

FABRÍCIO PEREIRA REZENDE

**INTENSIFICAÇÃO DA COLORAÇÃO EM PEIXES ORNAMENTAIS COM
USO DE RAÇÕES ENRIQUECIDAS COM PIGMENTOS NATURAIS**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, para obtenção do título de
Doctor Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

R467i
2010

Rezende, Fabrício Pereira, 1979-

Intensificação da coloração em peixes ornamentais com
uso de rações enriquecidas com pigmentos naturais /
Fabrício Pereira Rezende. – Viçosa, MG, 2010.
xv, 128f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Eduardo Arruda Teixeira Lanna.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Aquicultura. 2. Peixe ornamental - Criação. 3. Cor da
pele. 4. Pigmentos. 5. *Symphysodon aequifasciata*. 6. *Colisa
lalia*. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

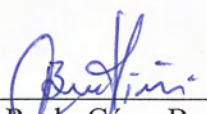
CDD 22. ed. 639.34

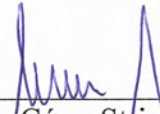
FABRÍCIO PEREIRA REZENDE

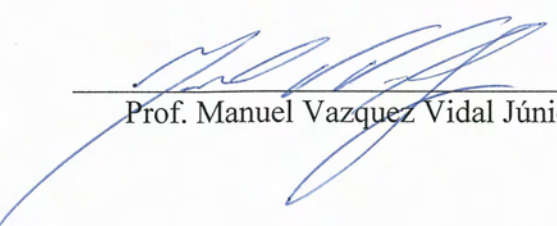
**INTENSIFICAÇÃO DA COLORAÇÃO EM PEIXES ORNAMENTAIS COM
USO DE RAÇÕES ENRIQUECIDAS COM PIGMENTOS NATURAIS**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, para obtenção do título de
Doctor Scientiae.

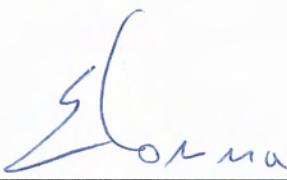
APROVADA: 26 de fevereiro de 2010.



Prof. Paulo César Brustolini
(Coorientador)

Prof. Paulo César Stringheta
(Coorientador)

Prof. Manuel Vazquez Vidal Júnior

Prof. Oswaldo Pinto Ribeiro Filho

Prof. Eduardo Arruda Teixeira Lanna
(Orientador)

À Deus, sem o qual nada seria possível.
Aos meus pais, Ana e Oswaldo, e irmãos Oswaldo, Etelvina e Túlio, pelo incentivo.
À minha esposa, Edmárcia, que nos últimos onze anos tem sido a fonte de
inspiração nas decisões da minha vida, a quem eu dedico todo o
empenho, esforço e dedicação em tudo o que faço.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), por intermédio do Departamento de Zootecnia (DZO), pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor orientador Eduardo Arruda Teixeira Lanna, pela orientação, amizade e incentivo. Aos professores Sebastião Campos Valadares, Paulo César Brustolini, Paulo César Stringheta, Théa Mírian Medeiros Machado, Juarez Lopes Donzelle, Manuel Vazquez Vidal Júnior, Paulo Roberto Cecon e Oswaldo Pinto Ribeiro Filho pelas informações, sugestões e críticas apresentadas durante o curso de pós-graduação e na condução desta pesquisa, as quais foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos estagiários Ana Cristina Oberst Nasser, Igor Hiroshi Terayama de Oliveira, Lídia Nara Alves Nunes, Marcio Aparecido Candido Nicassio, Rafael Alves Vianna e Uyara Duarte Vieira pela amizade e dedicação.

Aos funcionários dos Departamentos de Zootecnia e de Tecnologia de Alimentos, em especial aos Laboratórios de Nutrição Animal e de Corantes e Pigmentos Naturais, pela ajuda nas análises químicas e pela amizade durante o período do curso.

Aos piscicultores de peixes ornamentais do pólo de Muriaé, especialmente ao Ronaldo Vilela, Rejane, Peter Damasceno, Mitssuy, Toniquinho, Ernane, Jorge, Verônica e Amauri, pela amizade, companheirismo e parceria nesta jornada.

A todos os meus amigos e amigas, em especial ao Edson Agostinho Pereira, Allan Tronni Reis, Moisés Quadros, Christiano Demétrio de Lima Ribeiro, Cláudio Barberini Camargo Filho, Felipe Barbosa Ribeiro, Guilherme de Souza Moura, Jorgina Juliana Gradisse Freitas, Leonardo Luiz Calado, Marcelle Santana Araújo, Marcelo Maia Pereira, Patrícia de Souza Lima Cunha, Sylvia Sanae Takishita, pelo incentivo, ajuda e leal amizade.

Enfim, a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho e não foram citados.

BIOGRAFIA

FABRÍCIO PEREIRA REZENDE, filho de Oswaldo Rezende Monteiro e Ana de Fátima Pereira Rezende, nascido em 4 de Fevereiro de 1979, na cidade de Viçosa/MG.

Graduou-se como engenheiro agrônomo pela Universidade Federal de Viçosa (UFV) no período de Março de 1998 a Março de 2003.

Atuou como extensionista agropecuário na Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural de Minas Gerais (EMATER-MG), entre 2003 e 2006.

Em Dezembro de 2006, concluiu o curso de especialização na área de Recursos Hídricos e Ambientais, pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Campus de Montes Claros/MG.

Concluiu o curso de mestrado em Produção Animal na área de Aquicultura, em Setembro de 2006, pela Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), em Campos dos Goytacazes/RJ.

Atuou como professor substituto pelo Departamento de Biologia Animal, em 2008, ministrando aulas nas disciplinas “Zoologia geral”, “Ecologia aquática” e “Ictiologia, limnologia e piscicultura”.

Realizou o doutorado pelo Departamento de Zootecnia da UFMG, no período de Outubro de 2006 a Fevereiro de 2010, em Viçosa/MG.

Em maio de 2010, ingressou como professor no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, IFES *Campus* Piúma/ES.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	xii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	6
2.1. Cores e padrões de coloração nos peixes: tipos de cromatóforos e mecanismos que influenciam a expressão de cores na pele.....	6
2.2. Influência da composição da dieta na deposição de pigmentos: ingrediente fonte, níveis e fontes de lipídeos, proteínas, vitaminas e minerais.....	8
2.3. Diversidade no metabolismo e deposição de pigmentos na pele e músculos por diferentes grupos de peixes.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1. Local e período de execução.....	25
3.2. As unidades experimentais e o sistema de recirculação de água.....	25
3.3. A água.....	27
3.4. Os peixes.....	28
3.5. Aquisição, vermifugação, condicionamento e seleção dos peixes...	29
3.6. O manejo experimental.....	30
3.7. As rações experimentais e o processo de incorporação de pigmentos em rações comerciais.....	32
3.8. Variáveis mensuradas e avaliadas.....	37
3.9. Manejo, biometrias e planilhas de acompanhamento experimental	38
3.10. Quantificação da coloração em peixes.....	43

	Página
3.10.1. Obtenção de fotografias e índices de coloração.....	43
3.10.2. Obtenção de índices de coloração com colorímetro portátil.	44
3.10.3. Utilização de software para quantificação de cores a partir de fotografias.....	46
3.11. Modelo estatístico.....	48
4. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.....	49
5.1. Artigo 1º) Diferentes fontes de pigmentos naturais em dietas para o peixe ornamental acará-disco (<i>Symphysodon aequifasciata</i>)...	53
Resumo/ Abstract.....	53
Introdução.....	54
Material e Métodos.....	55
Resultados e Discussão.....	59
Conclusões.....	64
Referências.....	64
5.2. Artigo 2º) Comparação entre metodologias para avaliação de intensidade de pigmentação como ferramenta na nutrição e melhoramento de peixes.....	66
Resumo/ Abstract.....	66
Introdução.....	67
Material e Métodos.....	68
Resultados e Discussão.....	69
Conclusões.....	75
Referências.....	75
5.3. Artigo 3º) Cantaxantina como aditivo em dietas para colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>).....	77
Resumo/ Abstract.....	77
Introdução.....	78
Material e Métodos.....	79
Resultados e Discussão.....	82
Conclusões.....	87
Referências.....	87
5.4. Artigo 4º) Extrato de urucum como pigmento na alimentação de colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>).....	89
Resumo/ Abstract.....	89
Introdução.....	90

	Página
Material e Métodos.....	91
Resultados e Discussão.....	94
Conclusões.....	99
Referências.....	99
 5.5. Artigo 5º) Cantaxantina na nutrição do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>).....	 102
Resumo/ Abstract.....	102
Introdução.....	103
Material e Métodos.....	105
Resultados e Discussão.....	108
Conclusões.....	111
Referências.....	111
 5.6. Artigo 6º) Antocianina como aditivo em rações para o peixe colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>).....	 114
Resumo/ Abstract.....	114
Introdução.....	115
Material e Métodos.....	117
Resultados e Discussão.....	120
Conclusões.....	125
Referências.....	125
 6. CONCLUSÕES GERAIS.....	 128

LISTA DE TABELAS

	Página
2.1. Influência de fontes de carotenóides no desenvolvimento e no padrão de coloração de carotenóides na pele de kinguios após oito semanas de alimentação. ¹ Comprimento de onda de 450 nm, teor inicial 1,92 mg/kg. * significativo ao nível de 1% (adaptado de SINHA & ASIMI, 2007)	11
2.2. Matriz de correlações dos coeficientes de correlação e dos níveis de significância entre carotenóides corporais (astaxantina e β -caroteno) e parâmetros antioxidantes em peixes (<i>Hyphessobrycon callistus</i>) alimentados com dietas suplementadas com combinações de diferentes tipos e concentrações de carotenóides (adaptado de WANG <i>et al.</i> , 2006)	14
2.3. Composição de carotenóides encontrados em insetos aquáticos e alga, adaptado de MATSUNO <i>et al.</i> (1999).....	16
2.4. Conteúdo e composição percentual de carotenóides, em relação ao total, em 12 espécies de bagres (ordem dos Siluriformes), adaptado de TSUSHIMA <i>et al.</i> (2003).....	21
3.1. Eficiência de incorporação dos ingredientes fontes de pigmentos naturais.....	35
3.2. Planilha: Biometria dos peixes submetidos à experimentação.....	39
3.3. Planilha: Quantificação da ração fornecida aos peixes.....	40
3.4. Planilha: Coordenadas de coloração no sistema Hunter obtidos com colorímetro portátil Minolta M-10 na pele dos peixes.....	41
3.5. Planilha: Coordenadas de coloração, no sistema CMYK e no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) obtida com software a partir de fotografias digitais.....	42
5.1.1. Composição centesimal das rações experimentais, e nível de pigmentos, após enriquecimento com ingredientes fontes de pigmentos, usadas na alimentação do peixe ornamental acará-disco (<i>Symphysodon aequifasciata</i>).....	56

5.1.2.	Valores médios dos índices de pigmentação nos sistemas CMYK e em coordenadas Hunter (L*a*b*) obtidos em fotografias digitais pelo software Adobe PhotoShop CS2®, no peixe acará-disco (<i>Symphysodon aequifasciata</i>), em função da fonte de pigmento natural (açai, urucum, cantaxantina, tomate) adicionado às rações e CV (%).Valores em mesma linha marcados com “*” diferem do tratamento controle (Dunnet, P<0,05).....	60
5.1.3.	Valores médios das características de desempenho nos peixes acará-disco (<i>Symphysodon aequifasciata</i>), em função da fonte de pigmento natural (açai, urucum, cantaxantina e tomate) adicionada às rações e CV (%). Valores em mesma linha marcados com “*” diferem do tratamento controle (Dunnet, P<0,05).....	63
5.2.1.	Valores médios dos índices de coloração no sistema (L*a*b*), obtidos por colorímetro portátil, Minolta-M10, nos peixes <i>in vivo</i> , CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r ²).....	69
5.2.2.	Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no sistema CMYK obtidos de fotografias digitais do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) pelo software Adobe PhotoShop CS2®, representados pelas médias aritméticas de três regiões de coloração distintas, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r ²).....	71
5.2.3.	Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no sistema CMYK obtidos de fotografias digitais do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) pelo software Adobe PhotoShop CS2®, representados pela área de coloração definida como região um, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r ²).....	71
5.2.4.	Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no sistema CMYK obtidos de fotografias digitais do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) pelo software Adobe PhotoShop CS2®, representados pela área de coloração definida como região dois, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r ²).....	72
5.2.5.	Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no sistema CMYK obtidos de fotografias digitais do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) pelo software Adobe PhotoShop CS2®, representados pela área de coloração definida como região três, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r ²).....	72

	Página
5.2.6. Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$) e no sistema CMYK obtidos de fotografias digitais do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) pelo software Adobe PhotoShop CS2®, representados pelas médias aritméticas das áreas de coloração distintas definidas como regiões um e três, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2).....	73
5.3.1. Composição centesimal e níveis de cantaxantina, após enriquecimento, nas rações experimentais para alimentação do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>).....	79
5.3.2. Valores médios das características de desempenho do peixe colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>), CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2), em função dos níveis de cantaxantina nas dietas.....	82
5.3.3. Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$) e no sistema CMYK obtidos nos peixes colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) a partir de fotografias digitais com o software Adobe PhotoShop CS2®, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2), em função do nível de cantaxantina nas dietas.....	83
5.4.1. Composição centesimal e níveis de bixina, após enriquecimento, nas rações experimentais para o peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>).....	92
5.4.2. Valores médios das características de desempenho do peixe colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>), CV (%) e equações de regressão ajustadas aos respectivos coeficientes de determinação (r^2), em função do nível de bixina nas dietas.....	94
5.4.3. Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$) e no sistema CMYK obtidos nos peixes colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) a partir de fotografias digitais com o software Adobe PhotoShop CS2®, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2), em função do nível de bixina nas dietas.....	97
5.5.1. Composição centesimal e níveis de cantaxantina, após enriquecimento, nas rações experimentais para o peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>).....	106
5.5.2. Valores médios das características de desempenho do peixe colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) e CV (%), em função dos níveis de cantaxantina nas dietas.....	108

	Página
5.5.3. Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no padrão CMYK, obtidos nos peixes colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) a partir de fotografias digitais com o software Adobe PhotoShop CS2 [®] , CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2), em função do nível de cantaxantina nas dietas.....	109
5.6.1. Composição centesimal e níveis de antocianinas, após enriquecimento das rações com polpa liofilizada de açaí, para o peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>).....	117
5.6.2. Valores médios das características de desempenho do peixe colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) e CV (%), em função dos níveis de antocianinas nas dietas.....	118
5.6.3. Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no padrão CMYK, obtidos nos peixes colisa-sangue a partir de fotografias digitais com o software Adobe PhotoShop CS2 [®] , CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2), em função do nível de antocianinas nas dietas.....	119

LISTA DE FIGURAS

		Página
2.1.	Carotenóides característicos de bagres Siluridae, adaptado de TSUSHIMA <i>et al.</i> (2002).....	21
2.2.	Rota metabólica oxidativa da luteína A em kinguio, proposta por OHKUBO <i>et al.</i> (1999).....	22
2.3.	Rota metabólica oxidativa para (3R,3'R)-zeaxantina, diatoxantina, alloxantina em kinguio, proposta por OHKUBO <i>et al.</i> (1999).....	23
2.4.	Rota metabólica redutiva de carotenóides em yellowtail, flying-fish e dolphin, segundo MATSUNO (2001).....	24
3.1.	Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) <i>in vivo</i> com base em cinco pontos (com 50,3 mm ² cada) identificados com círculos numerados de um a cinco, usando-se colorímetro portátil Konika Minolta-M10.....	46
3.2.	Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) com base em regiões delimitadas pelos círculos pontilhados e numerados de um a três, onde a média de três pontos foi utilizada na quantificação da coloração em cada região, a partir de fotografias digitais, utilizando-se software Adobe PhotoShop CS2®	47
3.3.	Esquema de amostragem de coloração na pele do peixe ornamental acará-disco (<i>Symphysodon aequifasciata</i>) pela média de cinco áreas (25 pixels quadrados cada) em fotografias de 150 x 200 pixels.....	47
5.1.1.	Esquema de amostragem de coloração na pele do peixe ornamental acará-disco (<i>Symphysodon aequifasciata</i>) pela média de cinco áreas (25 pixels quadrados cada) em fotografias de 150 x 200 pixels.....	59
5.2.1.	Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) <i>in vivo</i> com base em cinco pontos (com 50,3 mm ² cada) identificados com círculos numerados de um a cinco, usando-se colorímetro portátil Konika Minolta-M10.....	69

5.2.2.	Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) com base em regiões delimitadas pelos círculos pontilhados e numerados de um a três, onde a média de três pontos foi utilizada na quantificação da coloração em cada região, a partir de fotografias digitais, utilizando-se software Adobe PhotoShop CS2®	70
5.3.1.	Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) <i>in vivo</i> com base em cinco pontos (com 50,3 mm ² cada) identificados por círculos numerados de um a cinco, usando colorímetro portátil Konika Minolta M-10. O peixe da esquerda é representativo do tratamento controle e o peixe da direita, representativo do tratamento que se alimentou de dieta enriquecida com cantaxantina (18,2 mg/kg).....	80
5.4.1.	Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>) <i>in vivo</i> com base em cinco pontos (com 50,3 mm ² cada) identificados com círculos numerados de um a cinco, usando colorímetro portátil Konika Minolta M-10. O peixe da esquerda é representativo do tratamento controle e o peixe da direita, representativo do tratamento que se alimentou da dieta enriquecida com bixina (2.890 mg/kg).....	93
5.5.1.	Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>), a partir de fotografias digitais em três pontos (25 pixels quadrados cada) por região delimitada por traços pontilhados, pelo software Adobe PhotoShop CS2®. O peixe da esquerda é representativo do tratamento controle e o peixe da direita, representativo do tratamento que se alimentou da dieta enriquecida com cantaxantina (180,0 mg/kg).....	107
5.6.1.	Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (<i>Colisa lalia</i>), a partir de fotografias digitais em três pontos (25 pixels quadrados cada) por região delimitada por traços pontilhados, pelo software Adobe PhotoShop CS2®. O peixe da esquerda é representativo do tratamento controle e o peixe da direita, representativo do tratamento que se alimentou da dieta enriquecida com polpa liofilizada de açaí (com níveis de antocianinas a 1.000 mg/kg).....	117

RESUMO

REZENDE, Fabrício Pereira, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2010. **Intensificação da coloração em peixes ornamentais com uso de rações enriquecidas com pigmentos naturais.** Orientador: Eduardo Arruda Teixeira Lanna. Co-orientadores: Paulo César Brustolini, Paulo César Stringheta e Théa Mírian Medeiros Machado.

A recente expressividade da piscicultura ornamental como atividade agropecuária demanda aos piscicultores lançar mão de boas práticas de manejo na criação, com intuito de produzir peixes ornamentais com maiores vigor, pigmentação da pele e sanidade, a atender às demandas de um mercado cada vez mais exigente. A ampla variedade e intensidade de cores nos tegumentos em peixes dependem da presença de cromatóforos contendo pigmentos como melanina, carotenóides, pteridinas e purinas. Na alimentação de peixes ornamentais, cultivados no Brasil, utiliza-se rações para peixes de corte, pobres em pigmentos naturais, fato que, somado à baixa produção de organismos planctônicos em sistemas de criação intensivos e superintensivos, impossibilita a acumulação de pigmentos em níveis suficientes para intensificação da coloração da pele nos peixes destinados à comercialização. Na intenção de melhorar a qualidade dos peixes destinados ao mercado consumidor, pesquisadores e piscicultores adicionam pigmentos naturais nas dietas para intensificar a coloração dos peixes cultivados sob altas densidades. A utilização de pigmentos naturais na alimentação de peixes apresenta amplas funções, incluindo ação antioxidante, aumento na resposta do sistema imunológico, melhorando aspectos de crescimento e reprodutivos, além da intensificação da coloração da pele. Com objetivo de avaliar o efeito de diferentes ingredientes fontes de pigmentos naturais na pigmentação da pele de peixes e seus possíveis efeitos nas características de desempenho, conduziu-se seis experimentos sob delineamento inteiramente casualizado. Avaliou-se os ingredientes – extrato liofilizado de açaí, extrato oleoso de urucum, extrato liofilizado de tomate e cantaxantina – como aditivos em rações para os peixes ornamentais acará-disco e colisa sangue, possibilitando observar que todos os ingredientes testados alteram a expressão de coloração na pele dos peixes, sem interferir nas características de desempenho para os peixes mantidos em ambiente controlado.

ABSTRACT

REZENDE, Fabrício Pereira, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, February 2010. **Color intensification of ornamental fish by the use of diets enriched with natural pigments.** Advisers: Eduardo Arruda Teixeira Lanna. Co-advisers: Paulo César Brustolini, Paulo César Stringheta and Théa Mírian Medeiros Machado.

The recent expression of ornamental fish farming production as an agriculture activity demands for fish farmers to make use of best management practices in the production, in order to produce ornamental fish with greater vigor, pigmentation of skin and sanity, to meet the demands of an increasingly demanding market. The wide variety and intensity of colors in fish integuments depends on the presence of chromatophores containing pigments such as melanin, carotenoids, pteridines and purines. In Brazil, ornamental fish are feed with rations for species bounded for consume, poor in natural pigments, that fact, combined with low production of planktonic organisms in intensive and superintensive farming systems, prevents the accumulation of pigments in sufficient levels for intensification of skin coloration in fish intended for marketing. Intenting to improve the quality of fish intended to consumers, researchers and fish farmers add natural pigments in the diet to enhance the coloration of fish reared at high densities. The use of natural pigments in fish feeding features many functions, including antioxidant activity, increasing the immune system response, improving aspects of growth and reproduction, as well as the intensification of skin coloration. Aiming to evaluate the effect of different ingredients sources of natural pigments in the skin pigmentation of fish and their possible effects on the performance characteristics, it was conducted six experiments in completely randomized design. It was evaluated the ingredients - açai freeze-dried extract, annatto oily extract, tomato dried extract and canthaxanthin - as additives in feed for ornamental fish, discus and dwarf-red gouramy, making it possible to observe that all the ingredients tested alter the color expression of the fish skin, without interfering with the performance characteristics for fish kept in a controlled environment.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A piscicultura ornamental brasileira é uma atividade relativamente recente, e tem como marco histórico a introdução de peixes ornamentais asiáticos em meados da década de 1920, no Rio de Janeiro - RJ, por um imigrante de origem japonesa, Sigeiti Takase, que veio ao Brasil interessado em estudar a ictiofauna local. Takase trouxe mais de 50 espécies para cultivo, e em águas brasileiras coletou mais de uma centena de espécies da ictiofauna nativa, algumas das quais ele passou a cultivar (BOTELHO-FILHO, 1990).

A partir da década de 1920, por várias vezes, diferentes espécies e variedades de peixes têm sido importadas, como forma de atender à crescente demanda do mercado por novidades. Aspecto importante dessa atividade é o dinamismo em que novas espécies passam a ser incorporadas, produzidas e comercializadas com a finalidade de ornamentação, bem como a velocidade em que novas linhagens são desenvolvidas. Atualmente, cerca de 950 tipos diferentes de peixes ornamentais despertam o interesse de aquaristas em todo o mundo (VIDAL-JÚNIOR, 1998; LIMA, 2004).

O cultivo de peixes ornamentais está entre os setores mais lucrativos da piscicultura. Segundo FAO (2009), a atividade gerou em média 3,0 bilhões de dólares ao ano na década de 1990, e segundo MEYERS (2001), nesse mesmo período a indústria aquarística movimentou outro 1,5 bilhão de dólares.

A piscicultura ornamental ostentou, para a década de 1990, uma taxa de crescimento da ordem de 14% ao ano, esse índice é expressivo quando comparado ao crescimento médio anual referente à piscicultura de corte, 9,2%, e à pesca extrativista,

1,4% (LIMA, 2004).

O mercado mundial de peixes ornamentais, dinâmico e ávido por novidades, tem valorizado espécies e suas linhagens em função da beleza e raridade. A expansão do mercado aquarístico brasileiro favoreceu o desenvolvimento de novos pólos de piscicultura ornamental, que se tornaram mais expressivos a partir da década de 1980, com destaque para os pólos de Muriaé/MG, Mogi das Cruzes/SP, Magé/RJ, Recife/PE, Salvador/BA, Fortaleza/CE e Cascavel/PR.

Nos pólos de produção de piscicultura ornamental brasileiros, a quase totalidade dos piscicultores que atuam na atividade apresenta perfil de agricultor familiar, tendo nos peixes ornamentais uma das principais fontes de renda da propriedade.

A piscicultura ornamental representa uma opção com custo de implantação relativamente baixo e elevada rentabilidade para piscicultores familiares, o que a torna uma excelente oportunidade para melhoria das condições de vida, sendo fundamental ressaltar que, para alcançar uma produção satisfatória, são necessários empenho e dedicação, com frequentes atualizações por parte dos piscicultores, já que cada grupo de espécies apresenta particularidades quanto ao manejo e à reprodução.

Os piscicultores precisam estar inteirados aos mercados consumidores, produzindo preferencialmente, e com qualidade, as espécies e linhagens pelas quais os atacadistas e distribuidores pagam melhores preços, sem perder de vista que o fluxo de vendas deve possibilitar a movimentação de maior quantidade de capital de giro.

A produção de peixes ornamentais de água-doce em importantes mercados consumidores, como Estados Unidos da América, Europa e Japão, não conseguem atender à demanda interna, sendo necessário importar grande quantidade de peixes, oriundos principalmente de Singapura (FAO, 2009).

Cabe destacar que o Brasil participa deste mercado internacional quase que

exclusivamente com peixes oriundos do extrativismo. É importante ressaltar que o Brasil possui empresas competitivas atuando no mercado de exportação, as quais poderão exportar os peixes produzidos pela piscicultura ornamental de peixes nativos e/ou exóticos.

A exemplo, os néons *Paracheirodon* spp, o segundo maior grupo de espécies atualmente importado pelos Estados Unidos da América, correspondendo a 12,8% do total de peixes com aproximadamente 25,7 milhões de unidades (TAMARU & AKO, 2000). Quando em ambientes naturais estes peixes têm uma alimentação natural baseada em microcrustáceos e larvas de quironomídeos (*Chironomus* spp e *Diptera* spp), alimentos ricos em pigmentos naturais (WALKER, 2004). As informações observadas por WALKER (2004) corroboram com o fato de que alimentação rica em pigmentos intensifica as cores nos animais capturados.

Atualmente, um dos entraves enfrentados pelos aquicultores na comercialização dos peixes ornamentais refere-se à intensidade das cores e do vigor apresentados por estes ao chegarem ao consumidor final. Durante os processos de despesca, depuração, transporte e comercialização entre os diferentes elos que interligam o complexo produtivo ou extrativista (aquicultores ou pescadores, atravessadores, atacadistas, distribuidores, lojistas e aquaristas), os peixes passam por período de intenso estresse. Os peixes são submetidos ao estresse, quer seja em manejo excessivo quer em restrição alimentar, até chegarem às lojas, o que os depaupera em intensidade de coloração e vigor.

O problema intensidade de cores e vigor, defrontado pelos produtores e comerciantes de peixes ornamentais representam uma demanda antiga, sendo extremamente desejável o desenvolvimento de técnicas de manejo e cultivo eficientes para redução do estresse, que aumentem a intensidade da coloração e o bem-estar dos peixes nas fases de terminação e comercialização. A utilização de rações eficientes na redução do estresse serve para melhorar a qualidade do peixe brasileiro frente aos mercados nacional e

internacional, representando consequente agregação de preço e melhoria na renda aos piscicultores.

As possibilidades de utilização de aditivos pigmentantes em rações animais vão além da simples intensificação da pigmentação, aos animais propensos a isto, o que agregaria maior valor na comercialização, especialmente, devido às vantagens adicionais que os carotenóides proporcionam, quanto à redução de estresse, combate aos radicais livres e aumento de resposta imunológica, favorecendo o crescimento, a reprodução e auxiliando no bem estar animal (SHINDO et al., 2007; WANG et al., 2006; HAMRE et al., 2004; LIMA et al., 2001; BARBOSA et al., 1999).

A utilização de ingredientes pigmentantes em dietas para peixes ornamentais é uma prática que vem ganhando espaço entre os piscicultores, os quais de forma empírica incorporam os pigmentos vermelhos na dieta para melhorar a qualidade dos peixes que produzem. Esta prática é bastante comum no cultivo de trutas e salmões para melhorar a cor róseo-avermelhada dos filés (CHOUBERT et al., 2006; TOLASA et al., 2005; NICKEL & BROMAGE, 1998; ELMADFA & MAJCHRZAK, 1998).

Os pigmentos mais utilizados em dietas de peixes salmonídeos são a astaxantina e a cantaxantina, aditivos que oneram em cerca de 10 a 15% os custos finais das rações (MORA et al., 2006a,b). Tal fato serviu como estímulo à busca por ingredientes fontes de pigmentos, mais baratos e de maior disponibilidade, com eficiência na pigmentação de peixes.

A piscicultura de peixes ornamentais é um setor em plena expansão, e já se faz necessário o desenvolvimento de rações comerciais que contenham pigmentos naturais que possam intensificar a coloração dos peixes, melhorando, assim, sua qualidade – fator que pesa na decisão de compra pelo consumidor.

Devido à incipiência dos conhecimentos sobre a utilização de ingredientes

contendo pigmentos naturais, amplamente produzidos no Brasil, como pigmentantes na nutrição de peixes ornamentais, seis trabalhos foram conduzidas a fim de avaliar o efeito de diferentes fontes de pigmentos e diferentes níveis adicionados à ração sobre a nutrição e a intensidade de coloração na pele de peixes ornamentais como a colisa-sangue (*Colisa lalia*) e o acará-disco (*Symphysodon aequifasciata*).

Esta Tese foi redigida seguindo-se as normas para redação de tese, dissertações e monografias (UFV, 2000) em forma de capítulos e estes elaborados com base nos critérios da Revista Brasileira de Zootecnia.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

2.1. Cores e padrões de coloração nos peixes: tipos de cromatóforos e mecanismos que influenciam a expressão de cores na pele

A coloração da pele de peixes depende, primeiramente, da presença de cromatóforos (melanóforos, xantóforos, eritróforos, iridióforos, leucóforos e cianóforos), contendo pigmentos como melanina, carotenóides (astaxantina, cantaxantina, luteína e zeaxantina), pteridinas e purinas (FUJII, 2000). Além disso, os peixes podem exibir diferentes padrões de coloração como resultados da dispersão ou agregação das cromatossomas e a distribuição dos cromatóforos na pele (FUJII, 1969, 2000). Uma combinação de fatores ambientais, neurais, endócrinos e relacionados ao comportamento reprodutivo influencia a mobilidade dos cromatossomas nos cromatóforos e a deposição de pigmentos nos peixes (FUJII, 2000; ASPENGREN *et al.*, 2003).

Nos peixes, semelhantemente ao que ocorre com aves, há seleção dos carotenóides, com retenção das xantofilas em detrimento aos carotenos. O β -caroteno é raro em peixes e pode ser encontrado em pequenas concentrações no fígado, ovários, músculos e ovos, sendo observado em músculos de salmão, pele de *Lota lota*, *Perca fluviatilis* e *Carassius auratus*. A zeaxantina, apesar de ser escassa, é encontrada em ovos de truta (*Salmo iridens*), também foram encontrados, taraxantina e astaxantina em olhos, fígado e, principalmente, pele de algumas espécies de peixes (VILLELA, 1976).

Os peixes apresentam ampla variedade e intensidade nas cores dos tegumentos, sendo estas ocasionadas por biocromos pertencentes às classes carotenóides, melaninas,

pterinas, purinas, flavinas e tetrapirróis (VILLELA, 1976). A fonte primária de cores na pele de peixes são os carotenóides, um grupo de mais de 600 pigmentos naturais lipossolúveis, os quais são produzidos por algas fitoplanctônicas e vegetais superiores, que proporcionam as colorações amarelas e vermelhas (SINHA & ASIMI, 2007).

As melaninas são muito comuns e muito difundidas, e conferem as cores amarelas, castanhas, cinzentas e negras. As cores azuis e verdes são produzidas por iridescências de estruturas ou combinações destas com biocromos, as pterinas são muito comuns e conferem iridescências prateadas e tonalidades azuladas às escamas, o mesmo acontece com as flavinas que proporcionam cores levemente amarelas e fluorescentes. As purinas são bastante abundantes nas escamas e fazem parte dos iridióforos, sendo a guanina a principal delas. Há ainda a ocorrência de pigmentos verdes e verde-azulados de origem tetrapirrólica, tanto na pele quanto em músculos de peixes (VILLELA, 1976).

Os peixes ornamentais são caracterizados por ampla diversidade de cores e padrões de coloração (FUJII, 1969). O sucesso na comercialização destes é muito dependente de cores vibrantes. O valor comercial dos peixes ornamentais reflete esta exigência do mercado, conseqüentemente, os piscicultores de peixes ornamentais constantemente buscam por métodos para intensificar a coloração da pele dos peixes (SINHA & ASIMI, 2007). No passado, a maioria das pesquisas focalizava o aspecto genético e a seleção de características ornamentais, recentemente, a melhoria das cores pelo uso de carotenóides em rações chama a atenção de pesquisadores (AKO *et al.*, 2000).

Entre todas as numerosas classes de cores naturais, os carotenóides são os agentes de pigmentação mais amplos e estruturalmente diversos, são responsáveis pela ampla diversidade de cores na natureza, a maioria é de cor amarelo intenso, laranja e vermelho, encontrados em frutas, folhas e animais aquáticos (VILLELA, 1976).

Diversas cores são produzidas pela presença de carotenóides específicos e

complexos de carotenoproteínas. Pelo fato dos carotenóides serem sintetizados apenas por vegetais e modificados em tecidos animais, os peixes têm que obtê-los da dieta. O padrão de pigmentação dos carotenóides, em peixes, é o resultado da absorção e do metabolismo dos pigmentos presentes na dieta. Diferentes fontes de pigmentos carotenóides, animais e vegetais, são utilizadas puras ou em misturas nas dietas para peixe. O uso de fontes vegetais apresenta vantagens, uma vez que estas também são fontes diretas de nutrientes como proteína, lipídios e vitaminas (SINHA & ASIMI, 2007).

A correlação de pigmentação e avanço no desenvolvimento de testes comprovou o impacto de observações feitas por MOYLE & CECH (1996), os quais enfatizaram que a coloração é controlada pelo sistema endócrino e nervoso, mas fontes dietéticas de pigmento também apresentam papel determinante na cor dos peixes. Ambos os sistemas endócrino e nervoso influenciam a coloração nestes animais.

A glândula pituitária segrega hormônios que controlam o metabolismo e o armazenamento de pigmentos ao longo da vida de um peixe, o que é evidentemente aumentado no início da maturidade. Esta pode ser a razão por que muitas espécies usam as cores para prover camuflagem e atrair um companheiro (FOX, 1957; ODIORNE, 1957; MOYLE & CECH, 1996). A intensificação da cor da pele de kingio pode servir como um marcador para o desenvolvimento das gônadas, conforme sugerem SINHA & ASIMI (2007). As interações entre os fatores supracitados são complexas e apenas parcialmente pesquisadas pelos fisiologistas e criadores de peixes (CHATZIFOTIS et al., 2005).

2.2. Influência da composição da dieta na deposição de pigmentos: ingredientes fontes, níveis e fontes de lipídeos, proteínas, vitaminas e minerais

Os carotenóides, em sua rota biossintética, são sintetizados do geranylgeranyl difosfato por todos os organismos fotossintetizantes. Os vegetais podem sintetizar licopeno

e convertê-lo a β -caroteno, enquanto que a astaxantina é um carotenóide não encontrado em plantas. Os peixes utilizam os carotenóides como um dos principais grupos de pigmento natural para pigmentação da pele e carne, assim como outros animais, não possuem a habilidade de biossintetizar estes pigmentos, mas podem modificar sua estrutura necessitando obtê-los da dieta e armazená-los em sua epiderme e/ou outros tecidos para pigmentação da pele (CHATZIFOTIS *et al.*, 2005).

Os peixes cultivados não têm acesso a alimentos ricos em carotenóides e, portanto, há a necessidade que estes sejam adicionados às rações (CHATZIFOTIS *et al.*, 2005). O que pode ser facilmente alcançado pela suplementação equilibrada da dieta com ingredientes naturais ricos em pigmentos (SINHA & ASIMI, 2007). Haja vista, a intensidade de pigmentação ser um dos principais critérios de qualidade no valor de mercado de espécies ornamentais de alto-valor (GOUVEIA *et al.*, 2003).

Para alcançar a pigmentação naturalmente observada em ambientes silvestres, os peixes sob cultivo intensivo devem ser alimentados exclusivamente com combinação de alimentos que forneçam carotenóides como suplementos. Vários carotenóides sintéticos (β -caroteno, cantaxantina, zeaxantina, e astaxantina) e fontes naturais (fermentos, bactérias, algas, vegetais superiores e farinhas de crustáceos) são usados como suplemento dietético para intensificar a pigmentação de peixes e crustáceos (KALINOWSKI *et al.*, 2005). As fontes naturais de carotenóides, geralmente, compreendem vários compostos e variam em função da digestibilidade, o que torna complexa a interpretação da eficiência de pigmentação. Ao contrário, as fontes sintéticas, geralmente compostas por um carotenóide puro, permitem identificar claramente a eficiência de pigmentação deste. Porém, SINHA & ASIMI (2007) reportam que poucos estudos comparativos foram realizados na pigmentação de peixe ornamental por carotenóides sintéticos puros ou misturas de complexos de carotenóides.

Conforme reportado por SINHA & ASIMI (2007), o uso de carotenóide como pigmento na aquicultura apresenta amplas funções, incluindo papel como anti-oxidante e também aumentando a resposta imune, reprodução, crescimento, maturação e como fotoproteção. Os carotenóides têm importância vital na fisiologia e saúde global, podendo-se afirmar que os carotenóides são nutrientes essenciais que deveriam ser incluídos em todas as dietas de organismos aquáticos, inclusive para aqueles destinados ao consumo humano (BAKER, 2002).

As fontes puras de carotenóides são relativamente caras quando comparadas aos demais ingredientes normalmente utilizados na alimentação de peixes como farinha de peixe, farinha de subprodutos de carne, soja e cereais (SINHA & ASIMI, 2007). A eficiência do ingrediente fonte em termos de pigmentação é espécie-específica. Nem todas as espécies de peixes possuem a mesma rota metabólica para os carotenóides e, conseqüentemente, não possuem uma transformação universal nos tecidos (CHATZIFOTIS *et al.*, 2005), o que também pode ser observado nos trabalhos de OHKUBO *et al.* (1999), BJERKENG *et al.* (2000) e TSUSHIMA *et al.* (2002, 2003).

Os carotenóides são os principais responsáveis pelas cores amarelo-avermelhadas intensas na pele de peixes ornamentais. SINHA & ASIMI (2007) compararam o efeito de quatro fontes de carotenóides para intensificação da cor na pele de kinguios após período de alimentação de oito semanas. As fontes de pigmentos adicionadas às rações foram spirulina (5 mg/kg), pétalas de rosa-chinesa (*Hibiscus rosasinensis*) (5 mg/kg), pétalas de “marigold” (5 mg/kg) e lactobacilos (5.000.000/kg) (Tabela 1). Os autores supracitados sugerem que a pétala de rosa-chinesa é o ingrediente mais eficiente para pigmentação da pele de kingiuo e pode ser utilizado para realçar a cor natural no cultivo comercial.

Tabela 1 - Influência de fontes de carotenóides no desenvolvimento e no padrão de coloração de carotenóides na pele de kinguios após oito semanas de alimentação. ¹ Comprimento de onda de 450 nm, teor inicial 1,92 mg/kg. * significativo ao nível de 1% (adaptado de SINHA & ASIMI, 2007)

Tratamento ¹ (n = 10)	Fonte de pigmento na dieta				
	Ausência de carotenóides	Spirulina (5 mg/kg)	Pétalas de rosa-chinesa (5 mg/kg)	Pétalas de “marigold” (5 mg/kg)	<i>Lactobacillus</i> (5.000.000/kg)
Peso inicial (g)	1,55	1,57	1,82	1,56	2,2
Peso final (g)	2,13	2,73	3,49	2,37	3,4
Ganho de peso (%)	37,1	73,7	91,8*	52,2	54,5
Carotenóides (mg/kg) ¹	0,24	2,92	4,01	3,16	2,84

A utilização de carotenóide natural em rações de peixes é eficiente para intensificação da coloração na pele sem comprometer a taxa de crescimento e sobrevivência. O impacto destes alimentos também não mostrou efeito adverso na qualidade de água. O crescimento no grupo alimentado com ração enriquecida com pétalas de rosa-chinesa foi o melhor em peso, com alto valor de carotenóide na pele, 4,01 g/kg (SINHA & ASIMI, 2007).

O nível de astaxantina dietético mínimo necessário para crescimento satisfatório e sobrevivência dos peixes foi determinado em 5 mg/kg. SINHA & ASIMI (2007) indicam ainda que há a indicação que ingredientes não-convencionais possibilitariam a formulação de uma ração economicamente viável como alternativa ao ingrediente importado, comercialmente disponível.

Muita atenção tem sido dada para indução da coloração rosa e vermelha da pele de Sparídeos vermelhos cultivados. Como é conhecida, a cor vermelha nos peixes selvagens é devida, principalmente, a astaxantina. Os peixes cultivados são alimentados com dietas suplementadas com astaxantina pura ou fontes de astaxantina ou com precursores da astaxantina. Em *australian-snapper* (*Pagrus auratus*) ambos, astaxantina esterificada (NatuRose[®]) e não-esterificada (Carophyll Pink[®]) melhoram a cor vermelha da pele (BOOTH *et al.*, 2004). Em *red-porgy* (*Pagrus pagrus*) um suplemento de farinha de

Pleisonika sp. contendo uma mistura de carotenóides naturais com predominância aparente de astaxantina (CEJAS *et al.*, 2003), uma farinha de krill contendo astaxantina a 20 mg/kg (CHEBLAKI *et al.*, 2002 citado por CHATZIFOTIS *et al.*, 2005) ou uma farinha de casca de camarão contendo astaxantina a 40 mg/kg (KALINOWSKI *et al.*, 2005) também melhoram a coloração vermelha do corpo. CHATZIFOTIS *et al.* (2005) reporta que, semelhantemente, em red-sea-bream, ésteres de astaxantina foram eficientes na melhoria da coloração, enquanto que outros carotenóides β -caroteno, zeaxantina, luteína e cantaxantina não apresentaram efeitos positivos.

Ao comparar o efeito da oxidação dos pigmentos: β -caroteno, licopeno e astaxantina em dietas a 100 mg/kg, com uma dieta controle sem pigmento, fornecidas a red-porgy, CHATZIFOTIS *et al.* (2005), observaram que apenas astaxantina proporcionou efeito significativo na intensificação da coloração vermelha, ao passo que o licopeno e o β -caroteno puros como fontes de carotenóide não mostraram ter efeitos no aumento do conteúdo total de carotenóides na pele da região dorsal.

WANG *et al.* (2006) avaliaram se a suplementação, na dieta, com carotenóide influenciaria a sobrevivência, crescimento, pigmentação e capacidade anti-oxidante ao peixe ornamental *Hyphessobrycon callistus*. Estes autores utilizaram dois tipos de carotenóides puros (astaxantina e β -caroteno) e sua combinação (mistura na proporção, 1:1) a três concentrações (10, 20 e 40 mg/kg), num total de nove rações pigmentadas e uma ração controle sem suplemento de carotenóides. Nenhuma diferença foi observada, entre os tratamentos, para crescimento e sobrevivência dos peixes após oito semanas de cultivo. Independente do tipo de carotenóide adicionado à ração, a astaxantina predominou 98% do total de carotenóides corporais, indicando que estes peixes converteram β -caroteno em astaxantina para armazenamento. A deposição de astaxantina e β -caroteno aumentou com o aumento na concentração de carotenóides na ração. A astaxantina no corpo de peixes

alimentados com rações enriquecidas com β -caroteno puro foi menor que em peixes alimentados com rações enriquecidas pela mistura. Não houve nenhuma diferença na astaxantina encontrada em peixes alimentados por rações enriquecidas com astaxantina em relação àqueles alimentados com rações enriquecidas pela mistura.

Alguns estudos de suplementação com biomassa de micro-algas mostraram que *Chlorella vulgaris* é tão eficiente quanto pigmentos sintéticos na pigmentação de truta de arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (GOUVEIA *et al.*, 1998), gilthead-sea-bream (*Sparus aurata*) (GOUVEIA *et al.*, 2002), carpa-koi (*Cyprinus carpio*) e kinguio (*Carassius auratus*) (GOUVEIA *et al.*, 2003; GOUVEIA & REMA, 2005).

WANG *et al.* (2006) também reportam que além da função de melhorar a pigmentação, os carotenóides da dieta têm múltiplas funções anti-oxidantes. Uma relação entre concentração de astaxantina da dieta e estado anti-oxidante no fígado e músculo foi observada em salmão-do-atlântico (*Salmo salar*), indicando possível melhoria de saúde em peixe pela inclusão deste carotenóide na dieta.

A predominância de astaxantina no corpo de peixes que receberam dietas enriquecidas por carotenóides, possibilitou inferir que os melhores níveis de astaxantina no corpo dos peixes foram obtidos com 40 mg/kg, sendo que a dieta que contem a mistura de astaxantina (20 mg/kg) e β -caroteno (20 mg/kg) é a formulação mais eficiente e com melhor custo-benefício (WANG *et al.*, 2006). A inclusão de carotenóides em dietas proporcionou a redução de parâmetros anti-oxidantes (Tabela 2).

Tabela 2 - Matriz de correlações dos coeficientes de correlação e dos níveis de significância entre carotenóides corporais (astaxantina e β -caroteno) e parâmetros antioxidantes em peixes (*Hyphessobrycon callistus*) alimentados com dietas suplementadas com combinações de diferentes tipos e concentrações de carotenóides (adaptado de WANG *et al.*, 2006)

Parâmetros antioxidantes	Carotenóides corporais	
	Astaxantina	β -caroteno
Condição antioxidante total	0,48	0,25
Superóxido dismutase	-0,78**	-0,76**
Glutathione peroxidase	-0,87**	-0,61*
Alanina transaminase	-0,69*	-0,54
Aspartato transaminase	-0,66*	-0,48

Em trabalhos citados por SINHA & ASIMI (2007) fica enfatizado o interesse na utilização de fontes vegetais de pigmentos carotenóides como páprica de *Capsicum annum* (INGLE DA LA MORA *et al.*, 2006a), fermentos de *Rhodotorula sanneii*, fermentos de *Phalla rhodozyma* e *Hippophae rhamnoides* Linne. CHAPMAN, 2000, citado por SINHA & ASIMI (2007), menciona que deveria ser utilizada uma combinação de pigmentos carotenóides sintéticos e naturais a um nível de 0,04% a 2,00% da dieta para aumentar a coloração em peixe ornamental.

Ao avaliarem os efeitos de suplementação de rações com extrato de pimentão vermelho e astaxantina sintética na pigmentação de filé de truta-arco-íris, INGLE DA LA MORA *et al.* (2006a,b) utilizaram dietas enriquecidas por astaxantina sintética (Carophyll Pink, 8%) a 80 mg/kg, extrato de pimentão vermelho a 80 mg/kg (HRL1, HRL2) e a 120 mg/kg (HRH1, HRH2) durante seis semanas. Embora todas as dietas tenham proporcionado concentrações de carotenóides totais nos filés superiores a 5 mg/kg, a dieta HRH2 proporcionou os melhores índices de coloração vermelha em filés frescos e processados.

Os extratos de pimentão vermelho eram constituídos por: **HR1**, concentração de carotenóides totais 64,12 g/kg; composição (%): β -caroteno 7,47, cryptoxantina 8,17, luteína 9,34, *trans*-luteína 3,03, *trans*-zeaxantina 4,23, *trans*-capsantina 42,41, violaxantina

1,23, *cis*-capsantina 17,66, *cis,trans*-capsorrubina 2,87 e outros amarelos 3,59) e; **HR2**, concentração de carotenóides totais 68,23 g/kg; composição (%): β -caroteno 7,17, cryptoxantina 7,02, luteína 8,23, *trans*-luteína 3,48, *trans*-zeaxantina 3,55, *trans*-capsantina 46,31, violaxantina 1,09, *cis*-capsantina 16,36, *cis,trans*-capsorrubina 2,92 e outros amarelos 3,87).

Conforme reportado por SINHA & ASIMI, (2007), a partir de flores de *Hibisco rosasinensis* (rosa-chinesa) produz-se um extrato de cor púrpura escura que é utilizado para engraxar sapatos. As folhas são usadas na medicina alternativa como um emoliente anódino, amenizando a dor, e como laxante. Reportam ainda que, a astaxantina promove não apenas a pigmentação em peixes cultivados e crustáceos, mas que é essencial para o seu crescimento e sobrevivência.

MATSUNO *et al.* (1999), previamente, isolaram β - β -carotenodiol de alguns peixes de água doce, japonês-*char* (*Salvelinus leucomaenis* f. *pluvius*), dolly-varden (*Salvelinus malma malma*), masu-trout (*Salmo masou masou*), common-freshwater-goby (*Rhinogobius brunneus*) e chinês-minnow (*Phoxinus lagowski* f. *oxycephalus*) os quais foram capturados em regiões de cabeceira de rios com águas correntes, frias e limpas com fundo arenoso ou rochoso. Estes peixes de água doce se alimentam principalmente de insetos aquáticos dos quais se presumiu ser a fonte alimentar de β - β -carotenodiol.

Os autores supracitados investigaram a relação entre os carotenóides existentes nos insetos aquáticos e nos peixes de água doce que utilizam estes insetos como base da alimentação. Haja vista, as escassas informações sobre carotenóides em insetos aquáticos, foram extraídos de insetos aquáticos 20 carotenóides conhecidos, dos quais os principais foram β - β -caroteno, luteína A, (3R,3'R)-zeaxantina, fucoxantina e fucoxantanol (Tabela 3).

Tabela 3 - Composição de carotenóides encontrados em insetos aquáticos e alga, adaptado de MATSUNO *et al.* (1999)

Organismo	Pigmentos totais (mg/kg)	Principais pigmentos encontrados (%)
Alga	–	Fucoxantina (36,2), zeaxantina (20,5), β -caroteno (17,7), luteína A (15,5), β -equinenona (3,4)
<i>Uenoa tokunagai</i> (larva)	5,0	β -equinenona (42,0), β -caroteno (17,3), isocriptoxantina (14,0), fucoxantina (12,0), zeaxantina (5,7), cantaxantina (4,6)
<i>Hydropsyche ulmeri</i> (larva)	33,0	Fucoxantina (30,0), luteína A (30,0), zeaxantina (10,0), fucoxantanol (10,0), β -caroteno (8,4), violaxantina (5,0), anteraxantina (3,0)
<i>Macronema radiatum</i> (larva)	60,0	Luteína A (28,5), alloxantina (25,6), fucoxantina (12,2), zeaxantina (11,1), β -caroteno (10,0), diatoxantina (3,5)
<i>Stenopsyche griseipennis</i> (larva)	14,0	Fucoxantina (43,1), luteína A (16,0), zeaxantina (10,2), anteraxantina (10,0), β -caroteno (8,3), fucoxantanol (8,1)
<i>Ephemera strigara</i> (ninfia)	3,0	Fucoxantanol (38,6), β -caroteno (35,0), fucoxantina (9,3), luteína A (7,0)
<i>Epheprus curvatulus</i> (ninfia)	24,0	Fucoxantanol (45,0), β -caroteno (13,1), zeaxantina (11,7), anteraxantina (9,4), fucoxantina (9,0), luteína A (3,3)
<i>Protohermes grandis</i> (larva)	38,0	Fucoxantanol (23,1), β -caroteno (17,3), fucoxantina (15,5), anteraxantina (8,0), zeaxantina (8,0), luteína A (6,6), isocriptoxantina (3,9)

Em cinco das sete espécies de insetos aquáticos examinados por MATSUNO *et al.* (1999), uma pequena quantia de β - β -carotenodiol foi isolada, e foi considerada como produto metabólico oxidativo do β - β -caroteno que é ingerido das algas utilizadas por estes insetos na alimentação.

Além disso, alimentou-se com fucoxantina, um importante carotenóide de insetos aquáticos, peixes chinês-minnow como um grupo controle, para os quais não foi observada bioacumulação da fucoxantina. Este fato pode ser aplicável também a todas as demais espécies de peixe de água doce, segundo MATSUNO *et al.* (1999).

HARDY *et al.*, 1990, citado por HAMRE *et al.* (2004), mostrou que quantidade apreciável de cantaxantina absorvida é excretada na bile de truta-arco-íris. O processo de degradação da astaxantina no fígado e/ou a forma de excreção do fígado para o sangue pode ser deste modo discutida pelas interações na dieta. Neste contexto, pode se mencionar que o efeito da vitamina E nos lipídeos do fígado e do plasma, talvez sejam um indicativo de que a excreção de gordura pelo fígado para o sangue (ex. síntese e excreção de

lipoproteínas), seja o processo sob influência. Embora o metabolismo de astaxantina pareça ser afetado principalmente por fatores nutricionais, a pigmentação dos filés de salmão-do-atlântico, parece ser substancialmente, influenciada pela suplementação de astaxantina e lipídeos na dieta.

CHOUBERT *et al.* (2006) avaliaram o efeito de fontes de lipídeos e astaxantina sobre a eficiência de pigmentação de filés de truta-arco-íris (*Onchorynchus mykiss*). As fontes de lipídeos avaliadas foram o óleo de peixe e o óleo de oliva, sobre a eficiência pigmentante de astaxantina da micro-alga-verde (*Haematococcus pluvialis*), a qual possui 32 mg de carotenóides totais por kg de MS, sendo a astaxantina 98,6% destes, e astaxantina sintética sobre a concentração de astaxantina plasmática, a coloração da musculatura e a retenção de astaxantina no músculo de trutas, após seis semanas. As dietas com diferentes fontes de lipídios foram igualmente aceitas pelos peixes. Ao final do experimento não houve diferenças significativas entre peso médio final, taxa de crescimento específico ou conversão alimentar entre os tratamentos. Peixes alimentados com astaxantina sintética apresentaram maior concentração desta no plasma que os peixes alimentados com extrato de algas. Além disso, peixes alimentados com óleo de oliva apresentaram maiores níveis de astaxantina no plasma sanguíneo que aqueles alimentados com óleo de peixes.

Embora a adição de carotenóides na dieta melhore a coloração vermelha, ainda assim o red-porgy cultivado apresenta uma coloração escura variada nos espécimes selvagens, os quais têm uma coloração rosa e prateada na pele da superfície dorsolateral. Esta intensidade é devida à alta concentração de melanina e/ou à baixa concentração ou ausência de carotenóides na pele. A melanina é sintetizada a partir da tirosina, e cuja principal função é fotoproteção, podendo ser produzida como uma resposta fisiológica de peixes mantidos em condições de cultivo sob exposição à alta intensidade de luz solar ou

estresse provocados pelo manejo. Red-porgy cultivados sem exposição à luz ultravioleta receberam dietas ricas em proteína, a qual possibilitou a melanogênese devido ao alto conteúdo de tirosina. A ausência de carotenóides na dieta possibilitou realçar a melanogênese, uma vez que os carotenóides conhecidamente previnem o estresse oxidativo (CHATZIFOTIS *et al.*, 2005).

Ao comparar o efeito das quatro dietas experimentais com diferentes relações entre taxa de proteína bruta e teor de carboidrato (50/23, 40/32, 30/48 e 20/59) observou-se que a taxa efetiva de melanina foi, significativamente, maior para a ração com relação 50/23. Os peixes cultivados apresentam conteúdo de melanina na pele da região dorsal cerca de oito vezes maior que os peixes selvagens. Observou-se ainda que as fontes de carotenóides aparentemente não afetam o conteúdo de melanina na pele (CHATZIFOTIS *et al.*, 2005).

HAMRE *et al.* (2004) avaliaram o efeito de níveis de sete componentes da ração: ferro (70 e 1.200 mg/kg), cobre (7 e 100 mg/kg), manganês (10 e 200 mg/kg), vitamina C (30 e 2.000 mg/kg), vitamina E (60 e 410 mg/kg), astaxantina (10 e 50 mg/kg) e lipídeos (150 e 330 g/kg), sob delineamento fatorial com total de 16 dietas, sobre a eficiência de deposição da astaxantina na musculatura de salmão-do-atlântico (*Salmo salar*).

HAMRE *et al.* (2004) citam que em salmão-do-atlântico as concentrações de astaxantina no filé e no plasma são, significativamente, aumentados pela suplementação na dieta a níveis de 60 mg/kg ou superiores. Conforme esperado, a astaxantina encontrada nos músculos, fígado e plasma aumentam com o fornecimento de dieta contendo maior nível de astaxantina (50 mg/kg), uma vez que, a pigmentação de músculo em salmonídeos é, evidentemente, dependente da concentração de carotenóides na dieta.

O maior teor de lipídeos na dieta é também responsável por melhorar a pigmentação em salmonídeos (NICKEL & BROMAGE, 1998; BARBOSA *et al.*, 1999). O alto teor de lipídeos na dieta aumentou a deposição de astaxantina no fígado e plasma, e na

musculatura após 14 semanas, porém, após 33 semanas, não houve diferença na deposição observada nos músculos (HAMRE *et al.*, 2004).

A deposição de astaxantina aumentou com o fornecimento de dieta contendo maior teor de lipídeos, o que está de acordo com estudo feito com truta-arco-íris por TORRISSEN *et al.*, 1990, citado por HAMRE *et al.* (2004), quando a digestibilidade da cantaxantina adicionada à ração aumentou de 2% para cerca de 15% devido ao aumento do teor de lipídeos de 4% para 23%.

A vitamina E (60 e 410 mg/kg) não apresentou efeito na deposição de astaxantina nos músculos (HAMRE *et al.*, 2004), ao contrário do efeito positivo dos maiores níveis de vitamina E (200 a 800 mg/kg) encontrados por BJERKENG *et al.* (1999) para a mesma espécie.

A vitamina E afeta os níveis de astaxantina no plasma e no fígado. Altos teores de vitamina E na dieta aumentam a astaxantina no fígado e reduzem a astaxantina plasmática. O mecanismo responsável por este efeito na vitamina E e na astaxantina, hepática e plasmática, pelo ferro, cobre e manganês, ainda são desconhecidos (HAMRE *et al.*, 2004).

2.3. Diversidade no metabolismo e deposição de pigmentos na pele e músculos por diferentes grupos de peixes

Kinguios (*Carassius auratus*) convertem zeaxantinas para astaxantinas via 4-ketozeaxantina (CHATZIFOTIS *et al.*, 2005, citando HATA & HATA, 1972). Truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) realiza a transformação oposta que é a conversão da astaxantina para zeaxantina (CHATZIFOTIS *et al.*, 2005 citando KATSUYAMA *et al.*, 1987). Salmão e red-sea-bream (*Pagrus major*) não convertem xantofilas em cantaxantina ou astaxantina (CHATZIFOTIS *et al.*, 2005 citando STOREBAKKEN & NO, 1992 e TORRISSEN, 2000). Em salmonídeos, astaxantina não-esterificada é a forma encontrada

em músculos brancos enquanto que a astaxantina esterificada é a forma predominante na pele (BOWEN *et al.*, 2002; WHITE *et al.*, 2003). Semelhantemente aos salmonídeos, red-sea-bream armazena astaxantina esterificada na pele (CHATZIFOTIS *et al.*, 2005 citando HA *et al.*, 1993 e LOREZ, 1998).

Os carotenóides de 12 espécies de peixes Siluriformes de oito famílias foram investigados e comparados, do ponto de vista bioquímico, por TSUSHIMA *et al.* (2002, 2003). Os padrões de carotenóides encontrados nos bagres da família Siluridae foram completamente diferentes daqueles das outras sete famílias de bagres estudadas (Bagridae, Amphycipitidae, Clariidae, Plotosidae, Ictaluridae, Callichthyidae e Malapteruridae).

Ao todo foram identificados 23 carotenóides nas 12 espécies de bagre (Tabela 4). Na família Siluridae, os carotenóides mais abundantes foram parasiloxantina em *S. asotos* (30% do total de carotenóides), luteína A em *S. microdorsalis* (34%), zeaxantina em *S. lithophilus* (24%) e alloxantinas em *S. biwaensis* (47%) (Figura 1). Nas outras oito espécies de bagre (sete famílias), os padrões de carotenóides encontrados foram muito semelhantes entre si, com predominância de zeaxantina e luteína A em cinco espécies (*I. punctatus*, *Cl. fuscus*, *Co. melanistius*, *Pe. nudiceps* e *Ps. aurantiacus*) (cerca de 23 a 56% do total de carotenóides). A (3R)- β -cryptoxantina foi também evidente em quatro espécies (*L. reini*, *Pl. lineatus*, *Co. melanistius* e *M. electricus*). As alloxantina, diatoxantina e α -cryptoxantina também foram evidentes em *Co. melanistius*, *I. punctatus* e *Cl. fuscus*, respectivamente (TSUSHIMA *et al.*, 2002).

Tabela 4 - Conteúdo e composição percentual de carotenóides, em relação ao total, em 12 espécies de bagres (ordem dos Siluriformes), adaptado de TSUSHIMA *et al.* (2003)

Organismo	Pigmentos totais (mg/kg)	Principais pigmentos encontrados (%)
<i>Silurus asotus</i> (Siluridae)	5,0	Zeaxantina (12,1), luteínas A+B (11,1), parasiloxantina (30,4), alloxantina (7,8), dihidroparasiloxantina (14,2), tetrahidro- β -caroteno (6,9)
<i>Silurus biwaensis</i> (Siluridae)	3,0	Aloxantina (46,7), parasiloxantina (18,4), zeaxantina (14,5), luteínas A+B (12,0), diatoxantina (2,0)
<i>Silurus lithophilus</i> (Siluridae)	5,0	Parasiloxantina (23,1), alloxantina (7,6), luteínas A+B (21,5), zeaxantina (24,4), β -criptoxantina (4,6)
<i>Silurus microdorsalis</i> (Siluridae)	23,0	Luteínas A+B (37,8), parasiloxantina (17,8), zeaxantina (11,7), diatoxantina (8,2), alloxantina (3,1), dihidroluteína A (3,1)
<i>Pelteobagrus nudiceps</i> (Bagridae)	6,0	Zeaxantina (55,6), luteínas A+B (19,8), alloxantina (14,1), diatoxantina (3,7), β -criptoxantina (1,4)
<i>Pseudobagrus aurantiacus</i> (Bagridae)	4,0	Zeaxantina (52,6), luteínas A+B (22,6), β -criptoxantina (11,4), β -caroteno (6,0), diatoxantina (5,5), hidrozeaxantina (1,9)
<i>Liobagrus reini</i> (Amblycipitidae)	–	Zeaxantina (41,3), β -criptoxantina (20,0), alloxantina (7,5), luteínas A+B (6,6), diatoxantina (6,3), β -caroteno (5,7), astaxantina (1,9)
<i>Clarias fuscus</i> (Clariidae)	–	Zeaxantina (31,7), α -criptoxantina (27,1), luteínas A+B (19,8), diatoxantina (17,4), β -caroteno (3,7)
<i>Plotosus lineatus</i> (Plotosidae)	1,0	Zeaxantina (46,7), β -criptoxantina (19,0), alloxantina (14,2), diatoxantina (10,4), luteínas A+B (4,8), β -caroteno (2,5), hidrozeaxantina (2,4)
<i>Ictalurus punctatus</i> (Ictaluridae)	1,0	Zeaxantina (34,4), luteínas A+B (33,4), diatoxantina (23,0), alloxantina (4,8), β -criptoxantina (4,4)
<i>Corydoras melanistius</i> (Callichthyidae)	1,0	Alloxantina (27,2), zeaxantina (23,2), luteínas A+B (22,6), β -criptoxantina (18,3), β -caroteno (8,1)
<i>Malapterurus electricus</i> (Malapteruridae)	2,0	Zeaxantina (37,6), β -criptoxantina (30,6), luteínas A+B (8,3), β -caroteno (6,5), diatoxantina (5,9), hidrozeaxantina (4,7), alloxantina (4,2), ioxantina (2,2)

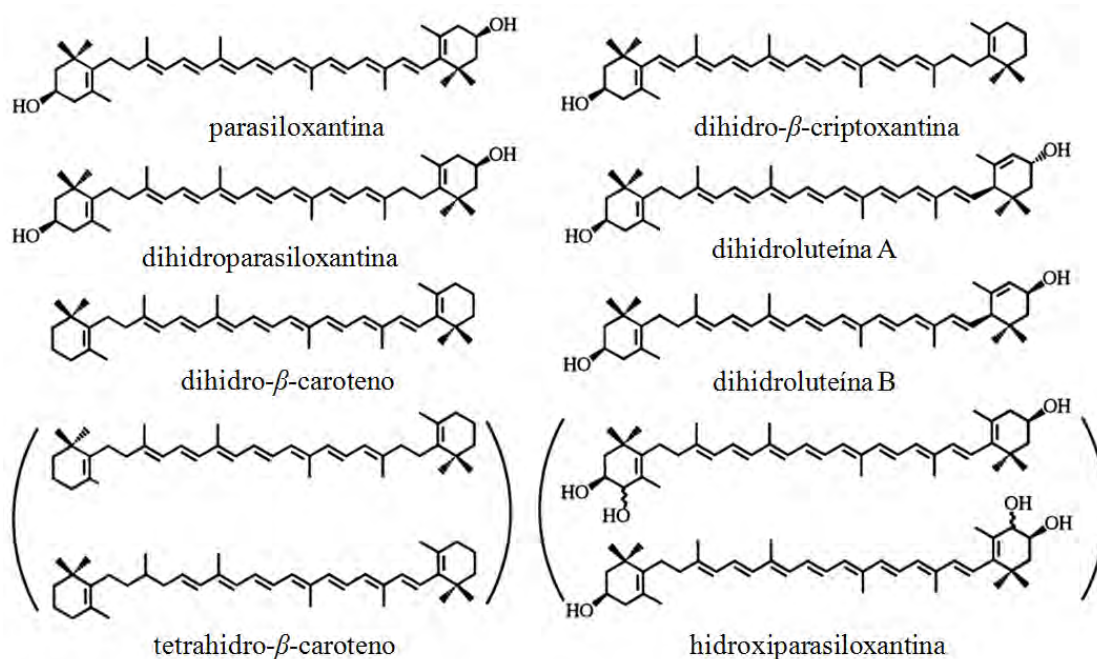


Figura 1 - Carotenóides característicos de bagres Siluridae, adaptado de TSUSHIMA *et al.* (2002).

OHKUBO *et al.* (1999) isolaram de kinguio um total de 18 carotenóides conhecidos e três novos, os quais são (3*S*,4*R*,3'*S*,6'*R*)-4-hidroxiluteína, (3*S*,3'*S*,4'*R*)-4-keto-4'-hidroxidiatoxina e (3*S*,3'*S*,4'*R*)-4-keto-4'-hidroxialloxantina. Ao considerar a base estrutural dos carotenóides isolados e os resultados previamente mencionados em experimento de alimentação de kinguio com luteína A e (3*R*,3'*R*)-zeaxantina, os autores propuseram as possíveis rotas metabólicas da luteína A, luteína B, (3*R*,3'*R*)-zeaxantina, diatoxantina e alloxantina para fritschiellaxantina, α -doradexantina, (3*S*,3'*S*)-astaxantina, (3*S*,3'*S*)-7,8-dihidroastaxantina e (3*S*,3'*S*)-7,8,7',8'-tetradihidroastaxantina, respectivamente. A seguir são apresentadas as rotas metabólicas de pigmentos carotenóides (Figuras 2 e 3).

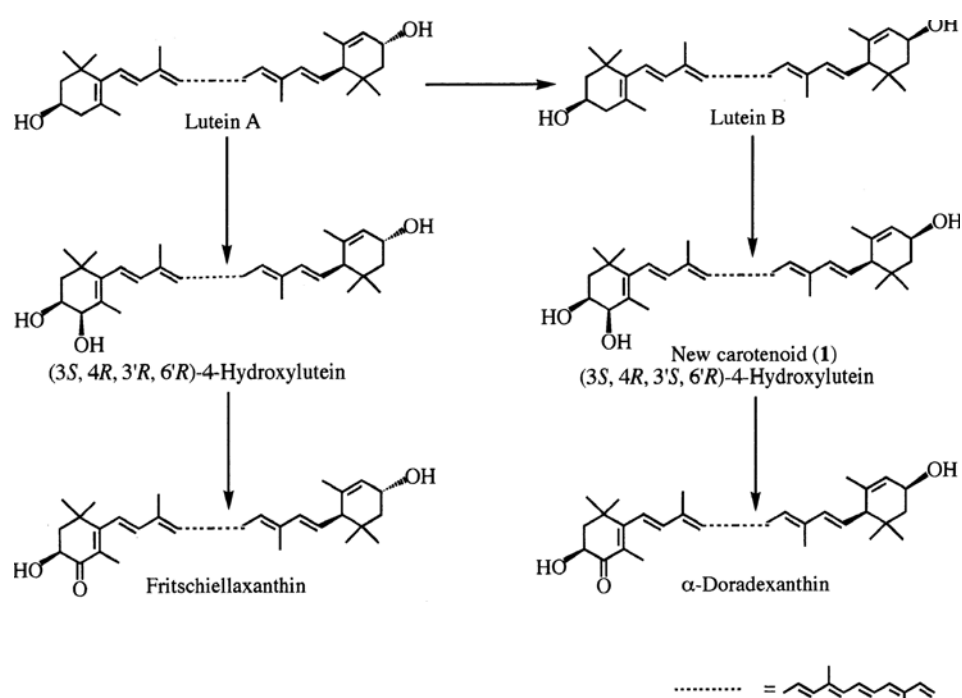


Figura 2 - Rota metabólica oxidativa da luteína A em kinguio, proposta por OHKUBO *et al.* (1999).

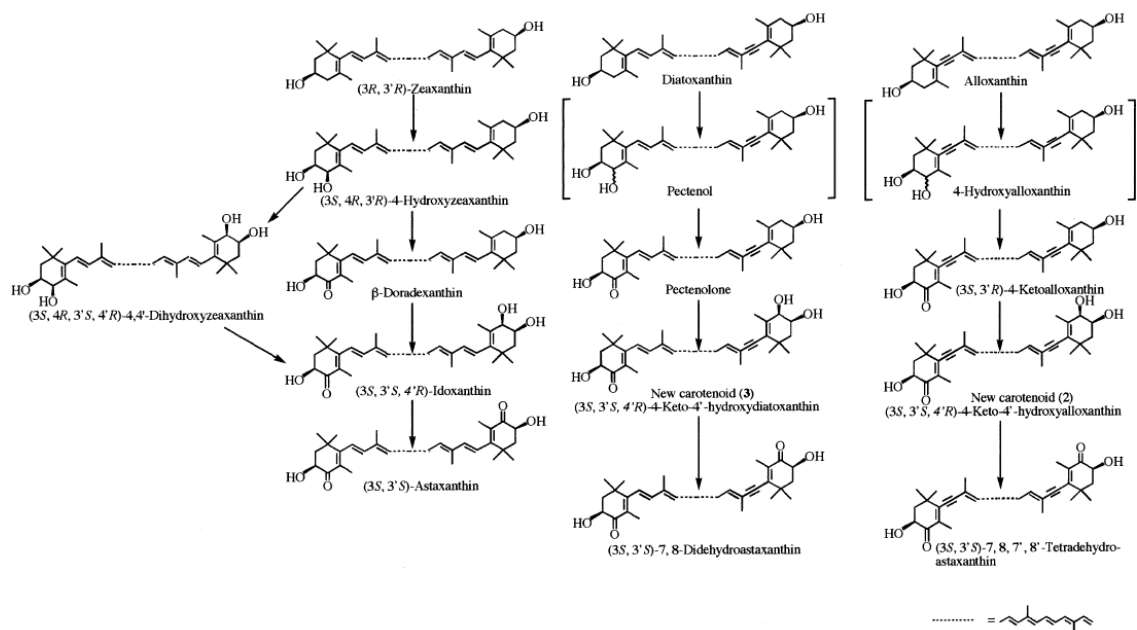


Figura 3 - Rota metabólica oxidativa para (3R,3'R)-zeaxantina, diatoxantina, alloxantina em kinguio, proposta por OHKUBO *et al.* (1999).

MATSUNO (2001) reporta a rota metabólica redutiva do (3S,3'S)-astaxantina para tunaxantina em yellowtail (*Seriola quinqueradiata*, ordem Perciformes), flying-fish (*Prognichthys agoo*, ordem Beloniformes) e dolphin (*Coryphaena hippurus*, ordem Perciformes). Estas rotas metabólicas envolvem a remoção dos grupos keto a C-4 e C-4' e conversão do β -anel para o ε -anel (Figura 4).

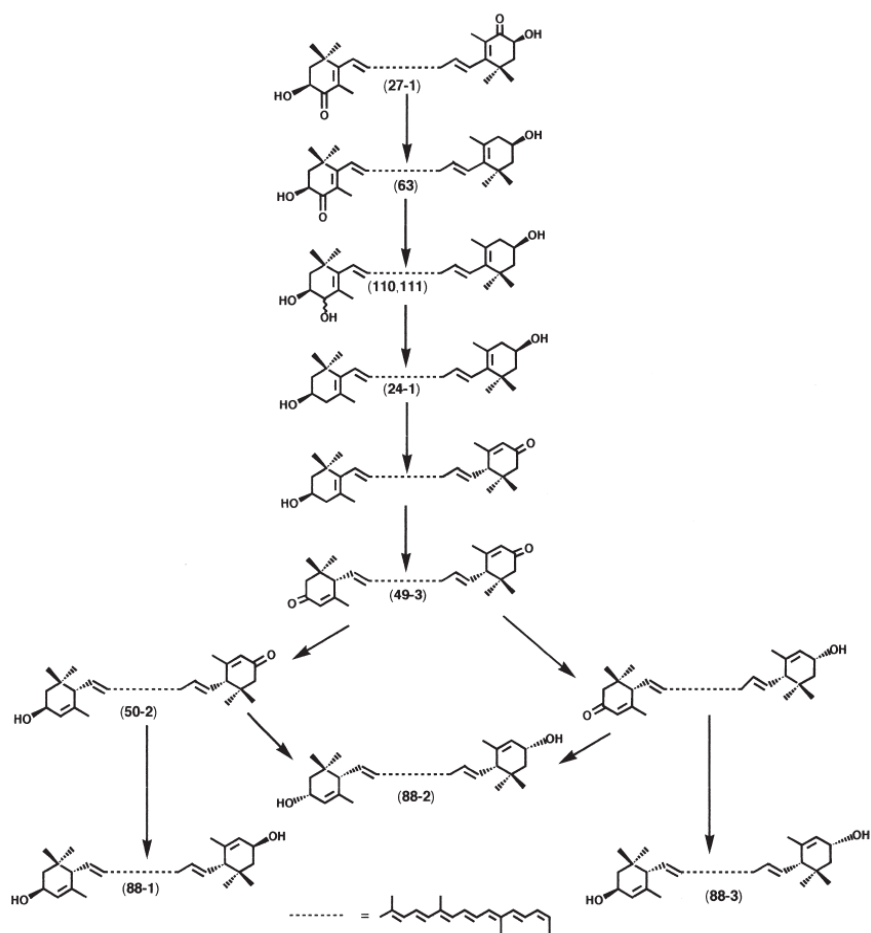


Figura 4 - Rota metabólica redutiva de carotenóides em yellowtail, flying-fish e dolphin, segundo MATSUNO (2001).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e período de execução

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Nutrição de Peixes do Departamento de Zootecnia, as análises de composição centesimal das rações realizadas no Laboratório de Nutrição Animal deste departamento e as análises de quantificação dos níveis de pigmentos adicionados às rações realizados no Laboratório de Corantes e Pigmentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, no período entre março de 2008 e dezembro de 2009.

3.2 As unidades experimentais e o sistema de recirculação de água

Os peixes foram acondicionados e mantidos sob experimentação em sistema de recirculação de água. O sistema de recirculação compreendia 45 aquários interligados por tubulações de abastecimento e drenagem à filtros mecânicos e biológicos, além de sistema de condicionamento da água com termostatos, aquecedores e lâmpada germicida.

As três caixas com filtros mecânicos, filtros biológicos e acondicionamento de água com termostatos, aquecedores e lâmpada germicida tinham capacidade de 150 litros cada totalizando 1/3 do volume do sistema de recirculação. A taxa de renovação da água nos aquários foi de 2.000% ao dia, ou seja, o volume de água da caixa era renovado 20 vezes ao dia. Os filtros mecânicos foram limpos uma vez por semana e os substratos dos filtros biológicos lavados apenas ao final dos experimentos.

Cada unidade experimental foi composta por uma caixa d'água retangular com

capacidade total para 25 litros, utilizando-se 20 litros de volume útil. A tampa era de tela plástica com malha de 10 mm para facilitar as operações de manejo diário.

As caixas d'água experimentais ficaram dispostas uma ao lado da outra, em estantes com três níveis de prateleiras, totalizando seis prateleiras com 45 caixas d'água ao todo. Todas as caixas estavam interligadas a um sistema de filtragem biológica e condicionamento da água, através de sistemas de abastecimento e drenagem, totalizando 1.200 litros de volume útil.

O bombeamento da água foi realizado por uma bomba Schneider 0,5 cv (110 v, 7,5 A, Monofásica, 60Hz) regulada para a vazão de 750 L/h, proporcionando uma taxa de renovação de 20 vezes o volume total das caixas ao dia.

A água bombeada chegava às caixas experimentais em torneiras plásticas que possibilitava a regulagem do fluxo de água por meio de tubulação acoplada na bomba e na caixa de condicionamento de água.

A drenagem da água foi feita através de um flange de 20 mm instalado do lado oposto ao sistema de abastecimento de água, no qual, externamente, estava acoplado um cotovelo 90° rosqueável de 20 mm e um pedaço de cano PVC rígido desse mesmo diâmetro, o que permitia a regulagem do volume interno da caixa d'água experimental pela articulação deste.

Na extremidade do PVC rígido havia acoplado um pedaço de mangueira transparente que levava a água até outro cano de maior diâmetro (75 mm), o qual carreava a água de todas as caixas para as caixas de filtragem biológica. Na extremidade desse cano utilizou-se uma bolsa manufaturada com organza para reter partículas sólidas (fezes e eventualmente resto de ração), essa bolsa era trocada a cada três dias por outra lavada, evitando a rápida eutrofização do filtro.

A caixa-filtro compreendia três caixa d'água de polietileno com capacidade total

para 150 litros, utilizando-se 100 litros de volume útil, no interior de duas das quais estava instalada uma faixa de tela com malha de 2 mm, com 20 m de comprimento por 75 cm de largura. A tela serviu como substrato de fixação para desenvolvimento de colônias de bactérias nitrificantes, *Nitrossomonas* spp e *Nitrobacter* spp, que são responsáveis pela redução da amônia liberada pelos peixes, que em concentrações superiores a 0,05 mg/L são tóxicas a estes, à nitrato que é uma substância pouco tóxica.

As caixas-de-condicionamento estavam acopladas à caixa-filtro por flanges de 60 mm instalados na parte inferior destas caixas, a formar um sistema de vasos comunicantes por onde a água filtrada passava a caixa seguinte para ser acondicionada à temperatura de 28°C.

O aquecimento e regulagem da temperatura da água para 28°C foi possível com a utilização de aquecedores e termostato. A água do sistema passava por iluminação com lâmpada germicida ultravioleta para reduzir problemas pelo desenvolvimento de algas e patógenos na água circulante.

No período em que os peixes estavam sob experimentação, recebendo rações contendo pigmentos naturais, toda quinta-feira as 10h era realizada uma limpeza do fundo das caixas experimentais, por meio de sifonagem da sujeira decantada, utilizando uma mangueira de 15 mm vertendo-se a água suja na tubulação do sistema hidráulico de esgoto do laboratório.

3.3 A água

A água proveniente da rede municipal de abastecimento (SAAE) foi utilizada para abastecer o sistema de recirculação com filtragem biológica, no qual foram conduzidos os experimentos. Antecedendo cinco dias ao acondicionamento dos peixes no sistema de recirculação, este foi abastecido e completado para volume útil de 1.200 litros de água,

sendo 20 litros por caixa experimental e outros 300 litros para as caixas filtro e de acondicionamento de água.

Semanalmente, após a sifonagem e a limpeza das caixas, cerca de 20% do volume da água do sistema foram substituídos para redução na concentração dos níveis de compostos nitrogenados da água, especialmente nitrato. Tal procedimento possibilitou ainda o aporte de sais e íons de minerais traços os quais são absorvidos através das brânquias e essenciais ao pleno desenvolvimento dos peixes.

A qualidade da água foi aferida às 9h, a cada cinco dias, observando-se as características: pH, potencial redox (mV), temperatura (°C), condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$) e oxigênio dissolvido (mg/L). A mensuração dos valores para as características supracitadas foi possível mediante utilização de peagâmetro digital Homis MOD 801, termômetro de máxima e mínima com bulbo de mercúrio, condutivímetro Alphalab CA 150 e oxímetro digital portátil Instrutherm MO-890. Os respectivos valores foram anotados em formulário para todo o período experimental, para acompanhamento de eventuais variações nos níveis das características supracitadas para fora da faixa ótima de manutenção da espécie em estudo, quando procedeu-se com os respectivos ajustes.

Semanalmente foram adicionados 10 g de calcário-dolomítico, finamente moído, à caixa de acondicionamento da água a fim de disponibilizar macro e microminerais para absorção pelos peixes através das brânquias. A biodisponibilidade de minerais na água do sistema experimental permitiu o pleno desenvolvimento dos peixes, sem que a deficiência mineral fosse fator limitante.

3.4 Os peixes

Em cada experimento que compunha o trabalho de tese foram utilizados peixes que não participaram de experimentos anteriores para evitar erro experimental devido

alimentação continuada com rações contendo diferentes níveis e tipos de pigmentos naturais.

Os machos da *Colisa lalia* já expressam sua coloração característica em função da linhagem a partir do terceiro mês de vida, estando aptos para comercialização como peixe ornamental a partir do quarto mês.

Em cada um dos cinco experimentos foram utilizados 315 machos da espécie *Colisa lalia* linhagem “vermelha-sangue”, com idade entre 90 e 110 dias, aos quais foram acrescentado outros 185 (60%), o que possibilitou a padronização de tamanho e descarte de peixes imperfeitos.

A biomassa de peixes mantida sob experimentação, por 70 dias, no sistema de recirculação foi de até 990 g, correspondente à densidade de aproximadamente 1 g de peixe/L de água.

No total foram utilizados 2.500 peixes machos. Os peixes foram adquiridos com três meses de idade de uma piscicultura de peixes ornamentais no pólo de Muriaé-MG, antecedendo 21 dias da montagem do experimento.

3.5 Aquisição, vermifugação, condicionamento e seleção dos peixes

Os peixes foram adquiridos em pisciculturas de peixes ornamentais nos municípios de Muriaé e Patrocínio do Muriaé, estado de Minas Gerais, Brasil. Foram adquiridos peixes machos juvenis em tamanho comercial pequeno com cerca de 70 dias de vida, o que possibilitaria o fornecimento de ração na fase de terminação destes que já apresentavam início da coloração vermelha característica da linhagem.

Em experimentos para avaliação da pigmentação da pele de peixes colisa-sangue (*Colisa lalia*) deve-se utilizar apenas os machos, uma vez que estes apresentam coloração intensa, ao passo que as fêmeas não expressam pigmentação vermelha na pele. Em

acará-disco (*Symphysodon discus*) e mato-grosso (*Hyphessobrycon eques*) a avaliação da pigmentação da pele dos peixes pode ser quantificada em peixes de ambos os sexos.

Após acondicionamento dos peixes nos aquários experimentais, forneceu-se a mesma ração comercial extrusada preparada para o tratamento controle dos experimentos, contendo os vermífugos metronidazol (400 mg/kg) e albendazol (100 mg/kg), além de bizacodil (5 mg/kg) e vitamina C (300 mg/kg). A fase de condicionamento dos peixes teve duração de 20 dias, período no qual cessou a mortalidade decorrente do estresse da captura, depuração e transporte.

No período de vermifugação os peixes se adaptaram às condições de ambiente, ao manejo de alimentação e de limpeza do laboratório. A incorporação dos vermífugos, o laxante e a vitamina C à ração foi realizada após a moagem fina e a mistura destes ao óleo de soja que foi em seguida misturado e homogeneizado à ração.

Após os 14 dias de condicionamento os peixes foram sedados em solução contendo eugenol e etanol (1:4) na dosagem de 25 mg de eugenol por litro de água, por imersão durante cinco minutos. Foram separados os peixes com imperfeições, os que não apresentavam o padrão de coloração característico da linhagem, as poucas fêmeas e aqueles peixes com tamanhos extremos à média.

A seguir realizou-se a distribuição aleatória de oito peixes por aquário. A recuperação da sedação ocorreu nos aquários experimentais. Os peixes permaneceram mais seis dias alimentando-se apenas da ração controle, sem vermífugo, até o 20º dia.

3.6 O manejo experimental

No Laboratório de Nutrição de Peixes, os peixes passaram por triagem para seleção de lote com machos perfeitos e de tamanho uniforme.

Todos os peixes que permaneceram sob experimentação, passaram por biometria,

na qual foram aferidos: peso (g), comprimento total (mm), comprimento padrão (mm), comprimento da cabeça (mm) e altura do corpo (mm).

Os animais em triagem e biometria foram manejados e simultaneamente tratados em solução dupla, preparada uma hora antes, contendo cloreto de sódio a 5 g/L e azul-de-metileno (2%) a 0,3 mL/L para reduzir o estresse e prevenir infestações por fungos, respectivamente, (KUBITZA e KUBITZA, 1999). Em seguida, os peixes foram aleatoriamente distribuídos nas caixas experimentais na densidade de um peixe para cada 3 litros de água, totalizando sete peixes por caixa.

A utilização de sal (NaCl, 5 g/L) estimula o aumento da secreção de muco sobre o epitélio branquial e a pele, reduzindo a passagem de íons através das membranas celulares (células de cloreto); esta redução na perda de íons deve-se à diminuição no gradiente osmótico entre o plasma do peixe e a água (estresse osmorregulatório) (KUBITZA, 1999, BALDISSEROTTO, 2002). O aumento na concentração de NaCl na água também favorece a excreção de amônia por transporte ativo através da bomba $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ das células de cloreto (BALDISSEROTTO, 2002). O estresse osmorregulatório deve-se à elevação nos níveis de corticosteróides no sangue dos peixes, em resposta ao estresse provocado pelo manejo pré-transporte, que causa aumento na permeabilidade das células de cloreto, no epitélio branquial (KUBITZA, 1999).

O arraçoamento com as rações contendo pigmentos ocorreu até a satisfação do apetite dos peixes, feito diariamente às 8h00, 13h00 e 18h00, durante 50 dias em cada experimento. O consumo aparente de ração foi aferido pela diferença entre o peso da massa inicial de ração (em matéria seca liofilizada) acondicionada em um frasco plástico com tampa e da massa final (em matéria seca liofilizada) após o período experimental, utilizando-se uma balança com precisão para centésimo de grama.

Ao final de cada experimento os peixes foram anestesiados com eugenol em

solução a 30 mg/L durante 5 minutos. Em seguida foram fotografados, passaram por cotação colorimétrica e uma segunda biometria, sendo acondicionados em baldes de 50 litros contendo solução dupla de azul-de-metileno e cloreto de sódio por no mínimo 15 minutos antes de serem descartados do experimento.

As informações referentes aos experimentos foram anotadas em formulários devidamente preparados (Tabelas 2, 3, 4 e 5), bem como o acompanhamento das variáveis de qualidade da água e consumo de ração durante o período experimental.

3.7 As rações experimentais e o processo de incorporação de pigmentos em rações comerciais

A ração utilizada no experimento foi uma ração comercial extrusada para peixes de corte contendo 36% de proteína bruta, a qual é extensivamente utilizada pela maioria dos piscicultores de peixes ornamentais no pólo de Muriaé/MG.

A ração comercial com peletes de 2 a 3 mm foi previamente quebrada em moinho manual e peneirada, para que somente a fração com granulometria de 0,5 a 1,0 mm entre as peneiras de 8 e 16 mesh pudesse ser selecionada. A fração da ração selecionada apresentava grânulos com diâmetro médio de 0,5 mm, os quais poderiam ser facilmente capturados e engolidos pelos peixes em tamanho utilizado no experimento. Em seguida, toda esta ração foi empacotada em plásticos hermeticamente fechados com 1,0 kg e congeladas sob refrigeração de -18°C , até sua retirada para incorporação dos pigmentos e posterior utilização nos experimentos.

O congelamento de um mesmo lote de ração para utilização em todos os experimento deveu-se à evitar possíveis diferenças na qualidade da ração entre lotes, o que poderia proporcionar diferenças nos resultados dos experimentos e induzir à maiores chances de erros experimentais.

Os ingredientes fontes de pigmentos naturais utilizados como aditivos à ração comercial nos experimentos foram o extrato oleoso de urucum, o extrato liofilizado de açaí e a cantaxantina comercial.

O processamento das rações experimentais foi realizado uma semana antes do início dos experimentos, sendo uma fração de 50 g retirada para análises da composição centesimal no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia e outra fração de 100 g retirada e destinada ao Laboratório de Corantes e Pigmentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos para a determinação dos respectivos níveis de pigmentos. O teor de carboidratos nas rações foi determinado segundo metodologia proposta em SNIFFEN *et al.* (1992).

A incorporação de ingredientes, fontes de pigmentos naturais, em seu estado bruto reduz as perdas por oxidação e possibilitam melhor tempo de prateleira. Cada um dos ingredientes fontes de pigmentos naturais apresentou características peculiares quanto ao processo de incorporação na ração. As quais encontram-se detalhadas a seguir.

O extrato oleoso de urucum, contendo 8% de bixina (80,4 g/kg), é um produto comercial utilizado na indústria de alimentos e de cosméticos, o qual foi adquirido da empresa Baculê Corantes Naturais na forma de doação.

O processo de incorporação da bixina ocorreu após o descongelamento em temperatura ambiente de cinco quilogramas da ração, previamente selecionados e congelados, com antecedência de 24h.

Por se tratar de um produto oleoso, a incorporação do extrato oleoso de urucum contendo bixina foi a mais simples, utilizando-se para tanto um pulverizador manual através do qual o extrato oleoso foi pulverizado sobre a ração constantemente misturada até que o nível de pigmento desejado fosse incorporado.

Para que as quantidades de pigmentos correspondessem aos níveis experimentais, após a inclusão da solução oleosa no pulverizador manual, este foi pesado e feito a tara da balança, periodicamente o pulverizador era novamente pesado e a redução no seu peso até -20 g serviu como indicador da incorporação da quantidade necessária à ração conforme os níveis experimentais.

Para manter o equilíbrio energético entre as rações dos diferentes tratamentos, realizou-se a diluição do extrato concentrado de urucum em óleo de soja puro para que ao se incorporar 20 g desta mistura a cada quilograma de ração, possibilitasse a obtenção das rações experimentais com os diferentes níveis além da proteção da ração pela formação de película de óleo sobre a superfície externa dos peletes.

Os pigmentos carotenóides, a exemplo da bixina, são moléculas fotodegradáveis e, portanto, sua incorporação na ração necessitou ser feita em sala escura. Após a incorporação as rações experimentais contendo extrato de urucum foram empacotadas e deixadas em temperatura ambiente, no escuro por 24h para que os peletes absorvessem os 2% de solução oleosa adicionada, a partir de então as rações foram novamente congeladas.

Os teores de bixina, efetivamente incorporados às rações, foi posteriormente aferido por análises realizadas no Laboratório de Corantes e Pigmentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos através de metodologia mencionada em TAKAHASHI *et al.* (1987). Foi possível constatar que a eficiência de incorporação da bixina por pulverização sobre os peletes de ração é de 94,7% (Tabela 1).

A redução de 5,3% na eficiência de incorporação pode-se dever à perdas decorrentes da pulverização da fração oleosa ou da oxidação das moléculas de bixina pelo contato com o ar, mesmo a pulverização tendo sido realizada em câmara fechada.

Tabela 1 – Eficiência de incorporação dos ingredientes fontes de pigmentos naturais

Fonte de pigmento natural					
Extrato oleoso de urucum (Bixina)		Cantaxantina (Comercial)		Extrato liofilizado de açaí (Antocianinas)	
Nível adicionado	Eficiência de incorporação ¹ (mg/kg)	Nível adicionado	Eficiência de incorporação ¹ (mg/kg)	Nível adicionado	Eficiência de incorporação (mg/kg)
0	0	0	0	0	nd
750	719	65	44,4	250	nd
1.500	1.390	130	94,2	500	nd
2.250	2.110	195	137,0	750	nd
3.000	2.890	260	180,0	1.000	nd
	94,7%		70,1%		nd

Observações: nd = valor não determinado. ¹ = os valores correspondem à média de 12 repetições de leitura para o nível do pigmento

A cantaxantina comercial, contendo 10% de cantaxantina (101 g/kg), é um produto comercial utilizado na alimentação animal, especialmente pássaros, comercializada pela Vansil Ltda. e foi adquirida através de compra.

O processo de incorporação da cantaxantina ocorreu após o descongelamento em temperatura ambiente de cinco quilogramas da ração, previamente selecionados e congelados, com antecedência de 24h.

O pigmento foi inicialmente pesado em balança de precisão e dissolvido em água destilada a 50°C, no escuro, com agitação por cinco minutos para que os cristais se dissolvessem por completo. A seguir foram feitas as diluições em água destilada, para que com a incorporação de 50 mL de cada diluição por quilograma de ração correspondesse ao nível de pigmento desejado na ração experimental.

A incorporação foi feita utilizando-se pulverizador manual, sendo a solução diluída contendo a cantaxantina pulverizada sobre a ração constantemente misturada. Para que as quantidades de pigmentos correspondessem aos níveis experimentais, após a inclusão da solução diluída de cantaxantina no pulverizador manual, este foi pesado e feito a tara da balança, periodicamente este pulverizador era novamente pesado e a redução no seu peso até -50 g serviu como indicador de que a quantidade necessária já havia sido incorporada à

ração conforme os níveis experimentais.

Em seguida à incorporação da cantaxantina, as rações foram acondicionadas em bandejas plásticas e permaneceram em estufa ventilada a 55°C por 12h para evaporação da água utilizada como veículo na incorporação do pigmento. Neste período as rações foram revolvidas nas bandejas a cada hora durante as primeiras 4h. Após esta etapa as rações foram deixadas em temperatura ambiente por 4h para que resfriassem e equilibrassem a umidade com o ar.

Nas rações já enriquecidas com a cantaxantina foram adicionados 20 g de óleo de soja puro por quilograma de ração, esta incorporação de 2% de óleo à ração teve por objetivo a proteção da ração para evitar a lixiviação da cantaxantina na água durante o arrastamento e a captura do pelete pelos peixes. Após a pulverização do óleo sobre a ração esta permaneceu por 24h, no escuro e em temperatura ambiente, para que a ração o absorvesse.

Os teores de cantaxantina, efetivamente incorporados às rações, foi posteriormente aferido por análises realizadas no Laboratório de Corantes e Pigmentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos através de metodologia mencionada em TAKAHASHI *et al.* (1987). Foi possível constatar que a eficiência de incorporação da cantaxantina por pulverização sobre os peletes de ração é de 70,1% (Tabela 1).

As perdas de 29,9% na incorporação da cantaxantina às rações podem ser devidas a termodegradação ocorrida durante a diluição do pigmento em água a 50°C e ao tempo 12h em estufa a 55°C de ventilação forçada para secagem da ração.

O extrato liofilizado de açaí, contendo 6,5% de antocianinas (66 g/kg), foi conseguido como doação através do Laboratório de Corantes e Pigmentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos e também trata-se de um produto na forma comercial.

O processo de incorporação das antocianinas na ração foi semelhante ao feito para cantaxantina. Diferiu apenas quanto a temperatura da água para a diluição do extrato liofilizado de açaí, a qual foi de 25°C, permanecendo-se idênticas as demais etapas do processamento para incorporação do ingrediente.

Os teores finais de antocianinas não foram aferidos nas rações experimentais, impossibilitando estabelecer sua eficiência de incorporação.

As rações permaneceram congeladas durante todo o período experimental, sendo retiradas do freezer apenas no momento do arrazoamento dos peixes.

3.8 Variáveis mensuradas e avaliadas

As variáveis mensuradas, em cada experimento separadamente, foram: peso corporal (g); comprimento corporal total (mm); comprimento-padrão (mm); intensidade de coloração (%), da pele, no sistema CMYK; e intensidade de coloração, da pele, no sistema de coordenadas Hunter L, a, b.

- **peso corporal, PS** (g) - massa corporal do peixe vivo;
- **comprimento corporal total, CT** (mm) - distância entre a boca e a extremidade distal da nadadeira caudal;
- **comprimento corporal-padrão, CP** (mm) - distância entre a boca e a base, extremidade proximal, da nadadeira caudal;
- **intensidade da coloração (%), da pele, no sistema CMYK** - valor médio, obtido pela leitura de pontos na pele através de fotografias em uma das laterais do peixe;
- **intensidade da coloração da pele, no sistema de coordenadas Hunter** (L, a, b) - valor médio, obtido pela leitura de pontos na pele, através de fotografias, em uma das laterais do peixe; e
- **intensidade da coloração da pele, no sistema de coordenadas Hunter** (L, a, b, C

e h) **obtida por colorímetro digital**, - valor médio, obtido pela leitura de pontos na pele em uma das laterais do peixe.

As variáveis a serem avaliadas por métodos estatísticos para cada experimento separadamente, são: fator de condição relativo (Fulton), fator de condição alométrico, ganho de peso no período, ração consumida aparente, intensidade da cor vermelha da pele.

- **fator de condição relativo (Fulton), K_r** (adimensional) - [$K_r = (PS/CT^3).100$];
- **ganho de peso total, GP_g** (g/50 dias) - diferença nos pesos corporais final e inicial dos peixes;
- **ganho de peso percentual, GP_p** (g/50 dias) - diferença percentual nos pesos corporais final e inicial dos peixes;
- **ração consumida aparente, RC** (g/50 dias) - quantidade de ração fornecida aos peixes durante os 50 dias do experimento;
- **conversão alimentar aparente, CVA** (g/g) - índice obtido pela relação entre a quantidade de ração consumida e o ganho de peso alcançado pelos peixes no período de 50 dias;

3.9 Manejo, biometrias e planilhas de acompanhamento experimental

No 20º dia procedeu-se a sedação dos peixes, com uso de solução com eugenol (25 mg/L), para a biometria, e utilização de apenas sete peixes para cada aquário experimental. No 21º dia deu-se início aos experimentos pelo arraçoamento com as rações contendo pigmentos.

No processo de biometria e acompanhamento dos experimentos foram utilizadas planilhas para as anotações (Tabelas 2, 3, 4 e 5).

Tabela 2 - Planilha: Biometria dos peixes submetidos à experimentação

Experimento: _____ Período: ____/____/____ a ____/____/____ Biometria: () inicial / () final – Data: ____/____/____				
Aquário	Peixe	Peso (g)	Comprimento padrão (mm)	Comprimento total (mm)
1	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	7			
2	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	7			
3	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	7			
4	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	7			
...	...			
...	...			
...	...			
...	...			
...	...			
25	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	7			

Tabela 3 - Planilha: Quantificação da ração fornecida aos peixes

Experimento: _____ Período: ____/____/____ a ____/____/____ Biometria: () inicial / () final – Data: ____/____/____				
Aquário	Tara do frasco (g)	Ração inicial (g)	Ração final (g)	Ração consumida (g)
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				
25				
26				
27				
28				
29				
30				
31				
32				
33				
34				
35				
36				
...				
...				
...				
50				

Tabela 4 - Planilha: Coordenadas de coloração no sistema Hunter obtidos com colorímetro portátil Minolta M-10 na pele dos peixes

Experimento: _____ Período: ____/____/____ a ____/____/____ Biometria: () inicial / () final – Data: ____/____/____							
Aquário	Peixe	Ponto	Coordenada				
			L*	a*	b*	C*	h*
1	1	1					
		2					
		3					
		4					
		5					
	2	1					
		2					
		3					
		4					
		5					
	3	1					
		2					
		3					
		4					
		5					
	4	1					
		2					
		3					
		4					
		5					
	5	1					
		2					
		3					
		4					
		5					
...	...	...					
...	...	...					
...	...	...					
...	...	...					
25	6	1					
		2					
		3					
		4					
		5					
	7	1					
		2					
		3					
		4					
		5					

Tabela 5 - Planilha: Coordenadas de coloração, no sistema CMYK e no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) obtida com software a partir de fotografias digitais

Experimento: _____ Período: ____/____/____ a ____/____/____ Biometria: () inicial / () final – Data: ____/____/____										
Aquário	Peixe	Região	Ponto	Coordenada						
				L*	a*	b*	C	M	Y	K
1	1	1	1							
			2							
			3							
		2	1							
			2							
			3							
		3	1							
			2							
			3							
	2	1	1							
			2							
			3							
		2	1							
			2							
			3							
		3	1							
			2							
			3							
	3	3	1							
			2							
			3							
		2	1							
			2							
			3							
...	...		...							
25	6	2	2							
			3							
		3	1							
			2							
			3							
		7	1							
			2							
			3							
			1							
			2							
			3							
	3	3	1							
			2							
			3							

3.10 Quantificação da coloração em peixes

A quantificação da intensidade de pigmentação da pele dos peixes ornamentais foi realizada com a utilização de duas ferramentas. Uma cotando cinco pontos aleatórios na pele do peixe *in vivo* com colorímetro portátil e outra cotando nove pontos aleatórios em três regiões predefinidas a partir de fotografias digitais com software fotográfico.

3.10.1 Obtenção das fotografias e índices de coloração

As fotografias serão obtidas e processadas conforme metodologia desenvolvida por Rezende (2006), a qual se encontra descrita a seguir.

No processo de obtenção das fotografias de cada peixe serão utilizadas duas fontes artificiais de iluminação, lâmpadas incandescentes de 100 watts e outra fluorescente de 60 watts, posicionadas 80 cm acima dos peixes no momento de registro das fotografias.

As fotografias serão conseguidas com máquina digital, Sony Cyber-Shot W-210, com resolução de 12.1 megapixels posicionada a 50 cm dos peixes, a um ângulo de 60° em relação à superfície de acomodação do peixe a ser fotografado.

Para que não haja interferências quanto às cores, pela variação diurna da incidência luminosa indireta do sol, as fotografias serão realizadas em sala fechada, apenas com a iluminação artificial.

As fotografias inicialmente passarão por equilíbrio de cores, usando o software Adobe Photoshop® versão CS2, usando-se os comandos no menu [Imagem]-[Ajustar]-[Níveis Automáticos]. Os valores percentuais referentes às cores amarela e magenta só poderão ser obtidos no modo de exibição de cores CMYK, o qual pode ser selecionado no menu [Modo]-[Cores CMYK]. Em seguida, usando o comando no menu [Arquivo]-[Salvar Como] salvar-se-á as fotos equilibradas identificando-se no nome do arquivo, a qual tratamento e repetição se refere o peixe fotografado.

Posteriormente, as fotografias serão organizadas e numeradas em uma fotografia composta pelos sete peixes de cada caixa experimental, a partir da qual serão feitas as leituras dos valores percentuais para as cores amarela e magenta.

3.10.2 Obtenção de índices de coloração com colorímetro portátil

Após a insensibilização dos peixes com uso de eugenol (100 mg/L) realizou-se a secagem da pele destes e a seguir a mensuração dos cinco pontos aleatoriamente na pele.

A utilização de colorímetro portátil possibilitará a obtenção dos índices de coloração na pele dos peixes *in vivo* para as variáveis colorimétricas visíveis ao olho humano (*L, *a, *b, *C e *h), dentre elas a cor vermelha. Estas variáveis serão mensuradas com colorímetro digital portátil Konica Minolta CR-10.

A comparação entre as técnicas, fotografia e colorímetro, utilizadas para quantificação dos índices de coloração da pele, possibilitarão definir qual a melhor técnica a ser empregada em experimentação com peixes ornamentais visando melhoria na qualidade pela utilização de ração com pigmentos, ou em trabalhos de seleção e melhoramento.

Uma das metodologias utilizadas foi a tradicionalmente utilizada e mencionada em trabalhos científicos desenvolvidos em diversos países do mundo para a determinação de coloração de filés de peixes salmonídeos e pele de peixes ornamentais, utilizando-se o colorímetro portátil. No caso específico da tese, o modelo usado foi o Minolta-M10.

A metodologia tradicional foi comparada com quatro maneiras de obtenção de coloração utilizando-se software para quantificação dos níveis de coloração através de fotografias digitais, especificamente o Adobe PhotoShop CS2[®]. Dentre as quais, se quantificou as colorações da pele dos peixes utilizando as coordenadas Hunter e o sistema CMYK (%).

No sistema de coloração de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$), L^* representa brilho (–100, preto e +100, branco), a^* (–100, verde e +100 vermelho) e b^* (–100, azul e +100, amarelo). No padrão de cores CMYK, as cores são decompostas em percentuais das cores básicas – ciano (C), magenta (M), amarelo (Y) e preto (Y). Os índices de coloração expressos em percentuais, $C_{(\%)}$, representam variáveis não-paramétricas devendo ser convertidas em variáveis paramétricas, em radianos, as quais poderão ser utilizadas em testes estatísticos. A conversão dá-se pela fórmula: $C_{(\text{rad})} = \arcsen.[C_{(\%)} / 100]^{0,5}$.

Através das similaridades entre as equações de regressão linear, escolhidas com base nos coeficientes de determinação ($R^2 = \text{SQRegressão} / \text{SQTratamento}$) e nos fenômenos biológicos, por análises de variância utilizando-se o teste F ao nível de 5% de probabilidade, definiu-se quais os métodos mais adequados.

A seguir, se encontram detalhados os resultados observados em um dos experimentos, como exemplo, para comparação dos métodos de quantificação de coloração na pele do peixe *Colisa lalia* linhagem “Sangue”.

Os resultados de coloração, no padrão Hunter, obtidos por colorímetro portátil Minolta-M10 nos peixes *in vivo*, compreendem a média de cinco pontos pra cada peixe, mensurados em todos os peixes de cada tratamento e apresentado a seguir (Tabela 1).

Os resultados de coloração foram submetidos às análises de variância, de regressão linear, no coeficiente de determinação ($R^2 = \text{SQRegressão} / \text{SQTratamento}$), e no fenômeno biológico. Realizada em cinco pontos aleatoriamente na pele dos peixes, no sistema de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*C^*h^*$) (Figura 1).

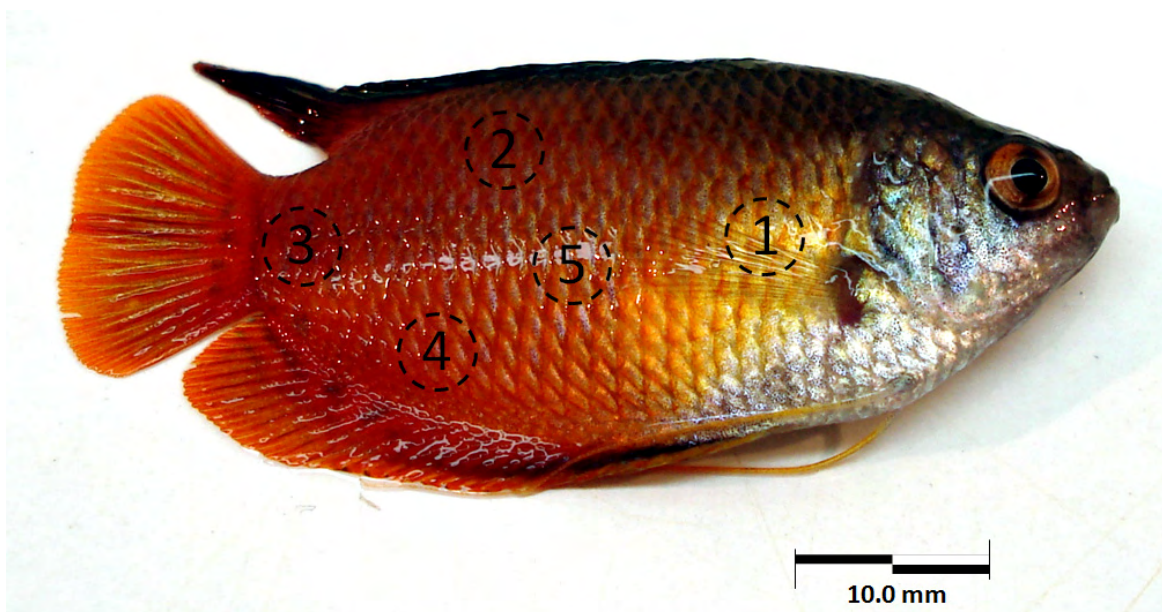


Figura 1 - Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*) *in vivo* com base em cinco pontos (com 50,3 mm² cada) identificados com círculos numerados de um a cinco, usando-se colorímetro portátil Konika Minolta-M10

3.10.3 Utilização de software para quantificação de cores a partir de fotografias digitais

As demais metodologias testadas são aquelas em que os índices de coloração foram mensurados através de fotografias digitais, utilizando-se software para a quantificação em três regiões de coloração previamente definidas (REZENDE, 2006) (Figura 2; Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6). Em cada região foram cotados três pontos aleatoriamente, cada ponto correspondia a área de 25 pixels quadrados. A resolução das fotografias no momento da quantificação era de 250 x 140 pixels.

Os resultados de coloração obtidos nas três regiões distintas, separadamente, encontram-se sumarizados a seguir (Tabelas 3, 4 e 5), sendo a tabela 3 a média de pontos na área delimitada como região um (Figura 2), a tabela 4 a média dos pontos na região dois e a tabela 5 a média dos pontos na região três.

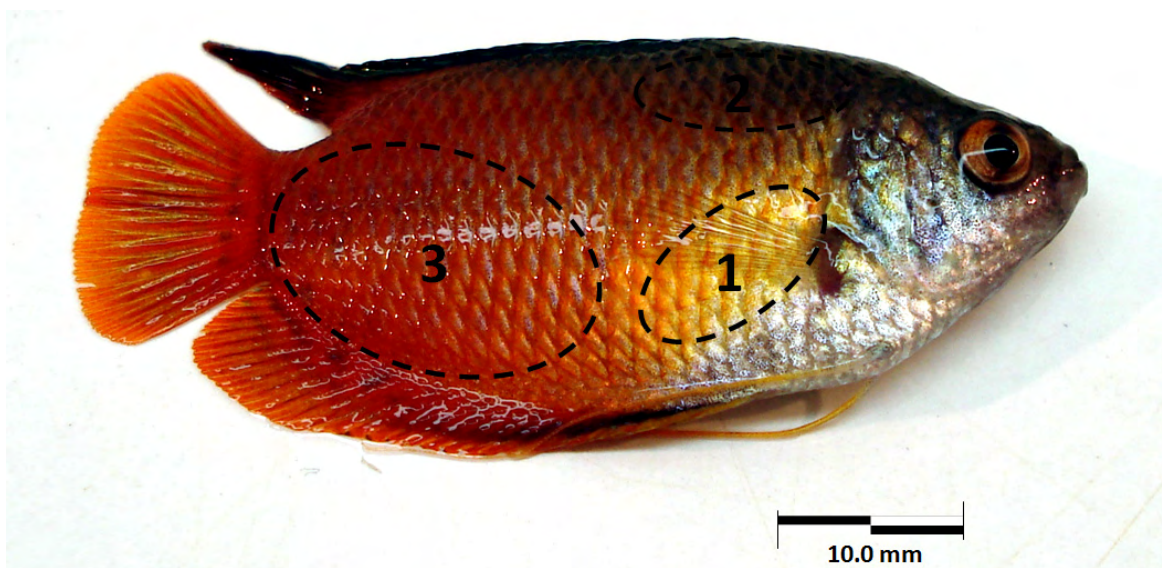


Figura 2 - Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*) com base em regiões delimitadas pelos círculos pontilhados e numerados de um a três, onde a média de três pontos foi utilizada na quantificação da coloração em cada região, a partir de fotografias digitais, utilizando-se software Adobe PhotoShop CS2[®]

A partir das fotografias digitais, individuais, mensurou-se a coloração da pele dos peixes utilizando-se os sistemas de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$) e CMYK. O fato dos peixes serem muito jovens 150 dias de vida (30 a 40 mm) impossibilitava a quantificação da cor avermelhada sobre toda a lateral do corpo, uma vez que a expressão da coloração vermelha intensa nessa linhagem de acará-disco só pode ser observada em peixes com idades superiores à 210 dias. Em função disso, os pontos identificados pelos círculos pontilhados com numeração de um a cinco representam as áreas de mensuração da pigmentação da pele dos peixes para compor os valores médios de pigmentação do peixe (Figura 1). Tais áreas foram definidas por serem regiões onde há maior expressão da coloração avermelhada em função da linhagem e da precocidade dos peixes utilizados no experimento.

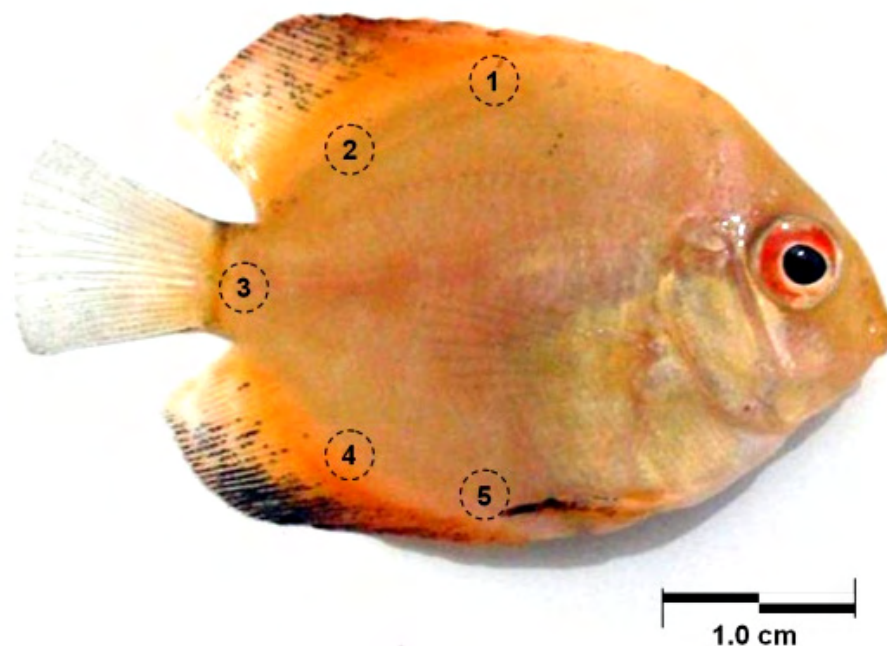


Figura 3 - Esquema de amostragem de coloração na pele do peixe ornamental acará-disco (*Symphysodon aequifasciata*) pela média de cinco áreas (25 pixels quadrados cada) em fotografias de 150 x 200 pixels

As variáveis observadas para coloração da pele serão: intensidade de coloração amarela (%) e intensidade de coloração magenta (%), ambas obtidas a partir de fotografias dos peixes, retiradas ao final do período experimental.

A quantificação dos valores percentuais observados para as cores amarela e magenta, serão obtidas pela média mensurada em cinco pontos distintos em apenas uma das laterais, pelo uso do software Adobe Photoshop[®] versão CS3. Tais valores mensurados a partir das fotografias compostas serão anotados em formulário específico.

Os valores, em percentuais, observados para as cores amarela e magenta são variáveis não-paramétricas, implicando na utilização de método estatístico de baixa precisão. GOMES (1987) e VIEIRA e HOFFMANN (1989), sugerem a transformação de variáveis não-paramétricas para que possam ser analisadas por método estatístico de maior precisão.

A transformação dos valores porcentuais será realizada através da fórmula a seguir:

$C_{(\text{rad})} = \arcsen.[C_{(\%)}/100]^{0.5}$, em que $C_{(\%)}$ = valor percentual da cor observada. O valor para a variável cor vermelha, expressa em radianos $C_{(\text{rad})}$, será obtido pela soma algébrica dos valores de cor amarela e magenta, após a transformação.

3.11 Modelo estatístico

As variáveis: intensidade de coloração na pele, ganho de peso no período, consumo de ração aparente no período e fator de condição alométrico foram analisadas, sendo os valores médios apresentados em tabelas, além de suas respectivas equações e gráficos representativos.

As análises foram realizadas em função dos níveis dos pigmentos adicionados as rações, utilizando-se o software SAEG[®] versão 9.1 (Sistema de Análises Estatísticas). A partir das equações de regressão será possível a determinação dos melhores níveis de adição dos respectivos pigmentos a possibilitarem a máxima pigmentação da pele e/ou desempenho do peixe.

4. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- AKO, H., TAMARU, C.S., ASANO, L., YUEN, B. & YAMAMOTO, M. Achieving natural colouration in fish under culture. **UJNR Technical Report 28**, 2000.
- ASPENGREN, S., SKÖLD, H.N., QUIROGA, G., MARTENSSON, L. & WALLIN, M. *Noradrenaline- and Melatonin-mediated regulation of pigment aggregation in fish melanophores*. **Pigment Cell Research**, v.16, p.59-64, 2003.
- BAKER, R.T.M. Canthaxanthin in aquafeed applications: is there any risk? **Trends in Food Science & Technology**, v.12, p.240-243, 2002.
- BARBOSA, M.J., MORAIS, R. & CHOUBERT, G. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.176, p.331-341, 1999.
- BJERKENG, B., HAMRE, K., HATLEN, B. & WATHNE, E. Astaxanthin deposition in fillets of Atlantic salmon *Salmo salar* L. fed two dietary levels of astaxanthin in combination with three levels of α -tocopheryl acetate. **Aquaculture Research**, v.30, p.637-646, 1999.
- BJERKENG, B., HATLEN, B. & JOBLING, M. Astaxanthin and its metabolites idoxanthin and crustaxanthin in flesh, skin, and gonads of sexually immature and maturing Arctic charr (*Salvelinus alpinus* (L.)). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.125, p.395-404, 2000.
- BOOTH, M.A., WARNER-SMITH, R.J., ALLAN, G.L. & GLENCROSS, B.D. Effects of dietary astaxanthin sources and light manipulation on the skin colour of Australian snapper *Pagrus auratus* (Bloch & Scheider, 1801). **Aquaculture Research**, v.35, p.458-464, 2004.
- BOTELHO-FILHO, G.F. **Síntese da história da aquariofilia**. Rio de Janeiro: Interciência, 1990, 88p.
- BOWEN, J., SOUTAR, C., SERWATA, R.D., LAGOCKI, S. & WHITE, D.A., DAVIES, S.J. Utilization of (3S,3'S)-astaxanthin acyl esters in pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v.8, p.59-68, 2002.
- CEJAS, J.R., ALMANSA, E., TEJERA, N., JEREZ, S., BOLAÑOS, A. & LORENZO, A. Effect of dietary supplementation with shrimp on skin pigmentation and lipid composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) alevins. **Aquaculture**, v.218, p.457-469, 2003.
- CHATZIFOTIS, S., PAVLIDIS, M., JIMENO, C.D., VARDANIS, G., STERIOTI, A. & DIVANACH, P. The effect of different carotenoid sources on skin coloration of cultured red porgy (*Pagrus pagrus*). **Aquaculture Research**, v.36, p.1517-1525, 2005.
- CHOUBERT, G., MENDES-PINTO, M.M. & MORAIS, R. Pigmenting efficacy of astaxanthin fed to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: Effect of dietary astaxanthin and lipid sources. **Aquaculture**, v.257, p.429-436, 2006.
- CHOUBERT, G., MENDES-PINTO, M.M. & MORAIS, R. Pigmenting efficacy of astaxanthin fed to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: Effect of dietary astaxanthin and lipid sources. **Aquaculture**, v.257, p.429-436, 2006.
- ELMADFA, I. & MAJCHRZAK, D. Carotinoide und Vitamin A in Fischproben. **Z Ernährungswiss**, v.37, p.207-210, 1998.
- FAO. **The state of world fisheries and aquaculture, 2009**. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Food and Agriculture Organization of The United Nations. Rome, 2009. 176p. Disponível em: <<http://www.fao.org/>>. Acesso em: 14 jan. 2010.
- FOX, D.L. **The pigments of fishes**. In: THE PHYSIOLOGY OF FISHES, v.2 - Behavior. MARGARET e BROWN (eds.) Department of Zoology, New York: Academic Press, 1957, 526p.
- FUJII, R. The regulation of motile activity in fish chromatophores. **Pigment Cell Research**, v.13, p.300-319. 2000.

- FUJII, R. **Chromatophores and pigments**. In: FISH PHYSIOLOGY. v.3 - Reproduction and Growth, Bioluminescence, Pigments, and Poisons. HOAR, W.S. e RANDALL, D.J. (eds.). New York: Academic Press, 1969, 485p.
- GOUVEIA, L., GHOUBERT, C., PEREIRA, N., SANTINHA, J., EMPIS, J. & GOMES, E. Pigmentation of gilthead seabream, *Sparus aurata* (L. 1985), using *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta, Volvocales) microalga. **Aquaculture Research**, v.33, p.987-993, 2002.
- GOUVEIA, L. & REMA, P. Effect of microalgal biomass concentration and temperature on ornamental goldfish (*Carassius auratus*) skin pigmentation. **Aquaculture Nutrition**, v.11, p.19-23, 2005.
- GOUVEIA, L., CHOUBERT, G., GOMES, E., REMA, P. & EMPIS, J. Use of *Chlorella vulgaris* as a carotenoid source for rainbow trout: effect of dietary lipid content on pigmentation, digestibility and retention in the muscle tissue. **Aquaculture International**, v.6, p.269-279, 1998.
- GOUVEIA, L., REMA, P., PEREIRA, O. & EMPIS, J. Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass. **Aquaculture Nutrition**, v.9, p.123-129, 2003.
- HAMRE, K., CHRISTIANSEN, R., WAAGBØ, R., MAAGE, A., TORSTENSEN, B. E., LYGREN, B., LIE, Ø., WATHNE, E. & ALBREKTSEN, S. Antioxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.): effects on growth performance and fillet quality. **Aquaculture Nutrition**, v.10, p.113-123, 2004.
- INGLE DE LA MORA, G., ARREDONDO-FIGUEROA, J. L., PONCE-PALAFOX, J. T., BARRIGASOSA, I. D. L. A. & VERNON-CARTER, J. E. Comparison of red chilli (*Capsicum annum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet pigmentation. **Aquaculture**, v.258, p.487-495, 2006.
- INGLE DE LA MORA, G., ARREDONDO-FIGUEROA, J. L., PONCE-PALAFOX, J. T., BARRIGASOSA, I. D. L. A. & VERNON-CARTER, J. E. Corrigendum to "Comparison of red chilli (*Capsicum annum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet pigmentation" [Aquaculture, v.258, p.487-495, 2006]. **Aquaculture**, v.261, p.825, 2006.
- KALINOWSKI, C.T., ROBAINA, L.E., FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., SCHUCHARDT, D. & IZQUIERDO, M.S. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. **Aquaculture**, v.244, p.223-231, 2005.
- LIMA, A.O. Piscicultura Ornamental - Uma modalidade em plena expansão. In: Simpósio Mercosul de Aqüicultura, 2004. **Anais...**, Vitória, 2004.
- LIMA, L.R.P., OLIVEIRA, T.T., NAGEM, T.J., PINTO, A.S., STRINGHETA, P.C., TINOCO, A.L.A. & SILVA, J.F. Bixina, norbixina e quercetina e seus efeitos no metabolismo lipídico de coelhos. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.38, n.4, p.196-200, 2001.
- MATSUNO, T. Aquatic animal carotenoids. **Fisheries Science**, v.67, p.771-783, 2001.
- MATSUNO, T., OHKUBO, M., TORIIMINAMI, Y., TSUSHIMA, M., SAKAGUCHI, S., MINAMI, T. & MAOKA, T. Carotenoids in food chain between freshwater fish and aquatic insects. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.124, p.341-345, 1999.
- MEYERS, M. **The pet industry view**. In: Chao, P., Petry, P., Prang, G., Sonnesschien, L., Tlusty, M. (eds.) Conservation and management of ornamental fish resources of the rio Negro Basin, Amazônia, Brasil - Project Piaba. Manaus: EDUA, p.87-108. 2001.
- MOYLE & CECHE. **Behavior and communication**. In: FISHES: AN INTRODUCTION TO ICHTHYOLOGY. MOYLE & CECHE (eds.), 3rd ed. University of California, Davis, 1996. p.157-176.
- NICKELL, D.C. & BROMAGE, N.R. The effect of timing and duration of feeding astaxanthin on the development and variation of fillet colour and efficiency of pigmentation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.169, p.233-246, 1998.
- ODIORNE, J.M. **Color changes**. In: The physiology of fishes. v.2 - Behavior. MARGARET e BROWN (eds.), Department of Zoology. New York: Academic Press, 526p. 1957.
- OHKUBO, M., TSUSHIMA, M., MAOKA, T. & MATSUNO, T. Carotenoids and their metabolism in the goldfish *Carassius auratus* (Hibuna). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.124, p.333-340, 1999.
- SHINDO, K., KIKUTA, K., SUZUKI, A., KATSUTA, A., KASAI, H., YASUMOTO-HIROSE, M., MATSUO, Y., MISAWA, N. & TAKAICHI, S. Rare carotenoids, (3R)-saproxanthin and (3R,2'S)-myxol, isolated from novel marine bacteria (Flavobacteriaceae) and their antioxidative activities. **Appl Microbiol Biotechnol**, v.74, p.1350-1357, 2007.
- SINHA, A. & ASIMI, O.A. China rose (*Hibiscus rosasinensis*) petals: a potent natural carotenoid source for goldfish (*Carassius auratus* L.). **Aquaculture Research**, v.38, p.1123-1128, 2007.
- TAMARU, C. S. & AKO, H. Using commercial feeds for the culture of freshwater ornamental fishes in Hawai'i. In: C.C.-T. Tamaru, C.S. Tamaru, J.P. McVey, and K. Ikuta (eds.) Spawning and maturation of aquatic species, **UJNR Technical Report**, n.28. University of Hawaii Sea Grant College Program, Honolulu, Hawaii. p.109-120, 2000.

- TOLASA, S., CAKLI, S. & OSTERMEYER, U. Determination of astaxanthin and canthaxanthin in salmonid. **European Food Research and Technology**, v.221, p.787-791, 2005.
- TSUSHIMA, M., IKUNO, Y., NAGATA, S., KODAMA, K. & MATSUNO, T. Comparative biochemical studies of carotenoids in catfishes. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.133, p.331-336, 2002.
- TSUSHIMA, M., IKUNO, Y., NAGATA, S., KODAMA, K. & MATSUNO, T. Erratum to “Comparative biochemical studies of carotenoids in catfishes”. [Comp. Biochem. Physiol. B, v.133, p.331-336, 2002]. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.136, p.147-148, 2003.
- UFV. **Normas para redação de teses**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 2p.
- VIDAL-JÚNIOR, M.V. Produção e criação de peixes ornamentais. In: Seminário de Piscicultura da Zona da Mata, 1. 1997. **Anais...** 1997, p.45-57.
- VILLELA, G.G. **Pigmentos animais - Zoocromos**. Academia Brasileira de Ciências (ed.), 1976, 182p.
- WALKER, I. The food spectrum of the cardinal-tetra (*Paracheirodon axelrodi*, Characidae) in its natural habitat. **Acta Amazonica**, v.34, n.1, p.69-73, 2004.
- WANG, Y.J., CHIEN, Y.H. & PAN, C.H. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. **Aquaculture**, v.261, p.641-648, 2006.
- WHITE, D.A., MOODY, A.J., SERWATA, R.D., BOWEN, J., SOUTAR, C., YOUNG, A.J. & DAVIES, S.J. The degree of carotenoid esterification influences the absorption of astaxanthin in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Nutrition**, v.9, p.247-251, 2003.

DIFERENTES FONTES DE PIGMENTOS NATURAIS EM DIETAS PARA O PEIXE ORNAMENTAL ACARÁ-DISCO (*Symphysodon aequifasciata*)

Fabício Pereira Rezende^{1*}, Manuel Vazquez Vidal Júnior², Eduardo Arruda Teixeira Lanna³, Paulo Roberto Cecon³, Paulo César Stringheta³, Rafael Alves Vianna¹

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, IFES

² Universidade Estadual do Norte Fluminense, UENF

³ Universidade Federal de Viçosa, UFV

* Autor para correspondência: frezende@ifes.edu.br

Resumo - Com intuito de avaliar os efeitos de diferentes fontes de pigmentos naturais na nutrição do acará-disco (*Symphysodon aequifasciata*) conduziu-se o presente trabalho fornecendo dietas enriquecidas com extrato oleoso de urucum, cantaxantina, polpa liofilizada de açaí, extrato liofilizado de tomate e uma dieta controle. Ao final do período experimental de 75 dias, nos quais os peixes foram alimentados com as dietas enriquecidas com pigmentos, mensurou-se as características de coloração na pele e de desempenho. Os resultados foram submetidos à análise de variância e ao teste Dunnet ($P < 0,05$) permitindo observar que todas as dietas enriquecidas com pigmentos naturais mostraram efeitos sobre a sobrevivência, o fator de condição de Fulton e a coloração avermelhada da pele nos peixes acará-disco. O uso de dietas enriquecidas com mistura destes ingredientes intensifica a coloração dos peixes.

Palavras-chave: aquicultura, pigmentação, cantaxantina, urucum, açaí, tomate

Abstract - The present work was aimed to evaluate the effects of different sources of natural pigments in the nutrition of Discus (*Symphysodon aequifasciata*) by providing diets enriched with oily annatto extract, canthaxanthin, freeze-dried açaí pulp extract, dried tomato and a control diet. At the end of the trial period of 75 days in which the fish were fed diets enriched with pigments, characteristics of skin color and performance were measured. The results were subjected to analysis of variance and Dunnet test ($P < 0.05$) allowing to observe that all diets enriched with natural pigments showed effects on survival, the Fulton condition factor and reddened skin in discus fish. The use of enriched diets for discus fish with a mixture of those ingredients enhances its coloration.

Keywords: aquaculture, pigmentation, canthaxanthin, annatto, açaí, tomato

Introdução

O mercado da aquicultura ornamental é ávido por novidades, dentre as quais podem ser destacadas, as novas espécies de peixes utilizadas para ornamentação, as novas linhagens e as dietas eficientes para intensificação da pigmentação e da saúde dos peixes. O uso de pigmentos carotenóides na aquicultura apresenta amplas funções, incluindo papel como antioxidante, importante por aumentar a resposta imunológica e melhorar aspectos reprodutivos e de crescimento (SINHA & ASIMI, 2007).

Os pigmentos naturais são produzidos por bactérias, leveduras, algas e vegetais superiores e podem ser encontrados em sementes, folhas, flores, raízes e frutos (RUIZ-RODRIGUES et al., 2008; ABE et al., 2007; MORIEL et al., 2005; OROSA et al., 2005; GOUVEIA & EMPIS, 2003; YUAN et al., 2002; BOUSSIBA, 2000; ARMSTRONG, 1997). Os animais não possuem a capacidade de sintetizar carotenóides e flavonóides, entretanto, conseguem acumular e converter estes compostos obtidos através da alimentação (SALES & JANSSENS, 2003).

Os organismos componentes do zooplâncton podem bioacumular os pigmentos naturais provenientes de sua alimentação a base de fitoplâncton e, posteriormente, servir de fonte alimentar aos peixes cultivados. Entretanto, sob as condições de cultivo intensivo e superintensivo, a utilização de rações contendo pigmentos mostra-se mais efetiva, que o cultivo de microrganismos zooplantônicos para que o piscicultor consiga melhorar a pigmentação da pele dos peixes.

O acará-disco (*Symphysodon* spp.), um peixe ornamental com porte de até 20 cm de diâmetro, é criado em sistemas intensivos e superintensivos e alcança alto valor de mercado. Os preços variam de R\$5,00 a R\$40,00 a unidade, no atacado, em função da linhagem, e no varejo os preços destes mesmos peixes pode alcançar valores entre R\$18,00 e R\$290,00. A expansão do mercado mundial de peixes ornamentais ocorreu devido ao

aumento progressivo no tamanho e na complexidade dos aquários comercializados e atualmente, favorece sobremaneira a expansão da demanda por peixes ornamentais de porte maior, como o acará-disco (VIDAL-JÚNIOR, 2003).

Apesar da recente expressividade da piscicultura ornamental, poucos estudos foram realizados ainda para a elucidação da eficiência de utilização destes ingredientes fontes de pigmentos na nutrição e pigmentação da pele de espécies destinadas ao mercado aquarístico. Experimentos que contribuam para elucidar as vantagens da utilização de ingredientes alternativos, como fontes de pigmentos carotenóides naturais para nutrição, são fundamentais para aumentar sua aplicabilidade na nutrição animal.

Conduziu-se o presente experimento com o intuito de avaliar os efeitos do enriquecimento de rações, com diferentes fontes de pigmentos naturais, para o acará-disco *Symphysodon aequifasciata* linhagem “Super-Red-Marlboro” sobre as características de coloração da pele e de desempenho.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em parceria com piscicultor de peixes ornamentais na cidade de Muriaé-MG, Brasil, no período de Janeiro a Março de 2009. Foram utilizados 50 peixes, distribuídos em aquários de cinco litros, na densidade de dois peixes por litro. Cada peixe correspondia a uma repetição, as quais foram arranjadas sob delineamento inteiramente casualizado para cinco rações com dez repetições cada.

Os peixes ornamentais acará-disco (*Symphysodon aequifasciata*) da linhagem “Super-Red-Marlboro”, com dois meses de idade apresentavam 19,0 mm de comprimento total e $0,26 \pm 0,03$ g de peso. Nessa fase de vida, os peixes ainda não haviam atingido o tamanho para comercialização (entre 45,0 a 55,0 mm) e, em função disso, ainda não apresentavam expressão da coloração característica da linhagem.

As rações utilizadas na experimentação dos acarás-discos apresentam níveis de médios de 33,45% de proteína bruta e 4.581 kcal/kg de energia bruta (Tabela 1). A composição centesimal das dietas experimentais foi determinada por análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (LNA/DZO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os níveis de carboidratos foram calculados segundo metodologia proposta em SNIFFEN et al. (1992).

Tabela 1 - Composição centesimal das rações experimentais, e nível de pigmentos, após enriquecimento com ingredientes fontes de pigmentos, usadas na alimentação do peixe ornamental acará-disco (*Symphysodon aequifasciata*)

Composição Ingredientes fontes de pigmentos	Fonte de pigmento natural				
	Isento	Açaí	Urucum	Cantaxantina	Tomate
Energia bruta (kcal/kg)	4.613	4.375	4.672	4.568	4.679
Proteína bruta (%)	34,28	33,44	33,53	33,91	32,08
Carboidratos (%)	28,71	27,30	28,50	27,62	28,39
Umidade (%)	11,47	15,34	11,35	12,36	12,45
Extrato etéreo (%)	11,44	10,35	12,60	12,15	13,27
Fibra bruta (%)	5,83	5,61	5,78	5,84	5,74
Minerais (%)	8,27	7,96	8,24	8,12	8,07
Ca (%)	1,17	1,24	1,18	1,24	1,24
P (%)	1,18	1,29	1,18	1,27	1,23
Nível do principal pigmento nas rações (mg/kg)	Sem pigmento	Antocinina 2.500	Bixina 4.200	Cantaxantina 500	Licopeno 60

As fontes naturais de pigmentos adicionadas às rações experimentais foram: extrato oleoso de urucum (contendo bixina a 5%), cantaxantina comercial (contendo cantaxantina a 10%), polpa liofilizada de açaí (contendo antocianinas) e extrato liofilizado de tomate (contendo licopeno), os quais foram comparados com a dieta controle (isenta de pigmento).

Estas fontes naturais de pigmentos foram utilizadas em função dos seus baixos custos de obtenção frente à astaxantina e cantaxantina sintéticas, da sua concentração relativamente alta em pigmentos, por serem obtidos em larga escala de frutos e sementes de vegetais superiores e por se tratarem de produtos comerciais de fácil aquisição no mercado brasileiro.

Os pigmentos foram incorporados a uma ração comercial extrusada contendo 33,5% de proteína bruta, o processo de incorporação foi realizado por aspersão dos pigmentos em fase oleosa ou aquosa sobre os peletes de ração, os quais foram colocados em seguida em estufa aquecida 50°C de ventilação forçada para secagem e, posteriormente, conservados em freezer a -20°C.

As dietas experimentais apresentaram os respectivos pigmentos como principais componentes da fração pigmentante: extrato oleoso de urucum (4.200 mg de bixina/kg), extrato liofilizado de açaí (2.500 mg de anticianina/kg), extrato liofilizado de tomate (60 mg de licopeno/kg) e cantaxantina comercial (500 mg de cantaxantina/kg). As análises foram realizadas no Laboratório de Corantes e Pigmentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV. O cálculo dos níveis dos principais pigmentos foi baseado na determinação destes, nos respectivos ingredientes fontes, segundo metodologia proposta em TAKAHASHI et al. (1987).

O arraçoamento dos peixes foi realizado três vezes ao dia, as 8h, 13h e 18h, os resíduos ao fundo dos aquários experimentais foram sifonados diariamente e, uma vez por semana, as paredes internas dos aquários foram limpas com auxílio de uma esponja. No processo de sifonagem, cerca de 20% do volume total de água do aquário foi renovado.

Os peixes foram mantidos sob experimentação por 75 dias em água com pH 7,0, temperatura de 27,0°C e fotoperíodo artificial 12h de luz e 12h de escuro, em aquários com volume útil de cinco litros cada. As condições ideais de qualidade de água para o acará-disco são: temperatura (23 a 32°C), oxigênio (acima de 5 mg/L) e pH (4,2 a 7,2) (FROESE & PAULY, 2009; VIDAL-JÚNIOR, 2003; ALZUGARAY & ALZUGARAY, 1997)

Ao final do período experimental os peixes foram pesados, medidos e fotografados. A característica de desempenho “Fator de condição de Fulton” foi determinada conforme metodologia mencionada em VAZZOLER et al. (1996). Antecedendo a operacionalização

da obtenção das fotografias dos peixes, realizou-se a sedação destes com solução de óleo de cravo em etanol (proporção 1:4) na dosagem de 25 mg/L para insensibilização dos peixes antes do manuseio para facilitar a obtenção das fotografias e biometrias, conforme recomendado por REZENDE (2006).

A partir das fotografias digitais, individuais, mensurou-se a coloração da pele dos peixes utilizando-se os sistemas de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$) e CMYK. O fato dos peixes serem muito jovens 150 dias de vida (30 a 40 mm) impossibilitava a quantificação da cor avermelhada sobre toda a lateral do corpo, uma vez que a expressão da coloração vermelha intensa nessa linhagem de acará-disco só pode ser observada em peixes com idades superiores à 210 dias. Em função disso, os pontos identificados pelos círculos pontilhados com numeração de um a cinco representam as áreas de mensuração da pigmentação da pele dos peixes para compor os valores médios de pigmentação do peixe (Figura 1). Tais áreas foram definidas por serem regiões onde há maior expressão da coloração avermelhada em função da linhagem e da precocidade dos peixes utilizados no experimento.

A quantificação do nível de pigmentação da pele dos peixes acará-disco foi realizada através de fotografias digitais nos padrões de coloração dos sistemas CMYK, que significam a formação de cores a partir de sobreposição de percentuais das cores básicas C (ciano), M (magenta), Y (amarelo) e K (preta), e do sistema Hunter ($L^*a^*b^*$) de coordenadas de coloração ($L = 0$, branco e $L = 100$, preto; $a < 0$, verde e $a > 0$, vermelho; $b < 0$, azul e $b > 0$, amarelo).

Os valores das características de desempenho (peso final, comprimento total, comprimento padrão e sobrevivência) foram mensurados após a obtenção das fotografias com os peixes ainda insensibilizados.

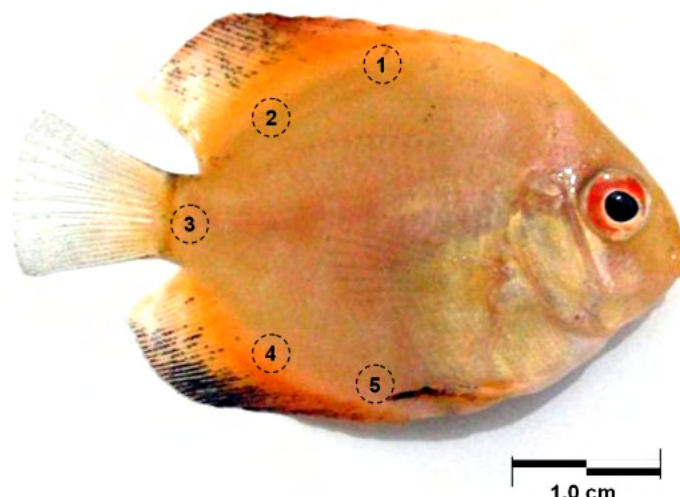


Figura 1 - Esquema de amostragem de coloração na pele do peixe ornamental acará-disco (*Symphysodon aequifasciata*) pela média de cinco áreas (25 pixels quadrados cada) em fotografias de 150 x 200 pixels

Os resultados para as características de desempenho e de coloração foram submetidos às análises de variância e ao teste Dunnet, adotando-se o nível de 5% de probabilidade. Os resultados das características de desempenho: ganho de peso e sobrevivência, foram analisados pelos critérios de análise da estatística descritiva.

Resultados e Discussão

As condições ambientais em que os peixes foram mantidos no período experimental permaneceram sob níveis ótimos. As características de qualidade da água: temperatura ($27,1 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$) e pH ($7,0 \pm 0,2$), ocorridas durante o experimento, encontraram-se dentro da faixa de conforto para a espécie. Apesar de no habitat natural os acarás-discos viverem em águas com baixa dureza e com pH entre 5,0 e 6,0, o que possibilita seu bom desenvolvimento em cativeiro decorre do processo de domesticação e aclimação das linhagens criadas comercialmente há décadas. As linhagens comerciais toleram bem os níveis mais altos de pH e dureza da água. No ambiente de criação, evita-se a oscilação das características de qualidade da água, fator que contribui substancialmente para o

crescimento satisfatório dos peixes destinados ao mercado consumidor.

Apesar da pouca idade e tamanho dos peixes ao final do experimento, a quantificação da pigmentação pela média dos cinco pontos permitiu a mensuração da resposta de pigmentação pela dieta (Tabela 2).

A comparação dos valores médios de pigmentação no sistema CMYK só foi possível de ser realizado com precisão por análises estatísticas após a conversão dos valores em percentuais ($C_{(%)}$, variáveis não-paramétricas) para valores em radianos ($C_{(rad)}$, variáveis paramétricas). A conversão dos valores em percentuais para valores em radianos foi feita pela fórmula: $C_{(rad)} = \arcsen.[C_{(%)}/100]^{0,5}$, conforme VIEIRA (1989) e GOMES (1987).

Observou-se efeito significativo do nível de inclusão dos pigmentos em relação à pigmentação da pele. Todos os ingredientes fontes de pigmentos naturais adicionados às rações experimentais, em seus respectivos níveis, possibilitaram intensificação dos índices de coloração vermelho-amarelado na pele, entretanto, a cantaxantina e o extrato liofilizado de tomate foram os ingredientes mais eficientes na pigmentação vermelho-amarelada da pele do acará-disco linhagem “Super-Red-Marlboro”.

Tabela 2 - Valores médios dos índices de pigmentação nos sistemas CMYK e em coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$) obtidos em fotografias digitais pelo software Adobe PhotoShop CS2®, no peixe acará-disco (*Symphysodon aequifasciata*), em função da fonte de pigmento natural (açaí, urucum, cantaxantina, tomate) adicionado às rações e CV (%). Valores em mesma linha marcados com “*” diferem do tratamento controle (Dunnet, $P < 0,05$).

Índices de coloração	Ingrediente fonte de pigmento natural					CV (%)
	Isento	Açaí	Urucum	Cantaxantina	Tomate	
L	61,4	56,0 *	55,3 *	55,4 *	52,5 *	4,72
a	30,1	28,9	32,1	35,2 *	36,4 *	10,49
b	56,4	55,9	57,9	57,3	56,7	4,51
C	0,383	0,459 *	0,452 *	0,423 *	0,440 *	6,12
M	0,782	0,806	0,829 *	0,846 *	0,871 *	3,81
Y	1,052	1,133 *	1,171 *	1,144 *	1,188 *	3,31
K	0,153	0,256 *	0,252 *	0,232 *	0,267 *	19,17

O efeito de pigmentação observado nos peixes alimentados com as dietas enriquecidas com os diferentes ingredientes fontes de pigmentos naturais serve como indício de possíveis vantagens quando estes ingredientes forem utilizados de maneira conjugada na nutrição de peixes. Os resultados apresentados (Tabela 2) sugerem a possível interação entre os diferentes ingredientes fontes de pigmentos podem ser utilizadas para potencializar a pigmentação da pele do acará-disco. O que pode ser confirmado pela suposição mencionada por STRADI et al. (2001), que apesar de pouco estudadas na nutrição animal, as interações entre diferentes pigmentos naturais demonstram ser mais eficientes à deposição nos animais na forma de conjugados que na forma pura.

A baixa produção de organismos planctônicos em sistemas de criação intensivos e superintensivos impossibilita a bioacumulação de pigmentos carotenóides e flavonóides em níveis suficientes para intensificação da coloração da pele nos peixes destinados à comercialização. Além disso, a presença, de fatores de crescimento encontrados em alimentos vivos, proporciona a obtenção de melhores taxas de crescimento, sobrevivência, eficiência alimentar e melhoria da resposta imunológica, uma vez que, os organismos produzidos como alimentos vivos (*Tubifex* spp., *Brachionus* spp., *Daphnia* spp., *Artemia* spp., *Dendrocephallus* spp., *Moina* spp. e *Mysis* spp.) e utilizados na produção de peixes ornamentais possuem a característica de bioconverter e acumular os pigmentos e nutrientes obtidos da sua alimentação à base de fitoplâncton, além de serem ricos e nutricionalmente equilibrados em ácidos graxos e aminoácidos.

Os resultados demonstram que as possibilidades de utilização de aditivos pigmentantes em rações animais vão além da simples intensificação da pigmentação, aos animais propensos à pigmentação da pele, o que agregaria maior valor na comercialização, conforme observações reportadas por REZENDE et al. (2007). Especialmente, devido às vantagens adicionais que os carotenóides proporcionam, quanto à redução de estresse,

combate aos radicais livres e aumento de resposta imunológica, favorecendo o crescimento, a reprodução e auxiliando no bem-estar animal (SHINDO et al., 2007, WANG et al., 2006, HAMRE et al., 2004, LIMA et al., 2001, BARBOSA et al., 1999).

A utilização de superdosagens de cantaxantina, entretanto, pode apresentar efeito deletério, conforme observações mencionadas sobre o vigor reprodutivo de matrizes de canário-belga com padrão vermelho, alimentados com altos teores de cantaxantina na dieta para manutenção da coloração das penas, fica comprometido já no terceiro ano. Por isso matrizes de canário-belga com padrão vermelho são mantidas sem a suplementação alimentar com cantaxantina na dieta para permanência da longevidade no vigor reprodutivo (BRUSTOLINI, 2010).

As diferenças no grau de intensificação, para as diferentes colorações da pele, se devem a diversidade de rotas metabólicas, bioconversão e bioacumulação para os diferentes pigmentos na nutrição de peixes. Tais características são espécie-específicas, o que explica os diferentes graus de eficiência na utilização dos diferentes pigmentos por diferentes espécies, conforme informações em diversos trabalhos (MORA et al., 2006; MOREIRA et al., 2003; STRADI et al., 2001; TSUSHIMA et al., 2002; BJERKENG et al., 2000; YAMASHITA et al., 1996).

Os resultados das características de desempenho observados nos peixes ao final do experimento encontram-se a seguir (Tabela 3). Observou-se diferenças significativas (Dunnet, $P < 0,05$) para fator de condição de Fulton e sobrevivência.

Tabela 3 - Valores médios das características de desempenho nos peixes acará-disco (*Symphysodon aequifasciata*), em função da fonte de pigmento natural (açai, urucum, cantaxantina e tomate) adicionada às rações e CV (%). Valores em mesma linha marcados com “*” diferem do tratamento controle (Dunnet, $P < 0,05$).

Características de desempenho	Ingrediente fonte de pigmento natural					CV (%)
	Isento	Açaí	Urucum	Cantaxantina	Tomate	
Comprimento total (mm)	36,8	35,0	35,2	38,9	39,2	10,53
Comprimento padrão (mm)	28,2	26,3	27,0	30,0	30,1	10,84
Relação comprimento padrão/ comprimento total	0,76	0,77	0,75	0,77	0,77	1,54
Fator de condição de Fulton	2,75	2,23*	2,21*	2,24*	2,30*	7,14
Peso médio ao final do período experimental (g)	1,39	1,18	1,20	1,53	1,70	33,55
Ganho de peso médio (g)	1,13	0,92	0,94	1,27	1,44*	18,12
Eficiência de crescimento em relação ao tratamento controle (%)	1,00	0,85	0,86	1,10	1,22	0,00
Sobrevivência (%)	0,60	0,80*	1,00*	1,00*	0,90*	0,00

Efeito positivo dos tratamentos foi observado, em relação ao ganho de peso, para os peixes acará-disco alimentados com rações enriquecidas por extrato liofilizado de tomate (31%) e por cantaxantina comercial (14%), e efeitos negativos àqueles alimentados com rações enriquecidas por extrato oleoso de urucum (-19%) e por polpa liofilizada de açaí (-21%), quando comparados ao tratamento controle.

Entre as possíveis hipóteses que ajudariam a explicar os resultados obtidos com a superdosagem destes ingredientes, nas respectivas dietas, podem estar relacionadas à redução da palatabilidade das rações e com isso ter favorecido a redução no consumo e o baixo aporte de pigmentos alimentares à bioconversão e deposição na pele dos peixes alimentados com dietas enriquecidas com extrato de açaí e extrato de urucum.

A sobrevivência foi afetada, positivamente, pela inclusão dos quatro ingredientes fontes de pigmentos naturais: polpa liofilizada de açaí, extrato liofilizado de tomate, cantaxantina comercial e extrato oleoso de urucum; mesmo em contradição aos resultados observados ao ganho de peso. A hipótese com melhor justificativa estes resultados pode estar relacionada aos efeitos funcionais dos compostos bioativos presentes nestes ingredientes, de origem vegetal, utilizados como fontes de pigmentos nas rações.

Conclusões

O enriquecimento das dietas para acará-disco com os ingredientes fontes de pigmentos naturais testados: extrato oleoso de urucum, extrato liofilizado de açaí, extrato liofilizado de tomate e cantaxantina; possibilitou aparente melhoria do bem-estar, aumento da sobrevivência e das características de desempenho, além da intensificar a coloração vermelha da pele dos peixes. A dieta enriquecida com extrato liofilizado de tomate foi a que apresentou melhores resultados.

Referências

- ABE, K., HATTORI, H. & HIRANO, M. Accumulation and antioxidant activity of secondary carotenoids in the aerial microalga *Coelastrella striolata* var. *multistriata*. **Food Chemistry**, v.100, p.656-661, 2007.
- ALZUGARAY, D. & ALZUGARAY, C. (eds.) **Peixes de aquário**. São Paulo: Editora Três Ltda. 1997. 378p.
- ARMSTRONG, G. A. Genetics of eubacterial carotenoid biosynthesis: a colorful tale. **Annu. Rev. Microbiol.**, v.51, p.629-659, 1997.
- BARBOSA, M. J., MORAIS, R. & CHOUBERT, G. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.176, p.331-341, 1999.
- BJERKENG, B., HATLEN, B. & JOBLING, M. Astaxanthin and its metabolites idoxanthin and crustaxanthin in flesh, skin, and gonads of sexually immature and maturing Arctic charr (*Salvelinus alpinus* (L.)). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.125, p.395-404, 2000.
- BOUSSIBA, S. Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: Cellular physiology and stress response. **Physiologia Plantarum**, v.108, p.111-117, 2000.
- BRUSTOLINI, P.C. Vigor reprodutivo de matrizes de canário-belga alimentados com dietas suplementadas com cantaxantina. [comunicação pessoal em 26-mar-2010].
- FROESE, R. & PAULY, D. (eds.) **FishBase**. Disponível em: <<http://www.fishbase.org>>. Acesso em: 17 dez. 2009.
- GOMES, F.P. **A estatística moderna na pesquisa agropecuária**. Piracicaba: Potafos, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo. (3.ed., revista e ampliada), 1987, 162p.
- GOUVEIA, L. & EMPIS, J. Relative stabilities of microalgal carotenoids in microalgal extracts, biomass and fish feed: effect of storage conditions. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.4, p.227-233, 2003.
- HAMRE, K., CHRISTIANSEN, R., WAAGBØ, R., MAAGE, A., TORSTENSEN, B. E., LYGREN, B., LIE, Ø., WATHNE, E. & ALBREKTSEN, S. Antioxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.): effects on growth performance and fillet quality. **Aquaculture Nutrition**, v.10, p.113-123, 2004.
- LIMA, L. R. P., OLIVEIRA, T. T., NAGEM, T. J., PINTO, A. S., STRINGHETA, P. C., TINOCO, A. L. A. & SILVA, J. F. Bixina, norbixina e quercetina e seus efeitos no metabolismo lipídico de coelhos. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.38, n.4, p.196-200, 2001.
- MORA, G. I., ARREDONDO-FIGUEROA, J. L., PONCE-PALAFIX, J. T., BARRIGA-SOSA, I. D. L. A. & VERNON-CARTER, J. E. Comparison of red chilli (*Capsicum annuum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet pigmentation. **Aquaculture**, v.258, p.487-495, 2006.
- MOREIRA, F. P. M., COUTINHO, V., MONTANHER, A. B. P., CARO, M. S. B., BRIGHENTE, I. M. C. & PIZZOLATTI, M. G. Flavonóides e triterpenos de *Baccharis pseudotenuifolia* - bioatividade sobre *Artemia salina*. **Quim. Nova**, v.26, n.3, p.309-311, 2003.
- MORIEL, D. G., CHOCIAI, M. B., MACHADO, I. M. P., FONTANA, J. D. & BONFIM, T. M. B. Effect of feeding methods on the astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* in fed-batch Process. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, n.3, p.397-401, 2005.

- OROSA, M., FRANQUEIRA, D., CID, A. & ABALDE, J. Analysis and enhancement of astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis*. **Bioresource Technology**, v.96, p.373-378, 2005.
- REZENDE, F. P., VIDAL JUNIOR, M. V., MENDONÇA, P. P., ANDRADE, D. R. Níveis de bixina na ração para *Trichogaster leeri* e efeitos na cor da pele dos peixes ornamentais alimentados por 28 dias. **Resumos do Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes, 2**. Botucatu - SP - Brasil, 2007, 4p. D.:07.01-51.pdf, 2007. v.C
- REZENDE. Níveis de bixina na ração e de eugenol na água de transporte para o peixe ornamental *Trichogaster leeri*. Dissertação. Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2006, 75p.
- RUIZ-RODRIGUEZ, A., MARÍN, F. R., OCAÑA, A. & SOLER-RIVAS, C. Effect of domestic processing on bioactive compounds. **Phytochemistry Reviews**, v.7, p.345-384, 2008.
- SALES, J. & JANSSENS, G. P. J. Nutrient requirements of ornamental fish. **Aquat. Living Resour.**, v.16, p.533-540, 2003.
- SHINDO, K., KIKUTA, K., SUZUKI, A., KATSUTA, A., KASAI, H., YASUMOTO-HIROSE, M., MATSUO, Y., MISAWA, N. & TAKAICHI, S. Rare carotenoids, (3R)-saproxanthin and (3R,2'S)-myxol, isolated from novel marine bacteria (Flavobacteriaceae) and their antioxidative activities. **Appl Microbiol Biotechnol**, v.74, p.1350-1357, 2007.
- SINHA, A. & ASIMI, O.A. China rose (*Hybiscus rosasinenses*) petals: a potent natural carotenoid source for goldfish (*Carassius auratus* L.). **Aquaculture Research**, v.38, p.1123-1128, 2007.
- SNIFFEN, C. J., O'CONNOR, J. D., VAN SOEST, P. J., FOX, D. G. & RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.
- STRADI, R., PINI, E. & CELENTANO, G. Carotenoids in bird plumage: the complement of red pigments in the plumage of wild and captive bullfinch (*Pyrrhula pyrrhula*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.128, p.529-535, 2001.
- TAKAHASHI, M.Y., BARBOSA, A.M.S., BARRA, A.J., OLIVEIRA, A.F.A., MANCINELLI, C., BREIN, D.R., RODRIGUEZ-AMAYA, B.D., GERUMEL, E.J., ARIMA, H.K., CONSENTINO, H.M., ZIMMER, K., ENOSHITA, L., ARAUJO, M.J., RUSIG, O., RUIZ, S.M. Monografias de corantes naturais para fins alimentícios: padrões de identidade e qualidade. 2ª Edição atualizada e ampliada. São Paulo, Brasil: Patrocinado Pelo Sanrisil, 1987. 118p.
- TSUSHIMA, M., IKUNO, Y., NAGATA, S., KODAMA, K. & MATSUNO, T. Comparative biochemical studies of carotenoids in catfishes. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.133, p.331-336, 2002.
- VAZZOLER, A.E.A.M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá-PR: Universidade Estadual de Maringá, 1996, 169 p.
- VIDAL-JÚNIOR, M.V. Acará disco, o rei dos aquários. **Revista Panorama da Aquicultura**, v.13, n.80, p.35-37, 2003.
- VIEIRA, S., HOFFMANN, R. **Estatística experimental**. São Paulo: Editora Atlas, 1989. 179p.
- WANG, Y. J., CHIEN, Y. H. & PAN, C. H. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. **Aquaculture**, v.261, p.641-648, 2006.
- YAMASHITA, E., ARAI, S. & MATSUNO, T. Metabolism of xanthophylls to vitamin A and new apocarotenoids in liver and skin of black bass, *Micropterus salmoides*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.113, p.485-489, 1996.
- YUAN, J. P., CHEN, F., LIU, X. & LI, X. Z. Carotenoid composition in the green microalga *Chlorococcum*. **Food Chemistry**, v.76, p.319-325, 2002.

COMPARAÇÃO ENTRE METODOLOGIAS PARA AVALIAÇÃO DE INTENSIDADE DE PIGMENTAÇÃO COMO FERRAMENTA NA NUTRIÇÃO E MELHORAMENTO DE PEIXES

Fabício Pereira Rezende^{1*}, Eduardo Arruda Texeira Lanna¹, Paulo Roberto Cecon², Paulo César Stringheta³, Manuel Vazquez Vidal Júnior⁴, Rafael Alves Viana¹

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, IFES

² Departamento de Estatística, UFV

³ Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFV

⁴ Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, UENF

* Autor para correspondência: frezende@ymail.com

Resumo – Com intuito de disponibilizar uma ferramenta eficiente na quantificação da intensidade de coloração em peixes, comparou-se a eficiência de utilização de quatro metodologias destinadas a este fim. A colisa-sangue (*Colisa lalia*) foi a espécie utilizada como modelo por apresentar expressão de cores vermelho-amareladas. Dentre os métodos avaliados, tanto o tradicional utilizando-se o colorímetro portátil no sistema Hunter ($L^*a^*b^*$), quanto a quantificação usando software nos sistemas Hunter e CMYK, a partir de regiões de coloração específicas predefinidas, mostram-se como ferramentas seguras para quantificação de intensidade de pigmentação na pele de peixes. Semelhantemente à utilização do colorímetro portátil em peixes salmonídeos ou caracídeos destinados a corte. O que permite maior abrangência da sua utilização em experimentos nas áreas da nutrição, seleção ou melhoramento genético voltados para a melhoria da qualidade dos peixes ornamentais, destinados ao mercado consumidor.

Palavras-chaves: aquicultura, carotenóide, pigmento, método, coloração, cor

Abstract - In order to provide an efficient tool for quantification of staining intensity in fish, it was compared the utilization efficiency of four methodologies to do it. The dwarf-red gouramy (*Colisa lalia*) was the species used as a model for presenting the expression of colors red-yellow. Among the methods evaluated, both the traditional, using the portable colorimeter in the Hunter system ($L^*a^*b^*$), as the quantification using the software in Hunter and CMYK systems from predefined regions of specific coloration, shown as reliable tools to quantify the pigmentation intensity in the skin of fish. Similar to the use of

portable colorimeter in salmonid fishes or characids intended to consume. This allows greater scope for their use in experiments in the areas of nutrition, selection or breeding focused on improving the quality of ornamental fish for the consumer market.

Keywords: aquaculture, carotenoid, pigment, method, coloration, color

Introdução

O mercado de peixes ornamentais, a cada dia, torna-se mais exigente quanto à qualidade dos peixes. Alguns dos requisitos exigidos para que os peixes tenham melhor aceitação pelo mercado consumidor são a sanidade, a intensidade de coloração e a padronização de tamanho e vigor (REZENDE, 2006).

Na intenção de melhorar a qualidade dos peixes destinados ao mercado consumidor, os piscicultores, intuitivamente utilizam adição de pigmentos naturais em dietas para intensificar a coloração dos peixes cultivados sob altas densidades e alimentados, principalmente, com ração, as quais são pobres em pigmentos (CUNHA et al., 2009).

Pesquisadores em diversos países têm realizado trabalhos que tentam melhorar a qualidade dos peixes produzidos pela aquicultura ornamental e de corte, excepcionalmente através de trabalhos na área de nutrição (BARON et al., 2008; WANG et al., 2006; SINHA & ASIMI, 2007; INGLE DE LA MORA et al., 2006; GOUVEIA & REMA, 2005; BOWEN et al., 2002).

Experimentos que contribuam para elucidar as vantagens da utilização de ingredientes alternativos, como fontes de pigmentos carotenóides naturais para nutrição, são fundamentais para aumentar sua aplicabilidade na nutrição animal.

Com objetivo de disponibilizar uma ferramenta segura na quantificação e determinação da intensidade de coloração na pele de peixes ornamentais, comparou-se a eficiência de utilização de quatro metodologias, com intuito de identificar qual ou quais métodos poderiam ser empregados com maior eficiência.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, na cidade de Viçosa/MG - Brasil, no período de Outubro de 2006 a Fevereiro de 2010. Foram utilizados para a avaliação e validação dos métodos, os resultados de sete experimentos, nos quais os 1.980 peixes da espécie (*Colisa lalia*) foram alimentados com dietas enriquecidas com ingredientes fontes de pigmentos naturais (extrato oleoso de urucum, polpa liofilizada de açaí, polpa liofilizada de tomate, levedura *Xanthophyllomyces dendrorhous* liofilizada e cantaxantina comercial) em diferentes níveis para intensificação da coloração da pele.

A metodologia tradicional, com o uso de colorímetro portátil para determinação da intensidade de pigmentação na pele de peixes, foi comparada com quatro maneiras de obtenção de coloração utilizando-se software para quantificação dos níveis de coloração através de fotografias digitais, especificamente o Adobe PhotoShop CS2[®].

As demais metodologias testadas baseiam-se na quantificação da pigmentação da pele a partir de fotografias digitais utilizando-se software para a quantificação da intensidade de cores em regiões da pele previamente definidas. Dentre as quais, se quantificou as colorações da pele dos peixes utilizando os sistemas de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$) e o sistema de cores no padrão CMYK (HUNT, 1977).

No sistema de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$), L representa brilho (0, preto e +100, branco), a (-100, verde e +100, vermelho) e b (-100, azul e +100, amarelo). No sistema de cores CMYK, as cores são decompostas em percentuais das cores básicas: ciano (C), magenta (M), amarelo (Y) e preto (Y). Os índices de coloração, $C_{(\%)}$, são expressos em percentuais e representam variáveis não-paramétricas devendo ser convertidas em variáveis paramétricas em radianos, $C_{(\text{rad})}$, as quais poderão ser utilizadas em testes estatísticos. A conversão dos valores médios percentuais das cores

no sistema CMYK para valores em radianos foi feito com uso da fórmula:
 $C_{(rad)} = \arcsen.(C_{(%)}/100)^{0,5}$, (VIEIRA, 1989; GOMES, 1987).

Através das similaridades entre as equações de regressão linear, escolhidas com base nos coeficientes de determinação ($R^2 = SQ_{Regressão}/SQ_{Tratamento}$) e nos fenômenos biológicos, por análises de variância utilizando-se o teste F ao nível de 5% de probabilidade, definiu-se quais os métodos mais adequados.

Resultados e Discussão

Os resultados de coloração no sistema de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$), obtidos por colorímetro portátil Minolta-M10 nos peixes *in vivo*, compreendem a média de cinco pontos de amostragem para cada peixe, mensurados em todos os peixes de cada tratamento, conforme esquema (Figura 1) apresentado a seguir (Tabela 1).

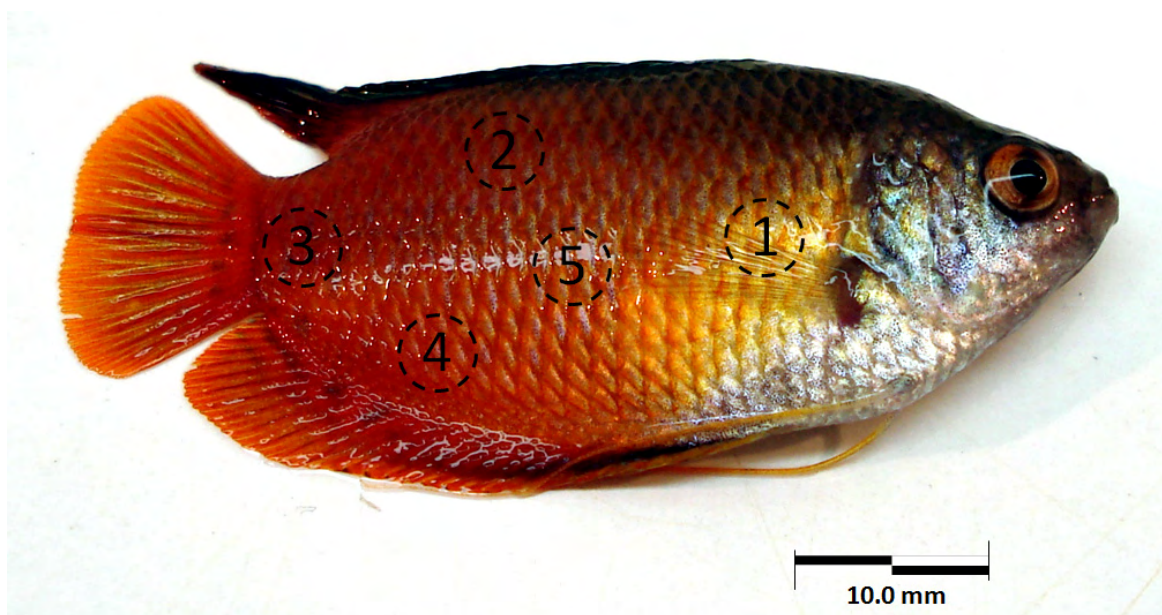


Figura 1 - Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*) *in vivo* com base em cinco pontos (com 50,3 mm² cada) identificados com círculos numerados de um a cinco, usando-se colorímetro portátil Konika Minolta-M10

Tabela 1 - Valores médios dos índices de coloração no sistema (L*a*b*), obtidos por colorímetro portátil, Minolta-M10, nos peixes *in vivo*, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2)

Índices de coloração	Nível de cantaxantina (X) adicionado à dieta (mg/Kg)					CV (%)	Equações de regressão: $\hat{Y} =$
	0	44,4	94,2	137,0	180,0		
L	48,5	48,0	47,2	46,7	44,7	3,75	$48,8 - 0,0134.X$ ($r^2 = 0,91$)
a	8,7	9,5	11,8	12,1	14,2	22,65	$8,5 + 0,0209.X$ ($r^2 = 0,96$)
b	14,3	14,5	14,3	13,5	14,0	26,21	14,1

Nos peixes *in vivo* foram mensurados em cinco pontos com 50,3 mm² cada, os quais se encontram indicados por círculos pontilhados, numerados de um a cinco, sobre a pele (Figura 1).

Nas demais metodologias avaliadas para comparação, os índices de coloração foram mensurados através de fotografias digitais (REZENDE, 2006), utilizando-se software para a quantificação em três regiões de coloração previamente definidas (Figura 2; Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6).

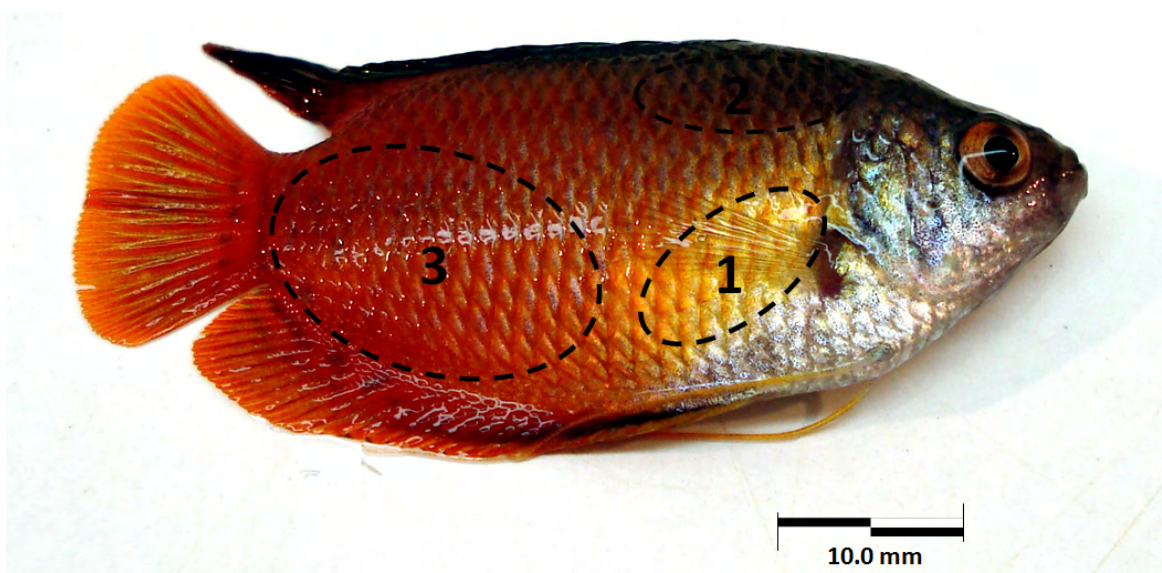


Figura 2 - Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*) com base em regiões delimitadas pelos círculos pontilhados e numerados de um a três, onde a média de três pontos foi utilizada na quantificação da coloração em cada região, a partir de fotografias digitais, utilizando-se software Adobe PhotoShop CS2®

Em cada região foram cotados três pontos aleatoriamente, cada ponto correspondia a uma área de 25 pixels quadrados. As fotografias, com resolução inicial de 12,1 megapixels passaram pelo equilíbrio de branco e foram reduzidas ao tamanho de 140 x 250 pixels, posteriormente, realizou-se a mensuração dos pontos.

Tabela 2 - Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no sistema CMYK obtidos de fotografias digitais do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*) pelo software Adobe PhotoShop CS2®, representados pelas médias aritméticas de três regiões de coloração distintas, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2)

Índices de coloração	Nível de cantaxantina (X) adicionado à dieta (mg/Kg)					CV (%)	Equações de regressão $\hat{Y} =$
	0	44,4	94,2	137,0	180,0		
L	40,2	37,3	38,0	35,3	35,8	5,56	$39,5 - 0,0168.X$ ($r^2 = 0,78$)
a	7,9	7,5	8,8	11,0	12,1	38,76	9,4
b	13,8	17,8	18,8	20,9	21,9	37,84	18,7
C	0,652	0,687	0,669	0,678	0,685	4,52	0,674
M	0,740	0,774	0,777	0,825	0,830	4,70	$0,743 + 0,0004.X$ ($r^2 = 0,93$)
Y	0,819	0,888	0,890	0,939	0,944	7,53	$0,836 + 0,0005.X$ ($r^2 = 0,79$)
K	0,581	0,604	0,594	0,615	0,612	5,51	0,601

Os resultados de coloração obtidos, separadamente, nas três regiões distintas (Tabelas 3, 4 e 5), encontram-se representados pela média de pontos na área delimitada como região um (Tabela 3), a média dos pontos na região dois (Tabela 4) e a média dos pontos na região três (Tabela 5).

Tabela 3 - Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no sistema CMYK obtidos de fotografias digitais do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*) pelo software Adobe PhotoShop CS2®, representados pela área de coloração definida como região um, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2)

Índices de coloração	Nível de cantaxantina (X) adicionado à dieta (mg/kg)					CV (%)	Equações de regressão $\hat{Y} =$
	0	44,4	94,2	137,0	180,0		
L	86,5	78,5	80,5	73,9	72,5	4,60	$84,9 - 0,0504.X$ ($r^2 = 0,85$)
a	0,0	0,5	2,0	5,0	6,5	86,30	$-0,7 + 0,0269.X$ ($r^2 = 0,94$)
b	20,2	30,5	32,6	36,1	35,9	47,22	31,0
C	0,371	0,467	0,420	0,476	0,514	10,58	$0,391 + 0,0005.X$ ($r^2 = 0,71$)
M	0,353	0,461	0,455	0,547	0,566	11,51	$0,374 + 0,0008.X$ ($r^2 = 0,91$)
Y	0,576	0,733	0,732	0,808	0,820	17,66	$0,621 + 0,0009.X$ ($r^2 = 0,84$)
K	0,013	0,071	0,050	0,097	0,122	49,50	$0,022 + 0,0004.X$ ($r^2 = 0,84$)

O comportamento dos valores, mensurados para os índices de coloração obtidos, separadamente, em cada região predefinida nas fotografias, mostra ser uma forma de indicador para avaliação da intensidade de pigmentação, uma vez que a região dois (Tabela 4) não apresentou diferenças significativas independentemente do tipo de pigmento natural e do nível adicionado à dieta. A inclusão da região dois na média (Tabela 2) funciona como fator de aumento do erro experimental, haja vista influenciar negativamente os resultados observados separadamente para as regiões um (Tabela 3) e três (Tabela 5), quando usadas no cálculo da média.

Tabela 4 - Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no sistema CMYK obtidos de fotografias digitais do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*) pelo software Adobe PhotoShop CS2®, representados pela área de coloração definida como região dois, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2)

Índices de coloração	Nível de cantaxantina (X) adicionado à dieta (mg/kg)					CV (%)	Equações de regressão $\hat{Y} =$
	0	44,4	94,2	137,0	180,0		
L	7,9	8,5	10,0	8,9	9,6	22,98	9,0
a	0,5	-2,1	-3,6	-2,2	-2,0	-135,25	-1,9
b	0,3	0,6	1,6	1,7	3,2	253,59	1,1
C	0,934	0,953	0,956	0,944	0,939	3,32	0,946
M	0,905	0,880	0,861	0,875	0,870	2,97	0,878
Y	0,867	0,878	0,890	0,895	0,900	2,69	0,886
K	0,989	0,983	0,963	0,983	0,978	2,54	0,979

Tabela 5 - Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no sistema CMYK obtidos de fotografias digitais do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*) pelo software Adobe PhotoShop CS2®, representados pela área de coloração definida como região três, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2)

Índices de coloração	Nível de cantaxantina (X) adicionado à dieta (mg/kg)					CV (%)	Equações de regressão $\hat{Y} =$
	0	44,4	94,2	137,0	180,0		
L	26,2	24,9	23,4	23,2	25,2	14,98	24,6
a	23,1	24,0	27,0	30,2	31,8	24,26	27,2
b	21,1	22,4	22,3	24,8	26,8	25,66	23,5
C	0,650	0,642	0,631	0,615	0,602	6,55	0,628
M	0,962	0,981	1,014	1,054	1,054	4,64	0,962 + 0,0004.X ($r^2 = 0,94$)
Y	1,014	1,053	1,049	1,114	1,111	7,17	1,068
K	0,742	0,759	0,769	0,764	0,735	9,25	0,754

Dentre os métodos avaliados e comparados, tanto o tradicional utilizando-se o colorímetro portátil como mencionado em diversos trabalhos (CHATZIFOTIS et al., 2005; NICKELL & BROMAGE, 1998a,b; GOUVEIA & REMA, 2003), quanto a quantificação usando software a partir de fotografias digitais, mostram-se como excelentes ferramentas para determinar a intensidade de coloração da pele de peixes ornamentais.

Entretanto, ressalta-se que os melhores resultados obtidos, na quantificação a partir de fotografias, são alcançados quando há a determinação de áreas com coloração específica (Figura 2; Tabela 6). Caso opte pela utilização de valores médios, a área que não possibilitar a diferenciação com significância estatística para as intensidades de coloração desejada, exemplo a cor azul na região dois (Tabela 4) deverá ser desconsiderada no cálculo dos valores médios.

Tabela 6 - Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no sistema CMYK obtidos de fotografias digitais do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*) pelo software Adobe PhotoShop CS2®, representados pelas médias aritméticas das áreas de coloração distintas definidas como regiões um e três, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2)

Índices de coloração	Nível de cantaxantina (X) adicionado à dieta (mg/kg)					CV (%)	Equações de regressão $\hat{Y} =$
	0	44,4	94,2	137,0	180,0		
L	56,4	51,7	52,0	48,6	48,8	4,57	55,1 -0,0281.X ($r^2 = 0,84$)
a	11,6	12,3	14,5	17,6	19,2	29,14	10,9 +0,0316.X ($r^2 = 0,97$)
b	20,6	26,4	27,5	30,5	31,3	37,44	27,3
C	0,527	0,561	0,535	0,549	0,560	6,12	0,546
M	0,694	0,736	0,748	0,797	0,806	4,44	0,699 +0,0004.X ($r^2 = 0,96$)
Y	0,798	0,884	0,881	0,941	0,950	10,05	0,818 +0,0006.X ($r^2 = 0,88$)
K	0,514	0,527	0,532	0,533	0,517	8,73	0,525

Os resultados obtidos com os métodos selecionados (Tabelas 1 e 6) possibilitam estabelecer correlações de compatibilidade entre os valores médios mensurados por esses dois métodos, através da determinação do grau de compatibilidade entre os índices das equações de regressão: $\hat{Y}_{L(\text{MINOLTA})} = 1,260.\hat{Y}_{L(\text{SOFTWARE})}$; $\hat{Y}_{a(\text{MINOLTA})} = 1,197.\hat{Y}_{a(\text{SOFTWARE})}$ e $\hat{Y}_{b(\text{MINOLTA})} = 0,756.\hat{Y}_{b(\text{SOFTWARE})}$; onde $\hat{Y}_{L(\text{MINILTA})}$ significa o valor obtido pela equação de regressão para brilho no sistema de coordenadas Hunter (L*) obtido com colorímetro portátil, e respectivamente o $\hat{Y}_{b(\text{SOFTWARE})}$, o valor obtido pela equação de regressão para a coordenada verde-vermelho no sistema Hunter (b*) obtido a partir de fotografia digital com uso de software.

A utilização de ambos os métodos possibilita a quantificação eficiente da intensidade de pigmentação da pele de peixes. A metodologia baseada em fotografias digitais, semelhantemente, à utilização do colorímetro portátil, também pode ser aplicada para mensuração da coloração, em peixes salmonídeos ou caracídeos, destinados ao corte, conforme método utilizado por CHOUBET & STOREBAKKEN (1989).

A validação destes dois métodos permite maior abrangência na utilização em experimentos nas áreas da nutrição, seleção ou melhoramento genético voltados à melhoria da qualidade dos peixes ornamentais destinados ao mercado consumidor.

Apesar da eficiência dos dois métodos, sugere-se a comparação dos resultados obtidos com estes, pela percepção de cores realizadas por pessoas a olho nu, na forma de um teste de painel, utilizando teste Qui-quadrado nas análises estatísticas, com finalidade de validar os dois métodos em relação às percepções sensoriais humanas.

Conclusões

A quantificação de coloração pela utilização do método tradicional, no sistema de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$) mensurada por colorímetro portátil na pele dos peixes vivos, ou o método usando fotografias digitais nos sistemas de coordenadas Hunter ou CMYK (em radianos) a partir de regiões de coloração específicas predefinidas, mostram-se como ferramentas confiáveis para avaliação de intensidades de coloração em peixes. A semelhança entre os dois métodos de forma segura em trabalhos de nutrição e melhoramento visando a intensificação de cores em peixes.

Referências

- BARON, M., DAVIES, S., ALEXANDER, L., SNELGROVE, D. & SLOMAN, K.A. The effect of dietary pigments on the coloration and behaviour of flame-red dwarf gourami, Colisa lalia. **Animal Behaviour**, v.75, p.1041-1051, 2008.
- BOWEN, J., SOUTAR, C., SERWATA, R.D., LAGOCKI, S., WHITE, D.A., DAVIES, S.J. & YOUNG, A.J. Utilization of (3S,3'S)-astaxanthin acyl esters in pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v.8, p.59-68, 2002.
- CHATZIFOTIS, S., PAVLIDIS, M., JIMENO, C.D., VARDANIS, G., STERIOTI, A. & DIVANACH, P. The effect of different carotenoid sources on skin coloration of cultured red porgy (*Pagrus pagrus*). **Aquaculture Research**, v.36, p.1517-1525, 2005.
- CHOUBERT, G. & STOREBAKKEN, T. Dose response to astaxanthin and canthaxanthin colouring of rainbow trout fed various dietary carotenoids concentrations. **Aquaculture**, v.81, p.69-77, 1989.
- CUNHA, P.S.L., LANNA, E.A.T., BASTOS, R.K.X., FREITAS, L.M. & REZENDE, F.P. Uso de biossólido como estratégia de fertilização da água para produção aquícola. **Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales**, v.2, p.56-64, 2009.
- GOMES, F.P. **A estatística moderna na pesquisa agropecuária**. Piracicaba: Potafos, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo. (3.ed., revista e ampliada), 1987, 162p.
- GOUVEIA, L. & REMA, P. Effect of microalgal biomass concentration and temperature on ornamental

- goldfish (*Carassius auratus*) skin pigmentation. **Aquaculture Nutrition**, v.11, p.19-23, 2005.
- GOUVEIA, L., REMA, P., PEREIRA, O. & EMPIS, J. Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass. **Aquaculture Nutrition**, v.91, p. 123-129, 2003.
- HUNT, R.W.G. The specification of colour appearance. 1. Concepts and terms. **Colour Research Applications**, v.2, p.55-68, 1977.
- INGLE DE LA MORA, G., ARREDONDO-FIGUEROA, J.L., PONCE-PALAFOX, J.T., BARRIGASOCA, I.D.L.A. & VERNON-CARTER, J.E. Comparison of red chilli (*Capsicum annuum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet pigmentation. **Aquaculture**, v.258, p.487-495, 2006.
- NICKELL, D.C. & BROMAGE, N.R. The effect of dietary lipid level on variation of flesh pigmentation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.161, p.237-251, 1998b.
- NICKELL, D.C. & BROMAGE, N.R. The effect of timing and duration of feeding astaxanthin on the development and variation of fillet colour and efficiency of pigmentation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.169, p.233-246, 1998a.
- REZENDE, F. P. **Níveis de bixina na ração e de eugenol na água de transporte para o peixe ornamental *Trichogaster leeri***. 2006. 75f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal). 2006. UENF, Campos dos Goytacazes.
- SINHA, A. & ASIMI, O. A. China rose (*Hibiscus rosasinensis*) petals: a potent natural carotenoid source for goldfish (*Carassius auratus* L.). **Aquaculture Research**, v.38, p.1123-1128, 2007.
- VIEIRA, S., HOFFMANN, R. **Estatística experimental**. São Paulo: Editora Atlas, 1989. 179p.
- WANG, Y.J., CHIEN, Y.H. & PAN, C.H. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. **Aquaculture**, v.261, p.641-648, 2006.

CANTAXANTINA COMO ADITIVO EM RAÇÕES PARA COLISA-SANGUE

(*Colisa lalia*)

Fabício Pereira Rezende^{1*}, Eduardo Arruda Texeira Lanna², Théa Mirian Medeiros Machado², Paulo César Brustolini², Paulo Roberto Cecon³, Patrícia de Souza Lima Cunha²

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, IFES

² Departamento de Zootecnia, UFV

³ Departamento de Estatística, UFV

* Autor para correspondência: frezende@ymail.com

Resumo - Com intuito de avaliar os efeitos do carotenóide cantaxantina como aditivo na nutrição de colisa sangue, 175 peixes com peso inicial de $1,75 \pm 0,66$ g e 70 dias de vida, foram alimentados com cinco dietas (0, 4,6, 9,1, 13,7 e 18,2 mg/kg) com cinco repetições sob delineamento inteiramente casualizado. Os resultados possibilitam afirmar que a espécie metaboliza e bioacumula o carotenóide cantaxantina, uma vez que, mesmo a baixos níveis de suplementação na dieta, 18,2 mg/kg, houve aumento na pigmentação amarela da pele em 11,9%. A pigmentação amarela aumentou de forma linear conforme a equação, $\hat{Y} = 8,2 + 0,0538.X$ ($r^2 = 0,74$). A suplementação de cantaxantina possibilitou a intensificação da coloração amarela na pele do peixe. O acréscimo de cantaxantina reduziu o consumo de ração sem afetar a conversão alimentar e o ganho de peso.

Palavras-chaves: desempenho, carotenóide, *Colisa lalia*, coloração, peixe ornamental, pigmento

Abstract - In order to evaluate the effects of the carotenoid canthaxanthin as an additive in the nutrition of dwarf-red gouramy, 175 fish with initial weight of 1.75 ± 0.66 g and 70 days of life, were fed with five diets (0, 4.6, 9.1, 13.7 and 18.2 mg/kg) with five replicates in a randomized design. The results allow to state that the species metabolize and bioaccumulate the carotenoid canthaxanthin, since, even at low levels of supplementation in the diet, 18.2 mg/kg, there was an increase in yellow pigmentation of the skin in 11.9%. The yellow pigmentation increased linearly according to the equation, $\hat{Y} = 8.2 + 0.0538.X$ ($r^2 = 0.74$). Supplementation with canthaxanthin allowed the intensification of yellow skin of the fish. The addition of canthaxanthin reduced food intake without affecting feed conversion and weight gain.

Keywords: performance, carotenoid, *Colisa lalia*, color, ornamental fish, pigment

Introdução

Os carotenóides atuam como agentes terapêuticos e preventivos, como antioxidante, por sua habilidade em reagir com oxigênio livre e combater radicais livres, por este motivo o consumo de pigmentos diminui os riscos de doenças degenerativas e cardiovasculares. A exploração das funções benéficas dos carotenóides naturais é aplicável à agregação de valor na nutrição, alimentos e tecnologia farmacêutica (STEPNOWSKI et al., 2004).

Os tecidos animais (truta, salmão e frutos-do-mar) têm alguns tipos similares de carotenóides como cantaxantina, astaxantina e zeaxantina, mas a maioria deles transforma estes carotenóides em retinol ou vitamina A (encontrados em ovos, leite e fígado). Em organismos não carotenogênicos, tais como mamíferos, aves, anfíbios, peixes, crustáceos e insetos, os carotenóides alimentares e seus metabólitos também apresentam papel biológico importante. Muitos alimentos vegetais também contêm carotenóides, mas em níveis significativamente baixos (RUIZ-RODRIGUEZ et al., 2008).

Os carotenóides têm importância vital na fisiologia e saúde geral, podendo-se afirmar que estes são nutrientes essenciais que deveriam ser incluídos em todas as dietas de organismos aquáticos, inclusive para aqueles destinados ao consumo humano (BAKER, 2002). A cantaxantina tem sido estudada devida sua aplicação como um corante alimentar. As interações da cantaxantina e moléculas de lipídeos em membranas celulares parecem apresentar um papel chave em vários efeitos biológicos deste pigmento carotenóide (BASU et al., 2001; SUJAK et al., 2005). Na aquicultura os principais pigmentos utilizados para inclusão em rações, especialmente para peixes salmonídeos são a astaxantina e a cantaxantina, que juntas correspondem à cerca de 10 a 15% dos custos das rações (MORA et al., 2006a,b).

Nos últimos anos, pesquisadores de diferentes áreas vêm avaliando os efeitos positivos de ampla variedade de carotenóides e flavonóides na alimentação humana e

animal, e discorrem sobre suas muitas qualidades e benefícios a saúde e bem-estar. Cada grupo de espécies apresenta diferentes rotas de absorção, bioconversão e deposição dos pigmentos ingeridos na dieta. A eficiência de pigmentação de uma determinada fonte de carotenóide é espécie-específica, e as interações entre os diferentes componentes de uma dieta influenciam diretamente a deposição dos pigmentos nos animais (CHATZIFOTIS et al., 2005, HAMRE et al., 2004, BARBOSA et al., 1999, NICKEL & BROMAGE, 1998).

Este experimento foi conduzido com intuito de avaliar os efeitos do fornecimento de dietas enriquecidas com cantaxantina sobre características de desempenho e de coloração da pele em machos de *Colisa lalia* linhagem “Sangue”.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Peixes do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, no período de Abril a Junho de 2008, com duração de 70 dias, sendo os 20 primeiros dias para aclimação e condicionamento dos peixes ao manejo experimental.

Os peixes utilizados foram adquiridos de piscicultura de peixes ornamentais no município de Muriaé/MG. Foram selecionados apenas machos, peso inicial de $1,75 \pm 0,66$ g e comprimento total de $44,3 \pm 4,4$ mm, com aproximadamente 70 dias de vida. Acondicionou-se sete machos por aquário, em aquários com volume útil de 20 litros, na densidade de 0,35 peixe/L.

Os aquários faziam parte de um sistema de recirculação de água com filtragem mecânica e biológica, além de sistema de esterilização de água com lâmpada germicida. A limpeza do sistema foi realizada uma vez por semana, ocasião em que as fezes foram sifonadas, as paredes internas dos aquários escovadas, os filtros mecânicos lavados e 30% da água do sistema trocada. A taxa de recirculação da água nos aquários era de 2.000% ao

dia e o volume do filtro biológico equivalente a 20% do volume total do sistema de recirculação.

Os aquários permaneceram sob iluminação artificial ($189,1 \pm 48,8 \text{ lux/cm}^2$) por lâmpadas fluorescentes em fotoperíodo de 12h de luz e 12h de escuro, regulado por timer analógico, entre 6h30 e 18h30. A temperatura da água foi aferida, diariamente, com termômetro de máxima e mínima, e, semanalmente, para oxigênio dissolvido, pH, potencial redox e condutividade elétrica, utilizando-se oxímetro, peagâmetro e condutivímetro digitais.

As dietas experimentais foram preparadas com base em uma ração comercial extrusada, sobre a qual se adicionou por aspersão uma solução concentrada contendo os cinco níveis de cantaxantina (Tabela 1). A incorporação da cantaxantina sobre os peletes das rações experimentais foi feita com auxílio de pulverizador em câmara fechada. A cantaxantina foi dissolvida em água a 50°C com agitação por cinco minutos para posterior incorporação nas dietas. Após a incorporação da cantaxantina, a ração foi colocada em estufa ventilada a 50°C por 8h e, posteriormente, aspergiu-se 20 g de óleo de soja por quilo de ração para formação de película oleosa recobrimdo os peletes à reduzir a lixiviação do pigmento e dos nutrientes para a água durante os arrazoamentos.

Tabela 1 - Composição centesimal e níveis de cantaxantina, após enriquecimento, nas rações experimentais para alimentação do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*)

Composição	Nível de cantaxantina na ração (mg/kg)				
	0	4,6	9,1	13,7	18,2
Energia bruta (kcal/kg)	4.417	4.638	4.546	4.560	4.551
Proteína bruta (%)	32,80	34,39	34,56	33,12	33,84
Carboidratos (%)	32,14	33,31	33,64	34,14	33,69
Umidade (%)	11,16	8,73	8,76	9,07	9,09
Extrato etéreo (%)	8,96	8,93	9,06	9,03	9,29
Fibra bruta (%)	6,90	6,69	6,42	6,96	6,30
Minerais (%)	8,04	7,95	7,56	7,68	7,79
Ca (%)	1,17	1,24	1,18	1,24	1,24
P (%)	1,18	1,29	1,18	1,27	1,23

As rações experimentais foram inicialmente pesadas e acondicionadas em recipientes plásticos com tampa devidamente identificados, permaneceram armazenadas em freezer e a -20°C foram retiradas apenas no momento dos arraçoamentos aos peixes.

Análises de composição centesimal das dietas experimentais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (LNA/DZO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os níveis de carboidratos foram estimados segundo metodologia proposta em SNIFFEN et al. (1992). Enquanto que as análises de níveis de pigmentos foram realizadas no Laboratório de Corantes e Pigmentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV. Os níveis de cantaxantina foram determinados segundo metodologia proposta em TAKAHASHI et al. (1987).

As rações foram fornecidas diariamente as 8h00, 13h00 e 18h00, até a saciedade. Ao final do período experimental as sobras das rações foram pesadas e a quantidade consumida pelos peixes mensurada para cada aquário.

Ao final do período experimental, os peixes foram individualmente pesados, medidos e tiveram sua coloração mensurada na região lateral do corpo. A coloração para cada peixe foi a média de cinco áreas diferentes mensuradas no padrão internacional de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$) com auxílio de colorímetro portátil (Figura 1) (HUNT, 1977).

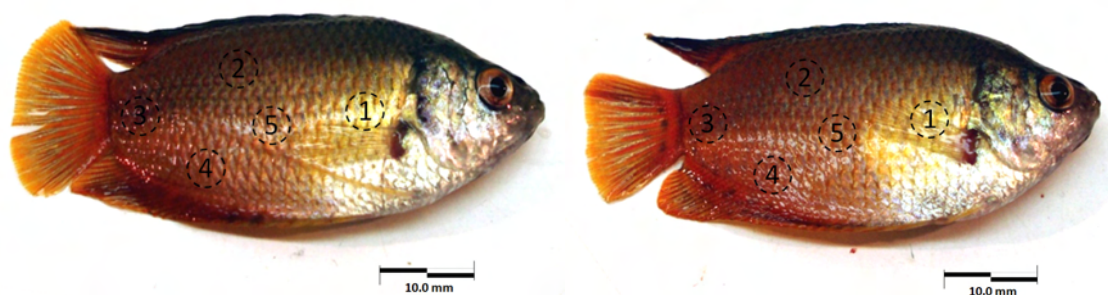


Figura 1 - Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*) *in vivo* com base em cinco pontos (com 50,3 mm² cada) identificados por círculos numerados de um a cinco, usando colorímetro portátil Konika Minolta M-10. O peixe da esquerda é representativo do tratamento controle e o peixe da direita, representativo do tratamento que se alimentou de dieta enriquecida com cantaxantina (18,2 mg/kg)

Logo após a mensuração das cores, ainda com os peixes insensibilizados, realizou-se a biometria das características: peso final (g), comprimento total (mm), comprimento padrão (mm) com o intuito de avaliar as características de desempenho zootécnico em função da alimentação dos peixes com dietas enriquecidas com cantaxantina.

Os resultados de desempenho e de coloração foram submetidos às análises de variância e de regressão. Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando-se o teste F, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ($R^2 = \text{SQRegressão} / \text{SQTratamento}$), e no fenômeno biológico.

Resultados e discussão

As condições ambientais em que os peixes foram mantidos no período experimental permaneceram sob níveis ótimos. As características de qualidade da água: temperatura ($28,5 \pm 1,4^\circ\text{C}$), oxigênio dissolvido ($7,7 \pm 0,8 \text{ mg/L}$), pH ($6,5 \pm 0,2$), potencial redox ($15,5 \pm 2,1 \text{ mV}$) e condutividade elétrica ($177,5 \pm 25,1 \mu\text{S/cm}$) ocorridas durante o experimento, encontraram-se dentro da faixa de conforto para a espécie: temperatura (23 a 32°C), oxigênio (acima de 5 mg/L) e pH (6,2 a 7,4) (FROESE & PAULY, 2006; COLE et al., 1999; ALZUGARAY e ALZUGARAY, 1997).

Ao final do período experimental foram realizadas as biometrias dos peixes para as características: peso final, comprimento padrão e total; a partir das quais foram calculados os índices de desempenho zootécnico (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores médios das características de desempenho do peixe colisa-sangue (*Colisa lalia*), CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2), em função dos níveis de cantaxantina nas dietas

Característica	Nível de cantaxantina (X) na dieta (mg/kg)					CV (%)	Equações de regressão $\hat{Y} =$
	0	4,6	9,1	13,7	18,2		
Biomassa inicial (g)	10,66	10,16	10,00	9,96	9,98	6,87	10,12
Biomassa final (g)	22,35	21,81	21,29	20,52	21,40	4,46	21,47
Ganho de biomassa (g)	11,68	11,65	11,29	10,56	11,58	7,63	11,86
Consumo de ração (g)	31,77	30,15	29,93	29,42	29,98	2,78	31,11 -0,0943.X ($r^2 = 0,92$)
Ganho de peso em 50 dias (%)	109,97	115,11	113,53	106,55	119,18	11,39	112,26
Conversão alimentar	2,73	2,59	2,66	2,82	2,62	8,15	2,67
Fator de condição de Fulton inicial	1,89	1,88	1,90	1,92	1,88	3,67	1,90
Fator de condição de Fulton final	2,42	2,45	2,43	2,37	2,41	1,86	2,42

Os resultados obtidos com a suplementação de cantaxantina até o nível de 18,2 mg/kg na alimentação de colisa-sangue demonstraram não afetar as características de desempenho, apesar da redução no consumo de ração ($r^2 = 0,92$ e $P < 0,01$).

A não observação da influência da cantaxantina nas características de desempenho dos peixes pode-se dever a manutenção destes em condições experimentais excepcionalmente adequadas e dentro da faixa de conforto para a espécie (COLE et al., 1999, ALZUGARAY & ALZUGARAY, 1997), podendo-se observar uma redução nos coeficientes de variação do fator de condição de Fulton inicial, de 3,67%, para o final, 1,86%.

Possivelmente, seja verdadeira a hipótese de que peixes mantidos em condições de estresse ou desafio teriam apresentado melhores resultados de desempenho em função dos níveis crescentes de suplementação com cantaxantina, devido aos seus efeitos no fortalecimento do sistema imunológico e na redução dos efeitos do estresse.

A cantaxantina, pigmento polar, tem sido encontrado interferindo com a organização das membranas biológicas. Parece que a cantaxantina presente nas membranas lipídicas em

concentração relativamente baixa (inferior a 1 mol % com relação ao lipídio) modifica substancialmente as propriedades físicas das membranas. A cantaxantina exerce restrições ao movimento de segmentação molecular das moléculas lipídicas, ambos na região da cabeça e no centro da bicamada hidrofóbica; promove alongamento das cadeias alquil-lipídicas; modifica a superfície da membrana lipídica e promove a agregação de vesículas lipídicas (SUJAK et al., 2005). Segundo estes mesmos autores, a cantaxantina incorporada em lipídios de membranas está distribuída entre os dois grupos: um abrangendo toda a bicamada lipídica perpendicular à superfície da membrana e uma paralela à membrana localizada na região das cabeças. A população da fração horizontal aumenta com o aumento nas concentrações de pigmentos na fase lipídica, demonstrando um efeito de modificação muito forte da cantaxantina na dinâmica e propriedades estruturais de membrana lipídica.

Os níveis de enriquecimento com cantaxantina (0, 4,6, 9,1, 13,7 e 18,2 mg/kg) utilizados possibilitaram observar efeito positivo no que se refere à pigmentação amarela da pele, com aumento linear crescente de 3,0% para cada acréscimo de 4,6 mg/kg no nível de cantaxantina (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$) e no sistema CMYK obtidos nos peixes colisa-sangue (*Colisa lalia*) a partir de fotografias digitais com o software Adobe PhotoShop CS2®, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2), em função do nível de cantaxantina nas dietas

Índices de coloração	Nível de cantaxantina (X) na ração (mg/kg)					CV (%)	Equações de regressão $\hat{Y} =$
	0	4,6	9,1	13,7	18,2		
L	44,2	45,3	43,7	42,5	43,9	3,80	44,6 -0,0739.X ($r^2 = 0,80$)
a	11,2	10,6	9,9	9,8	11,6	14,89	
b	8,9	7,7	9,0	8,1	9,9	15,34	

A intensidade de pigmentação da pele dos peixes foi mensurada no sistema de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$), onde L representa brilho (0, preto e +100, branco),

a (-100, verde e +100, vermelho) e b (-100, azul e +100, amarelo).

O maior nível testado, 18,2 mg/kg, possibilitou aumento na pigmentação amarela em 11,9 % em relação ao nível zero de adição de cantaxantina. Os resultados possibilitam afirmar que a espécie *Colisa lalia* metaboliza o carotenóide cantaxantina e bioacumula-o na mesma forma ou realiza a bioconversão desta e bioacumula em outra forma.

Além da função de melhorar a pigmentação, os carotenóides da dieta têm múltiplas funções antioxidantes. Uma relação entre concentração de astaxantina da dieta e estado antioxidante no fígado e músculo foi observada em salmão-do-atlântico (*Salmo salar*), indicando possível melhoria de saúde em peixe pela inclusão de carotenóides na dieta por proporcionar a redução de parâmetros anti-oxidantes (WANG *et al.*, 2006). Entretanto, é reportado efeito deletério de níveis elevados de cantaxantina na dieta sobre o vigor reprodutivo de canário-belga (BRUSTOLINI, 2010).

As interações entre diferentes carotenóides, apesar de pouco estudadas, demonstram ser mais eficiente quanto à intensificação da deposição nos animais, o que serve como indício de possíveis vantagens quando utilizados de maneira conjugada também na nutrição animal (SINHA & ASIMI, 2007; WANG *et al.*, 2006; MORA *et al.* 2006a).

As possibilidades de utilização de aditivos pigmentantes em rações animais vão além da simples intensificação da pigmentação, aos animais propensos a isto, o que agregaria maior valor na comercialização e à saúde dos consumidores. Especialmente, devido às vantagens adicionais que os carotenóides proporcionam, quanto à redução de estresse, combate aos radicais livres e aumento de resposta imunológica, favorecendo o crescimento, a reprodução e auxiliando no bem estar animal (SHINDO *et al.*, 2007, WANG *et al.*, 2006, HAMRE *et al.*, 2004, LIMA *et al.*, 2001, BARBOSA *et al.*, 1999).

Não houve diferenças na aparência entre os grupos de peixes alimentados com a

dieta controle e cantaxantina, mas os peixes alimentados com astaxantina, zeaxantina e luteína A apresentaram, respectivamente, coloração amarela intensa, amarela e amarelo nas nadadeiras, ao final do experimento. YAMASHITA et al. (1996), estudando o metabolismo de xantofilas em black-bass (*Micropterus salmoides*) a partir do fornecimento de dietas contendo diferentes pigmentos – cantaxantina, astaxantina, (3R,3'R)-zeaxantina e luteína A – ao nível de 50 mg/kg de ração, e uma dieta controle sem pigmentos, por 30 dias, verificou que não houve diferença de desempenho e no índice hepatossomático.

Ao avaliar se a suplementação, na dieta, com carotenóide influenciaria a sobrevivência, crescimento, pigmentação e capacidade anti-oxidante ao peixe ornamental *Hyphessobrycon callistus*, utilizando dois tipos de carotenóides puros (astaxantina e β -caroteno) e sua combinação (mistura na proporção, 1:1) à 10, 20 e 40 mg/kg, não observou-se diferenças entre os tratamentos, para crescimento e sobrevivência dos peixes após oito semanas de cultivo. Independente do tipo de carotenóide adicionado à ração, a astaxantina predominou 98% do total de carotenóides corporais, indicando que estes peixes converteram β -caroteno em astaxantina para armazenamento WANG et al. (2006).

Salmão e red-sea-bream (*Pagrus major*) não convertem xantofilas em cantaxantina ou astaxantina (STOREBAKKEN & NO, 1992). A utilização de fontes naturais de carotenóides, a exemplo das pétalas desidratadas de rosa-chinesa (*Hibiscus rosasinensis*) (SINHA & ASIMI, 2007), mistura de β -caroteno e astaxantina (WANG et al., 2006) e fonte com complexa mistura de carotenóides (MORA et al., 2006a,b), demonstram a maior eficiência de pigmentação dos conjugados de carotenóides frente às demais fontes puras de pigmentos avaliados, fato comprovado pelo conteúdo de carotenóides na pele dos peixes.

Em análises de conteúdo de carotenóides na pele dos peixes após conclusão do experimento, verificou-se que, no grupo cantaxantina, além da cantaxantina foram encontrados como metabólitos reduzidos – β -caroteno, equinenona, isocriptoxantina,

isozeaxantina e um apocarotenóide desconhecido (11',12'-dihidro-10'-apo- β -caroteno-4,10'-diol). O conteúdo individual de vitamina A no fígado de black-bass foi maior em todos os grupos com xantofilas (cantaxantina, astaxantina, zeaxantina e luteína) em relação ao grupo controle YAMASHITA et al. (1996).

A eficiência de utilização do pigmento cantaxantina na alimentação de peixes não poderia ser descartada uma vez que em grande parte dos cultivos, os peixes, em algum momento se acham mantidos em condições de estresse ou fora da faixa de conforto. Situações nas quais os efeitos benéficos dos carotenóides e flavonóides poderiam ser observados em função das condições ambientais desfavoráveis.

A fim de avaliar o efeito de imunonutrição de compostos carotenóides e flavonóides em peixes, sugere-se a realização de experimento que avalie o efeito da cantaxantina em peixes submetidos a condições de desafio ambiental. Por outro lado, o efeito do enriquecimento de dietas com ingredientes fontes de pigmentos também devem ser avaliados em outras espécies de peixes e também em níveis mais elevados para intensificação da coloração vermelho-amarelada da pele, em condições ambientais adequadas à espécie a ser estudada.

Conclusões

A suplementação de 18,2 mg/kg de cantaxantina na dieta para colisa-sangue possibilitou a intensificação da coloração amarela da pele do peixe. O acréscimo de cantaxantina reduziu o consumo de ração sem afetar as características de desempenho.

Referências

- ALZUGARAY, D. & ALZUGARAY, C. (eds.) **Peixes de aquário**. São Paulo: Editora Três Ltda. 1997. 378p.
- BAKER, R. T. M. Canthaxanthin in aquafeed applications: is there any risk? **Trends in Food Science & Technology**, v.12, p.240-243, 2002.
- BARBOSA, M. J., MORAIS, R. & CHOUBERT, G. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.176, p.331-

- 341, 1999.
- BASU, H. N., VECCHIO, A. J. D., FLIDER, F. & ORTHOEFER, F. T. Nutritional and Potential Disease Prevention, Properties of Carotenoids. **JAOCs**, v.78, n.7, p.665-675, 2001.
- BRUSTOLINI, P.C. Vigor reprodutivo de matrizes de canário-belga alimentados com dietas suplementadas com cantaxantina. [comunicação pessoal em 26-mar-2010].
- CHATZIFOTIS, S., PAVLIDIS, M., JIMENO, C. D., VARDANIS, G., STERIOTI, A. & DIVANACH, P. The effect of different carotenoid sources on skin coloration of cultured red porgy (*Pagrus pagrus*). **Aquaculture Research**, v.36, p.1517-1525, 2005.
- COLE, B., TAMARU, C.S., BAILEY, R., BROWN, C. **A manual for commercial production of the gourami, *Trichogaster trichopterus*, a temporary paired spawner**. O'ahu: University of Hawai-i, Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, 1999, 37p. [Publication n.135].
- FROESE, R. & PAULY, D. (eds.) **FishBase**. Disponível em: <<http://www.fishbase.org>>. Acesso em: 31 mar. 2006.
- HAMRE, K., CHRISTIANSEN, R., WAAGBØ, R., MAAGE, A., TORSTENSEN, B. E., LYGREN, B., LIE, Ø., WATHNE, E. & ALBREKTSEN, S. Antioxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.): effects on growth performance and fillet quality. **Aquaculture Nutrition**, v.10, p.113-123, 2004.
- HUNT, R.W.G. The specification of colour appearance. 1. Concepts and terms. **Colour Research Applications**, v.2, p.55-68, 1977.
- LIMA, L. R. P., OLIVEIRA, T. T., NAGEM, T. J., PINTO, A. S., STRINGHETA, P. C., TINOCO, A. L. A. & SILVA, J. F. Bixina, norbixina e quercetina e seus efeitos no metabolismo lipídico de coelhos. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.38, n.4, p.196-200, 2001.
- MORA, G. I., ARREDONDO-FIGUEROA, J. L., PONCE-PALAFOX, J. T., BARRIGA-SOSA, I. D. L. A. & VERNON-CARTER, J. E. Comparison of red chilli (*Capsicum annuum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet pigmentation. **Aquaculture**, v.258, p.487-495, 2006.
- MORA, G. I., ARREDONDO-FIGUEROA, J. L., PONCE-PALAFOX, J. T., BARRIGA-SOSA, I. D. L. A. & VERNON-CARTER, J. E. Corrigendum to "Comparison of red chilli (*Capsicum annuum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet pigmentation" [Aquaculture, v.258, p.487-495, 2006]. **Aquaculture**, v.261, p.825, 2006.
- NICKELL, D. C. & BROMAGE, N. R. The effect of timing and duration of feeding astaxanthin on the development and variation of fillet colour and efficiency of pigmentation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.169, p.233-246, 1998.
- RUIZ-RODRIGUEZ, A., MARÍN, F. R., OCAÑA, A. & SOLER-RIVAS, C. Effect of domestic processing on bioactive compounds. **Phytochemistry Reviews**, v.7, p.345-384, 2008.
- SHINDO, K., KIKUTA, K., SUZUKI, A., KATSUTA, A., KASAI, H., YASUMOTO-HIROSE, M., MATSUO, Y., MISAWA, N. & TAKAICHI, S. Rare carotenoids, (3R)-saproxanthin and (3R,2'S)-myxol, isolated from novel marine bacteria (Flavobacteriaceae) and their antioxidative activities. **Appl Microbiol Biotechnol**, v.74, p.1350-1357, 2007.
- SINHA, A. & ASIMI, O. A. China rose (*Hibiscus rosasinensis*) petals: a potent natural carotenoid source for goldfish (*Carassius auratus* L.). **Aquaculture Research**, v.38, p.1123-1128, 2007.
- SNIFFEN, C. J., O'CONNOR, J. D., VAN SOEST, P. J., FOX, D. G. & RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.
- STEPNOWSKI, P., ÓLAFSSON, G., HELGASON, H. & JASTORFF, B. Preliminary study on chemical and physical principles of astaxanthin sorption to fish scales towards applicability in fisheries waste management. **Aquaculture**, v.232, p.293-303, 2004.
- STOREBAKKEN, T. & NO, H. K. Pigmentation in rainbow trout. **Aquaculture**, v.100, p.209-229, 1992.
- SUJAK, A., GABRIELSKA, J., MILANOWSKA, J., MAZUREK, P., STRZAŁKA, K., GRUSZECKI, W. I. Studies on canthaxanthin in lipid membranes. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1712, p.17-28, 2005.
- TAKAHASHI, M.Y., BARBOSA, A.M.S., BARRA, A.J., OLIVEIRA, A.F.A., MANCINELLI, C., BREIN, D.R., RODRIGUEZ-AMAYA, B.D., GERUMEL, E.J., ARIMA, H.K., CONSENTINO, H.M., ZIMMER, K., ENOSHITA, L., ARAUJO, M.J., RUSIG, O., RUIZ, S.M. Monografias de corantes naturais para fins alimentícios: padrões de identidade e qualidade. 2ª Edição atualizada e ampliada. São Paulo, Brasil: Patrocinado Pelo Sanrisil, 1987. 118p.
- WANG, Y. J., CHIEN, Y. H. & PAN, C. H. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. **Aquaculture**, v.261, p.641-648, 2006.
- YAMASHITA, E., ARAI, S. & MATSUNO, T. Metabolismo of xanthophylls to vitamin A and new apocarotenoids in liver and skin of black bass, *Micropterus salmoides*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.113, n.3, p.485-489, 1996.

EXTRATO DE URUCUM COMO PIGMENTO NA ALIMENTAÇÃO DE COLISA-SANGUE (*Colisa lalia*)

Fabício Pereira Rezende^{1*}, Eduardo Arruda Texeira Lanna², Paulo César Stringheta³,
Paulo César Brustolini², Moisés Quadros¹, Igor Hiroshi Terayama de Oliveira³

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, IFES

² Departamento de Zootecnia, UFV

³ Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFV

* Autor para correspondência: frezende@ymail.com

Resumo - Com o objetivo de avaliar a eficiência de pigmentação da pele de peixes e efeitos no desempenho, cinco níveis do carotenóide bixina (0, 719, 1.390, 2.110 e 2.890 mg/kg) extraídos de sementes de urucum (*Bixa orellana*) foram utilizados no enriquecimento de rações para a alimentação do peixe colisa-sangue (*Colisa lalia*). O experimento foi conduzido com cinco repetições sob delineamento inteiramente casualizado. Observou-se que a bixina em níveis elevados proporciona redução no consumo de ração e também na intensidade de coloração amarelo da pele dos peixes, sem afetar o ganho de peso e a conversão alimentar.

Palavras-chaves: piscicultura, peixe ornamental, bixina, corante, pigmento, coloração da pele

Abstract - Aiming to evaluate the efficiency of skin pigmentation and effects on fish performance, five levels of the carotenoid bixin (0, 719, 1390, 2110 and 2890 mg/kg) extracted from seeds of annatto (*Bixa orellana*) were used for rations enrichment to feed the fish dwarf-red gouramy (*Colisa lalia*). The experiment was conducted with five replicates in a randomized design. It was observed that the bixin at high levels provides a reduction in food consumption and also in the intensity of the yellow skin of the fish, without affecting weight gain and feed conversion.

Keywords: fish farming, ornamental fish, bixin, dye, pigment, skin color

Introdução

O crescimento do mercado aquarístico mundial, da ordem de 14 a 19 % ao ano, exige dos piscicultores avanços na produção de peixes com maior qualidade para abastecer um mercado consumidor ávido por novidades (VIDAL-JÚNIOR, 1997; LIMA, 2004; RIBEIRO et al., 2008a,b). Os aspectos que agregam valor aos peixes ornamentais, além da raridade, são o vigor e a intensidade de pigmentação da pele (REZENDE et al., 2007).

Peixes mais pigmentados têm maior valor de mercado na comercialização, não apenas quanto ao valor monetário, mas também na preferência do consumidor, o que pode ser traduzido em maior garantia de venda.

Na alimentação de peixes ornamentais cultivados no Brasil, utiliza-se rações para peixes de corte, geralmente pobres em pigmentos naturais, fato que, somado à baixa produção de organismos planctônicos em sistemas de criação intensivos e superintensivos, impossibilita a acumulação de pigmentos carotenóides e flavonóides em níveis suficientes para intensificação da coloração da pele nos peixes destinados à comercialização.

Os pigmentos naturais são produzidos por bactérias, leveduras, algas e vegetais superiores podendo ser encontrados em sementes, folhas, flores, raízes e frutos (RUIZ-RODRIGUES et al., 2008; ABE et al., 2007; SHINDO et al., 2007; MORIEL et al., 2005; OROSA et al., 2005; GOUVEIA & EMPIS, 2003; YUAN et al., 2002; BOUSSIBA, 2000; ARMSTRONG, 1997). Os animais não possuem a capacidade de sintetizar carotenóides e flavonóides, entretanto, conseguem acumular e converter estes compostos obtidos através da alimentação (SALES & JANSSENS, 2003).

Os organismos componentes do zooplâncton, especialmente microcrustáceos também podem acumular pigmentos naturais provenientes de sua alimentação à base de fitoplâncton (NIEUWERBURGH et al., 2005), e posteriormente, servir como fonte alimentar aos peixes cultivados (VELU et al., 2007; LARA et al., 2007; MAGALHÃES et

al., 2007; MOREIRA et al., 2003; LIMA et al., 2003; VELU et al., 2003; ASKER & OHTA, 1999; DHERT et al., 1997; LAVENS & SORGELOOS, 1996).

A utilização de pigmentantes em dietas para peixes ornamentais é uma prática que vem ganhando espaço entre os piscicultores, os quais de forma empírica incorporam os pigmentos vermelhos na dieta para melhorar a qualidade dos peixes que produzem. Esta prática é bastante comum no cultivo de trutas e salmões para melhorar a cor róseo-avermelhada dos filés (WANG et al., 2006; CHOUBERT et al., 2006; TOLASA et al., 2005; HAMRE et al., 2004; BARBOSA et al., 1999; ELMADFA & MAJCHRZAK, 1998; NICKEL & BROMAGE, 1998).

Os pigmentos mais utilizados em dietas de peixes salmonídeos são a astaxantina e a cantaxantina, aditivos que oneram em cerca de 10 a 15% os custos finais das rações (MORA et al., 2006a,b).

Experimentos que contribuam para elucidar as vantagens da utilização de ingredientes alternativos, como fontes de pigmentos carotenóides naturais para nutrição, são fundamentais para aumentar sua aplicabilidade na nutrição animal.

Com objetivo de testar a eficiência do corante de urucum utilizado pelos piscicultores de peixes ornamentais, na pigmentação da pele destes peixes, conduziu-se o presente experimento utilizando rações experimentais com níveis crescentes do carotenóide bixina, extraído de sementes de urucum.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Peixes do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, no período de Abril a Junho de 2008, com duração de 70 dias, sendo os 20 primeiros dias para aclimatação dos peixes ao manejo experimental.

Os peixes utilizados foram adquiridos de piscicultura de peixes ornamentais no município de Muriaé/MG. Selecionou-se apenas peixes machos, peso inicial de $1,49 \pm 0,24$ g e comprimento total de $42,7 \pm 1,9$ mm, com aproximadamente 70 dias de vida. Acondicionou-se sete peixes por aquário, na densidade de 0,35 peixe/L, cada aquário comportava volume útil de 20 litros.

Os aquários faziam parte de um sistema de recirculação de água com filtragem mecânica e biológica, além de sistema de esterilização da água com lâmpada germicida. A limpeza do sistema foi feita uma vez por semana, ocasião em que fezes eram sifonadas, as paredes internas dos aquários escovadas, os filtros mecânicos lavados e 30% da água do sistema de recirculação trocada.

A taxa de recirculação da água nas caixas foi de 2.000% ao dia e o volume do filtro biológico equivalente a 20% do volume total da água do sistema de recirculação. Os aquários receberam iluminação artificial ($189,1 \pm 48,8$ lux/cm²) por lâmpadas fluorescentes em fotoperíodo de 12h00 de luz e 12h00 de escuro, regulado por timer analógico, entre 6h30 e 18h30.

As dietas experimentais foram preparadas com base em uma ração comercial extrusada, sobre a qual se adicionou por aspersão o extrato contendo os cinco níveis de pigmentos (Tabela 1). Análises de composição centesimal das dietas experimentais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (LNA/DZO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os níveis de carboidratos foram estimados segundo metodologia proposta em SNIFFEN et al. (1992). Enquanto que as análises de níveis de pigmentos foram realizadas no Laboratório de Corantes e Pigmentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV. Os níveis de cantaxantina foram determinados segundo metodologia proposta em TAKAHASHI et al. (1987).

Tabela 1 - Composição centesimal e níveis de bixina, após enriquecimento, nas rações experimentais para o peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*)

Composição	Nível de bixina nas rações (mg/kg)				
	0	719	1.390	2.110	2.890
Energia bruta (kcal/kg)	4.417	4.434	4.491	4.479	4.459
Proteína bruta (%)	32,80	33,10	33,68	33,19	33,79
Carboidratos (%)	32,14	33,10	32,96	32,88	31,94
Umidade (%)	11,16	10,71	10,58	10,72	10,98
Extrato etéreo (%)	8,96	9,37	9,35	8,95	8,46
Fibra bruta (%)	6,90	5,96	6,01	6,73	7,61
Minerais (%)	8,04	7,76	7,42	7,53	7,22
Ca (%)	1,17	1,18	1,11	1,21	1,20
P (%)	1,18	1,21	1,17	1,20	1,23

As rações experimentais foram inicialmente pesadas e acondicionadas em recipientes plásticos com tampa devidamente identificados, permaneceram armazenadas em freezer e foram retiradas apenas no momento do arraçoamento dos peixes.

O arraçoamento dos peixes foi realizado diariamente as 8h00, 13h00 e 18h00. As dietas foram oferecidas até que o apetite dos peixes tivesse sido saciado. Ao final do período experimental as sobras das rações foram pesadas e a quantidade consumida pelos peixes mensurada para cada unidade experimental. Avaliou-se os índices zootécnicos: biomassa inicial (g), biomassa final (g), consumo de ração (g) e sobrevivência.

Ao final do período experimental, os peixes foram individualmente pesados, medidos e tiveram sua coloração mensurada com auxílio de colorímetro portátil (Minolta, M-10) na região lateral do corpo (Figura 1). A coloração para cada peixe foi a média de cinco pontos de mensuração com colorímetro portátil, no sistema de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$) (Tabela 2).

Antecedendo a mensuração de cores e a biometria dos peixes, estes foram insensibilizados em solução de óleo de cravo em etanol (na proporção de 1:4) com eugenol a 25 mg/L de água.

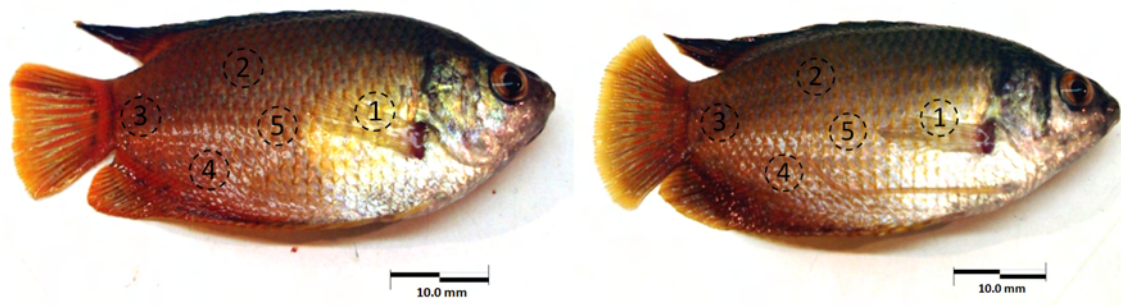


Figura 1 - Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*) *in vivo* com base em cinco pontos (com 50,3 mm² cada) identificados com círculos numerados de um a cinco, usando colorímetro portátil Konika Minolta M-10. O peixe da esquerda é representativo do tratamento controle e o peixe da direita, representativo do tratamento que se alimentou da dieta enriquecida com bixina (2.890 mg/kg)

Os resultados de desempenho e de coloração foram submetidos às análises de variância e de regressão. Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando-se o teste F, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ($R^2 = \text{SQRegressão} / \text{SQTratamento}$), e no fenômeno biológico.

Resultados e Discussão

As condições ambientais em que os peixes foram mantidos no período experimental permaneceram sob níveis ótimos. As características de qualidade da água: temperatura ($28,5 \pm 1,4^\circ\text{C}$), oxigênio dissolvido ($7,7 \pm 0,8 \text{ mg/L}$), pH ($6,5 \pm 0,2$), potencial redox ($15,5 \pm 2,1 \text{ mV}$) e condutividade elétrica ($177,5 \pm 25,1 \mu\text{S/cm}$) ocorridas durante o experimento, encontraram-se dentro da faixa de conforto para a espécie: temperatura (23 a 32°C), oxigênio (acima de 5 mg/L) e pH (6,2 a 7,4) (FROESE & PAULY, 2006; COLE et al., 1999; ALZUGARAY e ALZUGARAY, 1997).

Avaliou-se os efeitos, nos peixes, de cinco níveis de bixina (0, 719, 1.390, 2.110 e 2.890 mg/kg) incorporados em rações experimentais, a partir de extrato oleoso de urucum

(contendo 5% de bixina) totalizando cinco tratamentos com cinco repetições dispostos sob delineamento inteiramente casualizado. A incorporação do extrato oleoso de urucum sobre os peletes das rações foi feito com auxílio de pulverizador em câmara fechada e apresentou eficiência de incorporação de 94,7%.

Ao final do período experimental foram realizadas as biometrias dos peixes para as características: peso final, comprimento padrão e total; a partir das quais foram calculados os índices de desempenho zootécnico (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores médios das características de desempenho do peixe colisa-sangue (*Colisa lalia*), CV (%) e equações de regressão ajustadas aos respectivos coeficientes de determinação (r^2), em função do nível de bixina nas dietas

Característica	Nível de bixina (X) na ração (mg/kg)					CV (%)	Equações de regressão $\hat{Y} =$
	0	719	1.390	2.110	2.890		
Biomassa inicial (g)	10,66	9,92	10,69	10,28	10,56	6,76	10,42
Biomassa final (g)	22,35	21,79	21,58	21,40	21,57	3,15	21,74
Ganho de biomassa (g)	11,68	11,88	10,89	11,12	11,01	5,08	11,32
Consumo de ração (g)	31,77	30,98	29,34	29,82	28,95	3,63	$31,52 - 0,0009.X$ ($r^2 = 0,84$)
Ganho de peso em 50 dias (%)	109,97	120,18	102,54	108,46	106,24	9,35	109,48
Conversão alimentar	2,73	2,61	2,71	2,68	2,65	7,19	2,68
Fator de condição de Fulton inicial	1,89	1,87	1,93	1,90	1,92	3,87	1,903
Fator de condição de Fulton final	2,42	2,44	2,41	2,47	2,48	2,87	2,443

O incremento nos níveis de bixina nas dietas influenciou negativamente o consumo de ração, proporcionando redução de 8,88% do consumo entre os animais alimentados pela dieta controle e aqueles alimentados pela dieta com o nível mais elevado de bixina (2.890 mg/kg). A redução da palatabilidade das rações parece ser a hipótese que melhor explica a redução no consumo das rações. Apesar da redução significativa no consumo de ração, a conversão alimentar permaneceu a mesma entre o controle e o tratamento com o maior nível de inclusão, o que corrobora com a hipótese de que a bixina reduz a

palatabilidade da ração. A bixina também não interferiu no fator de condição de Fulton (2,44), para a espécie que, aos 140 dias de vida, apresentou comprimento total de $50,2 \pm 2,1$ mm e peso médio de $3,11 \pm 0,43$ g.

O aumento nos níveis de extrato de urucum na dieta proporcionou redução no consumo de ração. Entretanto, a eficiência de utilização do pigmento bixina na alimentação de peixes não poderia ser descartada, uma vez que, em grande parte dos cultivos superintensivos, os peixes, em algum momento permanecem mantidos sob condições de estresse ou fora da faixa de conforto para as condições ambientais. Sugere-se que os efeitos benéficos dos carotenóides e flavonóides, como compostos bioativos na redução de estresse, possam ser expressos pelo fornecimento de dietas com níveis inferiores aos avaliados neste trabalho, porém em condições ambientais adversas da manutenção dos peixes.

Os resultados obtidos com a adição de bixina na alimentação de colisa-sangue possibilitou estabelecer redução no consumo de ração, sob efeito linear, conforme a equação $\hat{Y} = 31,52 - 0,0009.X$ ($r^2 = 0,84$), com a elevação dos níveis de bixina na dieta. Entretanto, essa redução no consumo de ração não afetou o crescimento dos peixes. Apesar dos efeitos benéficos dos carotenóides e flavonóides, amplamente reportados, à saúde animal (SHINDO et al., 2007, WANG et al., 2006, HAMRE et al., 2004, LIMA et al., 2001, BARBOSA et al., 1999).

A criação de peixes ornamentais ocorre, na maioria das vezes, em sistemas intensivos e superintensivos de produção, nesses ambientes não há aporte significativo de alimentos naturais como zooplâncton, em função da alta densidade de peixes e dinâmicas nas operações de manejo. Uma das maneiras de suprir as necessidades nutricionais de pigmentos aos peixes seria com a adição destes em rações ou com o fornecimento de organismos planctônicos ricos em pigmentos. Dentre os organismos do plâncton que

produzem pigmentos estão as algas e as leveduras e dentre aqueles que bioacumulam estes pigmentos obtidos com a ingestão das algas e leveduras estão os organismos zooplancônicos filtradores, como microcrustáceos (*Daphnia* spp., *Moina* spp., *Branchoneta* spp., *Mysis* spp., *Artemia* spp. etc.) e rotíferos (*Brachionus* spp.).

Estes organismos também são excelentes veículos alimentares para compostos bioativos utilizados na nutrição dos peixes, conforme pode ser observado em vários trabalhos (SANTOS et al., 2009; COSTA et al., 2008; CARVALHO et al., 2008; THOMAZ et al., 2004; HIRATA et al., 1998).

O fato do potencial de pigmentação ser espécie-específico é a condição que pode explicar a não pigmentação da pele da espécie, quando comparada às observações feitas por piscicultores para outras espécies, uma vez que vários pesquisadores são unânimes em afirmar que o potencial de pigmentação é espécie-específico e cada grupo de espécies metaboliza e bioacumula diferentes grupos de pigmentos (CHATZIFOTIS et al., 2005, BARBOSA et al., 1999, NICKEL & BROMAGE, 1998).

O tempo decorrido entre o nascimento e o ponto de venda das espécies para ornamentação varia de 90 a 180 dias, período relativamente curto. A utilização de dietas ricas em pigmentos durante este período possibilita melhorar a qualidade dos peixes, o que garante ao piscicultor maior facilidade para comercialização e melhores preços obtidos no atacado.

A intensidade de pigmentação da pele dos peixes foi mensurada no sistema de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$), onde L representa brilho (0, preto e +100, branco), a (-100, verde e +100, vermelho) e b (-100, azul e +100, amarelo). Os valores médios das coordenadas de coloração no sistema Hunter ($L^*a^*b^*$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no sistema CMYK obtidos nos peixes colisa-sangue (*Colisa lalia*) a partir de fotografias digitais com o software Adobe PhotoShop CS2®, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2), em função do nível de bixina nas dietas

Índices de coloração	Nível de bixina (X) na ração (mg/kg)					CV (%)	Equações de regressão $\hat{Y} =$
	0	719	1.390	2.110	2.890		
L	44,2	44,7	43,6	44,3	44,2	4,52	44,2
a	11,2	10,8	9,3	9,9	9,2	19,61	10,1
b	8,9	8,5	7,5	7,3	8,1	20,75	$8,6 - 0,0004.X$ ($r^2 = 0,95$)

As características colorimétricas L (brilho) e a (vermelho) não apresentaram elevação de seus níveis em função do aumento no teor de bixina da ração. Entretanto, os valores de b (amarelo) mostraram redução em função da elevação do nível de bixina. O que se contradiz com as observações feitas por piscicultores que utilizam o corante-de-urucum na alimentação de peixes para intensificação da coloração vermelho-amarelada da pele.

A possibilidade de interações sinérgicas entre os diferentes pigmentos encontrados no corante-de-urucum para intensificação das colorações amarelo-vermelhadas almejadas pelos piscicultores com a adição do corante às rações deve ser considerado, uma vez que o efeito sinérgico entre bixina e quercetina foi observado na redução de níveis séricos de triacilgliceróis em coelhos (LIMA et al., 2001).

As observações relatadas por piscicultores pode ser explicada pela existência de vários pigmentos, carotenóides e flavonóides, no corante de urucum, diferentemente do extrato oleoso contendo apenas bixina. Dentre os quais são descritos a bixina, norbixina, quercetina, (9'Z)-apo-6'-licopenato, 7-glicosilapigeina, 7-bissulfato-apigeina, 7-glicosil-luteolina, 7-bissulfato-luteolina (LIMA et al., 2001; MERCADANTE & PFANDER, 2001).

Dietas com elevados teores de lipídeos favorecem a absorção e bioacumulação de pigmentos pelos peixes, entretanto, estes teores elevados de gordura reduzem a

digestibilidade das dietas, fato que compromete o bom desempenho zootécnico (SARGENT et al., 2002).

A realização de experimentos para avaliar o efeito do enriquecimento de dietas, sobre as características de desempenho e pigmentação de peixes em condição de desafio, ajudariam a elucidar as dúvidas quanto a eficiência funcional anti-estressora dos carotenóides na nutrição animal.

Conclusões

A bixina, em níveis elevados nas dietas, reduz o consumo de ração sem afetar a conversão alimentar e o ganho de peso. Além de reduzir a intensidade de coloração amarela na pele dos peixes *Colisa lalia* linhagem “Sangue”.

Referências

- ABE, K., HATTORI, H. & HIRANO, M. Accumulation and antioxidant activity of secondary carotenoids in the aerial microalga *Coelastrella striolata* var. *multistriata*. **Food Chemistry**, v.100, p.656-661, 2007.
- ALZUGARAY, D. & ALZUGARAY, C. (eds.) **Peixes de aquário**. São Paulo: Editora Três Ltda. 1997. 378p.
- ARMSTRONG, G. A. Genetics of eubacterial carotenoid biosynthesis: a colorful tale. **Annu. Rev. Microbiol.**, v.51, p.629-659, 1997.
- ASKER, D. & OHTA, Y. Production of canthaxanthin by extremely halophilic bacteria. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.88, n.6, p.617-621, 1999.
- BARBOSA, M. J., MORAIS, R. & CHOUBERT, G. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.176, p.331-341, 1999.
- BOUSSIBA, S. Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: Cellular physiology and stress response. **Physiologia Plantarum**, v.108, p.111-117, 2000.
- CARVALHO, J.A.L.V., OLIVEIRA, I.B., COSTA, W.M., NERY, R.M.C., SOARES, R.B., GALVEZ, A.O., PEIXOTO, S.R.M. Avaliação do crescimento populacional do rotífero *Brachionus plicatilis* com a utilização de microalga e probiótico na dieta. **Rev. Bras. Eng. Pesca**, v.3, n.3, p.59-64, 2008.
- CHATZIFOTIS, S., PAVLIDIS, M., JIMENO, C. D., VARDANIS, G., STERIOTI, A. & DIVANACH, P. The effect of different carotenoid sources on skin coloration of cultured red porgy (*Pagrus pagrus*). **Aquaculture Research**, v.36, p.1517-1525, 2005.
- CHOUBERT, G., MENDES-PINTO, M. M. & MORAIS, R. Pigmenting efficacy of astaxanthin fed to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: Effect of dietary astaxanthin and lipid sources. **Aquaculture**, v.257, p.429-436, 2006.
- COLE, B., TAMARU, C.S., BAILEY, R., BROWN, C. **A manual for commercial production of the gourami, *Trichogaster trichopterus*, a temporary paired spawner**. O’ahu: University of Hawai-i, Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, 1999, 37p. [Publication n.135].
- COSTA, W.M., FIGUEIREDO, M.B., CAVALLI, R.O., GÁLVEZ, A.O. Crescimento populacional de rotíferos *Brachionus plicatilis* Müller, 1786, alimentados com microalgas e dieta formulada. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.3, n.2, p.173-178, 2008.
- DHERT, P., LIM, L.C., CANDREVA, P., VAN DUFFEL, H. & SORGELOOS, P. Possible applications

- of modern fish larviculture technology to ornamental fish production. **Aquarium Sciences and Conservation**, v.1, p.119-128, 1997.
- ELMADFA, I. & MAJCHRZAK, D. Carotinoide und Vitamin A in Fischproben. **Z Ernährungswiss**, v.37, p.207-210, 1998.
- FROESE, R. & PAULY, D. (eds.) **FishBase**. Disponível em: <http://www.fishbase.org>. Acesso em: 31 mar. 2006.
- GOUVEIA, L. & EMPIS, J. Relative stabilities of microalgal carotenoids in microalgal extracts, biomass and fish feed: effect of storage conditions. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.4, p.227-233, 2003.
- HAMRE, K., CHRISTIANSEN, R., WAAGBØ, R., MAAGE, A., TORSTENSEN, B. E., LYGREN, B., LIE, Ø., WATHNE, E. & ALBREKTSEN, S. Antioxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.): effects on growth performance and fillet quality. **Aquaculture Nutrition**, v.10, p.113-123, 2004.
- HIRATA, H., MURATA O., YAMADA S., ISHITANI H., WACHI M. Probiotic culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. **Hydrobiologia**, v.387/388, p.195-198, 1998.
- LARA, R., CASTRO, T., CASTRO, J. & CASTRO, G. Cultivo del nematodo *Panagrellus redivivus* (Goodey, 1945) en un medio de avena enriquecida con *Spirulina* sp. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, v.42, n.1, p.29-36, 2007.
- LAVENS, P. & SORGELOOS, P. (eds.) **Manual on the production and use of live food for aquaculture**. FAO Fisheries Technical Paper, n.361. Rome, FAO. 1996. 295p.
- LIMA, A.O. Piscicultura Ornamental - Uma modalidade em plena expansão. In: Simpósio Mercosul de Aqüicultura, 2004. **Anais...**, Vitória, 2004.
- LIMA, L. R. P., OLIVEIRA, T. T., NAGEM, T. J., PINTO, A. S., STRINGHETA, P. C., TINOCO, A. L. A. & SILVA, J. F. Bixina, norbixina e quercetina e seus efeitos no metabolismo lipídico de coelhos. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.38, n.4, p.196-200, 2001.
- LIMA, V. L. A. G., MÉLO, E. A., MACIEL, M. I. S. & LIMA, D. E. S. Avaliação do teor de antocianinas em polpa de acerola congelada proveniente de frutos de 12 diferentes aceroleiras (*Malpighia emarginata* D.C.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.23, n.1, p.101-103, 2003.
- MAGALHÃES, A. F., TOZZI, A. M. G. A., MAGALHÃES, E. G., SANNOMIYA, M., SORIANO, M. D. P. C. & PEREZ, M. A. F. Flavonoids of *Lonchocarpus montanus* A.M.G. Azevedo and biological activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.79, n.3, p.351-367, 2007.
- MERCADANTE, A. Z. & PFANDER, H. Caracterização de um novo carotenóide minoritário de urucum. **Ciência Tecnol. Aliment.**, v.21, n.2, p.193-196, 2001.
- MORA, G. I. L., ARREDONDO-FIGUEROA, J. L., PONCE-PALAFOX, J. T., BARRIGASOSA, I. D. L. A. & VERNON-CARTER, J. E. Comparison of red chilli (*Capsicum annum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet pigmentation. **Aquaculture**, v.258, p.487-495, 2006.
- MORA, G. I. L., ARREDONDO-FIGUEROA, J. L., PONCE-PALAFOX, J. T., BARRIGASOSA, I. D. L. A. & VERNON-CARTER, J. E. Corrigendum to "Comparison of red chilli (*Capsicum annum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet pigmentation" [Aquaculture, v.258, p.487-495, 2006]. **Aquaculture**, v.261, p.825, 2006.
- MOREIRA, F. P. M., COUTINHO, V., MONTANHER, A. B. P., CARO, M. S. B., BRIGHENTE, I. M. C. & PIZZOLATTI, M. G. Flavonóides e triterpenos de *Baccharis pseudotenuifolia* - bioatividade sobre *Artemia salina*. **Quim. Nova**, v.26, n.3, p.309-311, 2003.
- MORIEL, D. G., CHOCIAI, M. B., MACHADO, I. M. P., FONTANA, J. D. & BONFIM, T. M. B. Effect of feeding methods on the astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* in fed-batch Process. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, n.3, p.397-401, 2005.
- NICKELL, D.C., BROMAGE, N.R. The effect of timing and duration of feeding astaxanthin on the development and variation of fillet colour and efficiency of pigmentation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, n.169, p.233-246. 1998.
- NIEUWERBURGH, L. V., WÄNSTRAND, I., LIU, J. & SNOEIJIS, P. Astaxanthin production in marine pelagic copepods grazing on two different phytoplankton diets. **Journal of Sea Research**, v.53, p.147-160, 2005.
- OROSA, M., FRANQUEIRA, D., CID, A. & ABALDE, J. Analysis and enhancement of astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis*. **Bioresource Technology**, v.96, p.373-378, 2005.
- REZENDE, F. P., VIDAL-JÚNIOR, M. V., MENDONÇA, P. P., ANDRADE, D. R. Níveis de bixina na ração para *Trichogaster leeri* e efeitos na cor da pele dos peixes ornamentais alimentados por 28 dias. **Resumos do Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes**, 2. Botucatu - SP - Brasil, 2007, 4p. D:07.01-51.pdf, 2007. v.C
- RIBEIRO, F. A. S. Panorama mundial do mercado de peixes ornamentais. **Panorama da Aqüicultura**,

- v.18, n.108, p.32-37, 2008.
- RIBEIRO, F. A. S., CARVALHO JÚNIOR, J. R., FERNANDES, J. B. K. & NAKAYAMA, L. Comércio brasileiro de peixes ornamentais. **Panorama da Aqüicultura**, v.18, n.110, p.54-59, 2008.
- RUIZ-RODRIGUEZ, A., MARÍN, F. R., OCAÑA, A. & SOLER-RIVAS, C. Effect of domestic processing on bioactive compounds. **Phytochemistry Reviews**, v.7, p.345-384, 2008.
- SALES, J. & JANSSENS, G. P. J. Nutrient requirements of ornamental fish. **Aquat. Living Resour.**, v.16, p.533-540, 2003.
- SANTOS, A.P.F., SANTOS, L.B.G., NASCIMENTO, R.D.M., MARINHO, Y.F., CALAZANS, N.K.F., VASCONCELOS, R.F.L., DANTAS, D.M.M., GÁLVEZ, A.O. Análise do crescimento populacional do rotífero *Brachionus plicatilis* alimentados com a microalga *Dunaliella salina*. **Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão**, 19-23/out-2009, UFRPE: Recife/PE. Disponível em: <www.eventosufrpe.com.br/jepe2009/ /cd/resumos/R0932-2.pdf>, acesso em: 12-fev-2010.
- SARGENT, J.R., TOCHER, D.R., BELL, J.G., The lipids. In.: FISH NUTRITION (org. HALVER E HARD), p.181-257, 2002.
- SHINDO, K., KIKUTA, K., SUZUKI, A., KATSUTA, A., KASAI, H., YASUMOTO-HIROSE, M., MATSUO, Y., MISAWA, N. & TAKAICHI, S. Rare carotenoids, (3R)-saproxanthin and (3R,2'S)-myxol, isolated from novel marine bacteria (Flavobacteriaceae) and their antioxidative activities. **Appl Microbiol Biotechnol**, v.74, p.1350-1357, 2007.
- SNIFFEN, C. J., O'CONNOR, J. D., VAN SOEST, P. J., FOX, D. G. & RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.
- TAKAHASHI, M.Y., BARBOSA, A.M.S., BARRA, A.J., OLIVEIRA, A.F.A., MANCINELLI, C., BREIN, D.R., RODRIGUEZ-AMAYA, B.D., GERUMEL, E.J., ARIMA, H.K., CONSENTINO, H.M., ZIMBER, K., ENOSHITA, L., ARAUJO, M.J., RUSIG, O., RUIZ, S.M. **Monografias de corantes naturais para fins alimentícios: padrões de identidade e qualidade**. 2ª Edição atualizada e ampliada. São Paulo, Brasil: Patrocinado Pelo Sanrisil, 1987. 118p.
- THOMAZ, L.A., OSHIRO, L.M.Y., BAMBOZZI, A.C., SEIXAS-FILHO, J.T., ROSADAS, L.A.S. Substituição de *Artemia* sp. pelo Rotífero *Brachionus plicatilis* na Larvicultura do Camarão-d'Água-Doce (*Macrobrachium rosenbergii* De Man, 1879). **R. Bras. Zootec.**, v.33, n.6(sup.2), p.1928-1933, 2004.
- TOLASA, S., CAKLI, S. & OSTERMEYER, U. Determination of astaxanthin and canthaxanthin in salmonid. **European Food Research and Technology**, v.221, p.787-791, 2005.
- VELU, C. S. & MUNUSWAMY, N. Composition and nutritional efficacy of adult fairy shrimp *Streptocephalus dichotomus* as live feed. **Food Chemistry**, v.100, p.1435-1442, 2007.
- VELU, C. S., CZECHUGA, B. & MUNUSWAMY, N. Carotenoprotein complexes in entomostracan crustaceans (*Streptocephalus dichotomus* and *Moina micrura*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.135B, p.35-42, 2003.
- VIDAL-JÚNIOR, M.V. Produção e criação de peixes ornamentais. In: Seminário de Piscicultura da Zona da Mata, 1. 1997. **Anais...** 1997, p.45-57.
- WANG, Y. J., CHIEN, Y. H. & PAN, C. H. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. **Aquaculture**, v.261, p.641-648, 2006.
- YUAN, J. P., CHEN, F., LIU, X. & LI, X. Z. Carotenoid composition in the green microalga *Chlorococcum*. **Food Chemistry**, v.76, p.319-325, 2002.

CANTAXANTINA NA NUTRIÇÃO DO PEIXE ORNAMENTAL

COLISA-SANGUE (*Colisa lalia*)

Fabício Pereira Rezende^{1*}, Eduardo Arruda Texeira Lanna², Paulo César Brustolini²,
Théa Mirian Medeiros Machado², Igor Hiroshi Terayama de Oliveira³, Marcio Aparecido
Candido Nicassio⁴

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, IFES

² Departamento de Zootecnia, UFV

³ Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFV

⁴ Faculdades Integradas de Viçosa

* Autor para correspondência: frezende@ymail.com

Resumo – Com objetivo de melhorar a coloração e aspectos fisiológicos dos peixes, conduziu-se o presente trabalho com o fornecimento de dietas enriquecidas com cinco níveis de cantaxantina (0, 44,4, 94,2, 137,0 e 180,0 mg/kg) ao peixe colisa-sangue. O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. Observou-se que a cantaxantina possibilitou a efetiva intensificação da coloração vermelho-amarelada da pele do peixe, com nível de inclusão a partir de 94,2 mg/kg de ração, além de melhorar as condições fisiológicas e bem-estar destes.

Palavras-chaves: piscicultura, *Colisa lalia*, desempenho, coloração, pigmento, carotenóide

Abstract - Aiming to improve the color and physiological aspects of fish, this work was conducted supplying diets enriched with five levels of canthaxanthin (0, 44.4, 94.2, 137.0 and 180.0 mg/kg) to dwarf-red gouramy fish. This experiment was conducted under a completely randomized design with five replications. It was observed that canthaxanthin enabled the effective intensification of yellowish-red coloration of fish skin, with level of inclusion from 94.2 mg/kg of diet, besides improving the physiological conditions and welfare of animals.

Keywords: fish, *Colisa lalia*, performance, color, pigment, carotenoid

Introdução

A coloração da pele de peixes depende, primeiramente, da presença de cromatóforos (melanóforos, xantóforos, eritróforos, iridóforos, leucóforos e cianóforos),

contendo pigmentos como melanina, carotenóides (astaxantina, cantaxantina, luteína e zeaxantina), pteridinas e purinas (FUJII, 2000, VILELA, 1976). Além disso, os peixes podem exibir diferentes padrões de coloração como resultados da dispersão ou agregação de cromatossomas e a distribuição dos cromatóforos na pele (FUJII, 1969, 2000). Uma combinação de fatores ambientais, neurais, endócrinos e relacionados ao comportamento reprodutivo influencia a mobilidade dos cromatossomas nos cromatóforos e a deposição de pigmentos em peixes cultivados (FUJII, 2000; ASPENGREN *et al.*, 2003).

Peixes, semelhantemente ao que ocorre com aves, metabolizam os carotenóides de maneira seletiva, retendo as xantofilas e rejeitando os carotenos. O β -caroteno é raro entre os peixes e pode ser encontrado em pequenas concentrações no fígado, ovários, músculos e ovos, sendo observado em músculos de salmão (*Salmo salar*) e pele de burbot (*Lota lota*), European perch (*Perca fluviatilis*) e kingiuo (*Carassius auratus*). VILLELA (1976) também mencionou que, apesar de ser escassa, a zeaxantina foi encontrada em ovos de truta (*Salmo iridens*), a taraxantina e a astaxantina foram encontradas nos olhos, no fígado e, principalmente, na pele de algumas espécies de peixes.

Os carotenóides foram os primeiros a serem incluídos em lista de ingredientes funcionais devido à sua atividade como provitamina A (β -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina), mas estudos epidemiológicos demonstraram que eles exercem atividades benéficas à saúde, como combate a radicais livres em matrizes lipídicas, proteção contra formação de tumores, degeneração macular, doenças cardiovasculares, etc. (ARMSTRONG, 1997; BASU *et al.*, 2001).

Os principais pigmentos, utilizados na aquicultura, como ingredientes e aditivos em rações para peixes salmonídeos são a astaxantina e a cantaxantina, que representam cerca de 10 a 15% dos custos das rações (MORA *et al.*, 2006).

Do ponto de vista nutricional, a inclusão de ingredientes funcionais, a exemplo da cantaxantina, possibilita melhorar as características fisiológicas dos animais criados em sistemas intensivos e superintensivos. Além de intensificarem a pigmentação, agregam maior valor na comercialização e à saúde dos peixes. Especialmente, devido às vantagens adicionais que os carotenóides proporcionam, quanto à redução de estresse, combate aos radicais livres e aumento de resposta imunológica, favorecendo o crescimento, a reprodução e auxiliando no bem-estar animal (SHINDO et al., 2007, HANRE et al., 2004, WANG et al., 2006).

O sucesso na comercialização de peixes ornamentais é dependente de cores vibrantes (FUJII, 2000), o valor comercial destes peixes reflete esta exigência do mercado, conseqüentemente, produtores de peixes ornamentais constantemente estão procurando métodos para intensificar a coloração da pele (SINHA & ASIMI, 2007, REZENDE, 2010). No passado, a maioria das pesquisas focalizava o aspecto genético e a seleção de características ornamentais, recentemente, a melhoria das cores pelo uso de carotenóides em rações chama a atenção de pesquisadores que trabalham na área (AKO *et al.*, 2000).

Os pigmentos carotenóides são responsáveis pela diversidade de cores na natureza, a maioria é de cor amarelo intenso, laranja e vermelho, encontrados em frutas, folhas e animais aquáticos. Entre todas as classes de cores naturais, os carotenóides são os agentes de pigmentação mais amplos e estruturalmente diversos (VILLELA, 1976). Várias cores são produzidas pela presença de carotenóides específicos e complexos de carotenoproteínas. Pelo fato dos carotenóides serem sintetizados apenas por vegetais e modificados em tecidos animais, os peixes necessitam obtê-los da dieta (GOUVEIA & REMA, 2005).

Entretanto, pela recente expressividade da piscicultura ornamental, poucos estudos foram realizados ainda para a elucidação da eficiência de utilização destes ingredientes

fontes de pigmentos na nutrição e pigmentação da pele de espécies destinadas ao mercado aquarístico. Com intuito de avaliar os efeitos da cantaxantina sobre características de coloração da pele e de desempenho de machos de *Colisa lalia* linhagem “Sangue”, conduziu-se este experimento utilizando dietas com cinco níveis de cantaxantina.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Peixes do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, no período de Setembro a Novembro de 2008, com duração de 70 dias, sendo os 20 primeiros dias para aclimação e condicionamento dos peixes ao manejo experimental.

Os peixes utilizados foram adquiridos de piscicultura de peixes ornamentais no município de Muriaé/MG. Foram selecionados apenas machos, peso inicial de $1,93 \pm 0,12$ g e comprimento total de $45,8 \pm 1,1$ mm, com aproximadamente 70 dias de vida. Acondicionou-se sete machos por aquário, na densidade de 0,35 peixe/L, cada aquário comportava volume útil de 20 litros.

A temperatura da água foi aferida diariamente com termômetro de máxima e mínima, e semanalmente para oxigênio dissolvido, pH, potencial redox e condutividade elétrica, utilizando-se oxímetro, peagâmetro e condutivímetro digitais.

Os aquários faziam parte de um sistema de recirculação de água com filtragem mecânica e biológica, além de sistema de esterilização de água com lâmpada germicida. A limpeza do sistema ocorria uma vez por semana, ocasião em que os resíduos sólidos foram sifonados, as paredes internas dos aquários escovadas, os filtros mecânicos lavados e 30% da água do sistema trocada. A taxa de recirculação da água nos aquários era de 2.000% ao dia e o volume dos filtros biológicos equivalentes a 20% do volume total do sistema de recirculação.

Os aquários permaneceram sob iluminação artificial ($184,2 \pm 51,1$ lux/cm²) por lâmpadas fluorescentes em fotoperíodo de 12h de luz e 12h de escuro, regulado por timer analógico, entre 6h30 e 18h30.

As dietas experimentais foram preparadas com base em um ração comercial extrusada, sobre a qual se adicionou por aspersão os extratos contendo os cinco níveis de pigmentos. A incorporação da cantaxantina sobre os peletes da ração comercial foi feita com auxílio de pulverizador em câmara fechada e escura. A cantaxantina foi dissolvida em água a 50°C com agitação por cinco minutos para posterior incorporação nas dietas. Após a incorporação da cantaxantina, a ração foi colocada em estufa ventilada a 50°C por 8h e, posteriormente, aspergiu-se 20 g de óleo de soja por quilo de ração para formação de película oleosa recobrando os peletes à reduzir a lixiviação do pigmento e dos nutrientes para a água durante os arrazoamentos. A eficiência de incorporação do pigmento foi de 70,1%.

As análises de composição centesimal das dietas experimentais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (LNA/DZO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os níveis de carboidratos foram estimados segundo metodologia proposta em SNIFFEN et al. (1992). Enquanto que as análises de níveis de pigmentos foram realizadas no Laboratório de Corantes e Pigmentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV. Os níveis de cantaxantina foram determinados segundo metodologia proposta em TAKAHASHI et al. (1987).

As dietas experimentais (Tabela 1) foram inicialmente pesadas e acondicionadas em recipientes plásticos com tampa devidamente identificados, permaneceram armazenadas em freezer e foram retiradas apenas no momento do arrazoamento dos peixes.

Tabela 1 - Composição centesimal e níveis de cantaxantina, após enriquecimento, nas rações experimentais para o peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*)

Composição	Nível de cantaxantina na ração (mg/kg)				
	0	44,4	94,2	137,0	180,0
Energia bruta (kcal/kg)	4.532	4.601	4.581	4.566	4.612
Proteína bruta (%)	33,79	34,26	33,64	33,52	34,41
Carboidratos (%)	33,31	33,40	33,40	33,71	32,81
Umidade (%)	10,03	10,21	10,14	10,23	10,20
Extrato etéreo (%)	8,81	8,62	9,03	8,79	8,98
Fibra bruta (%)	6,13	5,82	5,97	6,01	5,73
Minerais (%)	7,93	7,69	7,82	7,74	7,87
Ca (%)	1,22	1,24	1,19	1,24	1,23
P (%)	1,19	1,21	1,19	1,23	1,21

As dietas foram fornecidas diariamente as 8h00, 13h00 e 18h00, até a saciedade. Ao final do período experimental as sobras das rações foram pesadas e a quantidade consumida pelos peixes mensurada para cada aquário.

Ao final do período experimental, os peixes foram insensibilizados em solução com óleo de cravo em etanol (proporção de 1:4), contendo etanol a 25 mg/L, e em seguida, individualmente pesados, medidos fotografados.

A coloração para cada peixe foi a média de três pontos em duas áreas diferentes mensuradas nos sistemas de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$) e no sistema CMYK (Figura 1). O padrão de CMYK de expressão da coloração é baseado em percentuais das cores básicas (ciano, magenta, amarelo e preto), os quais representam variáveis não paramétricas, necessitando ser transformados para variáveis paramétricas, conforme método proposto em REZENDE (2006). A coloração da pele foi mensurada com auxílio de software Adobe PhotoShop CS2[®] a partir das fotografias digitais.

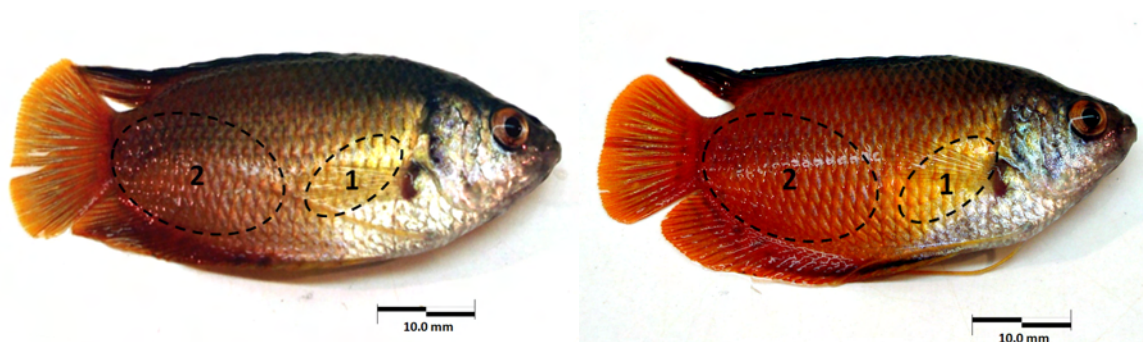


Figura 1 - Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*), a partir de fotografias digitais em três pontos (25 pixels quadrados cada) por região delimitada por traços pontilhados, pelo software Adobe PhotoShop CS2[®]. O peixe da esquerda é representativo do tratamento controle e o peixe da direita, representativo do tratamento que se alimentou da dieta enriquecida com cantaxantina (180,0 mg/kg)

Os resultados de desempenho e de coloração foram submetidos às análises de variância e de regressão. Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando-se o teste F, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ($R^2 = \text{SQRegressão} / \text{SQTratamento}$), e no fenômeno biológico.

Resultados e Discussão

As condições ambientais em que os peixes foram mantidos no período experimental permaneceram sob níveis ótimos. As características de qualidade da água: temperatura ($27,3 \pm 0,9^\circ\text{C}$), oxigênio dissolvido ($6,7 \pm 1,2 \text{ mg L}^{-1}$), pH ($7,2 \pm 0,3$), potencial redox ($23,8 \pm 8,5 \text{ mV}$) e condutividade elétrica ($86,5 \pm 5,4 \mu\text{S cm}^{-1}$) ocorridas durante o experimento, encontraram-se dentro da faixa de conforto para a espécie: temperatura (23 a 32°C), oxigênio (acima de 5 mg L^{-1}) e pH (6,2 a 7,4) (FROESE & PAULY, 2006; COLE et al., 1999; ALZUGARAY e ALZUGARAY, 1997).

Ao final do período experimental foram realizadas as biometrias dos peixes para as características: peso final, comprimento padrão e total; a partir das quais foram calculados os índices de desempenho zootécnico (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores médios das características de desempenho do peixe colisa-sangue (Colisa lalia) e CV (%), em função dos níveis de cantaxantina nas dietas

Característica	Nível de cantaxantina na ração (mg/kg)					CV (%)
	0	44,4	94,2	137,0	180,0	
Biomassa inicial (g)	13,48	13,40	13,42	13,29	13,83	5,23
Biomassa final (g)	19,29	19,46	19,25	18,59	19,85	3,98
Ganho de biomassa (g)	5,81	6,06	5,83	5,31	6,02	16,22
Consumo de ração (g)	17,29	17,90	17,51	17,81	17,63	4,48
Ganho de peso em 50 dias (%)	43,38	45,66	43,75	40,36	44,43	19,21
Conversão alimentar	3,00	3,11	3,03	3,45	3,02	17,31
Fator de condição de Fulton inicial	1,97	2,02	2,00	2,00	1,98	2,46
Fator de condição de Fulton final	2,40	2,40	2,34	2,24	2,29	2,96

A presença de compostos bioativos encontrados nos alimentos vivos proporcionam eficiência na conversão alimentar e melhoria da resposta imunológica, culminando em maior crescimento e sobrevivência (SHINDO et al., 2007, WANG et al., 2006). Os alimentos vivos tais como *Tubifex* spp., *Brachionus* spp., *Daphnia* spp., *Artemia* spp., *Mysis* spp., *Dendrocephallus* spp. e *Moina* spp. têm sido utilizadas preferencialmente na larvicultura de espécies nobres e na produção de peixes ornamentais.

A baixa produção de organismos planctônicos em sistemas de criação intensivos e superintensivos, impossibilita a bioacumulação de pigmentos carotenóides e compostos bioativos em níveis suficientes para intensificação da coloração da pele nos peixes destinados ao mercado aquarístico, em função disso, a inclusão desses compostos em dietas inertes torna-se uma realidade desejável ao sucesso nos cultivos, conforme também relatado em REZENDE (2010).

Apesar de os resultados obtidos para as características de desempenho (Tabela 2) não possibilitarem a observação explícita de vantagens da utilização de cantaxantina como ingrediente funcional sobre estas, tal fato se deve possivelmente à manutenção dos peixes sob experimentação em condições excepcionalmente adequadas e dentro da faixa de conforto para a espécie.

Sugere-se a realização de experimentos que avaliem as vantagens da utilização da cantaxantina, e, ou outro ingrediente funcional sobre aspectos de condição fisiológica e de desempenho dos peixes. Uma vez que, possivelmente, a condução de experimentos para esta e para outras espécies, sob condições de desafio, permita a observação dos efeitos benéficos da utilização de carotenóides como alimentos funcionais na alimentação de peixes e na nutrição animal (SINHA & ASIMI, 2007, WANG et al., 2006).

A quantificação do nível de pigmentação da pele dos peixes colisa-sangue (Tabela 3) foi realizada através de fotografias digitais nos padrões de coloração dos sistemas CMYK, que significam a formação de cores a partir de sobreposição de percentuais das cores básicas C (ciano), M (magenta), Y (amarelo) e K (preta), e do sistema Hunter (L*a*b*) de coordenadas de coloração (L = 0, branco e L = 100, preto; a < 0, verde e a > 0, vermelho; b < 0, azul e b > 0, amarelo).

Tabela 3 - Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no padrão CMYK, obtidos nos peixes colisa-sangue (*Colisa lalia*) a partir de fotografias digitais com o software Adobe PhotoShop CS2®, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2), em função do nível de cantaxantina nas dietas

Índices de coloração	Nível de cantaxantina (X) adicionado à dieta (mg/Kg)					CV (%)	Equações de regressão $\hat{Y} =$
	0	44,4	94,2	137,0	180,0		
L	56,4	51,7	52,0	48,6	48,8	4,57	55,1 - 0,0281.X ($r^2 = 0,84$)
a	11,6	12,2	14,5	17,6	19,2	29,14	10,9 + 0,0316.X ($r^2 = 0,97$)
b	20,6	26,4	27,5	30,5	31,3	37,44	27,3
C	0,527	0,561	0,535	0,549	0,560	6,12	0,546
M	0,694	0,736	0,748	0,797	0,806	4,44	0,699 + 0,0004.X ($r^2 = 0,96$)
Y	0,798	0,884	0,881	0,941	0,950	10,05	0,818 + 0,0006.X ($r^2 = 0,88$)
K	0,514	0,527	0,532	0,533	0,517	8,73	0,525

A cantaxantina mostrou-se como ingrediente eficiente na pigmentação vermelho-amarelada da pele do peixe ornamental *Colisa lalia* linhagem “Sangue” à partir do nível de inclusão de 94,2 mg/kg de ração, corroborando com resultados obtidos em outro trabalho para o peixe acará-disco (*Symphysodon aequifasciata*) (REZENDE, 2010). Através da

cotação de cores no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no sistema CMYK foi possível perceber que a cantaxantina intensificou o aspecto de brilho (L*) e o tom vermelho (a*, MY) na pele do peixe, o que indica que a cantaxantina em níveis superiores a 94,2 mg/kg, além do potencial pigmentante à pele do peixe, também melhora a condição fisiológica, haja vista o tom escuro da pele da colisa-sangue ser um indicativo de estresse.

A cantaxantina, já conhecida como ingrediente funcional, é um eficiente pigmentante para peixes que apresentam rotas metabólicas de absorção e bioconversão desta para deposição na pele ou filé (WANG et al., 2006; CEJAS et al., 2003; GOUVEIA & EMPIS, 2005; GOUVEIA et al., 2003, 2002, 1998; OHKUBO et al., 1999).

Já tendo sido confirmado qual o nível de inclusão de cantaxantina nas dietas que proporcionam intensificação na pigmentação vermelha da pele torna-se interessante a realização de outros trabalhos para avaliar a eficiência de pigmentação de dietas enriquecidas com complexos de pigmentos, a exemplo de cantaxantina com licopeno (extrato liofilizado de tomate) ou com antocianina (extrato liofilizado de açaí).

Conclusão

A utilização da cantaxantina como ingrediente funcional em dietas para *Colisa lalia* linhagem “Sangue” possibilita a intensificação das colorações vermelho-amareladas de maneira eficiente a partir de 94,2 mg/kg de ração, sem interferir nas características de desempenho.

Referências

- AKO H., TAMARU C. S., ASANO L., YUEN B. & YAMAMOTO M. Achieving natural colouration in fish under culture. **UJNR Technical Report 28**, 2000.
- ALZUGARAY, D. & ALZUGARAY, C. (eds.) **Peixes de aquário**. São Paulo: Editora Três Ltda. 1997. 378p.
- ARMSTRONG, G. A. Genetics of eubacterial carotenoid biosynthesis: a colorful tale. **Annual Review Microbiology**, v.51, p.629-259, 1997.
- ASPENGREN, S., SKÖLD, H. N., QUIROGA, G., MARTENSSON, L. & WALLIN, M. *Noradrenaline- and Melatonin-mediated regulation of pigment aggregation in fish melanophores*. **Pigment Cell**

- Research**, v.16, p.59-64, 2003.
- BASU, H. N., VECCHIO, A. J. D., FLIDER, F. & ORTHOEFER, F. T. Nutritional and Potential Disease Prevention, Properties of Carotenoids. **JAOCs**, v.78, n.7, p.665-675, 2001.
- CARVALHO, J.A.L.V., OLIVEIRA, I.B., COSTA, W.M., NERY, R.M.C., SOARES, R.B., GALVEZ, A.O., PEIXOTO, S.R.M. Avaliação do crescimento populacional do rotífero *Brachionus plicatilis* com a utilização de microalga e probiótico na dieta. **Rev. Bras. Eng. Pesca**, v.3, n.3, p.59-64, 2008.
- CEJAS, J. R., ALMANSA, E., TEJERA, N., JEREZ, S., BOLAÑOS, A. & LORENZO, A. Effect of dietary supplementation with shrimp on skin pigmentation and lipid composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) alevins. **Aquaculture**, v.218, p.457-469, 2003.
- COLE, B., TAMARU, C.S., BAILEY, R., BROWN, C. **A manual for commercial production of the gourami, *Trichogaster trichopterus*, a temporary paired spawner**. O'ahu: University of Hawai-i, Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, 1999, 37p. [Publication n.135].
- COSTA, W.M., FIGUEIREDO, M.B., CAVALLI, R.O., GÁLVEZ, A.O. Crescimento populacional de rotíferos *Brachionus plicatilis* Müller, 1786, alimentados com microalgas e dieta formulada. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.3, n.2, p.173-178, 2008.
- FROESE, R. & PAULY, D. (eds.) **FishBase**. Disponível em: <http://www.fishbase.org>. Acesso em: 31 mar. 2006.
- FUJII, R. The regulation of motile activity in fish chromatophores. **Pigment Cell Research**, v.13, p.300-319, 2000.
- FUJII, R. **Chromatophores and pigments**. In: FISH PHYSIOLOGY. v.3 - Reproduction and Growth, Bioluminescence, Pigments, and Poisons. HOAR, W.S. e RANDALL, D.J. (eds.). New York: Academic Press, 1969, 485p.
- GOUVEIA, L., GHOUBERT, C., PEREIRA, N., SANTINHA, J., EMPIS, J. & GOMES, E. Pigmentation of gilthead seabream, *Sparus aurata* (L. 1985), using *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta, Volvocales) microalga. **Aquaculture Research**, v.33, p.987-993, 2002.
- GOUVEIA, L. & EMPIS, J. Relative stabilities of microalgal carotenoids in microalgal extracts, biomass and fish feed: effect of storage conditions. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.4, p.227-233, 2003.
- GOUVEIA, L. & REMA, P. Effect of microalgal biomass concentration and temperature on ornamental goldfish (*Carassius auratus*) skin pigmentation. **Aquaculture Nutrition**, v.11, p.19-23, 2005.
- GOUVEIA, L., CHOUBERT, G., GOMES, E., REMA, P. & EMPIS, J. Use of *Chlorella vulgaris* as a carotenoid source for rainbow trout: effect of dietary lipid content on pigmentation, digestibility and retention in the muscle tissue. **Aquaculture International**, v.6, p.269-279, 1998.
- GOUVEIA, L., REMA, P., PEREIRA, O. & EMPIS, J. Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass. **Aquaculture Nutrition**, v.9, p.123-129, 2003.
- HAMRE, K., CHRISTIANSEN, R., WAAGBØ, R., MAAGE, A., TORSTENSEN, B. E., LYGREN, B., LIE, Ø., WATHNE, E. & ALBREKTSEN, S. Antioxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.): effects on growth performance and fillet quality. **Aquaculture Nutrition**, v.10, p.113-123, 2004.
- MORA, G.I., ARREDONDO-FIGUEROA, J. L., PONCE-PALAFIX, J. T., BARRIGA-SOSA, I. D. L. A. & VERNON-CARTER, J. E. Comparison of red chilli (*Capsicum annuum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet pigmentation. **Aquaculture**, v.258, p.487-495, 2006.
- OHKUBO, M., TSUSHIMA, M., MAOKA, T. & MATSUNO, T. Carotenoids and their metabolism in the goldfish *Carassius auratus* (Hibuna). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.124, p.333-340, 1999.
- REZENDE. **Intensificação da coloração em peixes ornamentais com o uso de rações enriquecidas com pigmentos naturais**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, 2010, 126f.
- REZENDE. **Níveis de bixina na ração e de eugenol na água de transporte para o peixe ornamental *Trichogaster leeri***. Dissertação. Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2006, 75p.
- SHINDO, K., KIKUTA, K., SUZUKI, A., KATSUTA, A., KASAI, H., YASUMOTO-HIROSE, M., MATSUO, Y., MISAWA, N. & TAKAICHI, S. Rare carotenoids, (3R)-saproxanthin and (3R,2'S)-myxol, isolated from novel marine bacteria (Flavobacteriaceae) and their antioxidative activities. **Appl Microbiol Biotechnol**, v.74, p.1350-1357, 2007.
- SINHA, A. & ASIMI, O. A. China rose (*Hibiscus rosasinensis*) petals: a potent natural carotenoid source for goldfish (*Carassius auratus* L.). **Aquaculture Research**, v.38, p.1123-1128, 2007.
- SNIFFEN, C. J., O'CONNOR, J. D., VAN SOEST, P. J., FOX, D. G. & RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.
- TAKAHASHI, M.Y., BARBOSA, A.M.S., BARRA, A.J., OLIVEIRA, A.F.A., MANCINELLI, C., BREIN, D.R., RODRIGUEZ-AMAYA, B.D., GERUMEL, E.J., ARIMA, H.K., CONSENTINO, H.M.,

- ZIMBER, K., ENOSHITA, L., ARAUJO, M.J., RUSIG, O., RUIZ, S.M. Monografias de corantes naturais para fins alimentícios: padrões de identidade e qualidade. 2ª Edição atualizada e ampliada. São Paulo, Brasil: Patrocinado Pelo Sanrisil, 1987. 118p.
- VILLELA, G. G. **Pigmentos animais - Zoocromos**. Academia Brasileira de Ciências (ed.), 1976, 182p.
- WANG, Y. J., CHIEN, Y. H. & PAN, C. H. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. **Aquaculture**, v.261, p.641-648, 2006.

ANTOCIANINA COMO ADITIVO EM RAÇÕES PARA O PEIXE

COLISA-SANGUE (*Colisa lalia*)

Fabício Pereira Rezende^{1*}, Eduardo Arruda Teixeira Lanna², Paulo Roberto Cecon³,
Paulo César Stringheta⁴, Théa Mirian Medeiros Machado², Igor Hiroshi Terayama de
Oliveira⁴

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, IFES

² Departamento de Zootecnia, UFV

³ Departamento de Estatística, UFV

⁴ Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFV

* Autor para correspondência: frezende@ymail.com

Resumo – Com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão de extrato liofilizado de açaí como fonte de pigmentos sobre a expressão de cor na pele e características de desempenho em colisa-sangue, conduziu-se experimento utilizando dietas com cinco níveis do extrato antocianico (0, 250, 500 e 750 e 1.000 mg de antocianina/ kg) sob delineamento inteiramente casualizado. Houve aumento da expressão da coloração azulada na pele do peixe, a partir do menor nível de inclusão, 250 mg/kg de ração, não sendo observados efeitos sobre as características de desempenho apesar do consumo de ração ter sido influenciado pela adição do extrato de açaí à ração.

Palavras-chave: piscicultura, *Colisa lalia*, extrato de açaí, corante, pigmento, flavonóide

Abstract - Aiming to evaluate the effect of açai dried extract inclusion as a source of pigments on the expression of skin color and performance characteristics of dwarf-red gouramy, an experiment was conducted using diets with five levels of anthocyanin extract (0, 250 , 500, 750 and 1,000 mg of anthocyanins/kg) in a randomized design. There was an increase of the blue coloration expression on the fish skin from the lower level of inclusion, 250 mg / kg diet with no noticeable effect on the performance characteristics in spite of feed intake have been influenced by the addition of the açai extract in the ration.

Keywords: fish, *Colisa lalia*, acai extract, dye, pigment, flavonoid

Introdução

Os peixes apresentam ampla variedade e intensidade nas cores dos tegumentos, sendo estas ocasionadas por biocromos pertencentes às classes carotenóides, melaninas, pterinas, purinas, flavinas e tetrapirróis (VILLELA, 1976). A fonte primária de cores na pele de peixes são os carotenóides, um grupo de mais de 600 pigmentos naturais lipossolúveis, os quais são produzidos por algas fitoplanctônicas e vegetais superiores, que apresentam as colorações amarelas e vermelhas (SINHA & ASIMI, 2007).

Como outros animais, os peixes não conseguem sintetizar pigmentos carotenóides, necessitando obtê-los da dieta. Os peixes utilizam os carotenóides como um dos principais grupos de pigmento natural para pigmentação da pele e da carne, o que representa um dos principais critérios de qualidade, perceptível no elevado valor de mercado de espécies com alto-valor agregado (GOUVEIA *et al.*, 2003). Os peixes cultivados não têm acesso a alimentos ricos em carotenóides e, portanto, necessitam que estes sejam adicionados às rações (CHATZIFOTIS *et al.*, 2005). O que pode ser facilmente alcançado pela suplementação equilibrada da dieta com ingredientes naturais ricos em pigmentos (SINHA & ASIMI, 2007).

Para obter a pigmentação naturalmente observada em ambientes silvestres, os peixes sob cultivo intensivo devem ser alimentados com combinação de alimentos que forneçam carotenóides como suplementos. Vários carotenóides sintéticos (β -caroteno, cantaxantina, zeaxantina, e astaxantina) e fontes naturais (fermentos, bactérias, algas, vegetais superiores e farinhas de crustáceos) são usados como suplemento dietético para intensificar a pigmentação de peixes e crustáceos (KALINOWSKI *et al.*, 2005).

As fontes naturais de carotenóides são, geralmente, compostas por várias formas e varia em função da digestibilidade, o que torna complexa a interpretação da eficiência de pigmentação. Ao contrário, as fontes sintéticas, geralmente compostas por um carotenóide

puro, permitem identificar claramente a eficiência de pigmentação. Porém, SINHA & ASIMI (2007) reportam que poucos estudos comparativos foram realizados na pigmentação de peixe ornamental por carotenóides sintéticos puros ou ingredientes contendo complexos de carotenóides.

Alimentos ricos em pigmentos, como antocianinas, mostram efeito como nutrientes funcionais à saúde, especialmente pelo papel como antioxidante e fotoprotetor, o que melhora a condição fisiológica dos animais quando alimentados com estes nutrientes (PAÍSICO et al., 2009; PRENESTI et al., 2007; MOREIRA et al., 2003).

Apesar de mensurada apenas a composição total (1,65 mg/kg) e o porcentual de tipos de carotenóides na pele de kingio (CHATZIFOTIS et al., 2005). A utilização de pétalas desidratadas de rosa-chinesa (*Hibiscus* sp.), como ingrediente fonte de pigmentos naturais em dietas para o peixe ornamental kingio (*Carassius auratus*), permitiu a intensificação da coloração na pele dos peixes (SINHA & ASIMI, 2007).

Pelo levantamento feito sobre a composição de pigmentos em *Hibiscus* sp. verificou-se que 85% destes pigmentos vermelhos e róseos são antocianinas (TSAI et al., 2002). As observações supracitadas elencam haver a possibilidade de utilização de ingredientes ricos em antocianinas para a nutrição e intensificação das cores na pele de peixes ornamentais.

Até o momento, é raro se encontrar estudo realizado para elucidar a possível deposição de pigmentos em peixes a partir da utilização de ingredientes fontes de antocianinas à nutrição e pigmentação da pele em espécies destinadas ao mercado aquarístico. Fato que motivou a realização do presente trabalho, com intuito de avaliar os efeitos das antocianinas, do extrato liofilizado de açaí, sobre características de coloração da pele e de desempenho de machos de *Colisa lalia* linhagem “Sangue”.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Peixes do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, no período de Setembro a Novembro de 2008, com duração de 70 dias, sendo os 20 primeiros dias para aclimação e condicionamento dos peixes ao manejo experimental.

Os peixes utilizados foram adquiridos de piscicultura de peixes ornamentais no município de Muriaé/MG. Foram selecionados apenas machos de *Colisa lalia* linhagem “Sangue”, peso inicial de $1,97 \pm 0,11$ g e comprimento total de $46,1 \pm 1,0$ mm, com aproximadamente 70 dias de vida. Acondicionou-se sete machos por aquário, em aquários com volume útil de 20 litros, na densidade foi 0,35 peixe/L.

Os aquários constituíam parte de um sistema de recirculação de água com filtragem mecânica e biológica, além de sistema de esterilização de água com lâmpada germicida. A limpeza do sistema ocorria uma vez por semana, ocasião em que fezes eram sifonadas, as paredes internas dos aquários escovadas, os filtros mecânicos lavados e 30% da água do sistema trocada. A taxa de recirculação da água nos aquários era de 2.000% ao dia e o volume dos filtros biológicos equivalentes a 20% do volume total do sistema de recirculação.

Os aquários permaneceram sob iluminação artificial ($184,2 \pm 51,1$ lux/cm²) por lâmpadas fluorescentes em fotoperíodo de 12h00 de luz, regulado por timer analógico, entre 6h30 e 18h30.

A temperatura da água foi aferida diariamente com termômetro de máxima e mínima, e semanalmente para oxigênio dissolvido, pH, potencial redox e condutividade elétrica, utilizando-se oxímetro, peagâmetro e condutivímetro digitais.

As dietas experimentais foram preparadas com base em um ração comercial extrusada, sobre a qual se adicionou por aspersão o extrato contendo os cinco níveis de pigmentos (Tabela 1).

A incorporação do extrato liofilizado de açaí sobre os peletes das rações experimentais foi feita com auxílio de pulverizador em câmara fechada e escura. O extrato de açaí foi dissolvido em água a 25°C com agitação por cinco minutos para posterior incorporação nas dietas. Após a incorporação do extrato de açaí, a ração foi colocada em estufa ventilada a 50°C por 8h e, posteriormente, aspergiu-se 20 g de óleo de soja por quilo de ração para formação de película oleosa recobrimdo os peletes à reduzir a lixiviação do pigmento e dos nutrientes para a água durante os arraçoamentos.

As dietas experimentais foram inicialmente pesadas e acondicionadas em recipientes plásticos com tampa devidamente identificados, permaneceram armazenadas em freezer e foram retiradas apenas no momento do arraçoamento dos peixes.

O arraçoamento foi realizado diariamente as 8h00, 13h00 e 18h00, até a saciedade. Ao final do período experimental as sobras das rações foram pesadas e a quantidade consumida pelos peixes mensurada para cada aquário.

Análises de composição centesimal das dietas experimentais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (LNA/DZO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os níveis de carboidratos foram estimados segundo metodologia proposta em SNIFFEN et al. (1992). Enquanto que as análises de níveis de pigmentos foram realizadas no Laboratório de Corantes e Pigmentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV. Os níveis de cantaxantina foram determinados segundo metodologia proposta em TAKAHASHI et al. (1987).

Tabela 1 - Composição centesimal e níveis de antocianinas, após enriquecimento das rações com polpa liofilizada de açaí, para o peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*)

Composição	Nível de antocianinas na dieta (mg/kg)				
	0	250	500	750	1.000
Energia bruta (kcal/kg)	4.532	4.632	4.608	4.660	4.623
Proteína bruta (%)	33,79	34,86	34,93	35,02	34,72
Carboidratos (%)	33,31	32,38	32,67	32,42	32,81
Umidade (%)	10,03	9,81	9,70	9,92	10,00
Extrato etéreo (%)	8,81	9,11	9,03	8,87	8,92
Fibra bruta (%)	6,13	6,01	5,88	5,94	5,79
Minerais (%)	7,93	7,83	7,79	7,83	7,76
Ca (%)	1,22	1,23	1,20	1,21	1,22
P (%)	1,19	1,22	1,19	1,20	1,19

Ao final do período experimental, os peixes foram insensibilizados em solução com óleo de cravo em etanol (1:4), contendo eugenol a 25mg/L, e em seguida foram individualmente pesados, medidos e fotografados. Foram mensuradas e calculadas as características de desempenho: biomassa inicial, biomassa final, ganho de biomassa, consumo de ração, ganho de peso em 50 dias, conversão alimentar e sobrevivência.

A partir de fotografias digitais, mensurou-se a coloração da pele dos peixes com auxílio do software Adobe PhotoShop CS2[®]. A coloração para cada peixe foi a média de três pontos em duas áreas diferentes mensuradas nos sistemas de cores por coordenadas Hunter (L*a*b*) e no sistema CMYK (Figura 1). O padrão CMYK de expressão da coloração é baseado em percentuais, os quais representam variáveis não paramétricas, necessitando ser transformados em variáveis paramétricas, conforme método proposto em REZENDE (2006).

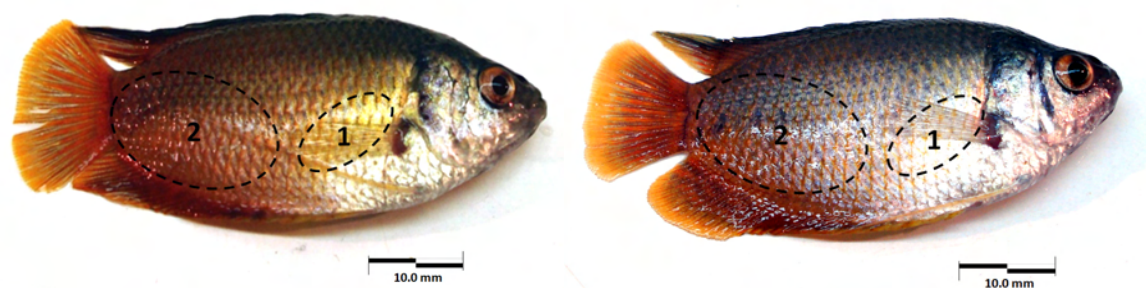


Figura 1 - Esquema de mensuração da pigmentação na pele do peixe ornamental colisa-sangue (*Colisa lalia*), a partir de fotografias digitais em três pontos (25 pixels quadrados cada) por região delimitada por traços pontilhados, pelo software Adobe PhotoShop CS2®. O peixe da esquerda é representativo do tratamento controle e o peixe da direita, representativo do tratamento que se alimentou da dieta enriquecida com polpa liofilizada de açai (com níveis de antocianinas a 1.000 mg/kg)

Os resultados de desempenho e de coloração foram submetidos às análises de variância e de regressão. Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando-se o teste F, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ($R^2 = \text{SQRegressão} / \text{SQTratamento}$), e no fenômeno biológico.

Resultados e Discussão

As condições ambientais em que os peixes foram mantidos no período experimental permaneceram sob níveis ótimos. As características de qualidade da água: temperatura ($27,3 \pm 0,9^\circ\text{C}$), oxigênio dissolvido ($6,7 \pm 1,2 \text{ mg/L}$), pH ($7,2 \pm 0,3$), potencial redox ($23,8 \pm 8,5 \text{ mV}$) e condutividade elétrica ($86,5 \pm 5,4 \mu\text{S/cm}$) ocorridas durante o experimento, encontraram-se dentro da faixa de conforto para a espécie: temperatura (23 a 32°C), oxigênio (acima de 5 mg/L) e pH (6,2 a 7,4) (FROESE & PAULY, 2006; COLE et al., 1999; ALZUGARAY e ALZUGARAY, 1997).

Ao final do período experimental foram realizadas as biometrias dos peixes para as características: peso final, comprimento padrão e total; a partir das quais foram calculados os índices de desempenho zootécnico (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores médios das características de desempenho do peixe colisa-sangue (*Colisa lalia*) e CV (%), em função dos níveis de antocianinas nas dietas

Característica	Nível de antocianinas na ração (mg/kg)					CV (%)
	0	250	500	750	1.000	
Biomassa inicial (g)	13,48	13,91	13,70	13,69	14,29	5,71
Biomassa final (g)	19,29	20,11	19,41	18,79	19,45	4,74
Ganho de biomassa (g)	5,81	6,20	5,71	5,11	5,16	19,23
Consumo de ração (g)	17,29	18,59	17,68	16,83	17,21	4,63
Ganho de peso em 50 dias (%)	43,38	44,84	42,13	37,53	36,32	22,10
Conversão alimentar	3,00	3,05	3,28	3,44	3,47	21,43
Fator de condição de Fulton inicial	1,97	2,04	2,00	1,97	2,02	2,73
Fator de condição de Fulton final	2,40	2,44	2,37	2,30	2,35	4,77

Apesar das vantagens que os compostos antocianicos, também presentes na polpa de açaí, trazem à saúde e bem-estar. As antocianinas são reportadas recentemente, como excelentes compostos antioxidantes e ingrediente funcional, em diversos trabalhos (PAŠKO et al., 2009; PRENESTI et al., 2007; TSAI et al., 2002). O comportamento dos valores, mensurados para coloração, mostram efeito dos níveis crescentes de inclusão de antocianinas nas dietas sobre a expressão da coloração azulada na pele do peixe ornamental colisa-sangue (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores médios dos índices de coloração no sistema de coordenadas Hunter (L*a*b*) e no padrão CMYK, obtidos nos peixes colisa-sangue a partir de fotografias digitais com o software Adobe PhotoShop CS2®, CV (%) e equações de regressão ajustadas nos respectivos coeficientes de determinação (r^2), em função do nível de antocianinas nas dietas

Índices de coloração	Nível de antocianinas (X) adicionado à dieta (mg/Kg)					CV (%)	Equações de regressão
	0	250	500	750	1.000		
L	56,4	54,1	54,3	53,9	51,8	4,60	54,1
a	11,6	9,6	9,6	9,5	8,1	38,71	9,7
b	20,6	18,7	19,8	21,4	19,0	42,64	19,9
C	0,527	0,577	0,571	0,579	0,604	4,60	0,541 +0,0001.X ($r^2 = 0,78$)
M	0,694	0,702	0,697	0,703	0,704	5,29	0,700
Y	0,798	0,800	0,803	0,824	0,812	10,43	0,807
K	0,514	0,512	0,517	0,509	0,533	7,38	0,517

As antocianinas são pigmentos naturais pertencentes à família dos flavonóides. Em revisão sobre os aspectos benéficos de antocianinas vegetais à saúde, menciona-se variação de 13 a 18.600 mg/kg de polpa de frutas, dentre as 37 reportadas em 55 trabalhos (PASCUAL-TERESA & SANCHEZ-BALLESTA, 2008).

O enriquecimento de rações com polpa liofilizada de açaí possibilitou a expressão da coloração azulada na pele de colisa-sangue, a partir do menor nível de inclusão testado na dieta, 250 mg/kg. Observou-se efeito que aumentou de forma linear conforme a equação: $\hat{Y} = 0,541 + 0,0001.X$ ($r^2 = 0,78$).

A coloração da pele de peixes depende, primeiramente, da presença de cromatóforos (melanóforos, xantóforos, eritróforos, iridóforos, leucóforos e cianóforos), contendo pigmentos como melanina, carotenóides (astaxantina, cantaxantina, luteína e zeaxantina), pteridinas e purinas (FUJII, 2000, VILELA, 1976).

Os peixes podem exibir diferentes padrões de coloração como resultados da dispersão ou agregação de cromatossomas e a distribuição dos cromatóforos na pele (FUJII, 2000). Uma combinação de fatores ambientais, neurais, endócrinos e relacionados ao comportamento reprodutivo influencia a mobilidade dos cromatossomas nos cromatóforos e a deposição de pigmentos em peixes cultivados (ASPENGREN *et al.*, 2003; FUJII, 2000).

Em kinguio *Carassius auratus* linhagem “Hibuna”, o teor de carotenóides totais observados na pele foi de 1,65 mg/100 g, dentre os 20 carotenóides identificados os três principais foram (3S,3'S)-astaxantina a 36,0 %, α -doradexantina a 18,1 % e fritschiellaxantina a 9,2 %. Dentre os demais carotenóides mencionados encontram-se β -cryptoxantina, luteína A, luteína B, (3R,3'R)-zeaxantina, diatoxantina, alloxantina, fritschiellaxantina, β -doradexantina, pectonellone, (3S,3'R)-4-ketoalloxantina, (3S,4R,3'R,6'R)-4-hidroxiluteína, (3S,4R,3'S,6'R)-4-hidroxiluteína, (3S,4R,3'R)-4-hidroxi-zeaxantina, (3S,3'S,4'R)-4-keto-4'-hidroxialloxantina,

(3S,3'S,4'R)-4-keto-4'-hidroxidiatoxantina, (3S,3'S,4'R)-idoxantina, (3S,3'S)-astaxantina, (3S,3'S)-7,8-didehidroastaxantina, (3S,3'S)-7,8-7',8'-tetra-dehidroastaxantina e (3S,4R,3'R,4'R)-4,4'-dihidrozeaxantina (OHKUBO *et al.*, 1999). Entretanto, os autores não mencionam a ocorrência de antocianinas. SINHA & ASIMI (2007) mencionam que os carotenóides são a principal fonte de cores na pele de peixes.

Aspecto interessante em peixes é a diversidade de rotas metabólicas envolvidas no metabolismo dos carotenóides ingeridos na dieta. A eficiência de pigmentação de uma determinada fonte de carotenóides é espécie-específica, e as interações entre os diferentes componentes de uma dieta influenciam diretamente a deposição dos pigmentos nos animais (CHATZIFOTIS *et al.*, 2005, HAMRE *et al.*, 2004, BARBOSA *et al.*, 1999).

Os pigmentos azuis são naturalmente raros em vertebrados, porém tal padrão de coloração ocorre devido à reflexão de ondas nos comprimentos azuis e violetas (400 a 550 nm). Os pigmentos azuis são encontrados nos cianóforos, entretanto, a coloração azul pode ser consequência, principalmente, da reflexão da luz por plaquetas nos iridóforos, que geralmente, se distribuem em múltiplas camadas e fornecem a base para a expressão de cores azul iridescentes (BANGNARA *et al.*, 2007).

As flores de *Hibiscus rosasinensis* produzem corante púrpura escuro. Tendo-se em vista a importância das pétalas da rosa-chinesa como intensificador da cor rosa, quatro fontes naturais de pigmentos foram suplementadas em dietas ao kinguio, avaliando-se ao final do experimento a taxa de crescimento, sobrevivência, composição bioquímica e pigmentação na pele dos peixes (SINHA & ASIMI, 2007).

Em pétalas de *Hibiscus sabdariffa* o teor de compostos fenólicos encontrado foi de 230 mg/100 g de matéria seca. Sendo que 85% dos pigmentos vermelhos eram antocianinas (delphinidina 3-sambubioside) e os rosados (cyanidina 3-sambubioside). Os quais compreendiam 51% do total de atividade de FRAP (habilidade para redução férrica

do plasma), 24% da atividade foi devida a um pigmento marrom misto de compostos fenólicos (TSAI *et al.*, 2002).

Em relação à expressão da coloração azulada na pele do colisa-sangue, três hipóteses podem ser elencadas. A primeira, a de que as antocianinas são metabolizadas e bioacumuladas na pele do peixe, conferindo a coloração roxo-azulada, especialmente no iridóforos. Porém, se as antocianinas não são metabolizadas nem bioacumuladas na pele e músculo do peixe, conforme sugere o levantamento de composição de carotenóides em kingiuo feito por OHKUBO *et al.* (1999), há a possibilidade de que as antocianinas sejam melhor metabolizadas e aproveitadas pelos peixes como ingredientes funcionais, preservando os carotenóides existentes no extrato de açaí e permitindo a melhor acumulação e deposição dos carotenóides, uma vez que, estes deixam de ser consumidos nos processos bioquímicos de eliminação de radicais livres.

A terceira, e não menos importante hipótese, se sustenta na percepção da cor azulada ser consequência do consumo das reservas de carotenóides durante o período experimental (70 dias), possibilitando a exposição da camada de cromatóforos subjacentes (com iridóforos ou cianóforos), o que mudou a percepção da coloração nos peixes. Semelhantemente, as observações mencionadas em LIÑÁN-CABELLO *et al.* (2002), na qual a coloração azul observada no camarão *Penaeus monodon*, o qual apresenta naturalmente a cor esverdeada-escura, é a manifestação de alimentação deficiente em carotenóides.

As hipóteses supracitadas sugerem a realização de experimentos para elucidar tal mecanismo fisiológico responsável pelo aumento na expressão da cor azulada. O incremento nos níveis de polpa liofilizada de açaí, contendo antocianinas, adicionado às dietas experimentais intensificou a expressão da pigmentação azul e não interferiu nas características de desempenho.

Conclusão

A inclusão de polpa liofilizada de açaí como fonte de pigmentos, ao nível mínimo testado de 250 mg/kg de dieta, possibilitou maior expressão da coloração azulada na pele do peixe *Colisa lalia* linhagem “Sangue”, sem interferir nas características de desempenho.

Referências

- ALZUGARAY, D. & ALZUGARAY, C. (eds.) **Peixes de aquário**. São Paulo: Editora Três Ltda. 1997. 378p.
- ASPENGREN, S., SKÖLD, H. N., QUIROGA, G., MARTENSSON, L. & WALLIN, M. *Noradrenaline- and Melatonin-mediated regulation of pigment aggregation in fish melanophores*. **Pigment Cell Research**, v.16, p.59-64, 2003.
- BAGNARA, J.T., FERNANDEZ, P.J. & FUJII, R. On the blue coloration of vertebrates. **Pigment Cell Research**, v.20, p.14-26, 2007.
- BARBOSA, M. J., MORAIS, R. & CHOUBERT, G. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.176, p.331-341, 1999.
- CHATZIFOTIS, S., PAVLIDIS, M., JIMENO, C. D., VARDANIS, G., STERIOTI, A. & DIVANACH, P. The effect of different carotenoid sources on skin coloration of cultured red porgy (*Pagrus pagrus*). **Aquaculture Research**, v.36, p.1517-1525, 2005.
- COLE, B., TAMARU, C.S., BAILEY, R., BROWN, C. **A manual for commercial production of the gourami, *Trichogaster trichopterus*, a temporary paired spawner**. O’ahu: University of Hawaii, Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, 1999, 37p. [Publication n.135].
- FROESE, R. & PAULY, D. (eds.) **FishBase**. Disponível em: <<http://www.fishbase.org>>. Acesso em: 31 mar. 2006.
- FUJII, R. The regulation of motile activity in fish chromatophores. **Pigment Cell Research**, v.13, p.300-319. 2000.
- GOUVEIA, L., REMA, P., PEREIRA, O. & EMPIS, J. Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass. **Aquaculture Nutrition**, v.9, p.123-129, 2003.
- HAMRE, K., CHRISTIANSEN, R., WAAGBØ, R., MAAGE, A., TORSTENSEN, B. E., LYGREN, B., LIE, Ø., WATHNE, E. & ALBREKTSEN, S. Antioxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.): effects on growth performance and fillet quality. **Aquaculture Nutrition**, v.10, p.113-123, 2004.
- KALINOWSKI, C. T., ROBAINA, L. E., FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., SCHUCHARDT, D. & IZQUIERDO, M. S. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. **Aquaculture**, v.244, p.223-231, 2005.
- LINÃN-CABELLO, M.A., PANIAGUA-MICHEL, J. & HOPKINS, P.M. Bioactive roles of carotenoids and retinoids in crustaceans. **Aquaculture Nutrition**, v.8, p.299-309, 2002.
- MOREIRA, F. P. M., COUTINHO, V., MONTANHER, A. B. P., CARO, M. S. B., BRIGHENTE, I. M. C. & PIZZOLATTI, M. G. Flavonóides e triterpenos de *Baccharis pseudotenuifolia* - bioatividade sobre *Artemia salina*. **Quim. Nova**, v.26, n.3, p.309-311, 2003.
- OHKUBO, M., TSUSHIMA, M., MAOKA, T. & MATSUNO, T. Carotenoids and their metabolism in the goldfish *Carassius auratus* (Hibuna). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v.124, p.333-340, 1999.
- PASCUAL-TERESA, S. & SANCHEZ-BALLESTA, M. Anthocyanins: from plant to health. **Phytochemistry Review**, v.7, p.281-299, 2008.
- PAŠKO, P., BARTON, H., ZAGRODZKI, P., GORINSTEIN, S., FOŁTA, M. & ZACHWIEJA, Z. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. **Food Chemistry**, v.115, p.994-998, 2009.
- PRENESTI, E., BERTO, S., DANIELE, P.G., TOSO, S. Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. **Food Chemistry**, v.100, p.433-438, 2007.
- REZENDE. **Níveis de bixina na ração e de eugenol na água de transporte para o peixe ornamental *Trichogaster leeri***. Dissertação. Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2006, 75p.

- SINHA, A. & ASIMI, O. A. China rose (*Hibiscus rosasinensis*) petals: a potent natural carotenoid source for goldfish (*Carassius auratus* L.). **Aquaculture Research**, v.38, p.1123-1128, 2007.
- SNIFFEN, C. J., O'CONNOR, J. D., VAN SOEST, P. J., FOX, D. G. & RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.
- TAKAHASHI, M.Y., BARBOSA, A.M.S., BARRA, A.J., OLIVEIRA, A.F.A., MANCINELLI, C., BREIN, D.R., RODRIGUEZ-AMAYA, B.D., GERUMEL, E.J., ARIMA, H.K., CONSENTINO, H.M., ZIMBER, K., ENOSHITA, L., ARAUJO, M.J., RUSIG, O., RUIZ, S.M. Monografias de corantes naturais para fins alimentícios: padrões de identidade e qualidade. 2ª Edição atualizada e ampliada. São Paulo, Brasil: Patrocinado Pelo Sanrisil, 1987. 118p.
- TSAI, P.J., MCINTOSH, J., PEARCE, P., CAMDEN, B., JORDAN, B.R. Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. **Food Research International**, v.35, p.351-356, 2002.
- VILLELA, G. G. **Pigmentos animais - Zoocromos**. Academia Brasileira de Ciências (ed.), 1976, 182p.

3. CONCLUSÕES GERAIS

O enriquecimento das dietas para acará-disco com diferentes fontes de pigmentos naturais (extrato oleoso de urucum, polpa liofilizada de açaí, polpa liofilizada de tomate e cantaxantina) possibilita aparente melhoria do bem-estar, aumento da sobrevivência e das características de desempenho, além de intensificar a coloração vermelha da pele dos peixes. O consumo de rações enriquecidas com polpa de tomate liofilizada foi a que proporcionou os melhores resultados.

A quantificação de coloração pela utilização do método tradicional, no sistema de coordenadas Hunter ($L^*a^*b^*$) mensurada por colorímetro portátil, ou o método que usa fotografias digitais nos padrões Hunter ou CMYK a partir de regiões de coloração específicas predefinidas, mostram-se como ferramentas para a avaliação da pigmentação em peixes. O que permite a utilização dos dois métodos de forma segura em trabalhos de nutrição e melhoramento visando a intensificação de cores em peixes.

A suplementação de 18,2 mg/kg de cantaxantina na dieta de colisa-sangue possibilita a intensificação da coloração amarela da pele e, a redução no consumo de ração sem interferir nas características de desempenho.

O extrato oleoso de urucum, contendo bixina, em níveis elevados nas dietas, reduz o consumo de ração sem afetar a conversão alimentar e o ganho de peso. Além de reduzir a intensidade de coloração amarela na pele do peixe colisa-sangue.

A utilização da cantaxantina como ingrediente funcional em dietas para colisa-sangue possibilita intensificar as colorações vermelho-amareladas de maneira eficiente a partir de 94,2 mg/kg de ração, além de melhorar as condições fisiológicas dos animais.

A inclusão de polpa liofilizada de açaí como fonte de pigmentos, ao nível mínimo de 250 mg/kg de ração, possibilitou maior expressão da cor azulada na pele do peixe colisa-sangue, sem interferir nas características de desempenho.