamina (57).

Kolkovski *et al.* (58) enriquecieron nauplios de *Artemia* con vitamina C (palmitato de 6-ascorbilo) y vitamina E (acetato de tocoferol) con el fin de medir su efecto en el crecimiento, supervivencia y resistencia ante el estrés de larvas de *Stizostedion vitreum*. Cuando se aplicaron pruebas de estrés (salinidad) a las larvas, se observó que su resistencia a cambios de salinidad aumentó al alimentarlas con *Artemia* enriquecida con la vitamina C, pero que la suplementación de vitamina E no afectó la supervivencia significativamente. Sin embargo, juveniles de *Pterophylum scalare*, alimentados con *Artemia* enriquecida con la combinación de α -tocoferol y vitamina C, mostraron las mejores tasas de ganancia de peso y presentaron mayor resistencia y sobrevivencia cuando fueron sometidos a estrés osmótico (59).

COMBINACIÓN CON VITAMINA E

En ocasiones la vitamina E se utiliza asociada al ácido ascórbico para aumentar crecimiento, mejorar respuesta inmune, metabolismo de nutrientes y resistencia al estrés, al tiempo que mejora las caracte-

rísticas del producto final. Kim *et al.* (60) estudiaron el crecimiento de *Oreochromis niloticus* y la resistencia a enfermedades de esta especie: probaron cinco dietas con diferentes niveles de ácido ascórbico, acetato de tocoferol y selenio durante diez semanas y encontraron que los peces alimentados con altos niveles de ácido ascórbico y acetato de tocoferol tenían ganancias de peso significativamente mayores.

En otro ensayo se investigó acerca del efecto de varias combinaciones de las vitaminas C y E sobre la respuesta inmune y resistencia a enfermedades en *Oncorhynchus mykiss*. Se probaron diferentes dietas con niveles de inclusión de vitaminas C y E: 0/0, 0/800, 2.000/0, 30/30, 30/800, 2.000/30 y 2.000/800, respectivamente. Los autores encontraron que la combinación de las vitaminas C y E en altos niveles estimuló significativamente la linfoproliferación cuando se comparó con los peces alimentados con bajos niveles de ambas vitaminas, pero también cuando se comparó con los animales alimentados con bajo nivel de vitamina C y alto de vitamina E (61).

Otros autores determinaron que en ejemplares de *Arapaima gigas* suplementados con vitamina C (ácido ascórbico) y E (α -tocoferol) la cantidad de glóbulos rojos y leucocitos se incrementa cuando son suplementados con 500, 800 y 1.200 mg/kg de vitamina C y E durante dos meses (14).

Por otro lado, en ejemplares de *Terapon jarbua* la administración de vitaminas C y E disminuye el estrés oxidativo inducido por el cobre, el cual se manifiesta con la muerte por intoxicación, siendo las branquias las primeras en ser afectadas por estar expuestas al medio contaminado (62). Asimismo, en *Oncorhynchus tshawytscha* se evaluó el efecto de la suplementación con α -tocoferol + ácido ascórbico, selenio (Se) y hierro (Fe) en la dieta de juveniles sobre los índices de estrés oxidativo. Los autores observaron

que solamente las dietas suplementadas con las dos vitaminas contribuyeron a disminuir dicho estrés; así comprobaron que tal suplementación proporciona la protección adecuada contra la peroxidación lipídica (63).

Por su parte, Ji *et al.* (64) estudiaron el efecto del α -tocoferol y el ácido ascórbico sobre el metabolismo de los lípidos de dos especies: *Pagrus major* y *Acanthopagrus schlegeli*; los investigadores adicionaron en las dietas L-ascorbil-2-monofosfato-Mg (AMP) y acetato de tocoferol (AT) y midieron variables como la concentración de ascorbato y de tocoferol en diferentes órganos; observaron que la suplementación con AMP aumentó la acumulación de tocoferol en ambas especies, mientras que la suplementación con AT no afectó significativamente el volumen de ácido ascórbico. Además encontraron que la suplementación con AMP causó una disminución de la acumulación de lípidos en el cuerpo e hígado en *Pagrus major* y una reducción en el diámetro adiposo de ambas especies. Sin embargo, la suplementación con AT no afectó estos parámetros. Los resultados demostraron un efecto de la vitamina C en el proceso de absorción de la vitamina E y en el metabolismo de los lípidos.

Ruff *et al.* (65) evaluaron el efecto de los antioxidantes utilizados en la dieta de *Scophthalmus maximus* sobre la calidad de su filete. Los animales fueron alimentados con dietas que contenían 60% de proteína y 12% de grasa, suplementadas con vitaminas E (α -tocoferol) y C (2-monofosfato de ascorbilo) en diferentes niveles de inclusión: 500/100, 1.000/100, 100/1.000 y 100/100 mg/kg, respectivamente; los autores observaron que los niveles de α -tocoferol aumentaron significativamente en el tejido muscular, hígado, corazón y riñón de los ejemplares alimentados con dietas que contenían elevados niveles del compuesto. Sin embargo, hallaron que elevados niveles del

mismo en la dieta tenían un efecto negativo en la concentración de ácido ascórbico en el tejido muscular y que este no tenía un efecto notable en la calidad del filete, como sí lo presenta el α -tocoferol, el cual permite que los filetes conservados en frío tengan bajos niveles de oxidación lipídica y sufran más lentamente los procesos de deterioro en el color y textura de la carne.

EXPOSICIÓN A AGENTES ADVERSOS

Algunos investigadores sugieren que el ácido ascórbico también puede usarse para disminuir los efectos fisiológicos ante diferentes agentes adversos. En un estudio sobre la influencia del ácido ascórbico en el proceso de curación de las heridas en *Onchorhynchus mykiss* se probaron dietas que contenían 20, 150 y 1.000 mg/kg. Se causaron heridas experimentales en la piel y el músculo de los animales y se examinaron días después para evaluar su recuperación en las partes heridas y sus niveles de concentración de ácido ascórbico en sangre, hígado y riñón. Los autores observaron que la mayoría de los animales alimentados con dietas que contenían los dos niveles más altos de ácido ascórbico se recuperaban más rápido de sus heridas y encontraron que los órganos de estos individuos tenían una mayor concentración de ácido ascórbico; por esta razón concluyeron que el consumo de vitamina C tiene influencia en el proceso de recuperación de heridas en la especie y adicionalmente habilita al animal a establecer *pools* de ácido ascórbico en varios de sus tejidos, lo cual contribuye a que el proceso de curación sea más rápido (66).

En ejemplares de *Colossoma macropomum* alimentados con dietas que poseían niveles de vitamina C de 0, 100 y 500 mg/kg de ácido L-ascórbico durante 10 meses, se observó que los suplementados con los más altos niveles mostraron una mayor

capacidad de reducir el efecto de la hipoxia mediante el aumento de la eficacia de las catecolaminas. No se reflejaron cambios en el pH de la sangre ni en la glucosa plasmática; además se observó que la suplementación redujo los niveles de peroxidación de lípidos; así se disminuyó el efecto de la hipoxia sobre los peces y se logró reducir la tasa de mortalidad (23). En *Oreochromis niloticus* sometida a estrés por baja temperatura en el agua, se observó que los animales alimentados con la dieta basal (sin ácido ascórbico) presentaron disminución en el número de eritrocitos y en los valores de hematocrito y hemoglobina con respecto a los suplementados con vitamina C (67).

La vitamina C actúa además como un agente antitóxico contra pesticidas en peces (68, 69). En juveniles de *Clarias gariepinus* alimentados con dietas suplementadas con dos niveles de ácido ascórbico: 50 mg/100 g y 100 mg/100 g, se encontró que existía una importante interacción entre la disminución de los síntomas de estrés ocasionados por exposición a deltamethrin® y el consumo de ácido ascórbico, lo que sugiere que su adición podría disminuir los efectos nocivos del tóxico. Se observó que los peces con bajo nivel de ácido ascórbico en la dieta (50 mg/100 g) eran incapaces de contrarrestar el estrés causado por el deltamethrin®, mientras que los alimentados con altos niveles de ácido ascórbico (100 mg/100 g) sí podían hacerlo. Concluyeron entonces que la utilización de altos niveles de vitamina C en la dieta podía disminuir el estrés de *Clarias gariepinus* ocasionado por la exposición a piretroides como el deltamethrin®, y que así mismo la suplementación con ácido ascórbico disminuía su efecto tóxico en los peces (70). Similares resultados se encontraron en *Oreochromis mossambicus*, especie en la cual se observó que el efecto genotóxico del etil-metano-sulfonato podría ser minimizado al utilizar vitamina C (69).

Jiraungkoorskul *et al.* (71) estudiaron el efecto del plomo (Pb) como agente genotóxico y del ácido ascórbico como agente protector en *Oreochromis niloticus*. Los autores experimentaron con 60 ejemplares, los cuales fueron expuestos a 4 tratamientos diferentes: 50 mg/l de Pb sin ácido ascórbico, 50 mg/l de Pb y 50 mg/l de ácido ascórbico, 50 mg/l de ácido ascórbico sin Pb y un grupo control consistente en agua de clorada. Los autores demostraron la eficiencia del ácido ascórbico como reductor del efecto genotóxico en peces expuestos a plomo. Asimismo, Liu *et al.* (72) estudiaron el efecto de la suplementación con ácido ascórbico sobre el crecimiento, la inmunidad y la respuesta a estrés causado por exposición a amonio en juveniles de *Leiocassis longirostris*. Observaron que la eficiencia de conversión alimenticia aumentó a medida que se elevaron los niveles de suplementación con ácido ascórbico, lo cual les permite afirmar que el ácido ascórbico tiene un efecto benéfico en el crecimiento. Además, los autores afirman que el ácido ascórbico suplementado en la dieta desempeña un papel importante en la disminución de los efectos negativos del amoniaco aumentando la resistencia de los peces a la toxicidad.

En otro estudio se determinó el efecto del ácido ascórbico en el crecimiento y resistencia a enfermedades de juveniles de *Epinephelus malabaricus*. Se utilizaron seis dietas con niveles de inclusión de 3, 14, 27, 46, 76 y 135 mg/kg y una dieta control que no contenía ácido ascórbico; los animales fueron infectados con la bacteria *Vibrio carchariae*. Los resultados mostraron que los niveles adecuados de ácido ascórbico en la dieta para lograr un óptimo crecimiento fueron de 45,3 mg/kg, mientras que para reforzar la respuesta inmunitaria y mantener la supervivencia ante infección con *Vibrio carchariae* fueron mucho mayores (135 mg/kg) (73). De igual forma, en *Clarias*

batrachus se ha estudiado el efecto de la suplementación con ácido ascórbico sobre el crecimiento, respuesta inmune y supervivencia. Los autores observaron que peces suplementados con 1.000 y 2.000 mg/kg, inoculados con *Aeromonas hydrophila*, reaccionaron de manera positiva, mientras que los que recibieron menos de 1.000 mg/kg, finalmente murieron. Por otro lado, las ganancias de peso fueron superiores en los suplementados con los más altos niveles de ácido ascórbico (74). Similares resultados se encontraron en *Cirrhinus mrigala*, especie en la cual se redujo la respuesta inflamatoria y se incrementó la supervivencia al suplementar los peces con 1.000 mg/kg y exponerlos a *Aeromonas hydrophila* (75).

CONCLUSIONES

El ácido ascórbico es un micronutriente esencial en un gran número de especies acuáticas con importancia zootécnica.

Contribuye en el crecimiento de los animales y también aumenta su capacidad de resistencia frente a enfermedades, condiciones adversas y de estrés.

La mayoría de los peces no sintetizan ácido ascórbico, por lo tanto es necesario administrarlo en las dietas para las diferentes fases de su desarrollo.

El ácido ascórbico suplementado se acumula en diferentes tejidos del cuerpo, incrementando su concentración en órganos como hígado, riñón y músculo.

Puede ser utilizado como agente anti-tóxico, pues permite que los animales expuestos a pesticidas tengan la capacidad de contrarrestar sus efectos.

REFERENCIAS

1. FAO. El papel de la acuicultura en la mejora de la seguridad alimentaria y la nutrición. Comité de Seguridad Alimentaria Mundial, 29° periodo de secciones. Roma; 2003.

2. FAO. State of world aquaculture. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2006.
3. Espinal C, Martínez H, González F. La cadena de la piscicultura en Colombia: una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005. Documento de trabajo 106. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural: Observatorio Agrocadenas de Colombia; 2005.
4. Barton BA, Iwama GK. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Ann Rev Fish Dis* 1991; 1:3-26.
5. Wendelaar Bonga SE. The stress response in fish. *Physiol Rev* 1997; 77(3):591-625.
6. Barnett CW, Pankhurst NW. The effects of common laboratory and husbandry practices on the stress response of greenback flounder *Rhombosolea tapirina* (Günther, 1862). *Aquaculture* 1998; 162:313-29.
7. Sakai M. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* 1999; 172:63-92.
8. Dabrowski K, Lee K, Guz L, Verlhac V, Gabaudan J. Effects of dietary ascorbic acid on oxygen stress (hypoxia or hyperoxia), growth and tissue vitamin concentrations in juvenile rainbow trout. *Aquaculture* 2004; 233:383-92.
9. Pickering AD. Introduction: The Concept of Biological Stress. In: *Stress and fish*. Academic Press 1981; 1:1-10.
10. Urbinati EC, Carneiro PCF. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: Cyrino, JEP. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. 1ª. ed. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática 2005; 171-194.
11. Sumpter JP. The endocrinology of stress. In: *Fish stress and health in aquaculture*. Cambridge University Press; 1997. p. 95-118.
12. Barton BA. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integr Comp Biol* 2002; 42:517-25.
13. Wedemeyer GA. Physiology of fish in intensive culture systems. New York: Chapman and Hall; 1996. p. 232.
14. Andrade JI, Akifumi EO, De Menezes GC, Brasil EM, Roubach R, Urbinati EC, Tavares-Dias M, Marcon JL, Gusmão EA. Influence of diets supplemented with vitamins C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters. *Comparative Biochemistry and Physiology (part A)* 2007; 146(4):576-80.
15. Wedemeyer GA, McLeay DJ. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: *Stress and fish*. Edited by Pickering A. D. Academic Press 1981; 11:247-75.
16. Valenzuela A, Alveal K, Tarifeno E. Respuestas hematológicas de truchas (*Oncorhynchus mykiss*) sometidas a estrés hipóxico agudo: serie roja. *Gayana* 2002; 66(2):255-61.
17. Barry TP, Malison JA, Held JA, Parrish JJ. Ontogeny of the cortisol stress response in larval rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology* 1995; 97:57-65.
18. Urbinati EC, Abreu JS, Da Silva AC, Landinez MA. Loading and transport stress of juvenile matrinxa *Brycon cephalus* at various densities. *Aquaculture* 2004; 229:389-400.
19. Van RM, Bakker E, Nieven MC, Zirkzee H, Vanden TG. Energy status and free fatty acid patterns in tissues of common carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* L.) during severe oxygen restriction. *Comp. Biochem. Physiol* 1994; 109:755-67.
20. Caldwell CA, Hinshaw J. Physiological and haematological responses in rainbow trout subjected to supplemental dissolved oxygen in fish culture. *Aquaculture* 1994; 126:183-93.
21. Sloman KA, Taylor AC, Metcalfe NB, Gil-mour KM. Stress from air emersion fails to alter chloride cell numbers in the gills of rainbow trout. *J. Fish Biol* 2001; 59:186-90.

22. Abreu JS, Urbinati EC. Physiological responses of matrinxã (*Brycon cephalus*) fed different levels of vitamin C and submitted to air exposure. *Acta Amazonica* 2006; 36:519-24.
23. Chagas EC, Val AL. Ascorbic acid reduces the effects of hypoxia on the Amazon fish tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). *J. Fish Biol* 2006; 69:608-12.
24. Miyasaki T, Sato M, Yoshinak R. Effect of vitamin C on lipid and carnitine metabolism in rainbow trout. *Fish Sci* 1995; 61:501-6.
25. Navarre O, Halver J. Disease resistance and humoral antibody production in rainbow trout fed high levels of vitamin C. *Aquaculture* 1989; 79:207-21.
26. Verlhac V, Obach A, Gabaudan J, Schüep W, Hole R. Immunomodulation by dietary vitamin C and glucan in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol* 1998; 8:409-24.
27. Ortuño J, Cuesta A, Esteban MA, Mese-guer J. Effect to oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream *Sparus aurata* innate immune system. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 79:167-80.
28. Hark L. Vitamin C: Its role in health and prevention. www.heartinfo.org; consultado: 13 de septiembre de 2008.
29. Steffens W. Principios fundamentales de la alimentación de los peces. España: Acribia; 1987.
30. Roche Vitamins Inc. Vitamin Nutrition Compendium 2000: 31-39.
31. Wilson RP. Absence of ascorbic acid synthesis in channel catfish, *Ictalurus punctatus* and blue catfish, *Ictalurus frucatus*. *Comp. Biochem. Physiol* 1973; 46B:635-38.
32. Yamamoto Y, Sato M, Ikeda S. Existence of L-gulonolactone oxidase in some teleosts. *Bull. Jap. Soc. Scient Fish* 1978; 44:775-79.
33. Soliman AK, Jauncey K, Robert RJ. The effect of varying forms of dietary ascorbic acid on the nutrition of juvenile tilapias (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 1986; 52:1-10.
34. Dabrowski K. Gulonolactone oxidase is missing in teleost fish. *Biol Chem* 1990; 371:207-14.
35. Fracalossi D, Allen M, Yuyama L, Oftedal O. Ascorbic acid biosynthesis in Amazonian fishes. *Aquaculture* 2001; 192:321-32.
36. Fracalossi D, Allen M, Nichols D, Oftedal O. Oscars, *Astronotus ocellatus*, have a dietary requirement for vitamin C. *Journal of Nutrition* 1998; 128:1745-51.
37. Martins ML. Effect of ascorbic acid deficiency on the growth, gill filament lesions and behavior of fry (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1995; 28:563-68.
38. Martins ML. Evaluation of the addition of ascorbic acid to the ration of cultured *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) on the infrapopulation of *Anacanthorus pen-labiatus* (Monogenea). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1998; 31:655-58.
39. Durve VS, Lovell RT. Vitamin C and disease resistance in channel cat fish (*Ictalurus punctatus*). *Can. J. Fish Aquat Sci* 1982; 39:948-51.
40. Montero D, Marrero M, Izquierdo NS, Robaina L, Vergara JM, Tort L. Effect of vitamins E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus auratus*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture* 1999; 171:269-78.
41. Ai Q, Mai K, Zhang C, Xu W, Duan Q, Tan B, Liufu Z. Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture* 2004; 242:489-500.
42. Wang X, Kim K, Bai SC. Comparison of L-ascorbyl-2-monophosphate-Ca with L-ascorbyl-2-monophosphate-Na/Ca on growth and tissue ascorbic acid concentrations in

- Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*). Aquaculture 2003; 225:387-95.
43. Ramesha TJ, Reddy HR, Naik AT. Karnataka Journal of Agricultural Sciences 2003; 13:134-37.
 44. DengFwu H, Tse-Kun L. Comparative Biochemistry and Physiology. B, Biochemistry & Molecular Biology 2002; 131:1-7.
 45. Wang X, Kim K, Bai SC. Effects of different dietary levels of L-ascorbyl-2-polifosfato on growth and tissue vitamin C concentrations in juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). Aquaculture Research 2002; 33:261-67.
 46. Dabrowski K. Ascorbic acid status in the early life of whitefish (*Coregonus lavaretus* L.). Aquaculture 1990; 84:61-70.
 47. Dabrowski K, Blom JH. Ascorbic acid deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs and survival of embryos. Biochem Physiol 1994; 108:129-35.
 48. Lin MF, Shiau SY. Requirements of vitamin C (L-ascorbyl-2-monofosfato-Mg and L-ascorbyl-2-monofosfato-Na) and its effects on immune responses of grouper, *Epinephelus malabaricus*. Aquaculture Nutrition 2004; 10:327-33.
 49. Eo J, Lee K. Effect of dietary ascorbic acid on growth and non-specific immune responses of tiger puffer, *Takifugu rubripes*. Fish and Shellfish Immunology 2008; 25:611-16.
 50. Adham GK, Hashem HO, Abu-Shabana MB, Kamel AH. Vitamin C deficiency in the catfish *Clarias gariepinus*. Aquaculture Nutrition 2000; 6:129-39.
 51. Gusmão E, Costa E, Tavares M, Cruz G, Melo C, Da Silva E, et al. Effect of high levels of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*). Comparative Biochemistry and Physiology (part A) 2007; 147:383-88.
 52. Misra CK, Das BK, Mukherjee SC, Pradhan J. Effects of dietary vitamin C on immunity, growth and survival of Indian major carp *Labeo rohita*, fingerlings. Aquaculture Nutrition 2007; 13:35-44.
 53. Rem T, Koshio S, Teshima S, Ishikawa M, Panganiban A, Uyan O, Alam MS. Effectiveness of L-ascorbyl-2-monophosphate Na/Ca as a vitamin C source for yellowtail *Seriola quinqueradiata* juveniles. Aquaculture Nutrition 2008; 14:416-22.
 54. Merchie G, Lavens P, Dhert Ph, Dehasque M, Nelis H, De Leenheer A, Sorgeloos P. Variation of ascorbic acid content in different live food organisms. Aquaculture 1995; 134:325-37.
 55. Smith G, Ritar AJ, Brown MR. Uptake and metabolism of a particulate form of ascorbic acid by *Artemia nauplii* and juveniles. Aquaculture Nutrition 2004; 10:1-8.
 56. Merchie G, Lavens P, Dhert Ph, García M, Nelis H, De Leenheer A, Sorgeloos P. Dietary ascorbic acid requirements during the hatchery production of turbot larvae. Journal of Fish Biology 1996; 49:573-83.
 57. Brown MR, Skabo S, Wilkinson B. The enrichment and retention of ascorbic acid in rotifers fed microalgal diets. Aquaculture Nutrition 1998; 4:151-56.
 58. Kolkovski S, Czesny S, Yackey C, Moreau R, Cihla F, Mahan D, et al. The effect of vitamins C and E in (n-3) highly unsaturated fatty acids-enriched *Artemia nauplii* on growth, survival, and stress resistance of fresh water walleye *Stizostedion vitreum* larvae. Aquaculture Nutrition 2000; 6:199-206.
 59. Norouzitallab P, Farhangi M, Babapour M, Rahimi R, Sinha AK, Baruah K. Comparing the efficacy of dietary α -tocopherol with that of DL- α -tocopheryl acetate, both either alone or in combination with ascorbic acid, on growth and stress resistance of angelfish, *Pterophyllum scalare*, juveniles. Aquacult Int 2008; 16:1-10.
 60. Kim K, Wang X, Choi S, Park G, Koo J, Bai SC. No synergistic effects by the dietary supplementation of ascorbic acid, α -tocopherol acetate and selenium on the growth performance and challenge test of *Edwardsiella tarda* in fingerling Nile tilapia.

- pia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture Research 2003; 34:1053-8.
61. Wahli T, Verlhac V, Gabaudan J, Schüep W, Meir W. Influence of combined vitamins C and E on nonspecific immunity and disease resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases 1998; 21:127-37.
 62. Vijayavel K, Gopalakrishnan S, Thilagam H, Balasubramanian MP. Dietary ascorbic acid and α -tocopherol mitigates oxidative stress induced by copper in the thornfish *Terapon jarbua*. Science of the Total Environment 2006; 372:157-63.
 63. Welker TL, Congleton JL. Effect of dietary α -tocopherol + ascorbic acid, selenium, and iron on oxidative stress in sub-yearling Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum). Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 2008; 92:414-25.
 64. Ji H, Daud A, Yoshimatsu T, Hayashi M, Umino T, Nakagawa H, *et al.* Effect of dietary vitamins C and E fortification on lipid metabolism in red sea bream *Pagrus major* and black sea bream *Acanthopagrus schlegelii*. Fisheries Science 2003; 69:1001-9.
 65. Ruff N, Fitzgerald RD, Cross TF, Hamre K, Kerry JP. The effect of dietary vitamin E and C level on market-size turbot (*Scophthalmus maximus*) fillet quality. Aquaculture Nutrition 2003; 9:91-103.
 66. Wahli T, Verlhac V, Girling P, Gabaudan J, Aebischer C. Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 2003; 225:371-86.
 67. Falcon DR, Barros M, Pezzato LE, Sampaio FG, Hisano H. Physiological responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed vitamin C- and lipid-supplemented diets and submitted to low-temperature stress. Journal of the World Aquaculture Society 2007; 38(2):287-95.
 68. Agrawal NK, Juneja CJ, Mahajan CL. Role of ascorbic acid in the toxicity of pesticides in a fresh water. Toxicology 1978; 19:369-75.
 69. Guha B, Khuda-Bukhsh AR. Efficacy of vitamin-C (L-ascorbic acid) in reducing genotoxicity in fish (*Oreochromis mossambicus*) induced by ethyl methane sulphonate. Chemosphere. 2002; 47:49-56.
 70. Datta M, Kaviraj A. Ascorbic acid supplementation of diet for reduction of deltamethrin induced stress in freshwater catfish *Clarias gariepinus*. Chemosphere. 2003; 53:883-8.
 71. Jiraungkoorskul W, Sahaphong S, Kangwanrangsan N, Zakaria S. The protective influence of ascorbic acid against the genotoxicity of waterborne lead exposure in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Journal of Fish Biology 2008; 73:355-66.
 72. Liu H, Xie S, Zhu X, Lei W, Han D, Yang Y. Effects of dietary ascorbic acid supplementation on the growth performance, immune and stress response in juvenile *Leiocassis longirostris* Günther exposed to Ammonia. Aquaculture Research 2008; 39(1):1-11.
 73. Lin MF, Shiau SY. Dietary L-ascorbic acid affects growth, nonspecific immune responses and disease resistance in juvenile grouper *Epinephelus malabaricus*. Aquaculture 2005; 244:215-21.
 74. Kumari J, Sahoo P. High dietary vitamin C affects growth, non-specific immune responses and diseases resistance in Asian catfish, *Clarias batrachus*. Molecular and Cellular Biochemistry 2005; 280:25-33.
 75. Sobhana KS, Mohan CV, Shankar KM. Effect of dietary vitamin C on the disease susceptibility and inflammatory response of *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) to experimental infection of *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture 2002; 207:225-38.

Recibido 20-11-08 y aprobado 04-02-09