

**KAYANE PEREIRA BESEN**

**LUTEÍNA COMO FONTE DE CAROTENOIDE NATURAL: EFEITO NO  
DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E PIGMENTAÇÃO DA PELE DE JUVENIS DE  
KINGUIOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat.

**LAGES**

**2017**

**Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com  
auxílio do programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC**

Pereira Besen , Kayane  
LUTEÍNA COMO FONTE DE CAROTENOIDE NATURAL:  
EFEITO NO DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E PIGMENTAÇÃO DA  
PELE DE JUVENIS DE KINGUIOS / Kayane Pereira Besen  
. - Lages , 2017.  
48 p.

Orientador: Thiago El Hadi Perez Fabregat  
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de  
Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Animal, Lages, 2017.

1. Carassius auratus. 2. Pigmento. 3.  
Sobrevivência . 4. Coloração pele. I. El Hadi Perez  
Fabregat, Thiago . II. Universidade do Estado de  
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação. III.  
Título.

KAYANE PEREIRA BESEN

**LUTEÍNA COMO FONTE DE CAROTENOIDE NATURAL: EFEITO NO  
DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E PIGMENTAÇÃO DA PELE DE JUVENIS DE  
KINGUIOS**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência Animal como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

**Banca Examinadora:**

Orientador:



Prof. Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat.

(Universidade do Estado de Santa Catarina)

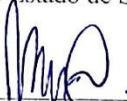
Membro:



Prof. Dr. Marcelo Alves Moreira.

(Universidade do Estado de Santa Catarina)

Membro:



Prof. Dr. Marcos Luiz Pessatti.

(Universidade do Vale do Itajaí)

Lages, 21/02/17



Dedico este trabalho a minha metade, irmã Fernanda e minha afilhada (Lunna) por me ajudarem a evoluir, espiritualmente e profissionalmente.



## AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus pelo Dom da VIDA! Aos meus Anjinhos da Guarda (Lola e Lunna) pelos seus sinais que SEMPRE fazem eu sorrir. E também a todas as outras estrelas que já passaram pela minha vida e hoje brilham no céu.

À TODA a minha família, pelo apoio. Ao Kaio e Rita por aceitarem a missão de ser meus pais. A minha irmã (Fernanda) e meu cunhado (Leandro) que são meu porto seguro. Ao sol dourado na minha vida (Nola), que irradia sempre por onde passa. Tia Marly e Tio Cacau por me acolherem na sua casa em épocas de congresso. Ao Nuno pelo "auxílio" nos resumos em inglês e a Cá por ser minha personal *coaching*.

Ao meu orientador Thiago Fabregat, contigo aprendo que: "Professores brilhantes ensinam para uma profissão. Professores fascinantes ensinam para a vida" (*Augusto Cury*). Obrigada pela sua tolerância/paciência e acima de tudo a amizade. Aos Professores: Marcelo, Pillati, Maria e Pessati pela disponibilidade e prontidão para me auxiliarem nos momentos que precisei.

Aos colegas do LAPIS (Lab Piscicultura) que participaram de forma ativa durante a execução do experimento (Erick e Emanuel) e das análises (Erick, Larissa e Luís), mas também aqueles que me ajudaram de alguma outra forma (biometrias, processo de produção da ração, sifonagem, carregando balde de água para encher os aquários...). A Larissa, pela intensa "participação na fase emocionante dos minutos finais do segundo tempo", sem você teria sido muito mais "empenho". Acredito que nessa etapa fiz amizades para a vida!

Aos amigos que foram na minha Festa Junina, que fizeram parte da minha "corrida com um braço quebrado", etapa importante de superação na minha vida. A ELAS... durante a minha vida compartilhei com vocês momentos de alegria, tristeza, conquistas, algumas saídas e horas de espiritualidade... Dinda, Lê, Dani, Cris, Luana, Juliane, Luiza, Carol, Mercy, Bru, Ti, Muri, Manu, Camila, Ariela, Gabi, Beta, Mery, Kiki e Ari (a ordem dos fatores não altera o produto).

Ao Greg, ser iluminado. Do muito e ao mesmo tempo do pouco que te conheço já me surpreendi e percebi que ainda tenho muito a evoluir. "We plan, God laugh".

Ao Programa de Pós-Graduação CAV-UDESC em Ciência Animal por possibilitar o crescimento acadêmico e intelectual. Ao PROMOP e CNPq pela disponibilidade da bolsa de estudo.

A todos que de alguma forma contribuíram com a realização deste trabalho.

Gratidão!



*Se queremos progredir, não devemos repetir a história, mas fazer uma história nova*  
(Mahatma Gandhi).



## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência da suplementação com luteína no desempenho e deposição de carotenoides na pele em comparação com outras fontes para juvenis de kinguio. Para isto foi avaliada uma dieta controle e quatro dietas enriquecidas com a quantidade de  $50 \text{ mg kg}^{-1}$  de pigmento: luteína, astaxantina, cantaxantina e combinação de luteína + cantaxantina ( $25 \text{ mg kg}^{-1}$  proveniente de cada uma das fontes). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e seis repetições. Foram utilizados 240 juvenis de kinguio com peso médio de  $1,07 \pm 0,57 \text{ g}$ , mantidos em 30 aquários de 30 L, ao qual foram cultivados por 84 dias. Os peixes foram alimentados três vezes ao dia (08:30; 12:30; 17:00) de forma manual até saciedade aparente. No final do experimento o desempenho produtivo dos peixes foi determinado com base nos parâmetros zootécnicos: peso final, ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e sobrevivência. A análise da concentração de pigmentos no tegumento foi realizada através da extração de carotenoides na pele com o uso de solventes. A solução obtida foi filtrada e submetida a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 474 nm. Os resultados foram submetidos a testes para verificação da normalidade dos erros e homecedasticidade, sendo analisados posteriormente por meio de Análise de Variância Paramétrica (ANOVA). Os dados de desempenho foram submetidos ao teste de Tukey e os de pigmentação avaliados pelo teste de Duncan, ambos com nível de significância de 5%. Dietas enriquecidas com pigmentos carotenoides não influenciaram no crescimento de juvenis de kinguio. Em relação a sobrevivência, a suplementação com luteína apresentou valores superiores quando comparado aos demais tratamentos. A suplementação com astaxantina e cantaxantina aumentou a deposição de carotenoides na pele de juvenis de kinguio em relação ao tratamento controle. As menores taxas de pigmentação foram observadas no tratamento controle e combinado (cantaxatina + luteína). Nos peixes alimentados com a dieta contendo luteína a deposição de carotenoides foi tão eficiente quanto os tratamentos puros (astaxantina e cantaxantina), porém não diferiu do tratamento controle e do tratamento combinado (cantaxantina + luteína). Os resultados sugerem que a inclusão de carotenoides na dieta não afeta o crescimento e eficiência alimentar de juvenis de kinguio e que quando os pigmentos são fornecidos isoladamente são mais eficientes para serem depositados na pele do que de forma combinada (luteína + cantaxantina). Por outro lado, a suplementação com a luteína melhorou a sobrevivência e promoveu deposição de carotenoides na pele de juvenis de kinguio semelhante a astaxantina e a cantaxantina.

**Palavras-chave:** *Carassius auratus* 1. Pigmento 2. Sobrevivência 3. Coloração pele 4.



## ABSTRACT

The objective of this study was evaluating the efficiency of lutein supplementation on the performance and deposition of skin carotenoids in comparison to other sources for young kinguio. There forean evaluation was made with one controlled diet and four diets enriched with a quantity of  $50\text{mg kg}^{-1}$  of the following pigments: lutein, astaxanthin, canthaxanthin and a combination of lutein + canthaxanthin ( $25\text{mg kg}^{-1}$  of each source). The the experiment was designed in an entire casual way with five treatments nd six repetitions. Two hundred and forty young kinguios weighting  $1,07\pm0,57$  g were used, they were kept in 30 tanks of 30 liters each, in which they stayed for 84 days. The fish was fed three times a day (8:30 am, 12:30 pm and 5 pm) in a manual way until apparent satiety. At the end of the experiment, the productive performance of the fish was determined based on zootechnical parameters: final weight, weight gain, food consumption, food conversion and survival. The analysis of pigment concentration at the integument was made throught the extraction of carotenoids of skin by using solvents. The solution obtained was filtered and submitted to reading using spectrophotometer with wavelength of 474 nm. The results were run through tests in order to verify the normality of errors and homoscedasticity, and were later analyzed by Parametric Variance Analysis (ANOVA). The data o performance were submitted to Tukey test and the pigments evaluated by the Duncan test, both with a meaningfulness level of 5%. Diets enriched with different carotenoid pigments did not influence on the growth of young Kinguios. In relation to survival, the supplementation of lutein presented higher values compared to the other treatments. The diets containing astaxanthin and canthaxanthin isolated led to increase of deposition of skin carotenoids of young kinguios when compared to treatment control, The lowest indexes were observed on the controlled diet and on the combined one (astaxanthin + canthaxanthin). On the fish fed with the diet containing lutein the skin carotenoid deposition was as effective as pure treatmens (astaxanthin and canthaxanthin), but it did not differ from neither control treatment nor combined treatment (canthaxanthin + lutein). The results suggest that the inclusion of carotenoids on the diet do not influence the growth of young kinguios and that when pigments are supplied separately they are more efficient on skin deposition than in a combined way. On the other hand, the supplementation with lutein enhanced the survival and promoted skind carotenoid deposition on young kinguios similarly to astaxanthin and canthaxanthin

**Key words:** *Carassius auratus* 1. Pigment 2. Survival 3. Skin coloring 4.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Estrutura química dos pigmentos carotenoides: astaxantina (a) e cantaxantina (b).....	24
Figura 2 -	Estrutura química da luteína.....	25
Figura 3 -	Exemplo de kinguios: (a) kinguio comum, (b) celestial, (c) cometa, (d) olhos-de-bolha, (e) cabeça-de-leão, (f) cauda-de-véu.....	26
Figura 4 -	Unidades experimentais e local de realização do experimento. Aquários com sistema de aeração, filtro biológico e aquecimento (a) sistema experimental com 30 aquários individualizados (b) .....	30
Figura 5 -	Astaxantina (a), cantaxantina (b) e luteína (c).....	32
Figura 6 -	Kinguio antes de ser submetido a acetona (a), remoção da pele dos peixes após ser embebido em acetona (b).....	33
Figura 7 -	Valores médios de sobrevivência (%) de juvenis de kinguio em função dos tratamentos.....	35
Figura 8 -	Deposição de carotenoides (mg xantofilas/ g pele seca) em juvenis de kinguios em função dos tratamentos .....	36



## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 -	Trabalhos realizados que utilizaram fontes de carotenoides na alimentação de kinguios.....	27
Tabela 2 -	Composição da dieta experimental.....	31
Tabela 3 -	Desempenho de juvenis kinguios alimentados com dietas contendo diferentes tipos de pigmentos após 84 dias.....	35



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	21
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	23
2.1 CAROTENOÏDES NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES .....	23
2.2 CAROTENOÏDES NA ALIMENTAÇÃO DE KINGUIOS .....	25
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	29
3.1 OBJETIVO GERAL .....	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	30
4.1 ANIMAIS E INSTALAÇÕES.....	30
4.2 DIETAS EXPERIMENTAIS .....	31
4.3 ENSAIO DE DESEMPENHO.....	32
4.4 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENOÏDES.....	32
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	34
<b>5 RESULTADOS .....</b>	35
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	37
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	40
<b>8 REFERÊNCIAS .....</b>	41







## 1 INTRODUÇÃO

A piscicultura ornamental é uma atividade economicamente rentável, bem como um dos hobbies mais populares do mundo (VELASCO-SANTAMARÍA; CORREDOR-SANTAMARÍA 2011; VIL LAR-MARTÍNEZ et al., 2013). Nos últimos dez anos diversos estudos foram desenvolvidos na área de nutrição de peixes ornamentais, visando melhorar o desempenho zootécnico e intensificar a pigmentação da pele, de forma a melhorar a lucratividade da atividade (SINHÁ; ASIMI, 2007; BARON et al., 2008; JEBARAJA et al., 2012; BOONYAPAKDEE, et al., 2014; FRIES et al., 2014; DANANJAYA et al., 2015). Dentre as espécies com interesse econômico temos o *Carassius auratus*, conhecido popularmente por kinguio ou peixe japonês, ocupando lugar de destaque na comercialização mundial de peixes devido a sua beleza e cores atraentes (SILVA; SCHULZ, 2006; SINHÁ; ASIMI, 2007; YANAR et al., 2008).

A coloração dos peixes ornamentais pode determinar o sucesso da atividade, visto que os animais coloridos são muito procurados pelos consumidores, bem como mais valorizados (SINHÁ; ASIMI, 2007; YANAR et al., 2008). Um dos maiores desafios na piscicultura ornamental é reproduzir em cativeiro a cor observada no ambiente natural, pois sabe-se que os peixes são incapazes de sintetizar pigmentos carotenoides (CHOUBERT; STOREBAKKEN, 1989; GOUVEIA et al. 2003; GUPTA et al., 2007). Na natureza, a coloração característica da pele é conferida através da absorção e deposição de carotenoides presentes no alimento natural (plantas, algas e microrganismos) (DAVIS, 1985; JOHNSON; AN, 1991; TANGTRONGPAIROJ et al., 1999; GOUVEIA et al., 2003; SINHÁ; ASIMI, 2007; YANAR et al., 2008; RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008). Em cativeiro estes precisam ser fornecidos artificialmente nas dietas, com a finalidade de reforçar a coloração dos tecidos (MASAHIRO HATA; MITSUO HATA, 1971; VILLAR-MARTÍNEZ et al., 2013). Estudos comprovam que rações deficientes em carotenoides reduzem a pigmentação da pele dos peixes (GOUVEIA; REMA, 2005; SINHÁ; ASIMI, 2007; ZUANON et al., 2011) acarretando na diminuição do seu preço de mercado.

Além de servir como agente pigmentante, os carotenoides são utilizados na alimentação dos peixes devido as suas funções benéficas como aumento da resposta do sistema imune, provitamina A, atividade antioxidante, nas respostas ao estresse, melhora no crescimento, reprodução, maturação gonadal, entre outras funções (SINHÁ; ASIMI, 2007; ZUANON et al., 2011; GARCÍA-CHAVARRÍA; LARA-FLORES, 2013). Por isso,

experimentos que contribuam para elucidar as vantagens da utilização de ingredientes alternativos na nutrição de organismos aquáticos ornamentais são fundamentais.

A coloração laranja-avermelhado é a mais almejada comercialmente para o kinguio (GOUVEIA; REMA, 2005; JEBARAJA et al., 2012). A astaxantina (vermelho) e cantaxantina (laranja-avermelhado) são os carotenoides sintéticos comumente incorporados nas dietas para peixes (SKREDE; STOREBAKKEN 1986; YESILAYER et al., 2010; JEBARAJA et al., 2012; DANANJAYA et al., 2015). Vale ressaltar que fontes de carotenoides quimicamente padronizadas e estáveis são onerosas (SINHÁ; ASIMI, 2007; DANANJAYA et al., 2015) quando comparado aos demais ingredientes utilizados na alimentação dos peixes como farinha de peixe, soja e cereais (SINHÁ; ASIMI, 2007).

Nas dietas para kinguios, diversas fontes naturais de carotenoides já foram avaliadas como possíveis alternativas aos carotenoides puros, dentre elas, algas (GOUVEIA et al., 2003; GOUVEIA; REMA, 2005; KHATOON et al., 2010), pétalas de hibisco (SINHÁ; ASIMI, 2007), alfafa (*Medicago sativa*) (YANAR et al., 2008), farelo de urucum (*Bixa orellana*) (FRIES et al., 2014), farinhas de crustáceos (KHATOON et al., 2010; JEBARAJA et al., 2012) entre outros. A flor de calêndula, rica em luteína (GARCÍA-CHAVARRÍA; LARA-FLORES, 2013; NAVARRETE-BOLAÑOS et al., 2005), também já foi avaliada como suplemento para a pigmentação do kinguio (SINHÁ; ASIMI, 2007; VILLAR-MARTÍNEZ et al., 2013). A luteína é um pigmento amarelado, mas segundo Teruhisa et al. (1970) e Hsu (1972), o kinguio pode utilizá-la como precursora da astaxantina, promovendo uma coloração com tom mais avermelhado. Sendo assim, a luteína ainda precisa ser melhor avaliada na dieta dessa espécie de forma que a suplementação proporcione bons índices zootécnicos e pigmentação eficiente.

Analizando as vantagens nutricionais e levando em consideração o potencial de pigmentação da luteína oriunda da flor de calêndula, o presente estudo foi realizado para avaliar a eficiência da luteína em comparação com diferentes fontes de carotenoides sobre os parâmetros de desempenho zootécnico e pigmentação da pele para juvenis de kinguio.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

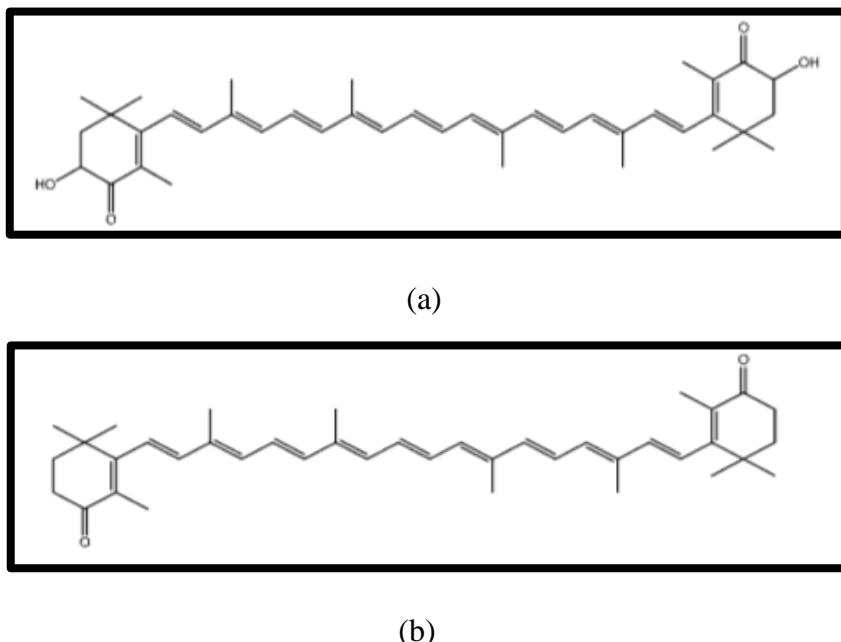
### 2.1 CAROTENOIDES NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES

Os carotenoides constituem um grupo de mais de 600 pigmentos naturais, lipossolúveis, que são produzidos por todos os microrganismos fotossintéticos (incluindo plantas, algas e cianobactérias) e por microrganismos não fotossintetizantes, como algumas bactérias, fungos e leveduras (SINHÁ; ASIMI, 2007; VALDUGA et al., 2009). Possuem coloração amarela intenso, laranja ou vermelha (AMBRÓSIO et al., 2006). Essas substâncias são o principal grupo de pigmento que atuam na coloração da pele e carne dos peixes (BARBOSA et al., 1999; SINHÁ; ASIMI, 2007).

Os animais não possuem a capacidade de sintetizar carotenoides (CHOUBERT; STOREBAKKEN, 1989; GOUVEIA; REMA, 2005; YEŞILAYER et al., 2010; WEERATUNGE; PERERA, 2016). Por isso essas fontes precisam ser suplementadas na ração, como tais ou como seus precursores (MASAHIRO HATA; MITSUO HATA, 1971; ANDRIGUETTO, 1983). É importante destacar que os mecanismos de absorção dos carotenoides provenientes da dieta não são totalmente compreendidos em peixes (AMBRÓSIO et al., 2006; OLSEN; BAKER, 2006), mas sabe-se que esses ingredientes podem ser transformados em outros carotenoides, se necessário, e incorporados nos tecidos (JEBARAJA et al., 2012), reforçando a coloração (MASAHIRO HATA; MITSUO HATA, 1971; ANDRIGUETTO, 1983).

Na alimentação de peixes os carotenoides sintéticos comumente utilizados são a astaxantina e cantaxantina (Figura 1) (SKREDE; STOREBAKKEN 1986; YEŞILAYER et al., 2010; JEBARAJA et al., 2012; DANANJAYA et al., 2015). Os carotenoides de origem vegetal, além de apresentarem a propriedade pigmentante como os de origem sintética, são mais nutritivos, pois contém substâncias promotoras de saúde que atuam em outras rotas metabólicas (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2008). Recomenda-se avaliar fontes naturais de carotenoides como aditivos de coloração (SINHÁ; ASIMI, 2007; ZUANON et al., 2011; JEBARAJA et al., 2012; DANANJAYA et al., 2015), entretanto, a eficiência do ingrediente natural testado para deposição de pigmentos é espécie-específica (CEJAS et al., 2003; WANG et al., 2006; ZUANON et al., 2011), por isso, mesmo dietas ricas em carotenoides podem ser deficientes nos compostos apropriados para a efetiva pigmentação da pele do peixe.

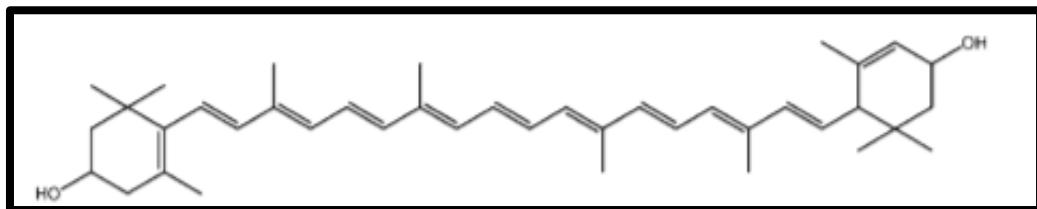
Figura 1 - Estrutura química dos pigmentos carotenoides: astaxantina (a) e cantaxantina (b).



Fonte: La Fuente, 2006.

Diversos estudos foram realizados avaliando os efeitos dos carotenoides naturais na alimentação de peixes (YEŞİLAYER et al., 2010; YEDIER, et al., 2014; SORNSUPHAR et al., 2015), entre eles a luteína (Figura 2). Yedier et al. (2014) avaliaram a relação entre o tipo de carotenoide (astaxantina, luteína e spirulina) extraídos de fontes naturais suplementados nas dietas e a cor da pele do ciclídeo ornamental vermelho *Maylandia estherae*. Constataram que todos os pigmentos foram eficientes, sendo que a astaxantina aumentou a coloração vermelho-alaranjada, a spirulina aumentou os tons alaranjados e amarelos e a luteína proporcionou uma tonalidade amarelo-claro na pele dos peixes. Além disso, a deposição de pigmentos em peixes também depende do nível de suplementação da fonte de carotenoide (VILLAR-MARTÍNEZ et al., 2013; ALISHAHI et al., 2014; SORNSUPHAR et al., 2015). Sornsuphar et al. (2015) compararam o efeito da farinha de camarão e da spirulina sobre a pigmentação e deposição de carotenoides na pele e musculatura do ciclídeo híbrido flowerhorn (*Amphilophus citrinellus* x *Cichlasoma trimaculatum*). O tratamento com 20% de inclusão de camarão proporcionou melhores resultados em termos de carotenoides totais e das concentrações de cantaxantina, astaxantina e β-caroteno na pele e musculatura dos peixes.

Figura 2 - Estrutura química da luteína.



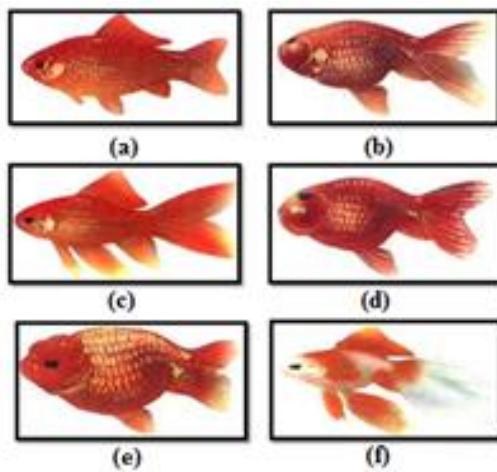
Fonte: Fonte: La Fuente, 2006.

Além de favorecer a coloração de tecidos, o uso de carotenoides na alimentação de peixes proporciona vantagens como aumento das repostas imunológicas (YUANGSOI et al., 2010), capacidade antioxidante (SINHÁ; ASIMI, 2007), e redução do estresse (RAMA; MANJABHAT 2014), beneficiando consequentemente o crescimento, reprodução e auxiliando no bem estar animal (BARBOSA et al., 1999; SHINDO et al., 2007; YUANGSOI et al., 2010; RAMA; MANJABHAT, 2014). Dessa forma, Jagruthi et al. (2014) sugerem que a suplementação de 50 e 100 mg kg<sup>-1</sup> de astaxantina nas dietas pode promover o crescimento e melhorar o sistema imune de carpas (*C. carpio*), protegendo os animais contra infecções bacterianas. Do mesmo modo, Alishahi et al. (2014) obtiveram efeitos positivos para os parâmetros imunológicos e hematológicos de acará severo (*Hero severus*), com as concentrações de 100 e 200 mg kg<sup>-1</sup> de *Dunaliella salina*, uma alga salina rica em carotenoides.

## 2.2 CAROTENOIDES NA ALIMENTAÇÃO DE KINGUIOS

O *Carassius auratus* ou kinguio é uma das espécies mais populares pertencente à família Cyprinidae e subfamília Cyprininae (TANGTRONGPAIROJ et al., 1999; WALLAT, et al., 2005; SILVA; SCHULZ, 2006; FAIZULLAH et al., 2015) e após séculos de reprodução seletiva produziram muitas das variedades existentes (Figura 3) (MATSUMOTO; RODRIGUES, 2002; FAIZULLAH et al., 2015). O kinguio ocupa lugar de destaque na comercialização mundial de peixes ornamentais (WALLAT, et al., 2005; SILVA; SCHULZ, 2006; FAIZULLAH et al., 2015). A cor do seu corpo é uma das características importantes que afeta o seu preço de mercado (SINHÁ; ASIMI, 2007; VILLAR-MARTÍNEZ et al., 2013). Segundo Tangtrongpairoj et al. (1999), Gouveia e Rema (2005) e Jebaraja et al. (2012) para alcançar a aceitação do consumidor e alto valor agregado, o kinguio deve ser pigmentado de cor laranja-avermelhado.

Figura 3 - Exemplo de kinguios: (a) kinguio comum, (b) celestial, (c) cometa, (d) olhos-de-bolha, (e) cabeça-de-leão, (f) cauda-de-véu



Fonte: Matsumoto & Rodrigues, 2002.

Diversos estudos já foram realizados com o kinguio (*Carassius auratus*) para avaliar a eficiência de diferentes fontes de pigmentos no desenvolvimento e pigmentação da pele (Tabela 1). A literatura mostra que a astaxantina encontra-se entre um dos carotenoides mais utilizados para efetiva pigmentação da pele desta espécie, recomendando-se a suplementação de níveis entre 36 a 80 mg kg<sup>-1</sup> (TANGTRONGPAIROJ et al. 1999; GOUVEIA et al. 2003; GOUVEIA; REMA, 2005). No entanto, outros pigmentos como a cantaxantina e a luteína também já proporcionaram resultados positivos, com a suplementação de 75 mg kg<sup>-1</sup> de cantaxantina (YESILAYER et al., 2010) e de 200 mg kg<sup>-1</sup> de luteína (VILLAR-MARTÍNEZ et al., 2013). Além disso, diversas fontes alternativas de carotenoides já foram avaliadas proporcionando resultados positivos, dentre elas, algas (GOUVEIA et al. 2003; GOUVEIA; REMA, 2005), alfafa (YANAR et al., 2008), flores de hibisco (SINHÁ; ASIMI, 2007) e calêndula (SINHÁ; ASIMI, 2007; VILLAR-MARTÍNEZ et al., 2013). Sinhá e Asimi (2007), compararam o efeito de 5 mg kg<sup>-1</sup> de quatro fontes de carotenoides (spirulina, pétalas de rosa-chinesa, flor de calêndula) na intensificação da cor da pele do kinguio. Os resultados sugerem que dos quatro ingredientes testados contendo carotenoides, pétalas de rosa-chinesa foi o mais efetivo para a pigmentação da pele podendo ser utilizado como um potencializador de cor para kinguios. Sendo assim, os carotenoides provenientes das plantas representam fontes efetivas de pigmentos naturais para colorir kinguios. A flor de calêndula é uma fonte natural de luteína (Figura x) (VERGHESE, 1998; NAVARRETE-BOLAÑOS et al., 2005) e de baixo custo (PRATHEESH et al., 2009; JHA et al., 2012). Os autores Villar-Martínez et al. (2013) conduziram um estudo avaliando os efeitos de diferentes concentrações de calêndula nas

dietas, sobre a pigmentação da pele, crescimento e sobrevivência de kinguios. Os resultados indicaram que 200 mg kg<sup>-1</sup> de calêndula foi o nível adequado para garantir uma boa pigmentação da pele sem influenciar nos parâmetros de desempenho. Segundo os autores Pratheesh et al. (2009) e Sujith e Devi (2010) a calêndula além de ser um corante natural é um potente nutracêutico que justifica ser incorporado nos alimentos.

Referente ao desenvolvimento zootécnico, a maioria dos trabalhos relatam que a suplementação com carotenoides não influencia nos parâmetros de desempenho para juvenis de kinguio (GOUVEIA et al. 2003; GOUVEIA; REMA, 2005; VILLAR-MARTÍNEZ et al., 2013).

Tabela 1 - Trabalhos realizados que utilizaram fontes de carotenoides na alimentação de kinguios (continua)

Autores	Peso	Fonte de Carotenoide	Inclusão	Resultados
Tangtrongpairoj et al. 1999	10 g	Astaxantina Sintética	0, 25, 50, 75 e 100 mg kg <sup>-1</sup>	Melhoria na sobrevivência e na cor da pele dos peixes alimentados com astaxantina nos níveis de suplementação de 36-40 mg kg <sup>-1</sup> .
Gouveia; Rema 2005	7,4 g	Astaxantina sintética (AST) e <i>C. vulgaris</i>	AST: 80 g kg <sup>-1</sup> <i>C. Vulgaris</i> : 45, 80 e 120 mg kg <sup>-1</sup> carotenoide	Parâmetros de desempenho não foram afetados. 45 mg kg <sup>-1</sup> de <i>Chlorella vulgaris</i> foi suficiente para pigmentar a pele.
Sinhá; Asimi, 2007	1,5-2,0 g	Controle negativo, Spirulina, Flor hibisco, Flor calêndula	5 mg kg <sup>-1</sup> de cada fonte	Flor Hibisco proporcionou melhor pigmentação, seguido pela calêndula. Hibisco melhorou o crescimento dos peixes.
Yanar et al. 2008	9-12 g	Controle positivo (CP) e Alfafa ( <i>Medicago sativa</i> )	CP: Carotenoide Sintético 0, 20, 40, 60, 100 e 160 mg kg <sup>-1</sup> carotenoide	Acima de 100 mg kg <sup>-1</sup> de alfafa piorou o desempenho e 60 mg kg <sup>-1</sup> promoveu boa pigmentação.

Tabela 1 - Trabalhos realizados que utilizaram fontes de carotenoides na alimentação de kinguios (conclusão)

Autores	Peso	Fonte de Carotenóide	Inclusão	Resultados
Villar-Martínez et al. 2013	1.8 g	Flor de calêndula	0, 100, 200 e 300 mg kg <sup>-1</sup> carotenóide	Parâmetros de desempenho não foram afetados. 200 mg kg <sup>-1</sup> resultou em melhor pigmentação da pele.

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência da suplementação com luteína no desempenho e pigmentação da pele de juvenis de kinguio.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a)* Verificar o efeito da luteína em comparação com outros carotenoides na dieta sobre o ganho de peso (GP), consumo, conversão alimentar (CA) e sobrevivência (%) de juvenis de kinguio.
- b)* Determinar se a suplementação com luteína, em comparação com outros carotenoides na dieta, afeta a deposição de carotenoides totais na pele de juvenis de kinguios.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido no Setor de Piscicultura do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), campus Lages. O projeto foi aprovado no Comitê de Ética e Experimentação Animal da universidade sobre o número de protocolo 3497240816. Para isto foi avaliada uma dieta controle e quatro dietas enriquecidas com a quantidade de  $50 \text{ mg kg}^{-1}$  de carotenoide: luteína, astaxantina, cantaxantina e combinação de luteína + cantaxantina ( $25 \text{ mg kg}^{-1}$  proveniente de cada uma das fontes). O experimento teve duração de 84 dias e o delineamento foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e seis repetições.

### 4.1 ANIMAIS E INSTALAÇÕES

Os juvenis de kinguio (peso médio  $1,07 \pm 0,57 \text{ g}$ ) oriundos da reprodução das matrizes do setor de piscicultura CAV/UDESC, passaram por um período de aclimatação de 30 dias, antes do início do experimento. Neste período os peixes foram mantidos em tanques de 50 litros equipados com sistema de aeração, filtro biológico e aquecimento para manutenção da temperatura constante ( $27^\circ\text{C}$ ). Diariamente a água foi parcialmente renovada. A alimentação foi ofertada duas vezes por dia com ração comercial (40% PB) sem adição de carotenoides.

Foram utilizados 240 juvenis de kinguio distribuídos em 30 aquários de vidro (30L) providos individualmente com sistema de aeração, filtro biológico e aquecimento (Figura 4).

Figura 4 - Unidades experimentais e local de realização do experimento. (a) Aquários com sistema de aeração, filtro biológico e aquecimento (b) sistema experimental com 30 aquários individualizados



(a)



(b)

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Os aquários estavam dispostos sobre bancada em sala fechada com iluminação artificial e fotoperíodo controlado (12h luz 12h escuro). Os peixes foram alimentados de forma manual três vezes ao dia (09:00; 12:30; 17:00) até saciedade aparente. Os restos alimentares e fezes foram sifonados diariamente, sendo renovado um terço da água, assim como feita a retirada de peixes mortos. A qualidade da água foi monitorada semanalmente e as médias foram: temperatura  $26,91^{\circ}\text{C}\pm1,26$ ; salinidade  $1,67 \text{ mg/l}\pm1,49$ ; amônia  $0,01\mu\text{l}\pm0,1$  e pH  $6,74\pm0,54$ . Esses parâmetros mantiveram-se dentro dos recomendados para o cultivo do peixes (BOYD, 1998).

#### 4.2 DIETAS EXPERIMENTAIS

As dietas isoproteicas e isoenergéticas foram formuladas a base de farelo de soja, farelo de trigo, milho e farinha de peixe (Tabela 2).

Tabela 2 - Composição da dieta experimental

Ingredientes	%
Farelo de Soja	25,0
Farelo de trigo	10,0
Milho	10,5
Farinha de Peixe	46,5
Óleo de soja	7,0
Premix*	1,0
<b>Composição Calculada</b>	
MS%	91,21
PB%	39,44
EB%	4316,05
EE%	11,64
FB%	3,09
MM%	14,62

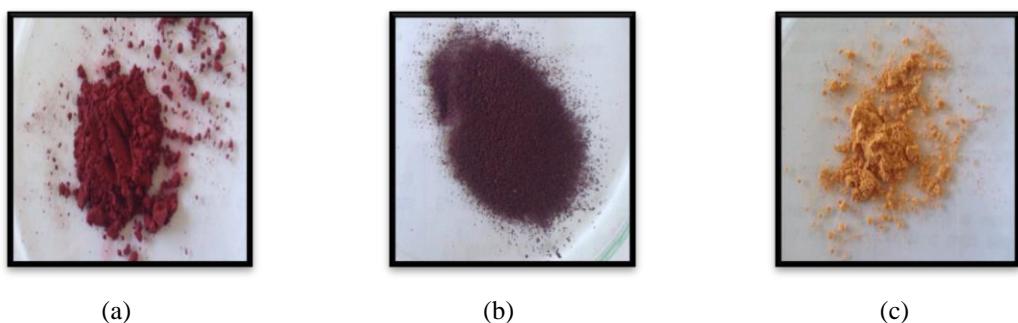
\*Ácido fólico – 2.400mg, ácido nicotínico – 48g, ácido pantoténico – 24g, biotina – 96mg, vit. A – 2.400.000UI, vit. D3 – 400.000UI, vit. E – 24.000UI, vit. B1 – 9.600mg, vit. B2 – 9.600mg, vit. B6 – 9.600mg, vit. B12 – 9.600mg, vit K3 – 4.800mg, vit. C – 96g, ferro – 100g, manganês – 40g, zinco – 6.000mg, cobalto – 20mg, iodo – 200mg, selênio – 200mg. Antioxidante – 19,6g.

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

O nível de inclusão de carotenoide foi padronizado em  $50 \text{ mg kg}^{-1}$  em todos os tratamentos, quantidade suficiente para promover a pigmentação do kinguio (Figura 5) (GOUVEIA et al., 2003; GOUVEIA; REMA, 2005; YANAR 2008). Os pigmentos foram adquiridos de fontes comerciais. A microalga *Haematococcus pluvialis* foi utilizada como fonte de astaxantina, a cantaxantina obtida de forma sintética e a luteína extraída da flor

calêndula. Os pigmentos foram incorporados na ração levando em consideração a sua concentração de carotenoides (3,5; 10 e 30% respectivamente). Na dieta contendo cantaxantina e luteína, 25 mg kg<sup>-1</sup> foi proveniente de cada uma das fontes e no tratamento controle negativo não foi adicionado carotenoide. Todos os ingredientes foram triturados finamente em moinho de faca e posteriormente peneirados de modo que todas as partículas possuíssem menos de 0,71 mm para então serem misturados, peletizados e secos em estufa 45°C durante 48h. Após esse período as rações foram moídas e peneiradas para que os pellets ofertados aos peixes tivessem cerca de 1,5 mm permanecendo armazenada em freezer (-20°C) até o início do período experimental.

Figura 5 – Astaxantina (a), cantaxantina (b) e luteína (c)



Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

#### 4.3 ENSAIO DE DESEMPENHO

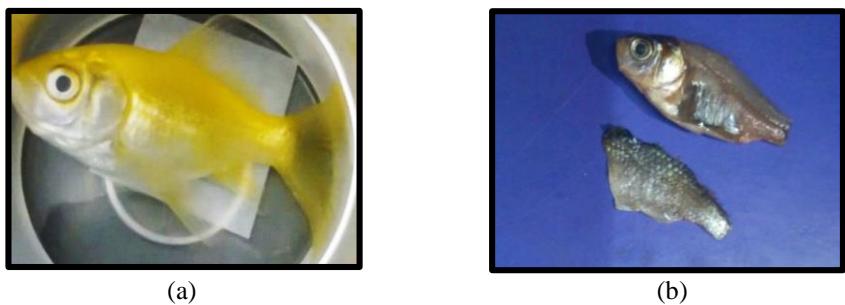
No final do experimento foi realizado a análise do desempenho produtivo dos peixes com base nos seguintes parâmetros zootécnicos: peso final, ganho de peso (GP=peso final – peso inicial), consumo de ração (C=peso ração inicial/peso ração final) e conversão alimentar (CA=consumo ração/ganho de peso). As mortalidades foram registradas diariamente para avaliação da sobrevivência (S = [total de animais final/total de animais inicial] x 100).

#### 4.4 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENOIDES

Dois peixes de cada repetição foram insensibilizados e sacrificados por choque térmico numa caixa com três partes de gelo para cada parte de água (aproximadamente 5 minutos). Em seguida, embalados em papel alumínio devidamente identificados (número do peixe e aquário) permanecendo armazenados em ultrafreezer (-80°C) até o momento das análises de dosagem bioquímica de carotenoides na pele dos juvenis de kinguio.

Para a análise, os peixes foram descongelados em temperatura ambiente por um período de 2h. A concentração celular de carotenoides totais foi determinada de acordo métodos adaptados de Masahiro Hata, Mitsuo Hata (1971) e Moriel et al. (2004). As amostras de peixes foram embebidas em tubo tipo Falcon com 5 ml de acetona durante 2 minutos (leve agitação manual). O tegumento tornou-se enrijecido com coloração esbranquiçada, a partir desse momento a amostra foi retirada do Falcon e exposta na bancada para remoção da pele e as nadadeiras com tesoura e pinça (Figura 6).

Figura 6 – Kinguio antes de ser submetido a acetona (a), remoção da pele dos peixes após ser embebido em acetona (b)



Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Logo após, as amostras de pele e nadadeiras foram transferidas para um novo tubo tipo Falcon, sendo adicionado 2 ml de dimetilsulfóxido (DMSO), permanecendo em repouso por 30 minutos, para maximizar a extração das xantofilas. Depois, foi readicionado os 5 ml de acetona que haviam sido utilizados para enrijecer o tegumento e acrescido mais 1 ml de acetona, afim de obter o volume determinado pela metodologia de Moriel et al. (2004). A amostra seguiu para a centrifuga a 233,24 x g por 5 minutos. O sobrenadante foi separado e o processo repetido com o precipitado. Logo após, o precipitado foi separado para que fosse posteriormente pesado. Juntaram-se os sobrenadantes obtidos em um funil de separação, sendo adicionado 10 ml de solução de cloreto de sódio 200 g/l e 10 ml de éter de petróleo. Retirou-se a fase etérea e foi adicionado mais 2 x 5 ml de éter de petróleo e realizado leve agitação. As fases etéreas obtidas foram filtradas em funil de Buchener com papel filtro e sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro). O volume foi completado para 25 ml com éter de petróleo e a absorbância foi medida no espectrofotômetro em 474 nm, utilizando éter de petróleo como branco. Por fim, a amostra de pele permaneceu exposta a temperatura ambiente para sua posterior pesagem da pele seca. A determinação da concentração celular de

carotenoides, obtidas no final do processo, foi realizada utilizando-se a equação abaixo, sabendo-se que a absorvidade específica para xantofilas é  $A_{1\% \text{ 1cm}} = 1.600$ .

$$Py = (AD)/(0,16Pt)$$

Onde:

Py = concentração celular de cada xantofila no final do processo (mg xantofila/ g pele)

A = absorbância

D = fator de diluição (25 ml)

Pt = peso da pele seca (g)

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram submetidos a testes para verificação da normalidade dos erros e homecedasticidade, sendo analisados posteriormente por meio de Análise de Variância Paramétrica (ANOVA). Os dados de desempenho foram testados pelo teste de Tukey e os dados de pigmentação foram avaliados pelo teste de Duncan, ambos com nível de significância de 5%.

## 5 RESULTADOS

A suplementação com diferentes pigmentos carotenoides não afetou ( $P>0,05$ ) o crescimento de juvenis de kinguio (Tabela 3). Em relação a sobrevivência, a suplementação com luteína apresentou valores superiores quando comparado aos demais tratamentos (Figura 7).

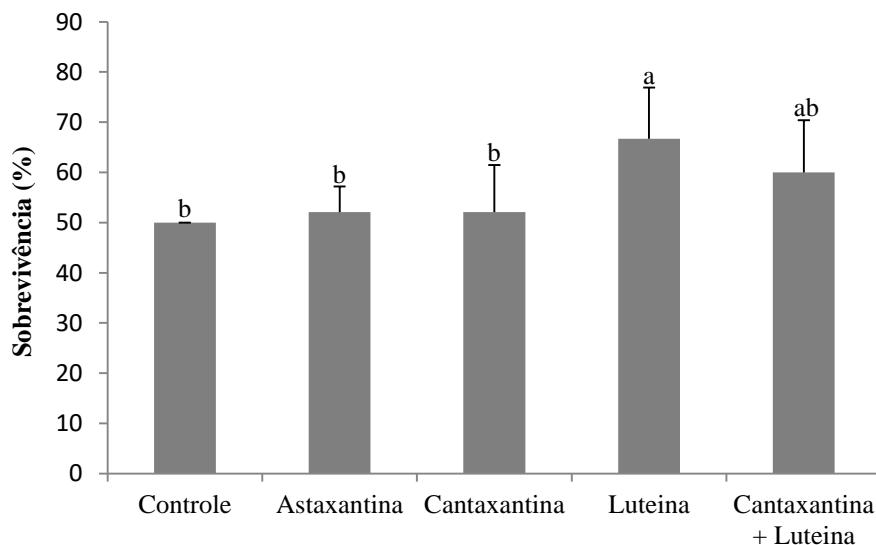
Tabela 3 - Desempenho de juvenis kinguios alimentados com dietas contendo diferentes tipos de pigmentos após 84 dias

	Controle	Luteína	Astaxantina	Cantaxantina	Cantaxantina + Luteína	CV (%)
GP	0,50±0,09	0,52±0,08	0,46±0,05	0,45±0,06	0,48±0,03	14,85
C	1,72±0,11	1,75±0,10	1,71±0,07	1,77±0,16	1,78±0,15	6,76
CA	3,74±0,66	3,98±0,46	3,73±0,56	3,97±0,51	3,68±0,38	14,53

Ausência de letras indica que não houve diferença entre os tratamentos pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ).  
 CV= Coeficiente de variação; GP = Ganho de peso; C= Consumo de ração; CA= Conversão alimentar; S= Sobrevida.

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Figura 7 - Valores médios de sobrevivência (%) de juvenis de kinguio em função dos tratamentos.



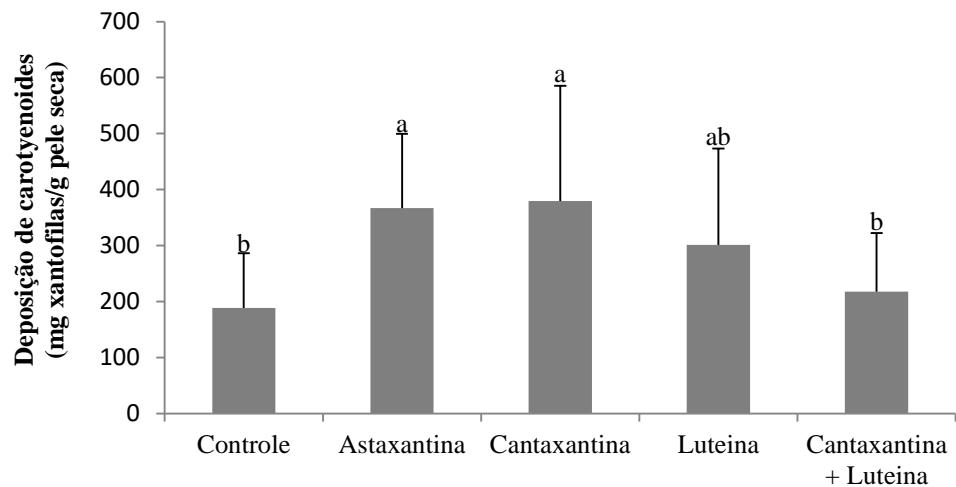
Médias acompanhadas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

A suplementação com astaxantina e cantaxantina aumentou ( $P<0,05$ ) a deposição de carotenoides na pele de juvenis de kinguios em relação ao tratamento controle (Figura 8). As menores ( $P<0,05$ ) taxas de pigmentação foram observadas no tratamento controle e combinado (cantaxantina + luteína). Nos peixes alimentados com a dieta contendo luteína a

deposição de carotenoides foi tão eficiente ( $P>0,05$ ) quanto os tratamentos puros (astaxantina e cantaxantina), porém não diferiu ( $P>0,05$ ) do tratamento controle e do tratamento combinado (cantaxantina + luteína).

Figura 8 - Deposição de carotenoides (mg xantofilas/ g pele seca) em juvenis de kinguio em função dos tratamentos.



Médias acompanhadas de letras diferentes diferem pelo teste de Duncan ( $P<0,05$ ).

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

## 6 DISCUSSÃO

A suplementação com carotenoides não influenciou no crescimento e na eficiência alimentar de juvenis de kinguio. Resultados similares foram encontrados para esta espécie por Tangtrongpairoj et al. (1999), Gouveia et al. (2003), Gouveia e Rema (2005), e Villar-Martínez et al. (2013). Para outras espécies ornamentais, como a carpa colorida (*Carpa koi*) (GOUVEIA et al., 2003) e o pargos (*Pagrus pagrus*) (KALINOWSKI et al., 2005) a suplementação com diferentes fontes de carotenoides também não afetou os parâmetros de desempenho. Por outro lado, para peixes de corte, como o salmão (*Salmo salar*) (TORRISEN, 1984; CHRISTIANSEN; TORRISEN, 1995), a truta arco-íris (*Onchorhynchus mykiss*) (SOMMER et al., 1992; DE LA MORA et al., 2006) e a tilápia vermelha (*Oreochromis niloticus*) (BOONYARATPALIN; UNPRASERT, 1989) dietas enriquecidas com carotenoides já proporcionaram resultados positivos de desempenho.

Um dos efeitos benéficos observados com a adição da luteína na ração para juvenis de kinguio foi a melhora na sobrevivência. Além de atuarem como pigmentos, os carotenoides também podem ter outras funções no metabolismo de forma a afetar a saúde dos peixes (BARBOSA et al., 1999; SINHÁ; ASIMI, 2007S; SHINDO et al., 2007). Assim como a luteína (YOUNG; LOWE, 2001), a astaxantina e a cantaxantina também possuem atividade antioxidante (PALOZZA; KRINSKY, 1992; NAGUIB, 2000). Entretanto, no presente estudo, estes dois pigmentos com tons laranja-avermelhados podem ter sido direcionados prioritariamente para a pigmentação da pele, o que explicaria porque não interferiram na sobrevivência. Já foi demonstrado que para o betta (*Betta splendens*) a pigmentação da pele pode ser uma rota prioritária em detrimento da saúde dos peixes (CLOTFELTER, 2007).

No presente estudo outra explicação para a melhora na sobrevivência é a possível metabolização da luteína para vitamina A (DEL TITO, 1983; DAVIES BETHAN; DAVIES, BRIAN, 1986; MATSUNO, 1991; YUANGSOI et al., 2010). A literatura cita que a luteína pode ser convertida em vitamina A em algumas espécies de peixes de água doce, como o kinguio (DEL TITO, 1983; DAVIES BETHAN; DAVIES, BRIAN, 1986), carpa cruciana, *Carassius carassius* (CZECZUGA; CZERPAK, 1976) e bagre-australiano, *Saccobranchus fossilis* (BARUA et al., 1973). A vitamina A é essencial para uma série de processos fisiológicos, como a regulação da diferenciação e proliferação celular, crescimento, resposta imune (YUANGSOI et al., 2010) e também exerce função como antioxidante (LI et al., 2011).

Os melhores resultados de deposição de carotenoides na pele foram obtidos para os peixes que receberam as dietas contendo astaxantina, cantaxantina e luteína. Diversos estudos

demonstram que a eficácia de uma fonte de carotenoide para deposição de pigmentos é espécie-específica (CEJAS et al., 2003; WANG et al., 2006; REZENDE, 2010; ZUANON et al., 2011). A astaxantina e a cantaxantina são pigmentos vermelhos que já apresentaram resultados positivos para pigmentação na pele de kinguios (GOUVEIA et al., 2003; YESILAYER et al., 2010), assim como para deposição de carotenoides na musculatura da truta arco-íris (*Onchorhynchus mykiss*) (CHOUBERT; STOREBAKKEN, 1989) e do salmão (*Salmo salar*) (BAKER et al., 2002). A luteína é um pigmento amarelo responsável pela coloração laranja amarelado, que juntamente com a astaxantina representam cerca de 90% dos carotenoides totais presentes no tegumento de kinguios (MASAHIRO HATA; MITSUO HATA, 1971). A inclusão da flor calêndula como fonte natural de luteína já foi avaliada com sucesso como fonte de carotenoide em dietas para kinguios (SINHÁ; ASIMI, 2007; VILLAR-MARTÍNEZ et al., 2013), bárbus-sumatrano (*Puntius tetrazona*) (BOONYARAPATIN; LOVELL, 1977), peixe espada (*Xiphophorus helleri*) (EZHIL et al., 2008) e truta arco-íris (*Onchorhynchus mykiss*) (YANAR et al., 2007; BÜYÜKÇAPAR et al., 2007), confirmando os resultados obtidos no presente estudo.

No presente estudo foi adicionado 50 mg kg<sup>-1</sup> de carotenoides na ração, esta concentração foi considerada suficiente para promover a pigmentação da pele de kinguios, exceto quando usadas as fontes combinadas (cantaxantina + luteína). A concentração de astaxantina avaliada nesse trabalho esteve dentro da margem utilizada na literatura. Já foi demonstrado que a suplementação de níveis de 36 a 80 mg kg<sup>-1</sup> de astaxantina nas rações, tanto de fontes naturais como sintéticas, promoveram eficiente pigmentação da pele de kinguios (TANGTRONGPAIROJ et al., 1999; GOUVEIA et al., 2003; GOUVEIA; REMA, 2005; YANAR et al., 2008). Por outro lado, o nível de inclusão de cantaxantina eficiente para pigmentação da pele desta espécie ainda não foi bem definido, no entanto, Yesilayer et al. (2010), indicam a concentração de 75 mg kg<sup>-1</sup> para kinguios. Para o salmão (*Salmo salar*), o nível recomendado foi semelhante, de 70 mg kg<sup>-1</sup> (BAKER et al., 2002). Já para o pargo (*Pagrus pagrus*) a concentração indicada foi mais elevada, de 100 mg kg<sup>-1</sup> (KALINOWSKI et al., 2005). Do mesmo modo, níveis de inclusão de luteína, também não foram bem determinados para o kinguio, existindo autores que encontraram resultados positivos para deposição de carotenoides utilizando níveis de 5 mg kg<sup>-1</sup> de biomassa de flor de calêndula (SINHÁ; ASIMI, 2007) e outros com a inclusão de 200 mg kg<sup>-1</sup> do carotenoide luteína extraído da flor de calêndula (VILLAR-MARTÍNEZ et al., 2013).

A utilização de carotenoides combinados (cantaxantina + luteína) não apresentou diferença significativa em relação ao controle. Para kinguios não existem trabalhos avaliando

os efeitos de dietas suplementadas com a combinação de diferentes carotenoides. No entanto, na literatura são encontrados trabalhos com outras espécies de peixes que demonstraram efeitos benéficos ao utilizar fontes combinadas de carotenoides (WANG et al., 2006; YUANGSOI et al., 2011; YI et al., 2016). Para carpas, tanto a suplementação com 50 mg kg<sup>-1</sup> de luteína ou a combinação de luteína e β-caroteno, utilizando 25 mg kg<sup>-1</sup> de cada carotenoide, mostrou a maior eficiência para melhorar a pigmentação da pele (YUANGSOI et al., 2011). São necessários mais trabalhos para determinar a combinação e concentração de fontes carotenoides que sejam eficientes para pigmentar a pele de kinguios. Bem como obter explicações sobre a utilização destes carotenoides nas diferentes rotas metabólicas, de forma a combinar os benefícios da pigmentação com os efeitos imunomodulatórios sobre a sobrevivência.

## 7 CONCLUSÃO

A inclusão de pigmentos carotenoides na dieta não afetou o crescimento e eficiência alimentar de juvenis de kinguio.

A luteína melhorou a sobrevivência e promoveu deposição de carotenoides na pele de juvenis de kinguio sem diferir da astaxantina e a cantaxantina.

Os pigmentos fornecidos isoladamente foram depositados na pele mais eficientemente do que quando fornecidos de forma combinada.

## 8 REFERÊNCIAS

ALISHAHI, M.; KARAMIFAR, M.; MESBAH, M. Effects of astaxanthin and *Dunaliella salina* on skin carotenoids, growth performance and immune response of *Astronotus ocellatus*. **Aquaculture International**, v. 23, n. 5, p. 1239-1248, 2015.

AMBRÓSIO, C. L. B. et al. Carotenoides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 2, p. 233-243, 2006.

ANDRIGUETTO, J. M. et al. **Nutrição animal**: Alimentação animal (Nutrição animal aplicada). 3. Ed. São Paulo: Nobel, 1983. 425p.

BAKER, R.T. M. Canthaxanthin in aquafeed applications: is there any risk? **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, n. 7, p. 240-243, 2001.

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, n. 3, p. 331-341, 1999.

BARON, M. et al. The effect of dietary pigments on the coloration and behavior of flame- red dwarf gourami, *Colisa lalia*. **Animal Behaviour**, v. 75, n. 3, p. 1041-1050, 2008.

BARUA, A. B.; SINGH, H. T.; DAS, R. C. Conversion of lutein into dehydroretinol by the freshwater fish, *Saccobranchus fossilis*. **British Journal of Nutrition**, v. 30, n. 01, p. 1-12, 1973.

BONFIM, T. M. B. **Produção de astaxantina pela levedura kali (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) a partir de meios de cultura de baixo custo**. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, 159 f. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.

BOONYAPAKDEE, A. et al. Astaxanthin extraction from golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) eggs to enhance colours in fancy carp (*Cyprinus carpio*). **Journal of Applied Animal Research**, v. 43, n. 3, p. 291-294, 2015.

BOONYARATPALIN, Mali; LOVELL, R. T. Diet preparation for aquarium fishes. **Aquaculture**, v. 12, n. 1, p. 53-62, 1977.

BOONYARATPALIN, M.; UNPRASERT, N. Effect of pigments from different sources on colour changes and growth of red *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 79, n. 1-4, p. 375-380, 1989.

BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. **Pond aquaculture water quality management**. Kluwer Academic Publishers, 700 p., 1998.

BUTTLE, L. G.; CRAMPTON, V. O.; WILLIAMS, P. D. The effect of feed pigment type on flesh pigment deposition and colour in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar L.* **Aquaculture Research**, v. 32, n. 2, p. 103-111, 2001.

BÜYÜKÇAPAR, H. M.; YANAR, M.; YANAR, Y. Pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with carotenoids from Marigold flower (*Tagetes erecta*) and red pepper (*Capsicum annum*). **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 31, n. 1, p. 7-12, 2007.

CEJAS, J. R. et al. Effect of dietary supplementation with shrimp on skin pigmentation and lipid composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) alevins. **Aquaculture**, v. 218, n. 1-4 p.457-469, 2003.

CHOUBERT, G.; STOREBAKKEN, T. Dose response to astaxanthin and canthaxanthin pigmentation of rainbow trout fed various dietary carotenoid concentrations. **Aquaculture**, v. 81, n. 1, p. 69-77, 1989.

CLOTFELTER, Ethan D.; ARDIA, Daniel R.; MCGRAW, Kevin J. Red fish, blue fish: trade-offs between pigmentation and immunity in *Betta splendens*. **Behavioral Ecology**, v. 18, n. 6, p. 1139-1145, 2007.

CZECZUGA, B.; CZERPAK, R. Carotenoids in fish. VII. The kind of food and the content of carotenoids and vitamin A in *Carassius carassius* (L.) and *Leucaspis delineatus* (Heck.). **Acta hydrobiologica**, v. 18, n. 2, p. 1-21, 1976.

DANANJAYA, S. H. S. et al. Natural bixin as a potential carotenoid for enhancing pigmentation and colour in goldfish (*Carassius auratus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 3, p. 1-9, 2015.

DAVIES, BETHAN W.; DAVIES, BRIAN H. Retinol and 3, 4-dehydroretinol formation from xanthophylls in the goldfish, *Carassius auratus*. **Biochemical Society Transactions**, v.14, n.5, p. 952, 1986.

DAVIS, B. H. Carotenoide metabolismo in animals: a biochemist's view. **Pure and Applied Chemistry**, v. 57, p. 679-684, 1985.

DEL TITO J. R.; BENJAMIN J. Role of beta-carotene and lutein in the synthesis of vitamin A in goldfish. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 45, n. 2, p. 94-97, 1983.

EZHIL, J.; JEYANTHI, C.; NARAYANAN, M. Marigold as a carotenoid source on pigmentation and growth of red swordtail, *Xiphophorus helleri*. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 8, p. 99-102, 2008.

FAIZULLAH, M. et al. Impact of biofloco technology on the growth of goldfish young ones. **Indian Jounal of Sicence and Technology**, v. 8, n. 3, p. 1-8, 2015.

FRIES, E.M. et al. Urucum em dietas para alevinos de kinguios *Carassius auratus*: desempenho produtivo e pigmentação da pele. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n.6, p. 3401, 2014.

GARCÍA-CHAVARRÍA, M.; LARA-FLORES, M. The use of carotenoid in aquaculture. **Research Journal of Fisheries and Hydrobiology**, v. 8, n. 2, p. 38-49, 2013.

GOUVEIA, L. et al. Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass. **Aquaculture Nutrition**, Lisboa, v.9, n. 2, p.123-129, 2003.

GOUVEIA, L.; REMA, P. Effect of microalgal biomass concentration and temperature on ornamental goldfish (*Carassius auratus*) skin pigmentation. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, n. 1, p.19-23, 2005.

GUPTA, S. K. et al. Use of natural carotenoids for pigmentation in fishes. **Natural Product Radiance**, v. 6, n. 1, p. 46-49, 2007.

HATA, M.; HATA, M. Carotenoid Pigments in goldfihs (*Carassius auratus*): I. Composition and distribution of carotenoids. **International Journal of Biochemistry**, v. 2, n. 7, p. 11-19, 1971.

HSU, W. J.; RODRIGUEZ, D. B.; CHICHESTER, C. O. The biosynthesis of astaxanthin. VI. the conversion of [14c] lutein and [14c]  $\beta$ -carotene in goldfish. **International Journal of Biochemistry**, v. 3, n. 15, p. 333-338, 1972.

JAGRUTHI, C. et al. Effect of dietary astaxanthin against *Aeromonas hydrophila* infection in common carp, *Cyprinus carpio*. **Fish & shellfish immunology**, v. 41, n. 2, p. 674-680, 2014.

JEBARAJA, K. J. et al. Vegetable Products as Dietary Pigment Sources for Juvenile Goldfish, *Carassius auratus*. **The Israeli Journal of Aquaculture**, p.1-6, 2013.

JHA, G. N. et al. Effect of Marigold Flower and Beetroot Meals on Growth Performance, Carcass Composition, and Total Carotenoids of Snow Trout (*Schizothorax richardsonii*). **The Israeli Journal of Aquaculture**, v. 64, p. 1-7, 2012.

JOHNSON, E. A.; AN, G. H. Astaxanthin from microbial sources. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 11, p. 297-326, 1991.

KALINOWSKI, C. T. et al. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. **Aquaculture**, v. 244, n. 1, p. 223-231, 2005.

KHATOON, N. et al. Evaluation of algae based feed in Goldfish (*Carassius auratus*) nutrition. **Proceedings of the Zoological Society**, v. 63, n. 2, p. 109-114, 2010.

LA FUENTE, J. C. et al. Solubility of carotenoid pigments (lycopene and astaxanthin) in supercritical carbon dioxide. **Fluid Phase Equilibria**, v. 247, p. 90-95, 2006.

LI, M. H. et al. Clearance of yellow pigments lutein and zeathanxin in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, reared at different water temperatures. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 42, n. 1, p. 105-110, 2011.

MATSUMOTO, R. K.; RODRIGUES, R. A. R. **Vida no aquário**. São Paulo: Três, 2002, p. 137.

MATSUNO, T. Xanthophylls as precursors of retinoids. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 81-88, 1991.

MORA, G. I. et al. Comparison of red chilli (*Capsicum annuum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhyncus mykiss*) fillet pigmentation. **Aquaculture**, v. 258, n. 1, p. 487-495, 2006.

MORIEL, D. G. et al. Optimization of biomass and astaxanthin production by the yeast *Phaffia rhodozyma*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, p. 421-424, 2004.

NAGUIB, Y. M. Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 48, n. 4, p. 1150-1154, 2000.

NAVARRETE-BOLAÑOS, J. L. et al. Pre-treatment effects on the extraction efficiency of xanthophylls from marigold flower (*Tagetes erecta*) using hexane. **Food research international**, v. 38, n. 2, p. 159-165, 2005.

OLSEN, R. E.; BAKER, R. T. M. Lutein does not influence flesh astaxanthin pigmentation in the Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). **Aquaculture**, v. 258, n. 1, p. 558-564, 2006.

PALOZZA, P.; KRINSKY, N. I. Astaxanthin and canthaxanthin are potent antioxidants in a membrane model. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 297, n. 2, p. 291-295, 1992.

PRATHEESH, V. B.; BENNY, N.; SUJATHA, C. H. Isolation, stabilization and characterization of xanthophyll from marigold flower-*Tagetes Erecta-L*. **Modern Applied Science**, v. 3, n. 2, p. 19, 2009.

RAMA, S.; MANJABHAT, S. N. Protective effect of shrimp carotenoids against ammonia stress in common carp, *Cyprinus carpio*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 107, p. 207-213, 2014.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. **Fontes brasileiras de carotenoides: tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente/Secretaria de Biodiversidade e Florestas, Departamento de Conservação da Biodiversidade. 2008. 100 p.

SHINDO, K. et al. Rare carotenoids, (3R)-saproxanthin and (3R,2'S)-myxol, isolated from novel marine bacteria (*Flavobacteriaceae*) and their antioxidative activities. **Applied Microbiology Biotechnology**, 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, n. 11, p. 1123-1128, 2007.

SILVA, A. S. T.; SCHULZ, U. H. Crescimento de *Carassius auratus* (*Actinopterygii: Cypriniformes*) em tanques com e sem abrigo. **Acta Biológica**, v. 28, n.1, p. 42-45, 2006.

SKREDE, G.; STOREBAKKEN, T. Characteristics of Color in Raw, Baked and Smoked Wild and Pen-Reared Atlantic Salmon. **Journal of Food Science**, v. 51, n. 3, p. 804-808, 1986.

SOMMER, T. R., SOUZA, F. M. L. D., MORRISSY, N. M. Pigmentation of adult rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, using the green alga *Haematococcus Pluvialis*. **Aquaculture**, v. 106, p. 63-74, 1992.

SORNSUPHARP, B. et al. Effects of dried fairy shrimp *Streptocephalus sirindhornae* meal on pigmentation and carotenoid deposition in flowerhorn cichlid; *Amphilophus citrinellus* (Günther, 1864)× *Cichlasoma trimaculatum* (Günther, 1867). **Aquaculture Research**, v. 46, n. 1, p. 173-184, 2015.

SUJITH, A. P. A.; HYMAVATHI, T. V.; DEVI, P. Y. Supercritical fluid extraction of lutein esters from Marigold flowers and their hydrolysis by improved saponification and enzyme biocatalysis. **International Journal of Biological Sciences**, v. 6, p. 67-76, 2010.

TANGTRONGPAIJOJ, T. et al. Effect of astaxanthin on the pigmentation of goldfish *Carassius auratus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 30, n. 4, p. 454-460, 1999.

TERUHISA, K.; HENRY, Y.; CHICHESTER, C. O. The biosynthesis of astaxanthin: I. The structure of  $\alpha$ -doradexanthin and  $\beta$ -doradexanthin. **International Journal of Biochemistry**, v. 1, n. 4, p. 438-444, 1970.

TORRISEN, O. J.; CHRISTIANSEN, R. Requirements for carotenoids in fish diets. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 11, p. 225-230, 1995.

TORRISEN, O. J.; NAEVDAL, G. Pigmentation of salmonids—genetical variation in carotenoid deposition in rainbow trout. **Aquaculture**, v. 38, n. 1, p. 59-66, 1984.

VALDUGA, E. et al. Produção de carotenoides: microrganismos como fonte de pigmentos naturais. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2429-2436, 2009.

VELASCO-SANTAMARÍA, Y.; CORREDOR-SANTAMARÍA, W. Nutritional requirements of freshwater ornamental fish: a review. **Revista MVZ Córdoba**, v. 16, n. 2, p. 2458-2469, 2011.

VERGHESE, J. Focus on xanthophylls from *Tagetes erecta* L the giant natural complex-I. **Indian Spices**, v. 33, n. 4, p. 8-13, 1998.

VILLAR-MARTÍNEZ, A. A. del et al. The effect of marigold (*Tagetes erecta*) as natural carotenoid source for the pigmentation of goldfish (*Carassius auratus* L.). **Research Journal of Fisheries and Hydrobiology**, v. 8, n. 2, p. 31-37, 2013.

WALLAT, G. K.; LAZUR, A. M.; CHAPMAN, F. A. Carotenoids of different types and concentrations in commercial formulated fish diets affect color and its development in the skin of the red oranda variety of goldfish. **North American Journal of Aquaculture**, v. 67, n. 1, p. 42-51, 2005.

WANG, Y. J. et al. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. **Aquaculture Amsterdam**, v. 261, n. 2, p. 641-648, 2006.

WEERATUNGE, W. K. O. V.; PERERA, B. G. K. Formulation of a fish feed for goldfish with natural astaxanthin extracted from shrimp waste. **Chemistry Central Journal**, v. 10, n. 1, p. 1-7, 2016.

YANAR, M. et al. The use of alfalfa, *Medicago sativa* as a natural carotenoid source in diets of goldfish, *Carassius auratus*. **Aquaculture**, v. 284, n. 1, p. 196-200, 2008.

YANAR, Y. et al. Effect of carotenoids from red pepper and marigold flower on pigmentation, sensory properties and fatty acid composition of rainbow trout. **Food Chemistry**, v. 100, n. 1, p. 326-330, 2007.

YEDIER S., et al. The relationship between carotenoid type and skin color in the ornamental red zebra cichlid *Maylandia estherae*. **AACL BIOFLUX**, v. 7, n. 3, p. 207-216, 2014.

YI, X. et al. Effects of dietary lutein/canthaxanthin ratio on the growth and pigmentation of large yellow croaker *Larimichthys croceus*. **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 3, p. 683-690, 2015.

YEŞILAYER, N. et al. The effects of different carotenoid sources on skin pigmentation of Goldfish (*Carassius auratus*). **The Israeli Journal Aquaculture**, v. 63, p. 1-9, 2011.

YOUNG, A. J.; LOWE, G. M. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. **Archives of Biochemistry and biophysics**, v. 385, n. 1, p. 20-27, 2001.

YUANGSOI, B. et al. Utilization of Carotenoids in Fancy Carp (*Cyprinus carpio*): Astaxanthin, Lutein and-Carotene. **World Applied Science Journal**, v. 11, n. 5, p. 590-598, 2010.

YUANGSOI, B. et al. The pigmenting effect of different carotenoids on fancy carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture Nutrition**, v. 17, n. 2, p. e306-e316, 2011.

ZUANON, J. A. S. et al. Produção e nutrição de peixes ornamentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n. supl. especial, p.165-174, 2011.