

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
(CAUNESP)
CAMPUS DE JABOTICABAL

ALIMENTO INERTE E VIVO NO DESEMPENHO DO
MATO GROSSO, (*HYPHESSOBRYCON EQUES*)

FLÁVIA ALMEIDA BERCHIELLI MORAIS

Bióloga

Jaboticabal

São Paulo- Brasil

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
(CAUNESP)
CAMPUS DE JABOTICABAL

ALIMENTO INERTE E VIVO NO DESEMPENHO DO
MATO GROSSO, (*HYPHESSOBRYCON EQUES*)

Mestranda: Flávia Almeida Berchielli Moraes

Orientadora: Profa. Dra. Lúcia Helena Sipaúba- Tavares

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP), Campus de Jaboticabal como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Jaboticabal

São Paulo - Brasil

2013

M827a Morais, Flávia Almeida Berchielli
 Alimento inerte e vivo no desempenho do mato grosso,
 (*Hyphessobrycon eques*) / Flávia Almeida Berchielli Morais. – –
 Jaboticabal, 2013
 xv, 72 f. : il. ; 29 cm

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro
 de Aquicultura, 2013
 Orientadora: Lúcia Helena Sipaúba Tavares
 Banca examinadora: João Batista Kochenborger Fernandes, Odete
 Rocha
 Bibliografia

 1. Ração de peixe. 2. Zooplâncton-alimento vivo. 3. Peixe
 ornamental. 4. Algas. I. Título. II. Jaboticabal- Centro de Aquicultura.

 CDU 639.31:636.085

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da
Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de
Jaboticabal.
e-mail: abflavia@yahoo.com.br



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

REITORIA

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Alimento inerte e vivo no desempenho do mato grosso, (Hyphessobrycon eques)

AUTORA: FLÁVIA ALMEIDA BERCHIELLI MORAIS

ORIENTADORA: Profa. Dra. LUCIA HELENA SIPAUBA TAVARES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Aqüicultura , pela Comissão Examinadora:



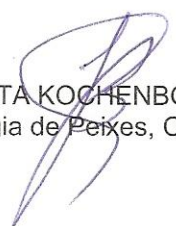
Profa. Dra. LUCIA HELENA SIPAUBA TAVARES

Laboratório de Limnologia, Centro de Aquicultura da UNESP



Profa. Dra. ODETE ROCHA

Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva / Universidade Federal de Sao Carlos



Prof. Dr. JOAO BATISTA KOCHENBORGER FERNANDES

Laboratório de Patologia de Peixes, CAUNESP, Jaboticabal, SP

Data da realização: 12 de junho de 2013.

*Sedes firmes e que as vossas mãos não se
enfraqueçam, pois as vossas ações terão a sua
recompensa.*

II Crônicas 15:7

DEDICO

Ao meu querido e amado marido Yuri, difícil demonstrar em poucas palavras o quanto é especial para mim, é uma pessoa que está sempre ao meu lado, me apoiando nas minhas decisões, me dando muito amor.

Aos meus pais Dé e Hilda que sempre acreditaram em mim, me dando apoio, incentivo, amor. A minha irmã Bruna, que sempre me ensinou a correr atrás dos nossos objetivos na vida e ser feliz sempre.

AGRADECIMENTOS

A DEUS! Por estar sempre ao meu lado, me dando forças, paciência nos momentos de desespero, sabedoria na escrita e por me fazer acreditar que nessa vida nada é impossível.

Ao meu marido e companheiro Yuri, obrigada pelo seu amor, carinho, ensinamentos, incentivos à minha formação profissional e por ter muita paciência comigo. Você é um presente de Deus em minha vida.

Aos meus pais Dé e Hilda, pelo amor e dedicação pelo modo que me ensinaram a viver, sempre me apoiando nas minhas decisões, amo muito vocês. À minha irmã Bruna, batalhadora, guerreira, admiro sua independência.

À minha orientadora Profa. Dra. Lúcia Helena Sipaiúba Tavares, pela oportunidade, orientação segura, incentivo, ensinamentos que vão me ajudar muito no futuro, por confiar e acreditar em mim. Obrigada pelo apoio, companheirismo e amizade. Adoro a senhora.

Ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, às coordenadoras Profª Drª Irene Bastos Vicentini e Profª Drª Laura Satiko Okada Nakaghi, aos secretários David Oliveira Lorente e Veralice Cappatto, por estarem sempre dispostos a ajudar. Também à direção do CAUNESP (Centro de Aquicultura da UNESP) por ter cedido o espaço físico para a realização da pesquisa. Aos funcionários deste Centro, principalmente Donizeti, Márcio (Breno), Márcio (Perereca), “seu” Mauro e Valdecir, por toda ajuda durante o trabalho.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão de bolsa de Mestrado e a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo auxílio financeiro (09/51946-6), contribuindo para a minha formação científica.

Aos meus amigos do laboratório, Alexandra, Bruno, Cecília, Érica, Fernanda Borges e Iara pela amizade, carinho, as risadas, brincadeiras, agradável convivência. Obrigada pela ajuda tanto nas coletas, quanto nas análises laboratoriais. Aos que não estão mais no laboratório: Tatí, Missaê, Pedro, Dani, Ludmilla, Helen, Mayhara, Emerson, Moira, Alíne, Leonardo, Paula, Samuel, Ana e Fernanda Lima.

Ao Dr. Rodrigo Ney Millan, sem palavras para agradecer seu apoio tanto nas análises laboratoriais quanto na estatística deste trabalho. Obrigada pelas suas dicas e amizade.

Aos membros da banca de qualificação, Profº Drº Luiz Edivaldo Pezzato e Prof. Profº Drº Roberto Goitein pelas contribuições e sugestões.

Aos membros da banca de defesa, Profaº Draº Odete Rocha pelos excelentes conselhos e ensinamentos e ao Profº Drº João Batista Kochenborger Fernandes, pelas sugestões e também gostaria de agradecer pelo espaço cedido no Laboratório de Peixes Ornamentais para execução dos experimentos.

Ao Prof. Dr. Francisco Manoel de Souza Braga, Departamento de Zoologia - UNESP, Rio Claro, pela análise estatística deste trabalho.

Ao Luiz Gustavo Giannecchini (Pastor) pelo auxílio na montagem e manutenção do experimento no Laboratório de Peixes Ornamentais, obrigada pela paciência e atenção, sempre estando disposto a me ajudar.

À Ana Paula e ao Sr. Orlando do Laboratório de Nutrição e Pastagem pela realização das análises bioquímicas.

Ao ITAL (Instituto de Tecnologia de Alimentos em Campinas-SP) pela realização das análises de astaxantina e coloração.

Aos meus avós paternos Odair (in memoriam) e Irene, com muitos anos de vivência, vocês me ensinaram muitas coisas, sempre com muita disposição.

Aos meus avós maternos Arlindo e Hilda (in memoriam) obrigada por terem me criado com muito amor, sempre me educando e ensinando o caminho certo na vida, sinto muito a falta de vocês.

As minhas tias Amélia e Marisa, que sempre me estenderam a mão para me ajudar, obrigada pelo carinho, por me tratarem como filha, vocês são especiais.

Aos meus familiares que aqui não foram citados, mas estão sempre presentes na minha memória.

À minha sogra Deborah, meu sogro Josué, minha cunhadinha Sarah, os avós do Yuri seu Olavo e Isabel, meus tios Olavo, Patrícia, Adriana, Herminio e meu priminho Lucca, obrigada pelos seus ensinamentos, apoio e carinho.

A minha amiga Marcia e seu marido Percilio, casal de amigos companheiros, obrigada pela amizade de vocês.

APOIO FINANCEIRO:

CAPES, Bolsa de mestrado.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE TABELAS.....	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
1. APRESENTAÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS GERAIS.....	2
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3.1. Piscicultura ornamental.....	3
3.2. Caracterização geral da espécie mato grosso <i>Hyphessobrycon eques</i> (Steindachner, 1882).....	5
3.3. Descrição das espécies de microalgas utilizadas, <i>Ankistrodesmus gracilis</i> (Reisch) Korsikov e <i>Haematococcus pluvialis</i> (Flotow).....	7
3.4. Produção de astaxantina.....	10
3.5. Variedades de alimentos para os peixes ornamentais.....	11
4. LOCAL DE ESTUDO E PREPARO DO ALIMENTO INERTE E VIVO.....	15
4.1. Cultivo das microalgas <i>Ankistrodesmus gracilis</i> (Reisch) Korsikov e <i>Haematococcus pluvialis</i> Flotow em laboratório.....	15
4.2. Extração da biomassa das microalgas <i>Ankistrodesmus gracilis</i> (Reisch) Korsikov e <i>Haematococcus pluvialis</i> Flotow para serem adicionadas ao alimento inerte.....	16
4.3. Preparo do alimento inerte.....	18
4.4. Preparo do alimento vivo (zooplâncton) contendo as microalgas <i>Ankistrodesmus gracilis</i> (Reisch) Korsikov e <i>Haematococcus pluvialis</i> cultivadas em laboratório para análise do hábito alimentar do peixe ornamental mato grosso <i>Hyphessobrycon eques</i>	19
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22

CAPÍTULO I. Alimento inerte associado à biomassa de microalgas no crescimento e coloração do mato grosso (<i>Hyphessobrycon eques</i>).....	30
CAPÍTULO II. Hábito alimentar do peixe ornamental mato grosso <i>Hyphessobrycon eques</i> criado em laboratório.....	50
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Foto do peixe ornamental mato grosso <i>Hyphessobrycon eques</i>	6
Figura 2. Vista geral das células da microalga <i>Ankistrodesmus gracilis</i> (Keisch) Korsikov (aumento de 100X).....	8
Figura 3. Ciclo da divisão celular de <i>Haematococcus pluvialis</i> , onde (I) crescimento da célula vegetativa; (II) encapsulação; (III) maturação; (IV) germinação; (V) metabolismo secundário para a produção de astaxantina.....	9
Figura 4. Diferentes formas encontradas da célula da microalga <i>Haematococcus pluvialis</i> onde: (A) célula vegetativa com flagelo, (B) cistos ricos em astaxantina.....	10
Figura 5. Vista do cepário onde foram mantidas as microalgas <i>Ankistrodesmus gracilis</i> (A) e <i>Haematococcus pluvialis</i> (B) em erlenmeyers de 2 litros, para posteriormente serem adicionadas como alimento para o mato grosso <i>Hyphessobrycon eques</i>	16
Figura 6. Processo de concentração do material para extração da biomassa de <i>Ankistrodesmus gracilis</i> e <i>Haematococcus pluvialis</i> , onde: (A) centrífuga, (B) vista dos meios de cultura dentro da centrífuga, onde a cor verde é a <i>Ankistrodesmus gracilis</i> e a cor vermelha é a <i>Haematococcus pluvialis</i> , (C) biomassa das microalgas concentradas, (D) liofilização.....	17
Figura 7. (A) Biomassa das microalgas secas, (B) alimento inerte com as microalgas <i>Ankistrodesmus gracilis</i> e <i>Haematococcus pluvialis</i> adicionadas.....	17
Figura 8. Preparo do alimento inerte onde: (A) pesagem dos ingredientes, (B) mistura dos ingredientes com água, (C) moendo o alimento inerte, (D) secagem, (E) quebramento dos grânulos, (F) alimento inerte pronto para ser fornecido ao mato grosso <i>Hyphessobrycon eques</i>	18
Figura 9. Vista do tanque externo de cultivo de plâncton fertilizado com adubo químico NPK (20:5:20).....	19

Figura 10. Procedimento para retirada das partículas maiores do material concentrado cultivados nos tanques externos, onde: (A) Peneira de 1,20 mm, (B) rede de 200 μ m e (C) zooplâncton concentrado.....20

Figura 11. Água de turfa para manutenção de zooplâncton em laboratório, onde: (A) Extrato de turfa, alimento inerte e vitamina do complexo B, (B) água de turfa preparada.....21

Figura 12. Visão dos dois tratamentos alimentares, onde: (A) Zooplâncton concentrado dos tanques externos e microalgas *Ankistrodesmus gracilis* e *Haematococcus pluvialis*, (B) tratamentos alimentares onde (B₁) zooplâncton e (B₂) zooplâncton contendo as microalgas *Ankistrodesmus gracilis* e *Haematococcus pluvialis* cultivadas em laboratório, (C) alimento pronto (C₁ e C₂) para ser adicionados aos aquários.....21

Capítulo I. Figura 1. Delineamento experimental da alimentação do mato grosso *H. eques* utilizando o alimento inerte juntamente com as microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis*, onde AI= somente alimento inerte (controle), AI+H= alimento inerte + *H. pluvialis*, AI+H+A= alimento inerte + 50% de *H. pluvialis* e 50% de *A. gracilis*, AI+A= alimento inerte + *A. gracilis*.....35

Capítulo II. Figura 1. Abundância relativa dos grupos planctônicos encontrados no ambiente e conteúdo do trato digestório mato grosso *H. eques*, nos tratamentos Z= zooplâncton e Z+A+H= zooplâncton + as microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis*.....60

Figura 2: Variação do teor de proteína bruta e extrato etéreo do alimento vivo fornecido ao peixe mato grosso *H. eques* ao longo do período experimental, onde: Z= zooplâncton e Z+A+H= zooplâncton+ as microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis*.....62

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO I. Tabela 1. Composição percentual e químico-bromatológica calculada das dietas experimentais onde: AI= somente alimento inerte (controle), AI+H= alimento inerte + *H. pluvialis*, AI+H+A= alimento inerte + 50% de *H. pluvialis* e 50% de *A. gracilis*, AI+A= alimento inerte + *A. gracilis*.....36

Tabela 2. Valores médios de desempenho zootécnico do peixe mato grosso, *H. eques* alimentados com AI= somente alimento inerte (controle), AI+H= alimento inerte + *H. pluvialis*, AI+H+A= alimento inerte + 50% de *H. pluvialis* e 50% de *A. gracilis* e AI+A= alimento inerte + *A. gracilis*.....40

Tabela 3. Valores médios da análise de coloração do mato grosso, *H. eques*: onde L* a luminosidade, a* (cor vermelha), b* (cor amarela), Hab*(tom) e Cab* (brilho) para as dietas AI= somente alimento inerte (controle), AI+H= alimento inerte + *H. pluvialis*, AI+H+A= alimento inerte + 50% de *H. pluvialis* e 50% de *A. gracilis* e AI+A= alimento inerte + *A. gracilis*.....41

CAPÍTULO II. Tabela 1. Resultados do teste de correlação de classes de Spearman de abundância relativa (%) de itens planctônicos do ambiente e trato digestório dos dois tratamentos, Z= zooplâncton e Z+A+H= zooplâncton + as microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis*.....59

Tabela 2. Número médio de indivíduos por litro e porcentagem relativa dos organismos alimentares encontrados no trato digestório do mato grosso *H. eques*.....60

Tabela 3. Valores médios de desempenho zootécnico do peixe mato grosso *H. eques* alimentados com Z= zooplâncton e Z+A+H= zooplâncton+ microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis*.....61

RESUMO

Este trabalho foi conduzido no Laboratório de Peixes Ornamentais, do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP), Campus de Jaboticabal, SP e avaliaram dois tipos de alimentação para o peixe ornamental mato grosso *Hyphessobrycon eques*, (Steindachner, 1882). Foram utilizados o alimento inerte (ração) e o alimento vivo (zooplâncton) associados à biomassa de microalgas constituída por Chlorophyceae *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov e *Haematococcus pluvialis* Flotow na forma liofilizada e cultura viva. Em relação aos resultados do primeiro capítulo referente ao alimento inerte, ocorreram diferenças significativas ($p < 0,05$) na coloração dos peixes, com valores mais elevados para a cor amarela ($+b^*$) e o brilho (Cab^*) para as dietas com adição de biomassa de microalgas (AI+H, AI+H+A, AI+A) do que a dieta controle (AI). Apesar da dieta AI+H ter promovido coloração mais intensa para os valores de (b^*) e (Cab^*) ($p < 0,05$) ao mato grosso *H. eques* quando comparada à dieta controle, a quantidade de 0,15% de inclusão das microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis* ao alimento inerte, ainda não foi suficiente para incrementar a cor do peixe, principalmente a coloração vermelha. Em relação ao segundo capítulo referente ao alimento vivo, indicou nenhuma preferência do mato grosso *H. eques* para as espécies planctônicas em ambos os tratamentos alimentares ($p > 0,05$) e ocorreram diferenças significativas ($p > 0,05$) para o desempenho zootécnico. Os resultados obtidos permitem concluir que o mato grosso aceita dietas que contenham zooplâncton e microalgas, porém a associação de ambos promoveu maiores resultados de crescimento, sendo esta dieta eficaz como fonte de alimento.

Palavras-chave: Ração, alimento vivo, peixe ornamental, aquariofilia, algas.

ABSTRACT

Current assay, performed in the Ornamental Fish Laboratory of the UNESP Aquiculture Centre (CAUNESP), Jaboticabal SP Brazil, evaluated two types of feed for the ornamental fish *Hyphessobrycon eques*, Steindachner, 1882 (popularly called mato grosso), with inert (meal) and live food (zooplankton) associated with lyophilized and live microalgae biomass Chlorophyceae *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov and *Haematococcus pluvialis* Flotow. The first chapter related to inert feed. Significant differences ($p < 0.05$) were reported for pigment analysis with higher rates for yellow ($+b^*$) and brightness (Cab^*) for diets with the addition of micro-algae biomass (AI+H, AI+H+A, AI+A) than those in control (AI). Although diet AI+H have promoted more intense pigment for the values of (b^*) and (Cab^*) ($p < 0.05$) to *H. eques* when compared to the control diet (AI), the amount of 0.15% inclusion of micro-algae *A. gracilis* and *H. pluvialis* to inert feed has not been sufficient to enhance the pigment of fish, especially the red pigment. Compared to the second chapter for the live food showed no preference of the *H. eques* for the different plankton species in the two treatments ($p > 0.05$) and zootechnical performance results revealed significant differences ($p < 0.05$). The ornamental fish *H. eques* accepts zooplankton and microalgae diets, but the association of both provided better growth results and shows a more efficient diet as feeding source.

Keywords: feed; life food; ornamental fish; aquarium fish collection; algae.

1. APRESENTAÇÃO

A piscicultura ornamental é um setor em plena expansão, visto que, no mercado destes peixes existe uma variedade de alimentos, porém poucos são adequados para satisfazer as exigências nutricionais as espécies. Assim, a utilização de biomassa de microalgas na alimentação de peixes é uma alternativa a ser explorada. Outro fator importante é a utilização de dietas que contenham pigmentos naturais que possam intensificar a coloração dos peixes ornamentais, fator que influencia a decisão na compra pelo consumidor.

Estudos de alimentação de peixes ornamentais utilizando biomassa de microalgas e avaliando o hábito alimentar das espécies não são frequentes, principalmente, para o mato grosso, *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882). O estudo das dietas testadas para esta espécie, nesta dissertação, foi dividido em dois grupos: um incorporando a biomassa das microalgas *Ankistrodesmus gracilis* (Reish) Korsikov e *Haematococcus pluvialis* Flotow liofilizadas ao alimento inerte e o outro, utilizando somente o alimento vivo (zooplâncton) contendo a biomassa destas microalgas na forma de cultura viva.

Os resultados desta pesquisa contribuirão para o conhecimento do hábito alimentar do mato grosso *H. eques*, assim como para o desenvolvimento futuro de dietas mais adequadas para peixes ornamentais.

2. OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a adição das microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis* na forma liofilizada ao alimento inerte (ração industrializada), verificando o efeito do alimento misto no desempenho zootécnico e coloração da pele do mato grosso *H. eques*, e posteriormente, analisar o hábito alimentar em relação ao alimento vivo (zooplâncton e microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis*) por meio da observação do trato digestório, identificando qualitativa e quantitativamente os itens alimentares mais consumidos por esta espécie de peixe ornamental.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Piscicultura ornamental

A aquicultura é uma atividade multidisciplinar que se refere ao cultivo de organismos aquáticos, incluindo peixes, moluscos, crustáceos e plantas aquáticas, sendo uma das atividades agropecuárias que mais tem se desenvolvido no mundo. A criação de peixes ornamentais está incluída entre os setores mais lucrativos da piscicultura, tendo gerado em média 182 milhões de dólares ao ano na década de 1990 (FAO, 2007).

O interesse em peixes pode ser dividido em três áreas: para alimentação, pesca esportiva e ornamentação. Peixes ornamentais são definidos como aqueles que são mantidos em aquários, tanques, lagos ornamentais com fins estéticos para diversão ou educação (RIBEIRO et al., 2010).

O aumento da demanda de peixes, principalmente pelos aquaristas de países desenvolvidos como Estados Unidos, Japão, Reino Unido, Alemanha, França, Itália e Bélgica, deu origem à piscicultura ornamental. Essa modalidade de aquicultura apresentou grande crescimento na década de 90, e crescimento de cerca de 10% ao ano no período de 1991 até 1996 (FISHSTAT PLUS, 2008).

Segundo Rezende, (2010), a piscicultura ornamental é uma opção com custo de implantação relativamente baixo e elevada rentabilidade para piscicultores familiares, sendo excelente oportunidade para melhoria das condições de vida. Entretanto, para alcançar produção satisfatória são necessários empenho e dedicação, com necessidade de frequentes atualizações tecnológicas por parte dos

piscicultores, já que cada grupo de espécies apresenta particularidades quanto ao manejo e reprodução.

A produção de peixes ornamentais vem assumindo posição de destaque no comércio internacional (RIBEIRO et al., 2007). O volume mundial de exportação, em 2000, foi de 182 milhões de dólares, sendo Singapura o maior exportador, contribuindo com 23,9% do total, seguido da China com 10,6%. Já em volume de importação, neste mesmo ano, os Estados Unidos apresentou a maior participação com 24,5%, do total de 245 milhões de dólares (LING & LIM, 2005/06). Em 2002, as importações de peixes ornamentais no mundo movimentaram 900 milhões de dólares (FAO, 2007).

No Brasil a piscicultura ornamental é 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 imigrante de origem japonesa, Sigeiti Takase. Takase trouxe mais de 50 espécies para cultivo, e em águas brasileiras coletou várias espécies da ictiofauna nativa, algumas das quais passou a cultivar (BOTELHO-FILHO, 1990).

No Pará esse mercado tem grande importância na economia local e em 2009 esse Estado superou o Amazonas no valor de peixes ornamentais exportados. Segundo a Secretaria do Comércio Exterior, esses dois Estados detêm 88% do valor exportado pelo país anualmente, atingindo em 2008 o recorde de 41 milhões de peixes ornamentais exportados (SECEX, 2010).

Segundo França, (2007), na piscicultura ornamental, a manutenção das condições da água, é importante por meio do monitoramento das variáveis físicas e químicas como temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica para fornecer condições adequadas à vida dos peixes. A temperatura interfere na solubilidade de gases e afeta a concentração de oxigênio dissolvido na água, geralmente controlado por bombas de ar. Já o pH varia de acordo com a espécie e atua na solubilização de substâncias tóxicas aos peixes.

O manejo diário dos peixes ornamentais é necessário, com trocas parciais de água dos recipientes de criação, sejam aquários, caixas d'água, tanques, entre

outros, com remoção de até 50% da água para eliminar restos de alimentos e excretas dos peixes que contém altas concentrações de compostos nitrogenados. A água adicionada deve estar com temperatura na faixa de 27 a 30°C adequada para a sobrevivência dos peixes e, livres de qualquer resíduo que possa afetar seu desenvolvimento (FRANÇA, 2007).

A alimentação é oferecida conforme as necessidades nutricionais da espécie criada e geralmente o alimento fornecido aos peixes é o inerte. É importante que os peixes se alimentem de alimentos diversificados que sejam balanceados em nutrientes, vitaminas e minerais, ofertado várias vezes ao dia, observando-se se os peixes estão comendo ou se está ocorrendo sobras de alimento (ARAÚJO & PÉREZ, 2005).

A iluminação artificial interfere no crescimento, sendo preferencial para peixes tropicais o ciclo de luz constante ou de 12 horas luz/escuro (FRANÇA, 2007). O controle desses fatores é essencial para o peixe crescer saudável e valorizado no mercado, caso contrário, pode ocorrer estresse reduzindo a capacidade imunológica, tornando-os mais suscetíveis às enfermidades e, levando consequentemente, à morte (VAL et al., 2004).

3.2. Caracterização geral da espécie mato grosso *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882)

A espécie de peixe ornamental estudada, conhecido popularmente como ``mato grosso`` ou ``tetra serpae``, *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882), pertence à família Characidae (Figura 1). Predomina na Bacia do rio Paraná, Brasil, e ocorre naturalmente desde a Amazônia até as bacias do rio Guaporé e Paraguai. É dos mais populares no aquarismo e comumente exportado como espécie ornamental, o que se justifica pela alta capacidade de resistência e adaptação. Espécie de pequeno porte, alcançando 4 cm de comprimento, característico de água neutra à ligeiramente ácida (Figura 1) (CASAL, 2010).

Embora esta espécie seja reconhecida no aquariofilismo, há relativamente poucos estudos relacionados ao hábito alimentar deste peixe. Na natureza, *H.*

eques é encontrado em bancos de macrófitas que além de fornecerem abrigo, contra a predação, servem de substrato para o desenvolvimento de outros organismos vegetais e animais que são fontes de alimento (TAKEDA et al., 2004).



Figura 1. Foto do peixe ornamental mato grosso *Hyphessobrycon eques*

Neste ambiente, foi avaliado o trato digestório de *H. eques*, e a dieta foi composta principalmente por algas filamentosas, seguida de microcrustáceos (Ostracoda, Cladocera e Copepoda), como também de larvas de insetos (BEZERRA, 2008). Já em cativeiro, sabe-se que este peixe sobrevive com dieta inerte, sendo necessário uma vez ao mês a adição de alimento vivo para melhor desempenho e sobrevivência.

De acordo com Soneira (2006), quando se pretende estudar o hábito alimentar de uma determinada espécie de peixe para sua criação racional, são necessários alguns conhecimentos básicos a respeito da sua anatomia, fisiologia, morfologia e comportamento. Na natureza, os peixes são oportunistas e se alimentam das fontes energéticas disponíveis no local, enquanto que no cativeiro os peixes recebem fontes alimentares específicas, mais limitadas em relação a variedade.

No caso de *H. eques*, esta espécie apresenta boca pequena com duas séries de dentes pré-maxilares não necessariamente cônicos, estômago bem definido com paredes delgadas e intestino relativamente curto com apenas uma volta na cavidade

abdominal, sendo que o tamanho do intestino está intimamente relacionado com a natureza do alimento ingerido (FUGI et al., 2001).

3.3. Descrição das espécies de microalgas utilizadas, *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov e *Haematococcus pluvialis* (Flotow)

Ankistrodesmus gracilis (Reisch) Korsikov e *Haematococcus pluvialis* Flotow pertencem à Classe Chlorophyceae e a Ordem Chlorococcales e Chlamydomonadales, respectivamente (BICUDO & MENEZES, 2006).

Segundo Raven, (2001), a classe Chlorophyceae possui cerca de 17.000 espécies, com elevada diversidade de organismos, estrutura, ciclo de vida e habitat. A grande maioria dos membros desta classe vivem em água doce. Também denominadas microalgas verdes, constituem grupo muito amplo e variado de seres unicelulares de vida colonial e filamentosa. Apresentam cor verde intenso devido às clorofilas *a* e *b* que mascaram os carotenos e xantofilas. Os pirenóides situados nos cloroplastos armazenam amido como substância de reserva. Algumas Chlorophyceae são desnudas, mais a maioria possui parede celular formada por duas ou mais capas, a interna é celulósica e a externa é pectínica. As microalgas de parede delgada têm, proporcionalmente, maior quantidade de material utilizável ou nutritivo que as de parede espessa (REYNOLDS, 1984).

O gênero *Ankistrodesmus* inclui 11 espécies já coletadas em quase todo o mundo, sendo um dos gêneros mais cosmopolitas de microalgas Chlorococcales (BICUDO & MENEZES, 2006).

Segundo Bold & Wynne, (1985), *A. gracilis* caracteriza-se por ser unicelular imóvel, não produz zoósporos e possui tamanho médio de 17 µm. As células podem ser lunadas, fusiformes, muitas vezes mais longas que o próprio diâmetro, parecendo verdadeiras agulhas e podem ser tanto retas quanto encurvadas ou até sigmoídes (Figura 2). O único cloroplasto é parietal, localizado lateralmente na célula e tem a forma de lâmina (BICUDO & MENEZES, 2006). São comuns em água e solo úmido, crescendo abundantemente, podendo originar florescimento, às vezes agregando-se em pequenos grupos.

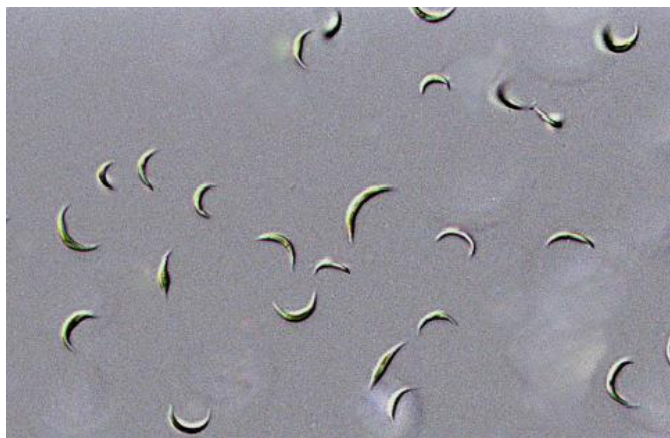


Figura 2. Vista geral das células da microalga *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov (aumento de 100X)

A microalga *H. pluvialis* caracteriza-se por apresentar tamanho médio de 10 μm , unicelular flagelada e produz cistos, os quais são considerados geralmente como resposta às condições desfavoráveis do meio e produz astaxantina como principal carotenóide (GOODWIN, 1992).

Esta microalga habita corpos de água doce rasos, naturais ou tanques artificiais efêmeros e periodicamente cheios com água de chuva. Ao longo do seu ciclo de vida ocorrem diferentes tipos de células na cultura durante o crescimento e fase estacionária (GONZÁLEZ et al., 2009).

Segundo Fiedler et al. (2007), o ciclo celular desta microalga pode ser dividido em quatro fases: na primeira (I) as células apresentam dois flagelos sendo a forma comum, de rápido crescimento na cultura. Na fase dois (II) ocorre a perda do flagelo, as células crescem em tamanho na forma esférica chamadas células palmelóides. Na terceira fase (III) as células filhas flageladas se dividem dentro da célula mãe, ocorre crescimento contínuo da célula, sendo formada uma parede com várias camadas. Finalmente na fase (IV) as células filhas são liberadas a partir da célula mãe e começa novo ciclo. Em condições desfavoráveis, as células param de dividir, formam parede espessa e tornam-se vermelhas devido à produção de astaxantina (V) (Figura 3). Essas mudanças morfológicas podem ser induzidas por diferentes formas de estresse.

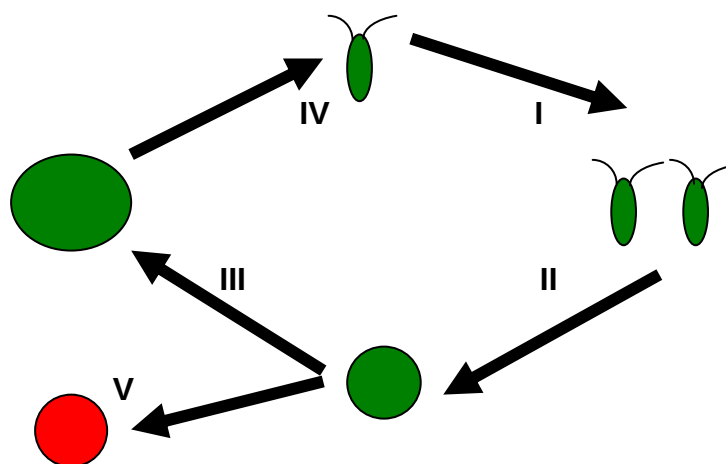


Figura 3. Ciclo da divisão celular de *Haematococcus pluvialis*, onde (I) crescimento da célula vegetativa; (II) encapsulação, (III) maturação; (IV) germinação; (V) metabolismo secundário para a produção de astaxantina (baseado em FIEDLER et al., 2007)

Quando submetidas às condições favoráveis, esta microalga cresce como células verdes biflageladas móveis (Figura 4–A). Entretanto, sob condições de estresse, tais como privação de nutrientes específicos como o nitrogênio ou o fósforo (FABREGAS et al., 2003; IMAMOGLU et al., 2009), adição de cloreto de sódio, estresse oxidativo promovido pela da adição de ferro (KOBAYASHI et al., 1997), aumento da relação C/N disponível para a célula (KANG et al., 2007) ou, ainda, aumento da intensidade luminosa (WANG et al., 2003; TORZILLO et al., 2005), as células perdem a mobilidade aumentam de tamanho e formam cistos, acumulando no citoplasma quantidades massivas de astaxantina e mudando a cor para o vermelho (Figura 4-B).

A luz é fator primordial no cultivo de microalgas, e no caso de *H. pluvialis* em geral as culturas são mantidas sobre um ciclo de condições de luz/escuro. Porém, culturas mantidas em ciclo de luz de 24 horas resultaram em condições de maior produção de células vegetativas, constante taxa de crescimento e características fisiológicas adequadas (FABREGAS et al., 2001).

Em função do crescimento muito baixo de *H. pluvialis* e suscetível à contaminação, o cultivo em sistemas fechados (laboratório) oferece grande número

de vantagens incluindo: melhor controle das condições ambientais de cultivo, proteção à contaminação, podendo alcançar maior número de células (KAEWPINTONG et al., 2007)

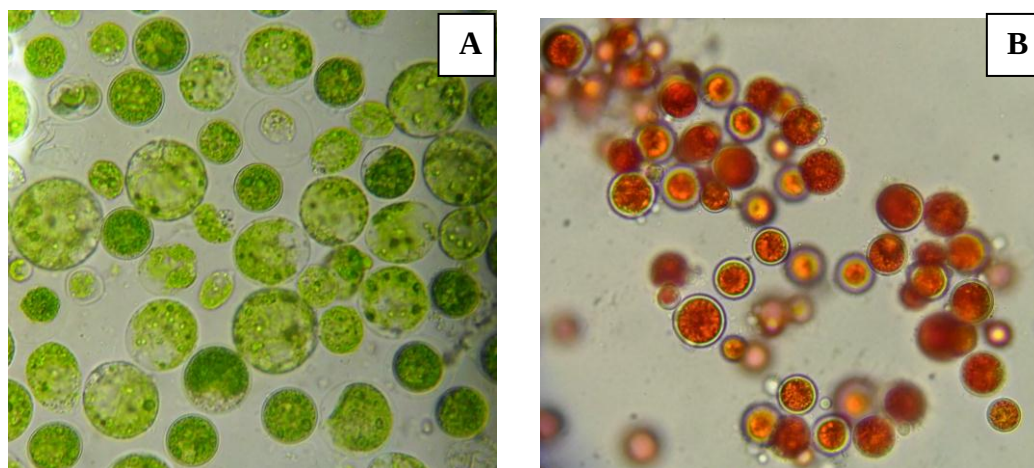


Figura 4. Diferentes formas encontradas da célula da microalga *Haematococcus pluvialis* onde: (A) célula vegetativa com flagelo, (B) cistos ricos em astaxantina (aumento de 100X)

3.4. Produção de astaxantina

Segundo Cifuentes et al. (2003), desde 1930 a microalga *H. pluvialis* tem sido amplamente reconhecida na sua habilidade de acumular grandes quantidades de astaxantina, carotenóide (pigmento) de alto valor com aplicação na indústria alimentar, cosmética, aquicultura, entre outros.

H. pluvialis apresenta algumas características desfavoráveis quando comparadas com outras microalgas cultivadas com sucesso, como baixo crescimento, complexo ciclo de vida o qual ainda não é bem entendido. Sabe-se que o acúmulo de astaxantina está associado principalmente, a transformação da microalga verde para vermelho escuro, sendo que a densidade celular desta microalga difere muito de acordo com as condições de cultivo podendo variar de $1,5$ a $5,5 \times 10^5$ células.mL⁻¹. Assim, é de grande valor qualquer fator que possa manter as células vegetativas em crescimento não permitindo a formação de astaxantina (CIFUENTES et al., 2003).

Atualmente, a astaxantina é usada na aquicultura como fonte de pigmentação para crustáceos e peixes (OLAIZOLA, 2000; VISSER et al., 2003), fornecendo coloração atrativa nos ovos, pele e carne (LORENZ & CYSEWSKI, 2000; JOHNSON & AN, 1991).

3.5. Variedades de alimentos para os peixes ornamentais

Os peixes como os demais organismos, necessitam de alimento para fornecer energia aos processos vitais, como respiração, digestão e excreção e, para outras atividades, dentre as quais o movimento do corpo. Se assimilam mais alimento do que o essencial para suas necessidades metabólicas, o excesso estará disponível para incrementar a massa corporal resultando no crescimento. A relação entre a quantidade de alimento consumido e o crescimento são de considerável importância ecológica (JHA et al., 2006). A eficiência de utilização do alimento disponível é vital para todos os animais. O crescimento é atributo fundamental dos organismos vivos, manifestando-se pela mudança no tamanho do indivíduo (crescimento individual) ou pelo aumento no número de organismos num determinado ambiente (crescimento populacional) (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 2003).

Dentre os vários fatores apontados como responsáveis pelo sucesso na criação de peixes, destaca-se como principal, o fator alimentar. A qualidade e quantidade de alimento ingerido pelo peixe determinam sua taxa de crescimento, tempo de maturidade sexual e tempo de vida (SIPAÚBA-TAVARES, 2005).

Existe no mercado uma variedade de alimentos aos peixes, dentre eles, o alimento inerte, o alimento vivo (zooplâncton) ou a associação de ambos. As microalgas são consideradas os sintetizadores da matéria orgânica no ambiente aquático, utilizando a fotossíntese para construir complexas moléculas de carbono. Os nutrientes dissolvidos a partir de várias fontes são absorvidos pelas microalgas e na presença de luz combina com diversas moléculas necessárias para a sobrevivência (HOFF & SNELL, 1997).

Microalgas têm importantes aplicações, devido as suas propriedades nutricionais e dietéticas, por conter pigmentos (carotenos e ficobiliproteínas) e outros produtos de interesse farmacêuticos (BOUSSIBA, 1999; MOLINA-GRIMA et al., 1996; REIS et al., 1996; OMENN et al., 1996; PACKER, 1993). Dentre estas múltiplas aplicações, a aquicultura é uma das mais notáveis por serem um componente muito importante da cadeia alimentar aquática (THOMPSON, 1994; FABREGAS et al., 1996).

O alimento de origem animal principalmente o zooplâncton também é utilizado na alimentação de peixes na piscicultura, principalmente nos estágios iniciais de desenvolvimento, em especial nos primeiros dias de vida (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 2003).

Segundo Jha et al. (2006), cada espécie de peixe, ou mesmo diferentes fases de desenvolvimento de uma mesma espécie, podem apresentar preferência por determinado alimento, de acordo com o desenvolvimento dos órgãos sensoriais e alimentares, ocorrendo, desta forma, mudanças nítidas quanto ao tipo e tamanho de presa, durante o desenvolvimento dos mesmos.

Os organismos utilizados como alimento pelos peixes são variáveis tanto em relação ao tamanho quando ao grupo sistemático a que pertencem (SIPAÚBA-TAVARES, 2005). O alimento inerte é utilizado para muitas espécies cultivadas, dentre elas, o bagre africano, o bagre do canal, tilápias, salmonídeos e carpas satisfazendo as exigências nutricionais destes animais através do consumo e resultando em crescimento e baixa taxa de mortalidade (APPELBAUM & DAMME, 1988).

O alimento inerte associado às microalgas na forma seca (liofilizada) ou alimento vivo, foram satisfatórios para o desenvolvimento de crustáceos e peixes ornamentais (BIEDENBACH et al., 1990; NAVARRO & SARASQUETE, 1998).

O alimento vivo (zooplâncton) disponível nos ambientes de água doce é composto principalmente por Rotífera, Cladocera e Copepoda (CORREIA, 1998). Os

Rotífera possuem pequeno tamanho, curto ciclo de vida e alto valor nutritivo (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 2003). São organismos dióicos e a sua forma de reprodução mais comum é a partenogênese e, portanto, são encontradas mais fêmeas do que machos no ambiente (MATSUMURA-TUNDISI & TUNDISI, 2005).

As espécies de Cladocera nadam por meio de suas antenas, com movimentos quase sempre verticais, a reprodução é por partenogênese e constituem itens alimentares indispensáveis na dieta de diferentes espécies de peixes por constituírem presa de fácil captura nos estágios em que a predação é eminentemente visual, sendo o tamanho, forma e movimentos desses organismos características fundamentais, determinando a pressão da predação exercida pelos peixes sobre esses organismos (NANDINI & SARMA, 2003; KUMAR et al., 2005).

As espécies de Copepoda possuem ciclo de vida mais longo, com reprodução sexuada e diversas fases de desenvolvimento. Apesar dos adultos possuírem movimentação rápida e, conseqüentemente, bom escape à predação, suas larvas (náuplio) são consideradas bom alimento para os peixes, devido ao movimento mais lento, são facilmente capturadas (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 2003).

Cladóceras como *Diaphanosoma birgei* e *Moina micrura* e copepódas como *Argyrodiaptomus furcatus* são muito comuns em tanques e viveiros de piscicultura, sendo essas espécies de grande aceitabilidade como alimento pelos peixes (SIPAÚBA-TAVARES & BACHION, 2002).

Dentre os fatores que levam o peixe a buscar o alimento, a fome e a hora do dia em que se alimenta são dois dos mais importantes (PEARSON, 1972; NOESKE & SPIELER, 1984; HIGUERA, 1987). Também a localização visual, o olfato, o paladar e as características físicas do alimento influem diretamente na ingestão e no hábito alimentar (CUENCA & GALLEG0, 1987; MILLÁN, 1987).

Desta maneira, no presente estudo do hábito alimentar de uma espécie de peixe ornamental e o uso de microalgas na sua alimentação poderão fornecer maiores informações para a produção efetiva em laboratório. Além disso, a

astaxantina adicionada na dieta possivelmente intensifica a coloração da pele de peixes ornamentais, critério de qualidade na comercialização.

4. LOCAL DE ESTUDO E PREPARO DO ALIMENTO INERTE E VIVO

Neste estudo foram realizados dois experimentos distintos: Estudo I- com alimento inerte associado às microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis* liofilizadas, e Estudo II- com alimento vivo (zooplâncton) contendo as microalgas cultivadas na forma de cultura viva.

4.1. Cultivo das microalgas *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov e *Haematococcus pluvialis* Flotow em laboratório

O cultivo das microalgas foi realizado no Laboratório de Limnologia e Produção de Plâncton – (UNESP-CAUNESP), Jaboticabal, SP.

A área total construída do laboratório de produção de fitoplâncton é de 28,43 m² sendo 16,05 m² destinados ao cultivo em larga escala e 12,38 m² mantidos em condições assépticas para repicagem, armazenamento de material estéril e uma sala de cultivo (cepário) onde as culturas de *A. gracilis* e *H. pluvialis* foram cultivadas e armazenadas num sistema com condições artificiais de luz, CO₂ e temperatura. Este cepário foi construído com pisos de cerâmica de cor gelo, paredes brancas revestidas de azulejos brancos. Contém prateleiras do tipo vazada, de modo a permitir a passagem de luz. O sistema de iluminação é composto de luzes distribuídas de forma intercaladas. Possui sistema de tubulação de ar para aerar as culturas e refrigeração com ar condicionado com temperatura controlada (Figura 5).

A microalga *A. gracilis* foi proveniente da Universidade Federal de São Carlos, linhagem n^o 005CH, isolada da Represa do Broa (SP, Brasil), e a *H. pluvialis*

foi proveniente da Universidade Federal do Rio de Janeiro, linhagem n^o CMEA 227 C1, posteriormente cultivada em erlenmeyers de 2 litros, em sistema de cultivo estático (“batch”) não axênico, com aeração constante, temperatura de 22 ± 2 °C sob iluminação de lâmpadas fluorescentes com intensidade de 22,2 a 30,1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. (Figura 5). Foi utilizado o meio de cultura alternativo NPK para a *A. gracilis* (SIPAÚBA-TAVARES & ROCHA, 1993) e o meio WC para *H. pluvialis* (GUILLARD & LORENZE, 1972).

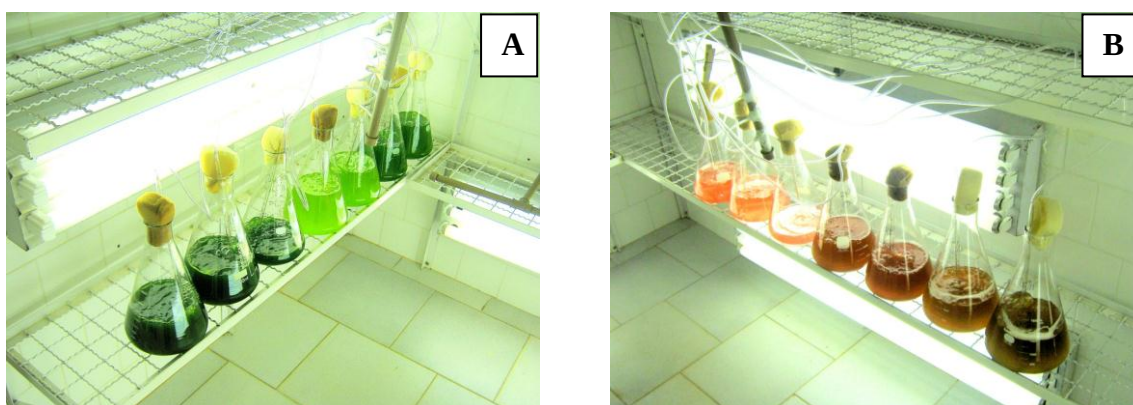


Figura 5. Vista do cepário onde foram mantidas as microalgas *Ankistrodesmus gracilis* (A) e *Haematococcus pluvialis* (B) em erlenmeyers de 2 litros, para posteriormente serem adicionadas como alimento para o mato grosso *H. eques*

4.2. Extração da biomassa das microalgas *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov e *Haematococcus pluvialis* Flotow para serem adicionadas ao alimento inerte

Neste trabalho, para avaliação da composição bioquímica das microalgas e sua junção ao alimento inerte, as microalgas com idade de cultura de oito dias (fase exponencial de crescimento) foram concentradas em centrífuga para desidratar o material e liofilizadas (Figura 6). Posteriormente, a biomassa das microalgas liofilizadas foram moídas até virar pó e adicionadas ao alimento inerte na quantidade de 0,15% devido à biomassa disponível para a execução do experimento (Figura 7).

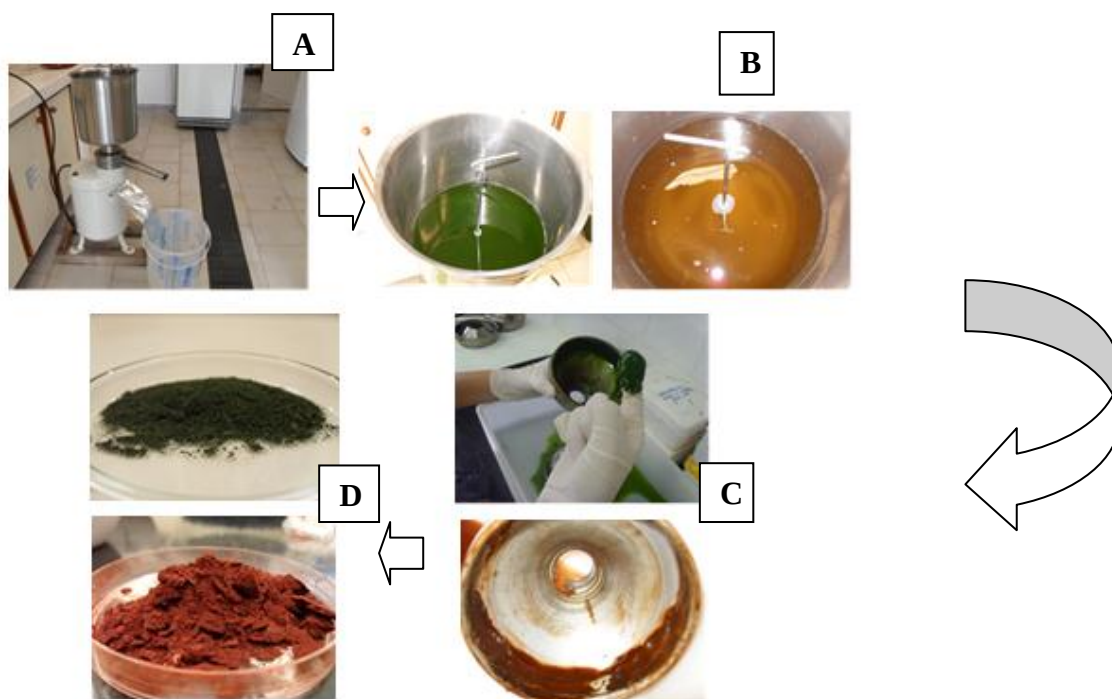


Figura 6. Processo de concentração do material para extração da biomassa de *Ankistrodesmus. gracilis* e *Haematococcus pluvialis*, onde: (A) centrífuga, (B) vista dos meios de cultura dentro da centrífuga, onde a cor verde é a *Ankistrodesmus gracilis* e a cor vermelha é a *Haematococcus pluvialis*, (C) biomassa das microalgas concentradas, (D) liofilização

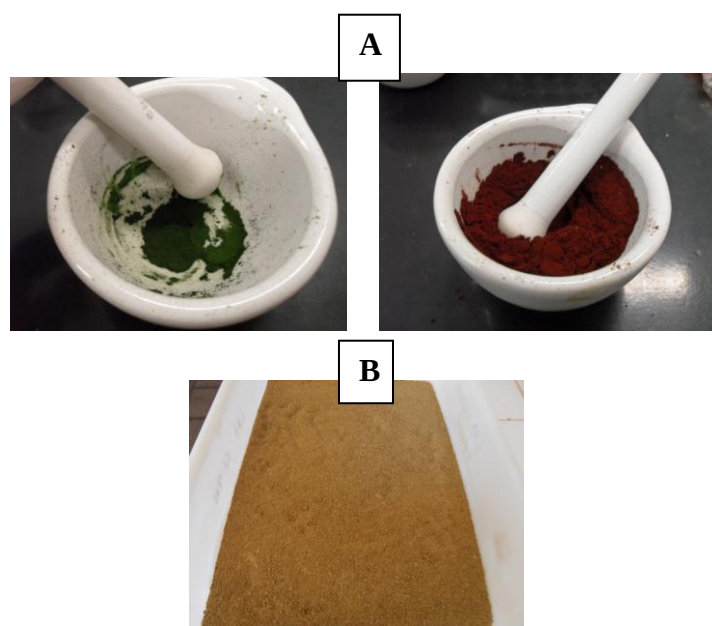


Figura 7. (A) Biomassa das microalgas secas, (B) alimento inerte com as microalgas *Ankistrodesmus gracilis* e *Haematococcus pluvialis* adicionadas

4.3. Preparo do alimento inerte

O alimento inerte foi formulado contendo 52,77% de proteína bruta e 4041cal/g de energia bruta, de acordo com Tamaru & Ako (1999) e foi produzido e preparado na Unidade de Rações do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) da seguinte forma:

Primeiramente, os ingredientes que compõem o alimento inerte foram pesados, homogenizados e misturados com água. Posteriormente, o alimento inerte foi peletizado em moedor de carne e seco ao ar livre por 24 horas. A fim de reduzir o tamanho das partículas fornecidas como alimento aos peixes, os pélletes foram processados por meio de moagem e peneiramento obtendo-se grânulos de 0,71-1,00 mm de diâmetro geométrico médio (DGM) (Figura 8).

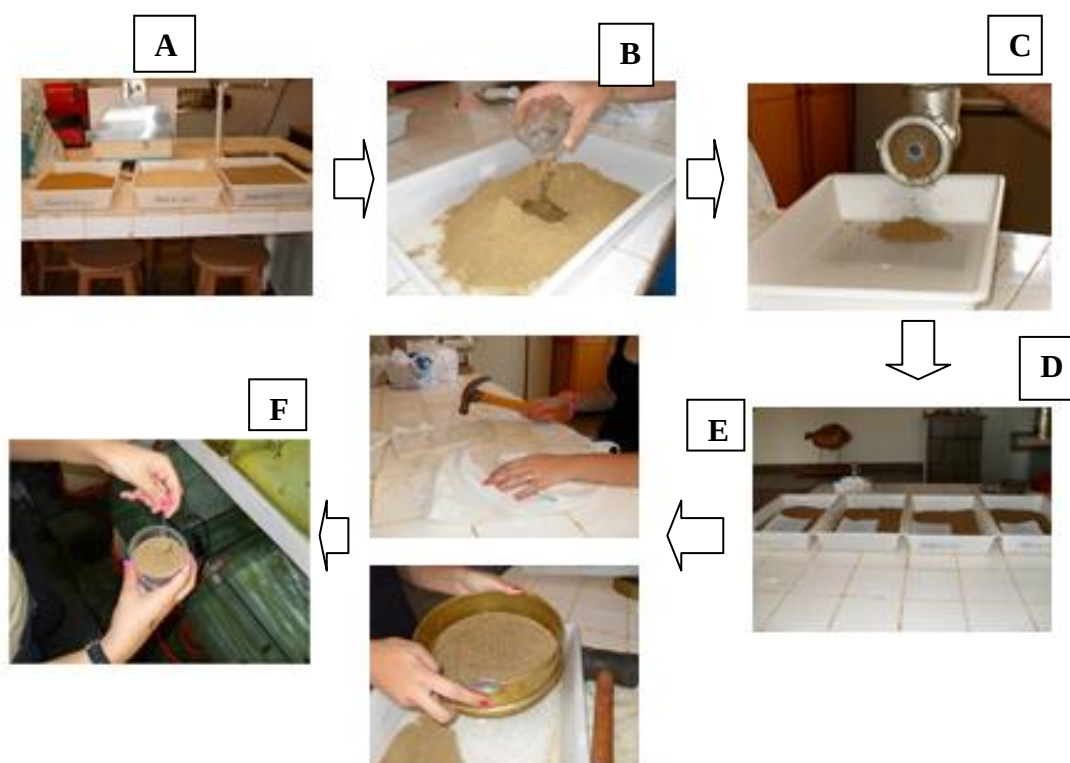


Figura 8. Preparo do alimento inerte onde: (A) pesagem dos ingredientes, (B) mistura dos ingredientes com água, (C) moendo o alimento inerte, (D) secagem, (E) quebramento dos grânulos, (F) alimento inerte pronto para ser fornecido ao mato grosso *H. eques*.

4.4. Preparo do alimento vivo (zooplâncton) contendo as microalgas *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov e *Haematococcus pluvialis* cultivadas em laboratório para análise do hábito alimentar do peixe ornamental mato grosso *Hyphessobrycon eques*

Diariamente foi adicionado aos aquários o alimento vivo (zooplâncton) coletado em tanques externos de cultivo de plâncton (Figura 9) juntamente com as microalgas *Ankistrodesmus gracilis* e *Haematococcus pluvialis* cultivadas em laboratório (Figura 5).



Figura 9. Vista do tanque externo de cultivo de plâncton fertilizado com adubo químico NPK (20:5:20)

Em laboratório, o zooplâncton concentrado dos tanques externos de cultivo, foi passado em peneira de 1,20 mm e em rede de 200 μ m para retirada de partículas maiores (Figura 10).

Este material selecionado, foi mantido em laboratório com água de turfa (Azoo Premium Reat Moss 250g) utilizada para estabilizar os valores de pH e dureza prevenindo variações nocivas ao zooplâncton. Como forma de incrementar o valor nutritivo da suspensão foram adicionada a vitamina do complexo B (Vitamina B1-7mg, Vitamina B12-33mg, Vitamina B2-7mg, Vitamina H-0,1mg e Vitamina B6-5mg.) na quantidade de 0,02 g e alimento inerte de 0,1 g (SIPAÚBA-TAVARES et al., 2001) (Figura 11).

Cerca de 500 ml de um concentrado de zooplâncton resultando em $6,6 \times 10^3$ indivíduos L^{-1} e 100 ml de cada monocultura de microalgas correspondendo ao total de $1,6 \times 10^5$ células ml^{-1} de *A. gracilis* e $1,3 \times 10^5$ células. ml^{-1} de *H. pluvialis* foram adicionados para cada tratamento alimentar do mato grosso *H. eques*.

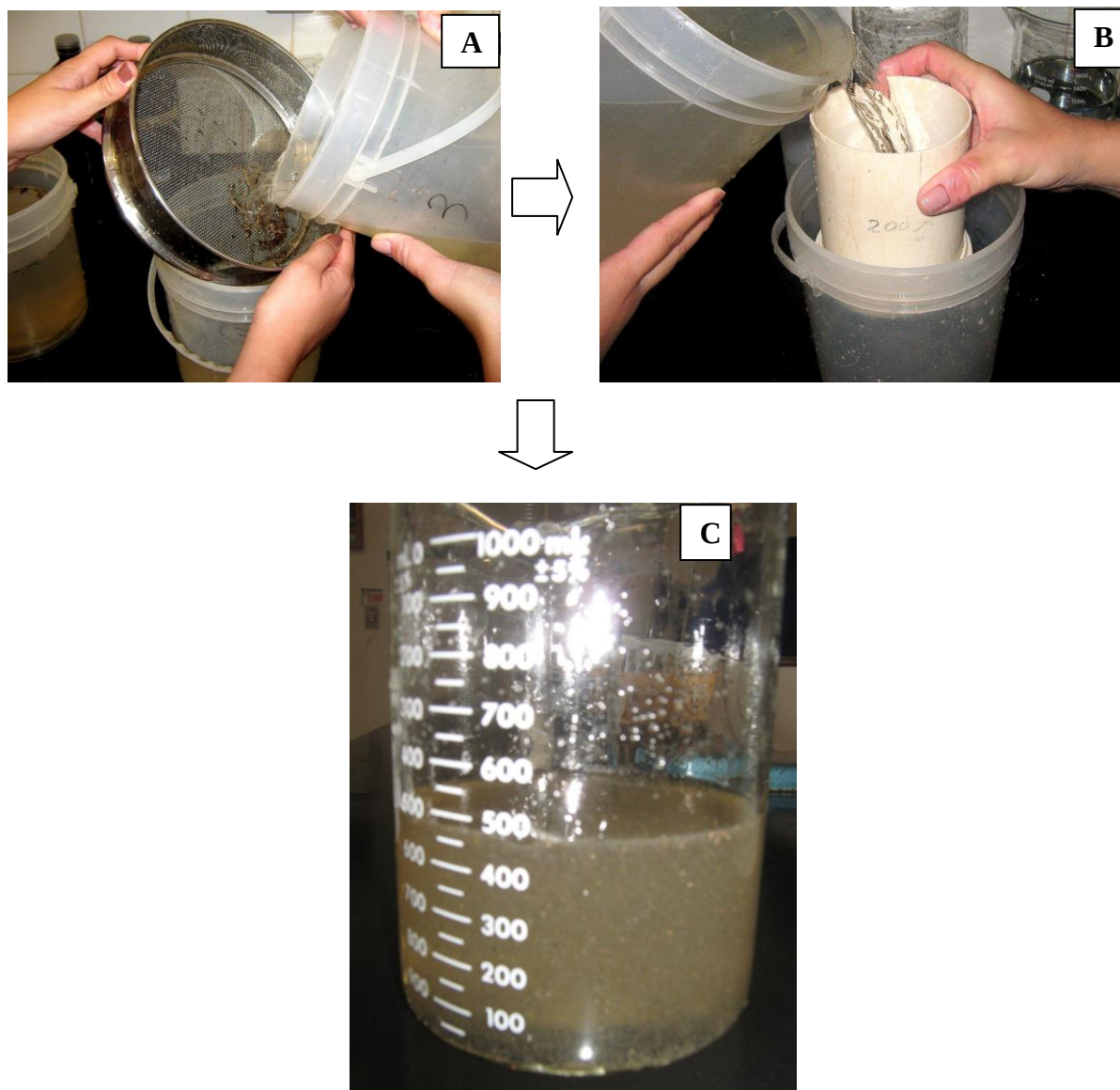


Figura 10. Procedimento para retirada das partículas maiores do material concentrado cultivados nos tanques externos, onde: (A) Peneira de 1,20 mm, (B) rede de 200 μm e (C) zooplâncton concentrado.

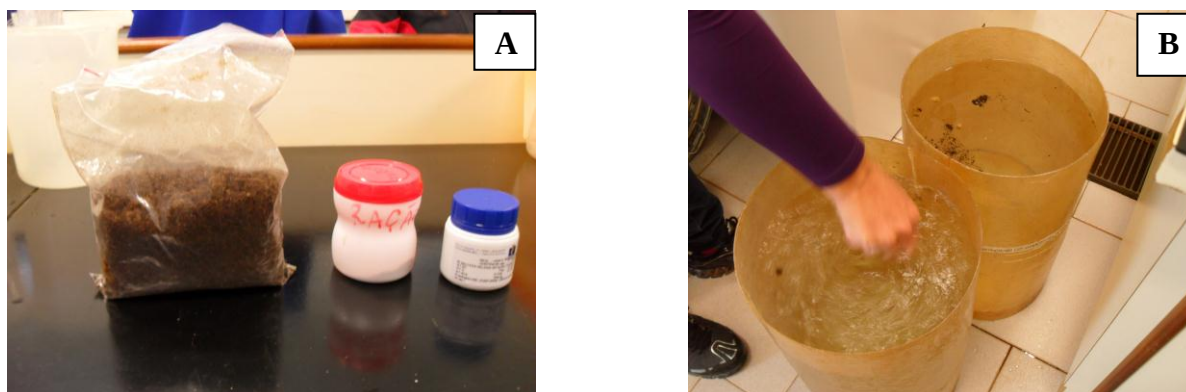


Figura 11. Água de turfa para manutenção de zooplâncton em laboratório, onde: (A) Extrato de turfa, alimento inerte e vitamina do complexo B, (B) água de turfa preparada

Para este experimento, dois tratamentos alimentares foram utilizados: um somente o alimento vivo zooplâncton (controle) e outro com zooplâncton contendo as microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis* cultivadas em laboratório (Figura 12).

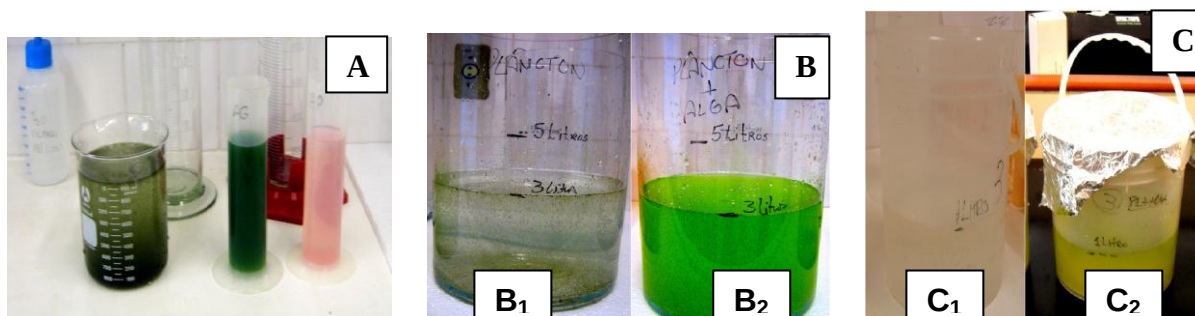


Figura 12. Visão dos dois tratamentos alimentares, onde: (A) Zooplâncton concentrado dos tanques externos e microalgas *Ankistrodesmus gracilis* e *Haematococcus pluvialis*, (B) tratamentos alimentares onde (B₁) zooplâncton e (B₂) zooplâncton contendo as microalgas *Ankistrodesmus gracilis* e *Haematococcus pluvialis* cultivadas em laboratório, (C) alimento pronto (C₁ e C₂) para serem adicionados aos aquários

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APPELBAUM, S.; DAMME, P. V. The feasibility of using exclusively artificial dry feed for the rearing of Israeli *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) larvae and fry. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 4, n. 3, p. 105-110, 1988.

ARAÚJO, A. P.; PÉREZ, A. C. A. O médico veterinário e o comércio de peixes ornamentais. **Revista de Educação Continuada-CRMV-SP**, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 176-186, 2005.

BEZERRA, S. M. **Alimentação de peixes de pequeno porte associados à macrófitas aquáticas na lagoa do Buritizinho, Bacia do Alto Taquari, Coxim, MS. 26 F.** Trabalho de conclusão de curso- Universidade do Mato Grosso do Sul, Coxim, 2008.

BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. **Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil: Chave para identificação e descrições.** São Carlos: RiMa, 502p, 2006.

BIEDENBACH, J. M.; SMITH, L. L.; LAWRENCE, A. L. Use of a new spray-dried algal product in penaid larviculture. **Aquaculture**, v. 86, n. 2-3, p. 249-257, 1990.

BOLD, H. C.; WYNNE, M. J. **Introduction to the algae, structure e reproduction.** New Jersey: Prentice Hall, 586p, 1985.

BOTELHO-FILHO, G. F. **Síntese da história da aquariofilia.** Rio de Janeiro: Interciência, 88p, 1990.

BOUSSIBA, S. Commercial production of pigments and antioxidants from microalgae. In: Proceedings of the 8th International Conference on Applied Algology. **Montecatini Terme**, 239 p, 1999.

CASAL, C. M. V. Fishbase. **World Wide Web Eletronic Publication**. 2010.

CIFUENTES, AS.; GONZÁLEZ, MA.; VARGAS, S.; HOENEISEN, M.; GONZÁLEZ, N. Optimization of biomass, total carotenoids and astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* Flotow strain steptoe (Nevada,USA) under laboratory conditions. **Biological Research.**, v. 36, n. 1, p. 343-357, 2003.

CORREIA, E. S. **Influência da alimentação natural no cultivo semi-intensivo do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879)**. 136f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 1998.

CUENCA, E. M.; GALLEGGO, M. G. Ingesta e conducta alimentaria. In: ESPINOSA, J.; LABARTA, U. (Ed.). **Nutricion em aquicultura I**. Madrid: Industrias Gráficas España, p. 1-47, 1987.

FABREGAS, J.; OTERO, A.; MORALES, E.; CORDERO, B.; PATIÑO, M. *Tetraselmis suecica* cultured in different nutrient concentrations varies in nutritional value to Artemia. **Aquaculture**, v. 143, n. 2, p.197-204, 1996.

FABREGAS, J.; OTERO, A.; MASEDA, A.; DOMÍNGUEZ, A. Two-stage cultures for the production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. **Journal of Biotechnology**, v. 89, n. 1, p. 65-71, 2001.

FABREGAS, J.; DOMINGUEZ, A.; MASEDA, A.; OTERO, A. Interactions between irradiance and nutrient availability during astaxanthin accumulation and degradation in *Haematococcus pluvialis*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 61, n. 5-6, p. 545–551, 2003.

FAO. The state of world fisheries and aquiculture. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Rome, 180p, 2007.

FIEDLER, D.; HAGER, U.; FRANKE, H.; SOLTSMANN, U.; BÖTTCHER, H. Algae biocers: astaxanthin formation in sol-gel immobilized living microalgae. **Journal of Materials Chemistry**, v. 17, n. 3, p. 261-266, 2007.

FISHSTAT PLUS. **Universal software for fishery statistical time series**. Version 2.3. FAO Fisheries Department, Fisheries information, Data and Statistics Unit. FISHSTAT PLUS, 2008.

FRANÇA, K. C. **Criação de peixes ornamentais- Dossiê Técnico**, Instituto de Tecnologia do Paraná, 27p, 2007.

FUGI, R.; AGOSTINHO, A. A.; HAHN, N. S. Thophic morphology of five benthic-feeding fish species of a tropical floodplain. **Revista Brasileira de Biologia** v. 61, p. 27-33, 2001.

GONZÁLEZ, M. A.; CIFUENTES, A. S.; GÓMEZ, P. I. Growth and total carotenoid content in four chilean strains of *Haematococcus pluvialis* Flotow, under laboratory conditions. **Gayana Botánica.**, v. 66, n. 1, p. 58-70, 2009.

GOODWIN, T. W. Distribution of carotenoids, methods in enzymology. **Carotenoids, part A: Chemistry, separation, quantitation and antioxidation**, v. 213, n. 1, p. 167-172, 1992.

GUILLARD, R. L.; LORENZEN, C. J. Yellow-green algae with chlorophyllide. **Journal of Phycology**, v. 8, n. 1, p. 10-14, 1972.

HIGUERA, M. Diseños y métodos experimentales de evaluación de dietas. In: ESPINOSA, J.; LABARTA, U. (Ed). **Nutrition em acuicultura II**. Madrid: Industrias Gráficas Españã, p. 291-316, 1987.

HOFF, F. H.; SNELL, T. W. **Plankton culture manual**. Fourth Edition. Florida Aqua Farms, Inc, 141p, 1997.

IMAMOGLU, E.; DALAY, M.C.; SUKAN, F.V. Influences of different stress media and high light intensities on accumulation of astaxanthin in the green alga *Haematococcus pluvialis*. **New Biotechnology**, v. 26, n. 3-4, p. 199-204, 2009.

JHA, P.; SARKAR, K.; BARAT, S. Comparison of food selection and growth performance of koi carp, *Cyprinus carpio* L., and goldfish, *Carassius auratus* (L.) in mono-and polyculture rearing in tropical ponds. **Aquaculture Research**, v. 37, n. 4, p. 389-397, 2006.

JOHNSON, E.A.; AN, G. H. Astaxanthin from microbial sources. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 11, n. 4, p. 297-326, 1991.

KAERPINTONG, K.; SHOTIPRUK, A.; POWTONGSOOK, S.; PAVASANT, P. Photoautotrophic high-density cultivation of vegetative cells of *Haematococcus pluvialis* in airlift bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 2, p. 288-295, 2007.

KANG, C. D. ; LEE, J. S.; PARK, T. H.; SIM, S. J. Complementary limiting factors of astaxanthin synthesis during photoautotrophic induction of *Haematococcus pluvialis*: C/N ratio and light intensity. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 74, n. 5, p. 987–994, 2007.

KOBAYASHI; M., KAKIZONO, N.; NISHIO, N.; NAGAI, S.; KURIMURA, Y.; TSUJI, V. Antioxidant role of astaxanthin in the green alga *Haematococcus pluvialis*. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 48, n. 3, p. 351–356, 1997.

KUMAR, S.; SRIVASTAVA, A.; CHAKRABARTI, R. Study of digestive proteinases and proteinase inhibitors of *Daphnia carinata*. **Aquaculture**, v. 243, n. 1-4, p. 367-372, 2005.

LING, K. H.; LIM, L. Y. The status of ornamental fish industry in Singapore. **Singapore Journal of Primary Industries**, v. 35, n. 1, p. 59-69, 2005/06.

LORENZ , R. T.; CYSEWSKI, G. R. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. **Trends in Biotechnology**, v. 18, n. 4, p. 160-167, 2000.

MATSUMURA-TUNDISI, T.; TUNDISI, J. G. Plankton richness in a eutrophic reservoir (Barra Bonita Reservoir, SP, Brazil). **Hydrobiologia, Aquatic Biodiversity II**, v. 542, n. 1, p. 367-378, 2005.

MILLÁN, L. M. Manejo del alimento y estrategia alimentaria. In: ESPINOSA, J.; LABARTA, U. (Ed). **Alimentación em acuicultura**. Madrid: Industrias Gráficas Españã, p. 167-218, 1987.

MOLINA-GRIMA, E.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J. A.; GARCIA-CAMACHO, F.; FERNANDEZ-SEVILLA, J. M.; ACIEN-FERNANDEZ, F. G. Productivity analysis of outdoor chemostat culture in tubular air-lift photobioreactors. **Journal of Applied Phycology**, v. 8, n. 4-5, p. 369-380, 1996.

NAVARRO, N.; SARASQUETE, C. Use of freeze-dried microalgae for rearing gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae I. Growth, histology and water quality. **Aquaculture**, v. 167, n. 3-4, p. 179-193, 1998.

NANDINI, S. & SARMA, S. S. S. Population growth of some genera of cladocerans (Cladocera) in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) levels. **Hydrobiologia**, v. 491, n. 1-3, p. 211-219, 2003.

NOESKE, T. A.; SPIELER, R. E. Circadian feeding time affect growth of fish. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 113, p. 540-544, 1984.

OLAIZOLA, M. Commercial production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using 25000-liter outdoor photobioreactors. **Journal Applied Phycology**, v. 12, n. 3-5, p. 499-506, 2000.

OMENN, G. S.; GODMAN, G. E.; TORNQUIST, M. D.; BALMES, J.; CULLEN, M. R. GALSS, A.; KEOGH, J.P.; MEYSKENS, F. R.; MALANIS, B.; WILLIAMS, J. H.; BAHRT, S.; CHERNIAK, M. G.; BRODKIN, C. A.; HAMMAR, S. Effects of combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. **New England Journal of Medicine**, v. 334, n. 1, p. 1150-1155, 1996.

PACKER, L. Antioxidants action of carotenoids in vitro and in vivo and protection against oxidation of human low-density lipoproteins. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 691, n. 1, p. 48-61, 1993.

PEARSON, W. E. **The nutrition of fish**. Basel: F. Hoffmann – La Roche AG, 47p, 1972.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 906 p, 2001.

REIS, A.; GOUVEIA, L.; VELOSO, V.; FERNANDES, H. L.; EMPIS, J. A.; NOVAIS, J. M. Eicosapentaenoic acid-rich biomass production by the microalgae *Phaeodactylum tricornutum* in a continuous-flow reactor. **Bioresource of Technology**, v. 55, n. 1, p. 83-88, 1996.

REZENDE, F. A. **Intensificação da coloração em peixes ornamentais com uso de rações enriquecidas com pigmentos naturais**. 128 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2010.

REYNOLDS, C. S. **The ecology of freshwater phytoplankton**. Cambridge University Press, 384 p, 1984.

RIBEIRO, F. A. S.; RODRIGUES, L. A.; FERNANDES, J. B. K. Desempenho de juvenis de Acará-Bandeira (*Pterophylum scalare*) com diferentes níveis de proteína na dieta. **Boletim Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 195-203, 2007.

RIBEIRO, F. A. S.; LIMA, M. T.; FERNANDES, J. B. K. Panorama do mercado de organismos aquáticos ornamentais. **Boletim Sociedade Brasileira de Limnologia**, Mossoró- RN, 1-9p, 2010.

SECEX- SISTEMA DE ANÁLISE DE INFORMAÇÕES DO COMÉRCIO EXTERIOR- ALICEWEB. Disponível em: <http://www.aliceweb.gov.br> Acesso em: Setembro de 2012.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Uso racional da Água: limnologia e plâncton**. PPG em aquicultura/CAUNESP/UNESP, título de livre docente na disciplina Manejo Ecológico em Aquicultura: Qualidade de Água. 217p. (Tese de livre docência), 2005.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. Cultivo em larga escala de organismos planctônicos para alimentação de larvas e alevinos de peixes: I- algas clorofíceas. **Biotemas**, v. 6, n. 1, p. 93-106, 1993.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; BACHION, M. A.; BRAGA, F. M. S. Effects of food quality on growth and biochemical composition of a calanoid copepod, *Argyrodiaptomus furcatus*, and its importance as a natural food source for larvae of two tropical fishes. **Hydrobiologia**, v. 543-454, n. 1, p. 393-401, 2001.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; BACHION, M. A. Population growth and development of two species of cladocera, *Moina micrura* and *Diaphanosoma birgei*, in laboratory. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4, p. 701-711, 2002.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. **Produção de plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos**. São Carlos, Rima, 106 p, 2003.

SONEIRA, P. A.; FEDERICO, R. D.; BECHARA, J. A.; ALMIRON, A. E.; CASCIOITTA, J. R. Hábitos tróficos de las especies del genero *Hyphessobrycon* (Characidae) em los esteros del Ibirá. **Comunicaciones Cientificas y Tecnologicas**, 4p, 2006.

TAKEDA, A.M., FUJITA, D.S., KOMATSU, E.H., PAVAN, C.B., OLIVEIRA, D.P., ROSIN, G.C., IBARRA, J.A.A., SILVA, C.P. & ANSELMO, S.F. Influence of environmental heterogeneity and water level on distribution of zoobenthos in the Upper Paraná River. In: Agostinho, A.A., Rodrigues, L., Gomes, L.C., Thomaz, S.M. & Miranda, L.E. eds. **Structure and functioning of the Paraná River and its floodplain: LTER – Site 6 – (PELD - Sítio 6)**. Maringá: EDUEM, pp.91-95, 2004.

TAMARU, C. S.; AKO, H. Using comercial feeds for the culture of freshwater ornamental fishes in Hawaii. **Ujnr Technical Report**, v. 28, n. 1, p. 109-119, 1999.

THOMPSON, P. A.; GUO, M.; HARRISON, P. J. Influence of irradiance on the nutritional value of two phytoplankton species fed to larval Japanese scallops (*Patinopecten yessoensis*). **Marine Biology**, v. 119, n. 1, p. 89-97, 1994.

TORZILLO, G.; GOKSAN, T.; ISIK O.; GOKPINAR. S. Photon irradiance required to support optimal growth and interrelations between irradiance and pigment

composition in the green alga *Haematococcus pluvialis*. **European Journal of Phycology**, v. 40, n. 2, p. 233-240, 2005.

VAL, A. L.; SILVA, M. N. P. & VAL, V. M. F. A. Estresse em peixes – ajustes fisiológicos e distúrbios orgânicos. In: Ranzani-Paiva, M.J.T.; Takemoto, R.M.; Lizama, M. de los A.P. (orgs.) **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Varela, 75-88p, 2004.

VISSER, H.; OUYEN, J.J.; VERDOES, J.C. Metabolic engineering of the astaxanthin-biosynthetic pathway of *Xanthophyllomyces dendrorhous*. **FEMS Yeast Research**, v. 4, n. 3, p. 221-231, 2003.

WANG, B.; ZARKA, A.; TREBST, A.; BOUSSIBA, S. Astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) as an active protective process under high irradiance. **Journal of Phycology**, v. 39, n. 6, p.1116–1124, 2003.



CAPÍTULO I

**Alimento inerte associado à biomassa de microalgas no crescimento e coloração do mato
grosso (*Hyphessobrycon eques*)**

Artigo a ser submetido à revista Aquaculture



Alimento inerte associado à biomassa de microalgas no crescimento e coloração do mato grosso (*Hyphessobrycon eques*)

Inert feed associated with micro-algae biomass in the growth and color of the ornamental fish (*Hyphessobrycon eques*)

Flavia Almeida Berchielli-Morais*

Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil.

*e-mail: abflavia@yahoo.com.br

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a adição das microalgas *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov e *Haematococcus pluvialis* Flotow ao alimento inerte, como forma de incrementar o crescimento e intensificar a coloração do peixe ornamental mato grosso (*Hyphessobrycon eques*). Foram utilizados cento e vinte juvenis de machos e fêmeas, com peso inicial médio de 0,59 g, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições totalizando doze unidades experimentais. Os tratamentos alimentares foram: AI= alimento inerte (controle), AI+H= alimento inerte + microalga *Haematococcus pluvialis*, AI+H+A= alimento inerte + 50% da microalga *H. pluvialis* + 50% de *Ankistrodesmus gracilis*, AI+A= alimento inerte + *A. gracilis*. fornecidas quatro vezes ao dia, por um período de noventa dias. Os resultados de desempenho zootécnico não evidenciaram diferenças significativas entre as dietas experimentais, porém ocorreram diferenças significativas ($p < 0,05$) na coloração dos peixes, com valores mais elevados para a cor amarela ($+b^*$) e o brilho (C_{ab}^*) para as dietas com adição de biomassa de microalgas (AI+H, AI+H+A, AI+A) do que a dieta controle (AI). Os resultados obtidos apontam que o crescimento do mato grosso, *H. eques* em dietas com adição de microalgas proporcionaram respostas semelhantes à dieta controle. Apesar da dieta AI+H ter promovido coloração mais intensa para os valores de (b^*) e (C_{ab}^*) ($p < 0,05$) ao mato grosso *H. eques* quando comparada à dieta controle, a quantidade de 0,15% de

inclusão das microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis* ao alimento inerte, ainda não foi suficiente para incrementar a cor do peixe, principalmente a coloração vermelha.

Palavras-chave: Ração, peixe ornamental, aquarofilismo, algas, astaxantina, pigmentação.

Abstract

The addition of micro-algae *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov and *Haematococcus pluvialis* Flotow to inert feed was evaluated for growth increase and pigment intensification of the ornamental fish *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882), popularly known as 'mato-grosso'. One hundred and twenty fish, juvenile males and females, with an average weight of 0.59 g were randomly distributed in a completely randomized design with four experimental diets and three repetitions in twelve experimental units. Treatments were: AI= inert feed (control); AI+H= inert feed + micro-alga *H. pluvialis*; AI+H+A= inert feed + 50% micro-alga *H. pluvialis* + 50% *Ankistrodesmus gracilis*; AI+A= inert feed + *A. gracilis*. given four times daily for a period of ninety days. Zootechnical performance results showed no significant difference ($p>0.05$) among the experimental diets. Significant differences ($p<0.05$) were reported for pigment analysis with higher rates for yellow ($+b^*$) and brightness (Cab^*) for diets with the addition of micro-algae biomass (AI+H, AI+H+A, AI+A) than those in control (AI). The results indicate that raising *H. eques* on diets with addition of micro-algae provided similar responses control diet (AI), indicating that the use of micro-algae is an alternative and effective, as promoted weight values and standard length in the range of optimal market for ornamental fishes. Although diet AI + H have promoted more intense pigment for the values of (b^*) and (Cab^*) ($p < 0.05$) to *H. eques* when compared to the control diet (AI), the amount of 0.15% inclusion of micro-algae *A. gracilis* and *H. pluvialis* to inert feed has not been sufficient to enhance the pigment of fish, especially the red pigment.

Keywords: meal; ornamental fish; aquarium fish collection; algae; astaxanthin; pigment.

1. Introdução

A utilização de dietas adequadas é um fator determinante para o sucesso no cultivo de peixes ornamentais. Produtores de peixes ornamentais salientam a importância da suplementação de alimentos formulados com biomassa de microalgas, pois fornecem nutrientes que melhoram o crescimento, a eficiência alimentar e as respostas fisiológicas ao estresse e a doenças (Bagre et al., 2012). As microalgas podem ser utilizadas na fabricação do alimento inerte após a liofilização, como alimento vivo ou via indireta por meio do zooplâncton alimentado com microalgas (Zatkova et al., 2011).

As microalgas são amplamente utilizadas na aquicultura como alimento para diversos organismos aquáticos, por conterem altos valores nutricionais atribuídos aos conteúdos de proteínas, vitaminas e minerais (Dagar et al., 2010). Pequenas quantidades de microalgas estimulam a produção de enzimas, como a tripsina, que ajudam a digestão do alimento inerte, aumentando a taxa de crescimento do animal (Pereira, 2003).

Dentre as microalgas de água doce cultivadas, as unicelulares da classe Chlorophyceae tem sido amplamente utilizadas na alimentação de peixes, principalmente a *Ankistrodesmus gracilis*. Esta alga demonstra grande aceitação devido ao tamanho, forma, espessura da parede celular e tem fácil captura (Hardy e Castro, 2000; Sipaúba-Tavares e Bachion, 2002; Sipaúba-Tavares e Braga, 2007).

O uso de corantes por meio dos carotenóides de microalgas, tais como *Chlorella vulgaris*, *Haematococcus pluvialis* e *Spirulina platensis* para peixes ornamentais tem crescido muito nas últimas décadas, devido à astaxantina, carotenóide de coloração vermelho-alaranjada, cuja função é regular a cor dos animais, principalmente os peixes que são incapazes de biossintetizar carotenóides, necessitando desta forma, ingerir as microalgas na dieta (Lee et al., 2010).

Após a ingestão, os peixes podem modificar os carotenóides e armazená-los na pele e em vários tecidos (Qin e Yasir, 2010). A absorção e deposição é específica da

espécie, depende das características do carotenóide, composição de nutrientes, concentrações na dieta, período de alimentação, tamanho dos peixes, idade, maturação sexual e fatores genéticos. Alguns fatores ambientais também influenciam a absorção de carotenóides, como: temperatura da água e intensidade de luz (Gouveia et al., 2005).

Para comercialização dos peixes ornamentais é importante a obtenção de níveis elevados de pigmentação da pele, aspecto, tamanho do corpo, e forma das nadadeiras, sendo critérios de alto valor de mercado. Coloração e padrões são as características atrativas no mercado de peixes ornamentais (Yuangsoi et al., 2011). Os padrões de coloração da pele em peixes são de grande importância fisiológica, comportamental, ecológica e podem ser considerados como índice de bem estar animal (Pavlidis et al., 2006).

O peixe ornamental “mato grosso” ou “tetra serpa”, *Hyphessobrycon eques* é originário da Bacia do Paraná, Brasil, pertence a família Characidae, é espécie amplamente comercializada no mundo. Entretanto, não existem estudos sobre a utilização de biomassa de microalgas na alimentação deste peixe, assim como de fontes de carotenóides (astaxantina) para aumentar sua coloração. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a adição das microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis* ao alimento inerte para o mato grosso, como forma de incrementar o crescimento e intensificar a coloração da pele.

2. Materiais e Métodos

2.1. Delineamento experimental

O experimento foi conduzido no Laboratório de Peixes Ornamentais do Centro de Aquicultura (CAUNESP) da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP (21° 14´S e 48° 17´W). Foram utilizados cento e vinte juvenis de machos e fêmeas da espécie mato grosso (*Hyphessobrycon eques*), com peso inicial médio de 0,59 g, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições totalizando doze unidades experimentais.

Os tratamentos alimentares foram: AI= alimento inerte (controle), AI+H= alimento inerte + microalga *Haematococcus pluvialis*, AI+H+A= alimento inerte + 50% da microalga *H. pluvialis* + 50% de *Ankistrodesmus gracilis*, AI+A= alimento inerte + *A. gracilis* (Figura 1). As dietas foram fornecidas quatro vezes ao dia (8:00, 11:00, 14:00 e 17:00 horas), por um período de noventa dias.

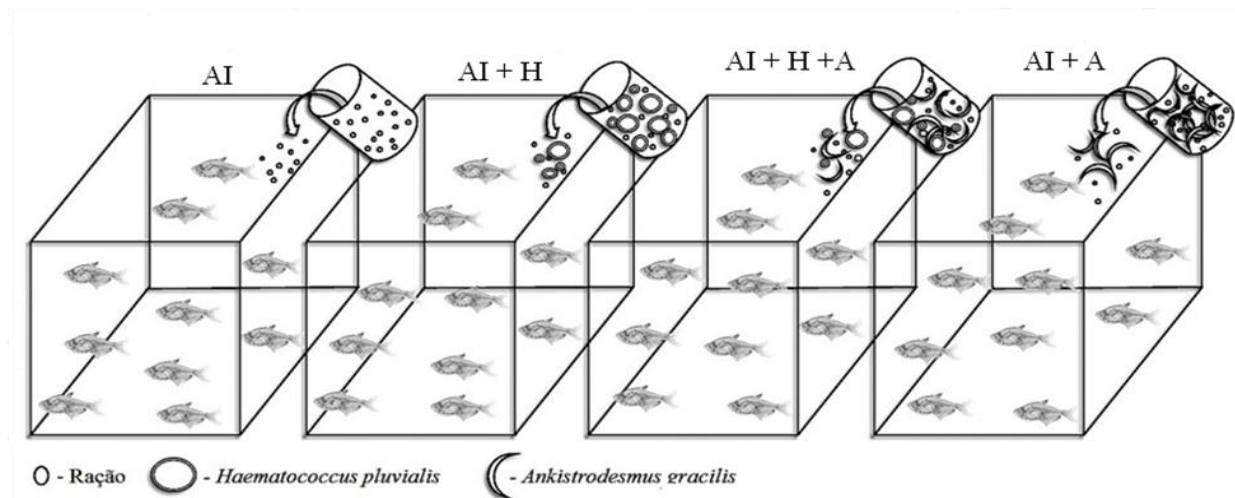


Figura 1. Delineamento experimental da alimentação do mato grosso, *H. eques* utilizando o alimento inerte juntamente com as microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis*, onde AI= somente alimento inerte (controle), AI+H= alimento inerte + *H. pluvialis*, AI+H+A= alimento inerte + 50% de *H. pluvialis* e 50% de *A. gracilis*, AI+A= alimento inerte + *A. gracilis*.

2.2. Dietas experimentais

Uma dieta basal (controle) isoprotéica (52,77%) e isoenergética (4041 cal/g) foi formulada com base em Tamaru e Ako, (1999), sendo acrescentadas as microalgas cujas as proporções estão descritas na Tabela 1. Para a confecção das dietas, todos os ingredientes foram pesados, homogenizados e misturados com água. Posteriormente, as dietas foram peletizadas em moedor de carne e secas ao ar livre por 24 horas. A fim de reduzir o tamanho das partículas fornecidas como alimento aos peixes, os pélotes foram processados por meio de moagem e peneiramento obtendo-se grânulos de 0,71-1,00 mm de diâmetro geométrico médio (DGM).

Tabela 1. Composição percentual e químico-bromatológica analisada para as dietas experimentais, onde: AI= somente alimento inerte (controle), AI+H= alimento inerte + *H. pluvialis*, AI+H+A= alimento inerte + 50% de *H. pluvialis* e 50% de *A. gracilis*, AI+A= alimento inerte + *A. gracilis*.

Ingrediente	AI	AI+H	AI+H+A	AI+A
	%			
Farinha de peixe	43	43	43	43
Farinha de vísceras	32	32	32	32
Farelo de arroz	23,05	23,05	23,05	23,05
Vitamina C ¹	0,04	0,04	0,04	0,04
Fosfato bicálcico	1	1	1	1
Premix	0,6	0,6	0,6	0,6
BHT, antioxidante ²	0,01	0,01	0,01	0,01
<i>A. gracilis</i>	-	0,15	0,15	-
<i>H. pluvialis</i>	-	-	0,15	0,15
Caulim	0,30	0,15	-	0,15
TOTAL	100	100	100	100
Composição Analisada	AI	AI+H	AI+H+A	AI+A
2ª. Matéria Seca (%)	96,15	86,24	91,23	89,75
Matéria Mineral (%)	14,97	17,62	15,96	17,11
Proteína Bruta (%)	52,77	51,92	52,19	51,05
Matéria Fibrosa	3,09	3,07	2,34	2,72
Extrato Etéreo (%)	9,54	6,70	10,82	11,88
Extrato não nitrogenado (%)	15,78	13,56	14,92	16,99
Energia Bruta (cal/g)	4041	3965	4247	3979
Astaxantina (µg/100g)	1,85	4,94	5,25	3,7

¹ Suplemento vitamínico e mineral: vit. A: 500.000 UI; vit. D3: 200.000 UI; vit. E: 5.000 UI; vit. K3: 1.000 mg; vit. B1: 1.500mg; vit. B2: 1.500mg; vit. B6: 1.500mg; vit. B12: 4.000mg; Ácido fólico: 500mg; Ácido Pantotênico: 4.000mg; Biotina: 50mg; Colina: 40g; Cobalto: 10mg; Cobre: 500mg; Ferro: 5.000mg; Iodo: 50mg; Manganês: 1.500 mg; Selênio: 10mg; Zinco: 5.000mg; veículo q.s.q.: 1000g.

² Antioxidante (BHT)= butyl-hidróxi-tolueno

A microalga *A. gracilis*, linhagem n° 005CH proveniente da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) isolada da Represa do Broa (22°15'S e 47° 9'O) e a *H. pluvialis* linhagem n° CMEA 227C1 da Universidade Federal do RJ (RJ- 22°53'S e 43°17'O) foram cultivadas em erlenmeyers de 2 litros, em sistema de cultivo estático

("batch") não axênico, com aeração constante, temperatura de 22 ± 2 °C sob iluminação de lâmpadas fluorescentes com intensidade de 22,2 a 30,1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Foi utilizado o meio de cultura alternativo NPK para a *A. gracilis* (Sipaúba-Tavares e Rocha, 1993), e o meio WC para *H. pluvialis*, (Guillard e Lorenzen, 1972). As microalgas foram concentradas em centrífuga, liofilizadas, moídas e posteriormente adicionadas ao alimento inerte na quantidade de 0,15% de biomassa disponível para execução do experimento.

2.3. Análises

2.3.1. Composição bioquímica das microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis*

Para determinação do valor nutricional de cada microalga utilizada no alimento inerte, a biomassa foi concentrada separadamente e liofilizada para análise de proteína bruta e extrato etéreo (AOAC, 1990).

2.3.2. Composição do alimento inerte

Em relação à composição químico-bromatológica do alimento inerte foram avaliadas a matéria seca, matéria mineral, fibra bruta, proteína bruta, extrato etéreo e energia bruta (AOAC,1990).

2.3.3. Astaxantina

O teor de astaxantina das dietas experimentais foi realizado no final do experimento e extraída em éter de petróleo e quantificada por espectrofotometria com leitura de absorbância a 470 nm (Carvalho et al., 1992).

2.3.4. Condições experimentais

Algumas variáveis limnológicas da água dos aquários foram mensuradas semanalmente. A temperatura foi registrada com as variações diárias dos aquários, a condutividade, pH, e oxigênio dissolvido foram mensurados através de uma sonda multiparâmetros YSI 6820, apresentando, respectivamente, os seguintes valores médios: $27,07 \pm 0,04$ °C, $42,49 \pm 1,49$ $\mu\text{S.cm}^{-1}$, $7,04 \pm 0,01$ e $7,94 \pm 0,02$ mg.L^{-1} . A

amônia, nitrito, nitrato, fósforo total e ortofosfato foram determinados de acordo com Koroleff (1976) e Golterman et al., (1978), com valores médios de: amônia $496,60 \pm 19,07 \mu\text{g.L}^{-1}$, nitrito $80,39 \pm 20,42 \mu\text{g.L}^{-1}$, nitrato $483,85 \pm 220,81 \mu\text{g.L}^{-1}$, fósforo total $201,27 \pm 5,17 \mu\text{g.L}^{-1}$ e ortofosfato $198,14 \pm 3,62 \mu\text{g.L}^{-1}$. Esses parâmetros resultaram em 100% de sobrevivência dos peixes.

2.3.5. Desempenho zootécnico dos peixes

Os peixes foram medidos para avaliar o comprimento padrão (CP) com escala graduada e ganho em peso (GP), sendo pesados em balança com precisão de 1g. Para determinar o cálculo do comprimento padrão e ganho em peso, foram efetuados no início e no final do experimento. A taxa de crescimento específico (TCE) foi calculada de acordo com a equação de Kestmonts e Stalmans (1992):

$$\text{TCE (\%/dia)} = \frac{(\ln) \text{ Peso médio final} - (\ln) \text{ Peso médio Inicial}}{\text{Tempo de experimento (dias)}} \times 100$$

onde, ln = logaritmo neperiano

O fator de condição (K) foi calculado com base no comprimento padrão (CP), de acordo com Vazzoler (1996), onde CP^b = Comprimento padrão elevado ao coeficiente de regressão, e P = Peso.

$$K = \frac{P}{\text{CP}^b}$$

A uniformidade dos lotes (%) foi calculada pela equação proposta por Furuya e Souza (1998):

$$U = \frac{N \pm 10}{N_t} \times 100$$

onde: $N \pm 10$ = número total de peixes com peso ± 10 % dentro da média do peso vivo em cada unidade experimental e N_t = número total de peixes em cada unidade experimental.

2.3.6. Coloração

No final do experimento, três peixes submetidos a cada dieta experimental foram aleatoriamente selecionados e anestesiados durante aproximadamente dez minutos em baixa temperatura (em água com gelo) para posterior análise da coloração. A coloração dos peixes foi avaliada por reflectometria utilizando colorímetro (Hunter Lab MiniScan XE) no sistema CIELab, onde os valores são representados em coordenadas de cromaticidade: L^* , a^* , b^* , H_{ab}^* e C_{ab}^* , onde L^* representa a luminosidade que varia de $L=0$ (cor preto) e $L=100$ (cor branca), a^* cor (verde/vermelha) onde $+a^*$ (cor vermelho) - a^* (cor verde), b^* cor (azul/amarelo) onde $+b^*$ (cor amarelo) e $-b^*$ (cor azul) (Trujillo et al., 1996). Esses valores foram transformados em atributos cromáticos específicos, a cor observável denominada tom (H_{ab}^*) que representa as cores de a^* e b^* e a saturação de cor cinza (ou brilho) que é denominada croma (C_{ab}^*) (Hunt, 1977). Para calcular o tom (H_{ab}^*) e o brilho (C_{ab}^*) foram utilizadas as seguintes equações para essas transformações:

$$H_{ab}^* = \arctan(b^*/a^*) \quad \text{e} \quad C_{ab}^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0.5}$$

2.4. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA-one way. Na ocorrência de diferenças entre as variáveis medidas para cada dieta alimentar, foi aplicado o teste de Fisher (LSD) ao nível de 5% de significância, utilizando o programa STATISTICA versão 8.0 (Statsoft, 2007).

3. Resultados

3.1. Desempenho zootécnico dos peixes

Os resultados de desempenho zootécnico obtidos mostram que as dietas com adição de biomassa de microalgas (AI+H, AI+H+A, AI+A) proporcionaram respostas semelhantes ($p>0,05$) à dieta controle AI (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios de desempenho zootécnico do peixe mato grosso, *H. eques* alimentados com AI= somente alimento inerte (controle), AI+H= alimento inerte + *H. pluvialis*, AI+H+A= alimento inerte + 50% de *H. pluvialis* e 50% de *A. gracilis* e AI+A= alimento inerte + *A. gracilis*.

Desempenho zootécnico	AI	AI + H	AI + H + A	AI + A	ANOVA
Ganho em peso (g)	2,7 ± 0,9	3,4 ± 0,2	2,5 ± 0,6	2,9 ± 0,2	$p>0,05$
Comprimento padrão (cm)	3,9 ± 0,9	5,0 ± 0,4	3,8 ± 0,4	4,4 ± 0,2	$p>0,05$
Fator de condição (K)	0,03	0,03	0,03	0,03	$p>0,05$
Taxa de crescimento específico (TCE)	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,04	0,2 ± 0,02	$p>0,05$
Uniformidade dos lotes (U%)	46,7 ± 15,28	50 ± 10	46,7 ± 20,8	40 ± 17,3	$p>0,05$
Sobrevivência (%)	100%	100%	100%	100%	$p>0,05$

A taxa de crescimento específico e o fator de condição não foram afetados pela adição de biomassa de microalgas obtendo-se valores similares de TCE= 0,02 e K=0,03 para todas as dietas. A uniformidade dos lotes variou de 40 a 50% e a sobrevivência foi total (Tabela 2).

3.2. Coloração

A coloração dos peixes, nas respectivas dietas é mostrada na Tabela 3. Para a luminosidade (L^*), a cor vermelha (a^*) e o tom (H_{ab}^*) não ocorreram diferenças significativas ($p>0,05$) entre os peixes que receberam as diferentes dietas. Para a cor amarela (b^*) e o brilho (C_{ab}^*) os valores foram mais elevados ($p<0,05$) entre as dietas com adição de biomassa de microalgas (AI+H, AI+H+A, AI+A), do que para a dieta controle (AI), principalmente para a dieta (AI+H) (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios da coloração do mato grosso, *H. eques*: onde L* a luminosidade, a* (cor vermelha), b* (cor amarela), H_{ab}* (tom) e C_{ab}* (brilho) para as dietas AI= somente alimento inerte (controle), AI+H= alimento inerte + *H. pluvialis*, AI+H+A= alimento inerte + 50% de *H. pluvialis* e 50% de *A. gracilis* e AI+A= alimento inerte + *A. gracilis*.

Parâmetros de cor	AI	AI+H	AI+H+A	AI+A	ANOVA
L*	35,8 ± 1,5 ^a	38,6 ± 8,5 ^a	40,4 ± 2,1 ^a	40,7 ± 4,9 ^a	p>0,05
a*	0,3 ± 0,3 ^a	0,5 ± 0,2 ^a	0,4 ± 0,2 ^a	0,3 ± 0,3 ^a	p>0,05
b*	0,6 ± 0,9 ^c	3,9 ± 0,5 ^a	2,5 ± 0,1 ^b	3,3 ± 1,3 ^{ab}	p<0,05
H _{ab} *	0,5 ± 1,4 ^a	1,5 ± 0,04 ^a	1,4 ± 0,1 ^a	1,5 ± 0,1 ^a	p>0,05
C _{ab} *	0,9 ± 0,3 ^c	3,9 ± 0,5 ^a	2,6 ± 0,1 ^b	3,4 ± 1,3 ^{ab}	p<0,05

Nas linhas da Tabela, as letras diferentes indicam a existência de diferenças estatisticamente significativas

4. Discussão

O uso de biomassa de microalgas tais como: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus quadricauda*, *Dunaliella salina* e *Nannochloropsis oculata* na alimentação de peixes ornamentais tem sido relatado em vários estudos (Khatoon et al., 2010; Zatkova et al., 2011). Sun et al. (2012) cultivando peixes ornamentais em Israel observaram maior crescimento dos peixes quando alimentados com dietas enriquecidas com biomassa de microalgas do que em qualquer outro tipo de dieta.

As microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis* tem altos valores nutricionais contendo 7,15% e 50,20% de proteína bruta e 10,55% e 12,50% de extrato etéreo, sendo eficazes como fonte de alimento.

Apesar de não ocorrer diferenças significativas entre as dietas, os peixes que receberam a suplementação de *H. pluvialis* apresentaram um ganho em peso 25% superior aqueles alimentados somente com a dieta controle. O mesmo ocorreu com o comprimento padrão sendo 28% superior, indicando que o uso desta microalga pode

favorecer o crescimento do mato grosso *H. eques*, valorizando mais esta espécie no mercado de peixes ornamentais.

Zatkova et al. (2011), alimentando juvenis de catfish albino (*Silurus glanis*) com dietas enriquecidas com biomassa de *Chlorella*, *Haemaetococcus* e *Scenedesmus* encontraram maiores valores de peso e comprimento para a dieta basal (controle) enriquecida com *Haematococcus* e *Scenedesmus* verificando-se aumento de 13% e 38%, respectivamente. A inclusão da biomassa de *H. pluvialis* na dieta influenciou positivamente o crescimento do ciclídeo (*Cichlasoma citrinellum*) em relação ao ganho em peso e comprimento padrão tendo-se alcançado valores mais elevados do que com a dieta basal (controle) para os quais foram obtidos os valores médios de 371 g e 41,3 cm (Pan e Chien, 2009). Os resultados de crescimento desses estudos foram superiores aos encontrados no presente trabalho.

O uso da biomassa de *Spirulina platensis* promoveu maiores ganhos em peso de 3,34 g para o peixe ornamental barbos (*Puntius sophore*) quando comparados com a dieta controle (basal) (Bagre et al., 2012).

Os peixes podem exibir diferentes padrões de coloração, resultados da dispersão ou agregação das cromatossomas e a distribuição dos cromatóforos na pele (Chatzifotis et al., 2005). Neste estudo, os baixos valores de cor vermelha (a^*) encontrados na pele do mato grosso, *H. eques* alimentados com as dietas (AI+H, AI+H+A e AI+A) podem ser atribuídos ao baixo teor de astaxantina presente (Tabela 1). Os peixes possuem capacidade limitada para romper as células algais ou para metabolizar diferentes isômeros ópticos ou geométricos de astaxantina (Garcia et al., 2010).

Ocorreram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as dietas para a cor amarela (b^*) e brilho (C_{ab}^*) pelo fato de que as microalgas Chlorophyceae além de clorofila *a* e *b* possuem outros tipos de pigmentos como carotenóides (β -caroteno) e diversas xantofilas (zeaxantina e luteína) que podem ser armazenadas na pele do peixe quando ingeridas. Maiores valores de (b^*) e (C_{ab}^*) foram encontrados para a dieta AI+H, visto que a microalga *H. pluvialis* na fase de encistamento, além da astaxantina, possui

outros carotenoides como β -caroteno (Lorenz, 2001). Para os peixes ornamentais, principalmente o mato grosso, *H. eques*, quanto mais intenso os parâmetros de cor da pele, mais valorizados são pelo mercado, pois os aquaristas procuram peixes de cores vibrantes.

Wang et al. (2006) trabalhando com *Hyphessobrycon callistus* verificaram que independente do tipo de carotenóides adicionados à dieta, ocorreu predomínio da astaxantina sintética em (98% do total de carotenóides corporais), indicando que esse peixe converte β -caroteno em astaxantina para armazenamento.

Kouba et al. (2013) encontraram valores de coloração (L^*) e (b^*) de 0,14 e 0,58 para o acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) utilizando biomassa de microalga *H. pluvialis* sendo os resultados inferiores ao deste trabalho. Gouveia et al. (2003) alimentando três variedades de carpa comum (*Cyprinus carpio*) com biomassa de microalgas, encontraram maior valor de cor vermelha (a^*) de 21,2, na pele desses peixes com a adição de *Chlorella vulgaris* para a variedade vermelha (Kawari).

A coloração também influencia a seleção sexual dos peixes, pois fêmeas de Colisa (*Colisa lalia*) apresentaram fortes preferências por machos com altos níveis de cor da pele para o vermelho (a^*) (Baron et al., 2008) e fêmeas de beta (*Betta splendens*) preferiram machos com a cor da pele vermelha (Clotfelter et al., 2007).

Guroy et al. (2012) trabalhando com biomassa de microalga *Spirulina* encontraram maiores valores de coloração (a^*) de 2,27 para o ciclídeo (*Pseudotropheus acei*) quando comparado com a dieta controle (basal). Ako et al. (2000) relataram que dietas contendo 1,5-2,0% de carotenóides da microalga *Spirulina platensis* e 1 % de *H. pluvialis*, significativamente aumentou a coloração do peixe espada (*Xiphophorus helleri*), olho azul de cauda bifurcada (*Pseudomugil furcatus*) e ciclídeo topaz (*Cichlasoma myrnae*).

A utilização da biomassa de *H. pluvialis* para coloração de peixes ornamentais é mais eficiente do que a astaxantina sintética (Pan e Chien, 2009) e em relação ao custo, a astaxantina sintética é mais cara (<US\$2000Kg) (Guerin et al., 2003).

Apesar da dieta AI+H ter promovido coloração mais intensa para os valores de (b^*) e (Cab^*) ($p < 0,05$) ao mato grosso *H. eques* quando comparado à dieta controle, a quantidade de 0,15% de inclusão das microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis* ao alimento inerte, ainda não foi suficiente para incrementar a cor do peixe, principalmente a coloração vermelha.

Experimentos devem ser realizados no intuito de avaliar qual a quantidade requerida para intensificar a coloração deste peixe, pois na literatura existe somente para a espécie *Hyphessobrycon callistus* utilizando a astaxantina sintética a 8% (WANG et al., 2006), e em geral para peixes ornamentais a quantidade requerida de microalgas deve ser acima de 2% (GOUVEIA et al., 2003).

O uso de microalgas é uma forma alternativa e eficaz para a alimentação, pois promoveu valores de peso e comprimento padrão na faixa ideal de mercado de espécies ornamentais.

Agradecimentos

Agradecemos à CAPES pela bolsa concedida à primeira autora, à FAPESP pelo auxílio financeiro (09/51946-6). Agradecemos também ao Luiz Gustavo Giannecchini pelo auxílio na montagem e manutenção do experimento no Laboratório de Peixes Ornamentais, aos colegas do Laboratório de Limnologia e Produção de Plâncton, ao Dr. Rodrigo Ney Millan pela ajuda nas análises estatísticas e ao Dr. Sérgio O. Lourenço pela concessão da cepa da microalga *Haematococcus pluvialis*.

Referências

Ako, H., Tamaru, C. S., Azano, L., Yuen, B., Yamamoto, M., 2000. Achieving natural coloration in fish under culture. In: Tamaru CCT, Tamaru C., S., Mcvey, J., P., Ikuta, K., (eds) Spawning and maturation of aquatic species. United States- Japan cooperative program in natural resources technical report (28). University of Hawaii, Sea Grant College Program, Honolulu, Hawaii.

A.O.A.C, 1990. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 15th. Ed., Washington.

Bagre, P., Parashar, A., Vyas, V., Bhargava, S., Saroch, J. D., 2012. Comparative study of diferente percentage of natural carotenoid source *Spirulina platensis* on growth and survival of *Puntius sophore*. Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences 2 (4), 2210-2216.

Baron, M., Davies, S., Alexander, L., Snellgrover, D., Sloman, K. A., 2008. The effect of dietary pigments on the coloration and behavior of flame-red dwarf gourami, *Colisa lalia*. Animal Behaviour 75 (3), 1041-1051.

Carvalho, P. R. N., Collins, C. A., Rodriguez-Amaya, D. B., 1992. Comparison of Provitamin A determination by normal-phase gravity-flow column chromatography and resersed phase high performance liquid chromatography. Chromatographia 33 (3-4), 133-37.

Chatzifotis, S., Pavlidis, M., Jimeno, C. D., Vardanis, G., Sterioti, A., Divanach, P., 2005. The effect of different carotenoid sources on skin coloration of cultured red porgy (*Pagrus pagrus*). Aquaculture Research 36 (15) 1517-1525.

Clotfelter, E. D., Ardia, D. R., Mcgraw, K. J., 2007. Red fish, blue fish: trade-offs between pigmentation and immunity in *Betta splendens*. Behavioral Ecology 18 (6), 1139-1145.

Dagar, A., Zilberg, D., Cohen, Z., Boussiba, S., Khozin-Goldberg, I., 2010. Short-term dietary supplementation with the microalga *Parietochloris incise* enhances stress resistance in guppies *Poecilia reticulata*. Aquaculture Research 41 (2), 267-277.

Furuya, W. M., e Souza, S. R., 1998. Dietas peletizadas e extrusadas para machos revertidos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de terminação. Ciência Rural 28 (3), 483-487.

Garcia, J. R., Kalinowski, C. T., Izquierdo, M. S., Robaina, L. E. R., 2010. Marine and freshwater crab meals in diets for red porgy (*Pagrus pagrus*): effect on growth, fish composition and skin colour. *Aquaculture Research* 41 (12), 1759-1769.

Golterman, H. L., Clymo, R. S., Ohnstad, M. A., 1978. Methods for physical and chemical analysis of freshwater. IBP. London: Blackwell Scientific publications 213 p.

Gouveia, L., Rema, P., Pereira, O., Empis, J., 2003. Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass. *Aquaculture Nutrition* 9 (2), 123-129.

Gouveia, L., Rema, P., Pereira, O., e Empis, J., 2005. Effect of microalgal biomass concentration and temperature on ornamental goldfish (*Carassius auratus*) skin pigmentation. *Aquaculture Nutrition* 11 (1), 19-23.

Guroy, B., Sahin, I., Mantoglu, S., Kayali, S., 2012. *Spirulina* as natural carotenoid source on growth, pigmentation and reproductive performance of yellow tail cichlid *Pseudotropheus acei*. *Aquaculture International* 20 (5), 869-878.

Guerin, M., Huntley, M. E., Olaizola, M., 2003. *Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends in Biotechnology* 21 (5), 210-216.

Guillard, R. R. L., Lorenzen, C. J., 1972. Yellow-green algae with chlorophyllide. *Journal of Phycology* 8 (1), 10-14.

Hardy, E., R., e Castro, J., G., D., 2000. Qualidade nutricional de três espécies de clorofíceas cultivadas em laboratório. *Acta Amazonica* 30 (1), 39-47.

Hunt, R. W. G, 1977. The specification of colour appearance: I. Concepts and terms. *Colour Research and Applications* 2 (2), 55-68.

Khatoon, N., Sengupta, P., Homechaudhuri, S., e Pal, R., 2010. Evaluation of algae based feed in goldfish (*Carassius auratus*) nutrition. *Proceedings of the Zoological Society* 63 (2), 109-114.

- Kestmonts, P., Stalmans, J. M., 1992. Initial feeding of European minnow larvae *Phoxinus phoxinus* L. 1. Influence of diet and feeding level. *Aquaculture* 104 (3-4), 327-340.
- Koroleff, F., 1976. Determination of nutrients. In Grassnof, K.(Ed.). *Methods of seawater analysis*. New York: Verlag Chemie, Weinheim.7.
- Kouba, A., Sales, J., Sergejevová, M., Kozák, P., Masojídek, J., 2013. Colour intensity in angelfish (*Pterophyllum scalare*) as influenced by dietary microalgae addition. *Journal of Applied Ichthyology* 29 (1), 193-199.
- Lee, S. M., Pham M. A., Lee C. R., 2010. Effects of dietary patrika and lipid levels on growth and skin pigmentation of Pale chub (*Zacco platypus*). *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 23 (1), 724-732.
- Lorenz, R. T., 2001. HPLC and spectrophotometric analysis of carotenoids from *Haematococcus* algae powder. *Cyanotech Corporation*, (15) 10.
- Pan, C. H., Chien, Y. H., 2009. Effects of dietary supplementation of alga *Haematococcus pluvialis* (Flotow), synthetic astaxanthin and β -carotene on survival, growth, and pigment distribution of red devil. *Cichlasoma citrinellum* (Gunther). *Aquaculture Research* 40 (8), 871-879.
- Pavlidis, M., Papandroulakis, N., Divanach, P., 2006. A method for the comparison of chromaticity parameters in fish skin: Preliminary results for coloration pattern of red skin Sparidae. *Aquaculture* 258 (1-4), 211-219.
- Pereira, A., M., L., 2003. Produção de alimento vivo, importância e perspectivas. IV Seminario Internacional de Aquicultura e I Congresso Nacional de Investigadores Aquícolas e IV Seminário Internacional de Aquicultura. Bogotá: Universidade Nacional de Colombia, 5p.
- Qin, J. G., Yasir, I., 2010. Effect of dietary carotenoids on skin color and pigments of false clownfish, *Amphiprion ocellaris*, Cuvier. *Journal of the World Aquaculture Society* 41 (3), 308-318.

Sipaúba-Tavares, L. H., Rocha, O. 1993. Cultivo em larga escala de organismos planctônicos para alimentação de larvas e alevinos de peixes: I- algas clorofíceas. *Biotemas*, 6 (1), 93-106.

Sipaúba-Tavares, L., H., e Bachion, M., A., 2002. Population growth and development of two species of cladocera *Moina micrura* and *Diaphanosoma birgei*, in laboratory. *Brazilian Journal of Biology* 62 (1), 701-711.

Sipaúba-Tavares, L., H., e Braga, F., M. de S., 2007. Feeding activity of *Colossoma macropomum* larvae (tambaqui) in fish pond with water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) fertilizer. *Brazilian Journal of Biology* 67 (1), 454-466.

Statsoft, 2007. INC. STATISTICA (data analysis software system), version 8.0, www.statsoft.com.

Sun, X., Chang, Y., Ye, Y., Ma, Z., Liang, Y., Li, T., Jiang, N., Xing, W., Luo, L., 2012. The effect of dietary pigments on the coloration of Japanese ornamental carp (koi, *Cyprinus carpio* L). *Aquaculture* 342-343 (1), 62-68.

Tamaru, C. S., Ako, H. 1999. Using commercial feeds for the culture of freshwater ornamental fishes in Hawaii. *Ujnr Technical Report* 28, 109-119.

Trujillo, O., Vaneziz, P., Cermignami, M., 1996. Photometric assessment of skin colour and lightness using a tristimulus colorimeter: reliability of inter and intra-investigator observations in healthy adult volunteers. *Forensic Science Internacional* 81 (1), 1-10.

Vazzoler, A. E. A. M, 1996. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. EDUEM, Maringá, 169.

Wang, Y. J., Chien, Y. H., & Pan, C. H., 2006. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. *Aquaculture* 261 (2), 641-648.

Yuangsoi, B., Jintasataporn, O., Areechon, N., Tabthipwon, P., 2011. The pigmenting effect of different carotenoids on fancy carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Nutrition* 17 (2), 306-316.

Zatkova, M., Sergejevova, J., Urban, R., Vachta, D., Stys Masojídek, J., 2011. Carotenoid-enriched microalgal biomass as feed supplement for freshwater ornamentals: albinic form of wels catfish (*Silurus glanis*). *Aquaculture Nutrition* 17 (3), 278-286.



CAPÍTULO II

Hábito alimentar do peixe ornamental mato grosso *Hyphessobrycon eques* criado em laboratório

Artigo a ser submetido à revista Environmental Biology of Fishes



Hábito alimentar do mato grosso *Hyphessobrycon eques* criado em laboratório

Feeding habit of the laboratory-bred ornamental fish *Hyphessobrycon eques*

Flavia Almeida Berchielli-Morais*

Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Via de Acesso
Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil.

*e-mail: abflavia@yahoo.com.br

Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar o uso do zooplâncton e sua associação com as microalgas *A. gracilis* (Keisch) Korsikov e *H. pluvialis* (Flotow) e verificar a influência deste alimento vivo no crescimento do peixe ornamental mato grosso *H. eques*. Foram utilizados sessenta peixes juvenis de machos e fêmeas, com peso inicial médio de 0,79 g, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado com dois tratamentos e três repetições totalizando seis unidades experimentais. Os tratamentos alimentares foram: Z=somente zooplâncton (controle), Z+H+A= zooplâncton + microalga *Haematococcus pluvialis* e *Ankistrodesmus gracilis*, fornecidas duas vezes ao dia, por um período de quarenta dias. A análise de correlação de classes de Spearman indicou que não ocorreu nenhuma preferência do mato grosso *H. eques* para as espécies planctônicas em ambos os tratamentos alimentares ($p>0,05$). Os resultados de desempenho zootécnico obtidos mostram que ocorreram diferenças significativas ($p<0,05$) entre os tratamentos avaliados, porém não ocorreram diferenças para a composição bioquímica. Os resultados obtidos permitem concluir que o mato grosso aceita dietas que contenham zooplâncton e microalgas, porém a associação de ambos promoveu maiores resultados de crescimento, sendo esta dieta eficaz como fonte de alimento.

Palavras-chave: Alimento natural, peixes, algas, trato digestório, composição bioquímica.

Abstract

Zooplankton and its association with microalgae *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov and *Haematococcus pluvialis* Flotow were evaluated and the influence of the live food in the growth of ornamental fish (*Hyphessobrycon eques*) was verified. Sixty fish, juvenile males and females with an average weight of 0.79 g were randomly distributed in a completely randomized design with two experimental diets and three repetitions in six experimental units: Treatments were, Z = zooplankton only (control), Z+H+A = zooplankton + microalgae *H. pluvialis* and *A. gracilis* cultured in a laboratory given two times daily for a period of forty days. Spearman's class correlation showed no preference of the *H. eques* for the different plankton species in the two treatments ($p>0.05$). Zootechnical performance results revealed significant differences ($p<0.05$) between treatments Z and Z+H+A, but none ($p>0.05$) for the biochemical composition. The ornamental fish *H. eques* accepts zooplankton and microalgae diets, but the association of both provided better growth results and shows a more efficient diet as feeding source.

Keywords: natural feed, fish, algae, stomach contents, biochemical composition.

1. Introdução

O zooplâncton possui papel fundamental na dinâmica de um ecossistema aquático, atuando como consumidor primário e como elo de ligação entre produtores e consumidores (Faria et al., 2000). A maioria das espécies de peixes ornamentais utiliza o zooplâncton como alimento vivo nas primeiras fases de seu ciclo de vida e, muitas delas continuam a se alimentar de organismos planctônicos até a fase adulta (Santeiro e Pinto- Coelho, 2000).

Sabe-se que o zooplâncton de água doce é constituído predominantemente por Rotifera, Cladocera e Copepoda, sendo que a diversidade de espécies e abundância de cada um destes grupos variam grandemente entre os diferentes corpos de água e dependem de um complexo de fatores físicos, químicos e biológicos (Rocha e Sipaúba-Tavares, 1994). Para que uma espécie possa ser considerada apropriada como alimento vivo é necessário que apresente movimentação, tamanho adequado, disponibilidade, atenda os requisitos nutricionais mínimos, estímulo visual e químico, alta digestibilidade e aceitabilidade por parte de espécies que a utilizarão como alimento (Civera et al., 2004).

O incremento desse tipo de alimento no ambiente pode ser estimulado utilizando fertilizantes inorgânicos e/ou orgânicos, que aumentam a disponibilidade de nutrientes no meio aquático (Santeiro et al., 2006). Sipaúba-Tavares et al. (2006) sugeriram que os fertilizantes inorgânicos (NPK) promoveu o aparecimento de zooplâncton adequado, com somente leve degradação da qualidade de água e eficiência econômica quando comparado com fertilizantes orgânicos. Embora a fertilização seja necessária para a obtenção de zooplâncton com valor nutritivo adequado, a qualidade da água deve ser controlada para manter as espécies com altas taxas nutricionais (Santeiro et al., 2006).

Elevados teores de proteínas, extrato etéreo e carboidratos podem ser obtidos quando o zooplâncton vivo é cultivado ou enriquecido com microalgas (Fabrégas et al., 2001; Ferreira et al., 2008, 2009; Seixas et al., 2008 e 2009). Atualmente, existem poucos estudos relacionados a inclusão de microalgas ao alimento vivo, porém foi comprovado que à inclusão de mais de uma espécie de

microalga, fornece uma nutrição mais equilibrada e melhora o crescimento dos peixes (Spolaore et al., 2006).

As microalgas Chlorophyceae são indicadas como alimento, pois reúnem qualidades ideais de nutrição e digestibilidade, apresentando tamanho celular adequado, resistência às adversidades ambientais e às condições de cultivo (Silva et al., 2004).

O conhecimento do hábito alimentar de um peixe através da análise do trato digestório, fornece importantes subsídios para o entendimento do funcionamento do ecossistema e pode auxiliar na aplicação de técnicas de manejo de populações naturais, ou quando se tem intenção de criá-lo em cativeiro. Os mecanismos de seleção de alimentos feitos pelos peixes estão relacionados a diversos fatores não completamente estabelecidos, que podem variar de acordo com as condições ambientais e as fases do ciclo de vida (Yamamoto et al., 2003).

Alguns peixes selecionam suas presas na comunidade zooplanctônica, consumindo algumas espécies em detrimento de outras e muitas vezes podem controlar a comunidade planctônica diretamente através da interação predador-presa e indiretamente com a ingestão e excreção de nutrientes (Alanis et al., 2009).

Poucas espécies de peixes nativos têm sido pesquisadas visando os aspectos relacionados aos hábitos alimentares. Neste sentido, o objetivo do trabalho foi avaliar o uso do zooplâncton e sua associação com as microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis* e verificar a influência deste alimento vivo no crescimento do peixe ornamental mato grosso *Hyphessobrycon eques*.

2. Materiais e Métodos

2.1. Delineamento experimental

O experimento foi conduzido no Laboratório de Peixes Ornamentais do Centro de Aquicultura (CAUNESP) da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP (21° 14'S e 48° 17'W). Foram utilizados sessenta peixes juvenis de machos e fêmeas da espécie mato grosso (*Hyphessobrycon eques*), com peso inicial médio

de 0,79 g, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado com dois tratamentos e três repetições totalizando seis unidades experimentais.

Os peixes foram alimentados com dois tratamentos alimentares: Z= somente zooplâncton (controle), Z+H+A= zooplâncton + microalga *Haematococcus pluvialis* e *Ankistrodesmus gracilis* por um período de quarenta dias.

2.2. Coleta e preparo do alimento vivo (zooplâncton)

Amostras de zooplâncton foram coletadas de tanques externos do Centro de Aquicultura (CAUNESP) da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP (21° 14'S e 48° 17'W). Os tanques externos de aproximadamente 40 m² e 1 m de profundidade, foram fertilizados com 150 g de NPK (20:5:20) com intervalo de quinze dias entre uma fertilização para outra durante todo o período experimental.

A coleta de zooplâncton foi realizada utilizando-se uma rede de plâncton com abertura de malha de 58 µm. No laboratório, o zooplâncton concentrado, foi passado em peneira de 1,20 mm e em rede de 200 µm para retirada de partículas maiores, posteriormente foi mantido em água de turfa com adição de vitamina do complexo B na quantidade de 0,02 g e alimento inerte de 0,1 g (Sipaúba-Tavares et al., 2001). Cerca de 500 ml do concentrado de zooplâncton resultando em $6,6 \times 10^3$ indivíduos.L⁻¹ e 100 ml de cada monocultura de microalgas correspondendo a um total de $1,6 \times 10^5$ células.ml⁻¹ de *A. gracilis* e $1,3 \times 10^5$ células.ml⁻¹ de *H. pluvialis* foram adicionados para cada tratamento alimentar do mato grosso *H. eques*.

2.3. Cultura algal

A microalga *A. gracilis*, linhagem n° 005CH proveniente da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) isolada da Represa do Broa (22°15'S e 47° 9'O) e a *H. pluvialis* linhagem n° CMEA 227C1 da Universidade Federal do RJ (RJ- 22°53'S e 43'17'O) foram cultivadas em erlenmeyers de 2 litros, em sistema de cultivo estático ("batch") não axênico, com aeração constante, temperatura de 22 ± 2 °C sob iluminação de lâmpadas fluorescentes com intensidade de 22,2 a 30,1 µmol m⁻² s⁻¹. Foi utilizado o meio de cultura alternativo NPK para a *A. gracilis* (Sipaúba-Tavares e Rocha, 1993), e o meio WC para *H. pluvialis*, (Guillard e Lorenzen, 1972).

2.4. Análises

2.4.1. Condições experimentais

Algumas variáveis limnológicas da água dos aquários foram mensuradas semanalmente. A temperatura foi registrada com as variações diárias dos aquários, a condutividade, pH, e oxigênio dissolvido foram mensurados através de uma sonda multiparâmetros YSI 6820, apresentando, respectivamente, os seguintes valores médios: $29,17 \pm 0,14^{\circ}\text{C}$, $52,86 \pm 3,07 \mu\text{S.cm}^{-1}$, $7,53 \pm 0,05$ e $7,93 \pm 0,02 \text{ mg.L}^{-1}$. A amônia, nitrito, nitrato, fósforo total e ortofosfato foram determinados de acordo com Koroleff (1976) e Golterman et al., (1978), com valores médios de: amônia $528,50 \pm$ nitrito $147,39 \mu\text{g.L}^{-1}$, nitrato $42,76 \pm 13,87 \mu\text{g.L}^{-1}$, fósforo total $713,30 \pm 2,07 \mu\text{g.L}^{-1}$, ortofosfato $99,76 \pm 12,48 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $62,27 \pm 25,45 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente. Essas condições resultaram em 100% de sobrevivência dos peixes.

2.4.2. Comunidade planctônica

Cerca de 10 ml de cada tratamento alimentar (Z e Z+H+A) preparado no laboratório foram coletados e preservados em formol a 4%. As análises qualitativas e quantitativas da comunidade zooplanctônica foram feitas com o auxílio de estereomicroscópio marca Wild Heerbrugg e sob microscópio binocular com aumento de 200x em modelo Leica Letiz DMRB. A contagem de organismos pertencentes aos grupos Cladocera e Copepoda foi realizada em placas quadriculadas de acrílico, utilizando-se toda a amostra. Para as formas juvenis destes organismos, Rotífera, e as microalgas *A. gracilis* e *H. pluvialis*, subamostras de 1 ml foram contadas em câmaras de Sedgewick-Rafter. Para identificação taxonômica, bibliografias especializadas foram utilizadas (Koste, 1978; Segers, 1995; Elmoor-Loureiro, 1997; Silva e Matsumura-Tundisi, 2005).

2.4.3. Trato digestório

Ao final do experimento, foram retirados aleatoriamente seis peixes de cada tratamento alimentar para avaliar o trato digestório, sendo submetidos à baixa temperatura para evitar a perda do conteúdo ingerido e posteriormente, preservados em formol a 10%. O trato digestório dos peixes foi dissecado sobre placa de Petri e posteriormente analisado em câmara de contagem de células, Sedgewick-Rafter,

sob microscópio binocular com aumento de 200x em modelo Leica Letiz DMRB. Foram contados apenas os organismos inteiros ou que apesar de digeridos, pudessem ser identificados.

2.4.4. Desempenho zootécnico dos peixes

Os peixes foram medidos para avaliar o comprimento padrão (CP) com escala graduada e ganho em peso (GP), sendo pesados em balança com precisão de 1g. Para o cálculo do comprimento padrão e ganho em peso, foram efetuados no início e no final do experimento. A taxa de crescimento específico (TCE) foi calculada de acordo com a equação de Kestmonts e Stalmans (1992):

$$\text{TCE (\%/dia)} = \frac{(\ln) \text{ Peso médio final} - (\ln) \text{ Peso médio Inicial}}{\text{Tempo de experimento (dias)}} \times 100$$

onde, ln = logaritmo neperiano

O fator de condição (K) foi calculado com base no comprimento padrão (CP), de acordo com Vazzoler (1996), onde CP^b = Comprimento padrão elevado ao coeficiente de regressão, e P = Peso.

$$K = \frac{P}{CP^b}$$

A uniformidade dos lotes (%) foi calculada pela equação proposta por Furuya e Souza (1998):

$$U = \frac{N \pm 10}{N_t} \times 100$$

onde: $N \pm 10$ = número total de peixes com peso ± 10 % dentro da média do peso vivo em cada unidade experimental e N_t = número total de peixes em cada unidade experimental.

2.4.5. Composição bioquímica dos tratamentos alimentares

Para análise da composição bioquímica dos tratamentos alimentares (Z e Z+H+A) nos dias 4, 12, 24, 30 e 40 do experimento, as amostras foram concentradas em rede de plâncton com abertura de malha de 58 µm e posteriormente congeladas para análise de proteína bruta e extrato etéreo (AOAC, 1990).

2.4.6. Análise estatística

Os dados de crescimento dos peixes e composição bioquímica dos tratamentos alimentares foram submetidos à análise de variância ANOVA-one way. Na ocorrência de diferenças entre os valores médios das variáveis medidas nos tratamentos alimentares testados, foi aplicado o teste de Fisher (LSD) ao nível de 5% de significância, utilizando o programa estatístico STATISTICA versão 8.0 (Statsoft, 2007).

A análise de correlação de classes de Spearman foi aplicada à alimentação de peixes (Siegel, 1975) e foi utilizada para avaliar a correlação entre a abundância dos itens alimentares disponíveis no ambiente e trato digestório para os dois tratamentos alimentares Z= (zooplâncton) e Z+H+A= zooplâncton+ microalga *H. pluvialis* e *A. gracilis*.

3. Resultados

3.1. Hábito alimentar

Não foi observada preferência do mato grosso *H. eques* para as espécies planctônicas em ambos os tratamentos alimentares (Z e Z+H+A) ($p>0,05$) (Tabela 1).

O tratamento alimentar Z indicou que o táxon mais abundante no trato digestório do mato grosso *H. eques* foi Copepoda com 55,4%, seguido de Cladocera com 33,5% e Rotifera com 1,2%. A grande abundância de Copepoda no trato digestório foi devido ao grande consumo do adulto de *Argyrodiaptomus furcatus* com 50,5%. Em relação ao táxon Cladocera, a espécie *Diaphanosoma birgei* foi a mais consumida com 32,5% (Figura 1, Tabela 2).

Tabela 1. Resultados do teste de correlação de classes de Spearman de abundância relativa (%) de itens planctônicos do ambiente e trato digestório dos dois tratamentos, Z= zooplâncton e Z+H+A= zooplâncton + as microalgas *H. pluvialis* e *A. gracilis*.

Teste de correlação de Classes de Spearman	Z	Z+H+A
	Ambiente/ Trato digestório	Ambiente/ Trato digestório
Rs	0,6	0,59
t	2,82	2,44
C	ns	ns

Rs= Correlação de Classes de Spearman

t= Teste estatístico

C= Correlação= * $p < 0,05$, ns $p > 0,05$

Para o tratamento alimentar Z+H+A, o táxon mais abundante no trato digestório foi Cladocera com 45,3%, seguido de Copepoda com 9,4% e Rotifera com 4,3%. O grande consumo de Cladocera foi devido a grande abundância de *Diaphanosoma birgei* e sua alta disponibilidade no ambiente (Figura 1, Tabela 2). O táxon Rotifera foi representado pela espécie *Proales doliaris* com 4,0% (Tabela 2). Em relação às microalgas, a *H. pluvialis* foi mais consumida pelo mato grosso *H. eques* com 23,8% do que a *A. gracilis* com 7,7% provavelmente por causa de seu formato, pequeno tamanho das células e por possuir uma parede celular digerível (Tabela 2). Grandes quantidades de ovos de resistência foram encontrados no trato digestório deste peixe devido ao pequeno tamanho apresentando fácil ingestão porém são densos e de difícil digestão (Figura 1, Tabela 2).

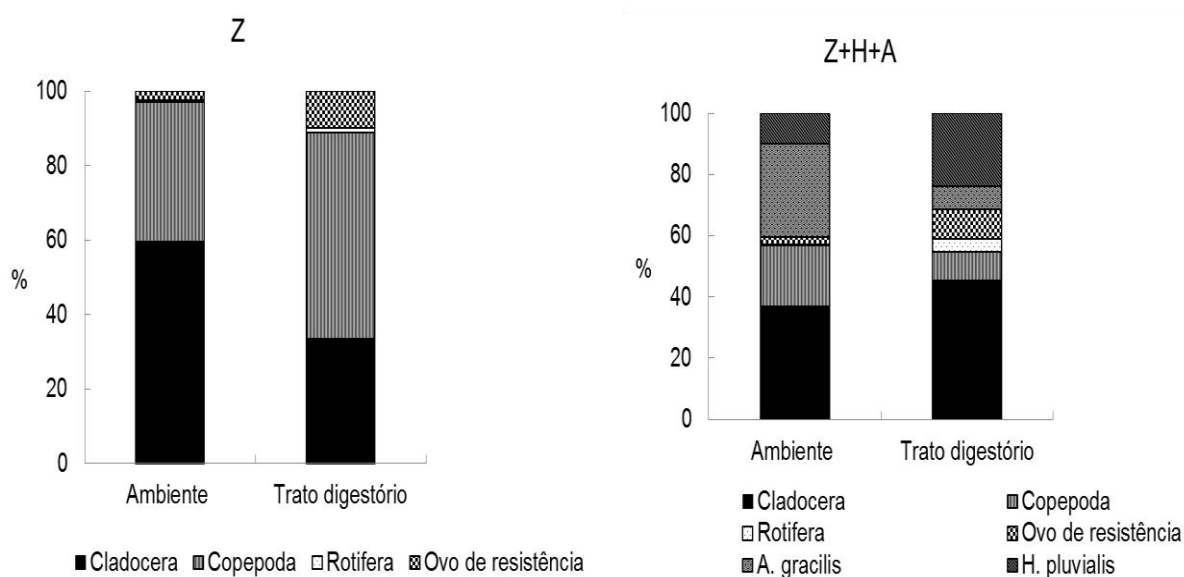


Figura 1. Abundância relativa dos grupos planctônicos encontrados no ambiente e conteúdo trato digestório do mato grosso *H. eques*, nos tratamentos Z= zooplâncton e Z+H+A= zooplâncton + as microalgas *H. pluvialis* e *A. gracilis*.

Tabela 2. Número médio de indivíduos por litro e porcentagem relativa dos organismos alimentares encontrados no trato digestório do mato grosso *H. eques*.

Taxon	Z		Z+H+A	
	N° ind/L	%	N° ind/L	%
Cladocera				
<i>Bosmina longirostris</i> (Muller, 1785)	216,7	0,6	-	-
<i>Diaphanosoma birgei</i> (Korinek, 1981)	11166,7	32,5	21116,7	45,3
Copepoda				
<i>Argyrodiaptomus furcatus</i> (Sars, 1901)	17350,0	50,5	3666,7	7,9
Náuplio <i>Calanoida</i>	883,3	2,6	416,7	0,9
<i>Thermocyclops minutus</i> (Lowndes, 1934)	566,7	1,6	133,3	0,3
Náuplio <i>Cyclopoida</i>	33,3	0,1	166,7	0,4
Rotifera				
<i>Anuraeopsis navicula</i> (Rousselet, 1875)	250,0	0,7	-	-
<i>Brachionus caudatus</i> (Barrois e Daday, 1894)	100,0	0,3	-	-
<i>Keratella americana</i> (Carlin, 1943)	116,7	0,3	116,7	0,3
<i>Lecane scutata</i> (Harring e Myers, 1926)	83,3	0,2	-	-
<i>Proales doliaris</i> (Rousselet, 1895)	183,3	0,5	1866,7	4,0
Outros				
Ovo de resistência	3400,0	9,9	4516,7	9,7
Fitoplâncton				
Chlorophyceae				
<i>Ankistrodesmus gracilis</i> (Korsikov, 1953)	-	-	3583,3	7,7
<i>Haematococcus pluvialis</i> (Flotow, 1844)	-	-	11083,3	23,8

3.2. Desempenho zootécnico dos peixes

Os resultados de desempenho zootécnico obtidos mostram que ocorreram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos alimentares (Z e Z+H+A) (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios de desempenho zootécnico do peixe mato grosso *H. eques* alimentados com Z= zooplâncton e Z+H+A= zooplâncton+ microalgas *H. pluvialis* e *A. gracilis*.

Desempenho zootécnico	Z	Z+H+A	ANOVA
Ganho em peso (g)	$0,5 \pm 0,6^a$	$1,7 \pm 0,4^b$	$p < 0,05$
Comprimento padrão (cm)	$0,3 \pm 0,2^a$	$1,5 \pm 0,4^b$	$p < 0,05$
Fator de condição (K)	$0,03^a$	$0,03^a$	$p > 0,05$
Taxa de crescimento específico (TCE)	$0,1 \pm 0,1^a$	$0,2 \pm 0,04^a$	$p > 0,05$
Uniformidade dos lotes (U%)	$33,3 \pm 32,2^a$	$36,7 \pm 35,1^a$	$p > 0,05$
Sobrevivência (%)	$100\%^a$	$100\%^a$	$p > 0,05$

Nas linhas da Tabela, as letras diferentes indicam a existência de diferenças estatisticamente significativas

Valores mais elevados de crescimento foram observados nos peixes alimentados com o tratamento Z+H+A, com ganho em peso de 1,7 g e comprimento padrão de 1,5 cm ($p < 0,05$). A taxa de crescimento específico variou de 0,1 a 0,2 e o fator de condição obtendo-se valores similares de $K=0,03$ para ambos os tratamentos alimentares. A uniformidade dos lotes ficou em torno de 30% e a sobrevivência foi total (Tabela 3).

3.3. Composição bioquímica

Os resultados da composição bioquímica obtidos mostram que os dois tratamentos (Z e Z+A+H) foram semelhantes ($p > 0,05$) (Figura 2).

Houve um decréscimo destes componentes em ambos os tratamentos alimentares ao longo do período experimental. Em geral, o teor de proteína bruta esteve acima de 60% com exceção do tratamento Z+H+A na última semana que apresentou um total de 52% e o extrato etéreo variou de 5 a 8% (Figura 2).

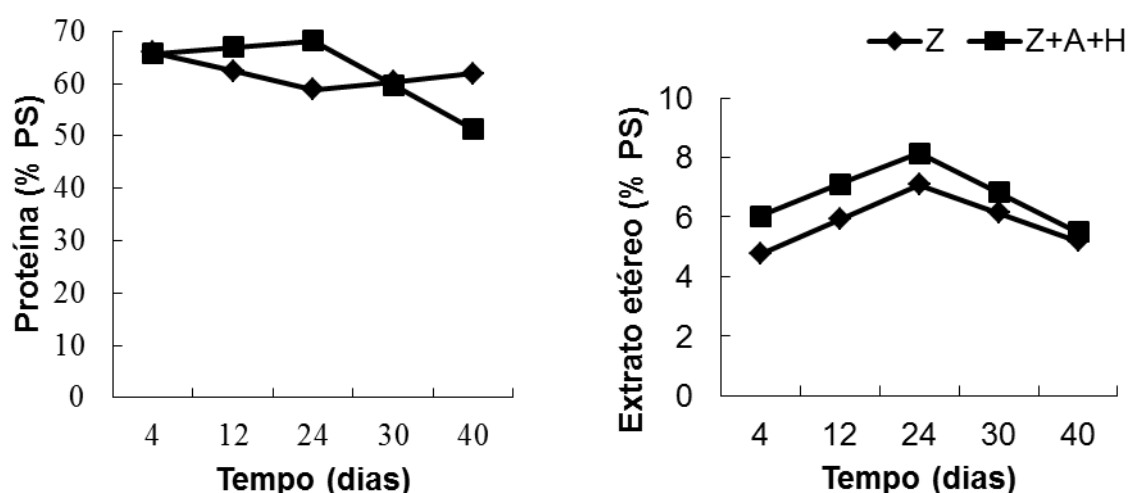


Figura 2. Variação do teor de proteína bruta e extrato etéreo do alimento vivo fornecido ao peixe mato grosso *H. eques* ao longo do período experimental, onde: Z= zooplâncton e Z+H+A= zooplâncton+ as microalgas *H. pluvialis* e *A. gracilis*.

4. Discussão

O peixe ornamental mato grosso *H. eques* não selecionou as espécies planctônicas fornecidas como alimento para ambos os tratamentos alimentares (Z e Z+H+A).

Os táxons encontrados no trato digestório foram principalmente Copepoda e Cladocera. Crippa (2009) classificou esta espécie como zooplânctívora baseado na sua dieta com 77% de microcrustáceos. Em alguns reservatórios brasileiros foi classificada como invertívora, consumindo larvas de insetos e microcrustáceos (Casatti et al., 2003) e como zooplânctívora na avaliação de (Pelicice e Agostinho, 2006).

Copepoda e Cladocera são os maiores organismos da comunidade de zooplâncton, por isso são geralmente consumidos como alimento preferencial pelos peixes zooplancívoros. Já os Rotifera são organismos raramente encontrados no trato digestório dos peixes ornamentais, pelo fato de serem pouco resistentes à digestão e por terem tamanhos pequenos (Hassan, 2011).

Coutinho et al. (2000) encontraram no trato digestório de *Hyphessobrycon bifasciatus*, grandes quantidades de Cladocera e Copepoda comparado com outros itens alimentares e Godard et al. (2013) encontraram no trato digestório do peixe vermelho rosado (*Pimephales promelas*), grandes quantidades de Copepoda e Cladocera, seguido de detritos e larvas de Diptera.

A tendência generalista encontrada para a maioria das espécies tende a ser fortemente influenciada pela disponibilidade do item no ambiente. Quanto mais disponível um recurso no ambiente, maior a tendência a hábitos generalistas, podendo as espécies utilizá-los de forma oportunista, pois alterações ambientais podem afetar a disponibilidade de determinado item alimentar preferencial, fazendo com que a espécie mude sua dieta, utilizando o item que está mais disponível no ambiente (Deus e Petrere-Junior, 2003). Flutuações do zooplâncton são desencadeadas por vários fatores, tais como temperatura, presença ou ausência de luminosidade, qualidade da água e disponibilidade de alimentos (Sipaúba-Tavares et al., 2008).

Variedades de peixes ornamentais como a carpa, utilizam o zooplâncton como alimento. Segundo Rahman et al. (2010), cerca de 70% dos itens alimentares encontrados no trato digestório de carpa comum (*Cyprinus carpio*) foram organismos zooplanctônicos enquanto que os macroinvertebrados bentônicos foram ausentes. Saikia e Das (2009) trabalhando com este mesmo peixe, encontraram grandes quantidades de microalgas Chlorophyceae e organismos zooplanctônicos no trato digestório. Outras espécies como a carpa cabeçuda (*Aristichthys nobilis*) e a carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) consumiram grandes quantidades de fitoplâncton e zooplâncton (Sampson et al., 2009).

Em relação ao desempenho zootécnico, ocorreram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos alimentares, indicando que o tratamento Z+H+A obteve maiores valores de ganho em peso e comprimento padrão, pelo fato que as microalgas fornecem proteínas, vitaminas, minerais, ácidos graxos polinsaturados essenciais (PUFA), em particular o ácido eicosapentaenóico (EPA), o ácido araquidônico (ARA) e ácido docosahexanóico (DHA), sendo de grande importância

como alimento vivo contribuindo para o aumento do crescimento dos peixes (Priyadarshani et al., 2012)

As matérias-primas são selecionadas pelo seu valor nutritivo, sendo o equilíbrio de aminoácidos, proteínas, extrato etéreo e ácidos graxos a partir de microalgas, consideradas como um dos os ingredientes alternativos do futuro (Shields e Lupatsch, 2012).

As microalgas de água doce contém cerca de 30 a 40% de proteína, 10 a 20% de extrato etéreo e de 5 a 15% de carboidratos (Priyadarshani et al., 2012). A qualidade nutricional de qualquer espécie de microalgas pode variar dependendo das condições de cultivo, tamanho da célula e digestibilidade (Murugesan et al., 2010).

Os peixes ornamentais são favorecidos quando alimentados com microalgas, pois aumentam a digestibilidade, a atividade fisiológica, resposta ao estresse e resistência a doenças promovendo melhores condições de saúde, bem como o fortalecimento do sistema imunológico (Ju et al., 2012; Khatoon et al., 2010). Uma prática comum nos dias de hoje na alimentação de larvas e alevinos de peixes e camarões é fornecer as microalgas em associação com zooplâncton (Das et al., 2012).

Ghosh et al. (2011) alimentando larvas de peixe palhaço (*Premnas biaculeatus*) com zooplâncton e microalgas, encontraram maiores valores de comprimento padrão em larvas alimentadas com associação do zooplâncton e a microalga *Nannochloropsis salina*. Já Madhu et al. (2012) trabalhando com este mesmo peixe, encontraram maior sobrevivência das larvas quando foram alimentadas com o rotífero *Brachionus rotundiformis* associado as microalgas *Chlorella marina*, *Nannochloropus oculata* e *Isochrysis galbana*.

Neste trabalho a composição bioquímica dos tratamentos alimentares esteve associada à flutuação temporal do plâncton no ambiente, visto que o zooplâncton fornecido ao mato grosso *H. eques* foi coletado de tanques externos de produção de plâncton. Além disso, a fertilização também tem impacto direto sobre determinado organismos e na flutuação do nível de extrato etéreo e proteínas. Este fato é

provavelmente relacionado com a qualidade da água, o que provoca a manifestação de certas espécies em detrimento de outras (Santeiro et al., 2006).

O teor de extrato etéreo do zooplâncton de água doce é conhecido por ter considerável importância e podem ser influenciados pela sucessão sazonal das espécies fitoplanctônicas (Miltra et al., 2007). Os valores de extrato etéreo foram baixos quando comparados a outros trabalhos, onde Santeiro et al. (2006) encontraram variação de 9 a 16% nos tanques de produção de plâncton fertilizados e Miltra et al. (2007) encontraram valores de extrato etéreo variando de 10,8 a 14,5%.

Pinto-Coelho et al. (1997) encontraram baixos teores de extrato etéreo de 6% para o zooplâncton do reservatório de Furnas no Brasil. Esta baixa concentração provavelmente deve-se ao consumo de zooplâncton por partículas como detritos e bactérias que apresentam baixos valores nutricionais (Santeiro e Pinto-Coelho, 2000).

Os resultados obtidos permitem concluir que o peixe ornamental mato grosso *H. eques* aceita dietas que contenham zooplâncton e microalgas, porém a associação de ambos promoveu maiores resultados de crescimento, sendo esta dieta eficaz como fonte de alimento. Incentivos devem ser gerados a trabalhos relacionados à alimentação de peixes ornamentais utilizando zooplâncton e microalgas como alimento vivo, pois na literatura existem poucos estudos realizados com peixes ornamentais.

Agradecimentos

Agradecemos à CAPES pela bolsa concedida à primeira autora, à FAPESP pelo auxílio financeiro (09/51946-6). Agradecemos também ao Luiz Gustavo Giannecchini pelo auxílio na montagem e manutenção do experimento no Laboratório de Peixes Ornamentais, aos colegas do Laboratório de Limnologia e Produção de Plâncton, ao Prof. Dr. Francisco Manoel de Souza Braga e ao Dr. Rodrigo Ney Millan pela ajuda nas análises estatísticas e ao Dr. Sérgio O. Lourenço pela concessão da cepa da microalga *Haematococcus pluvialis*.

Referências

- Alanis, J. G., Sarma, S. S. S., Nandini, S. 2009. Prey selectivity and functional response by larval red-eyed tetra *Moenkhausia sanctaefilomenae* (Steindachner, 1907) (Characiformes: Characidae). Brazilian Archives of Biology and Technology. 52: 1209-1216.
- A.O.A.C, 1990. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 15th. Ed., Washington.
- Cassati, L., Mendes, H. F., Ferreira, K. M. 2003. Aquatic macrophytes as feeding site for small fishes in the Rosana Reservoir, Paranapanema river, Southeastern Brazil. Brazilian Journal of Biology. 63: 213-222.
- Civera, R., Alvarez, C., Moyano, F. 2004. Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos. VII memorias del VII simposium internacional de nutrición acuícola. Hermosillo, Sonora, México.
- Coutinho, A. B., Aguiaro, T., Branco, C. W. C., Albuquerque, E. F. e Souza-Filho, I. F. 2000. Alimentação de *Hyphessobrycon bifasciatus* Ellis, 1991 (Osteichthyes, Characidae) na lagoa Cabiúnas Macaé, RJ. Acta Limnologica Brasiliensia. 12: 45-54.
- Crippa, V. E. L., Hahn, N. S., Fugi, R. 2009. Food resource used by small-sized fish in macrophyte patches in ponds of the upper Paraná river floodplain. Maringá. 31: 119-125.
- Das, P., Mandal, S. C., Bhagabati, S. K., Akhtar, M. S., Singh, S. K. 2012. Important live food organisms and their role in aquaculture. Frontiers in Aquaculture. 1:69-86.
- Deus, C. P. e Petrere-Junior, M. 2003. Seasonal diet shifts of seven fish species in an Atlantic Rainforest stream in Southeastern Brazil. Brazilian Journal of Biology. 63: 579-588.
- Elmoor-Loureiro, L. M. A. 1997. Manual de identificação de cladóceros límnicos do Brasil. Brasília: Universa, 156 p.

Faria, A. C. E. A., Hayashi, C., Soares, C. M., Gonçalves, G. S. 2000. Avaliação dos grupos zooplanctônicos em tanques experimentais submetidos à adubação com diferentes substratos orgânicos. *Acta Scientiarum*, 22: 375-381.

Fábregas, J., Otero, A., Dominguez, A., Patiño, M. 2001. Growth rate of the microalgal *Tetraselmis suecica* changes the biochemical composition of *Artemia* species. *Marine Biotechnology* 3: 256-263.

Ferreira, M., Maseda, A., Fábregas, J., Otero, A. 2008. Enriching rotifers with ``premium`` microalgae. *Isochrysis* aff. *galbana* clone T-ISO. *Aquaculture* 279:126-130.

Ferreira, M., Coutinho, P., Seixas, P., Fábregas, J., Otero, A. 2009. Enriching rotifers with ``premium`` microalgae. *Nannochloropsis gaditana*. *Marine Biotechnology* 11: 585-595.

Furuya, W. M., e Souza, S. R., 1998. Dietas peletizadas e extrusadas para machos revertidos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de terminação. *Ciência Rural*. 28: 483-487.

Ghosh, S., Kumar, T. T. A., Vinoth, R., Balasubramanian, T., Dabbagh, A. R., Keshavar, M. 2011. Effect of Short-Term Enrichment of Wild Zooplankton on Survival of Larval Maroon Clownfish (*Premnas biaculeatus*). *Middle-East Journal of Scientific Research*. 7: 674-677.

Godard, M. J., Almeida, D., Zieba, G., Copp, G. H. 2013. Plasticity of diel patterns in the diet and habitat use of feral, non-native fathead minnow *Pimephales promelas* (Actinopterygii, Cyprinidae) in a pond-dwelling population in England. *Hydrobiologia*. 701:149-158.

Golterman, H. L., Clymo, R. S., Ohnstad, M. A., 1978. Methods for physical and chemical analysis of freshwater. IBP. London: Blackwell Scientific publications 213 p.

Guillard, R. R. L., Lorenzen, C. J., 1972. Yellow-green algae with chlorophyllide. *Journal of Phycology*. 8: 10-14.

Hassan, A. A. E. 2011. Zooplankton as natural live food for three different fish species under concrete ponds with mono-and polyculture conditions. *Egyptian Journal for Aquaculture*. 1: 24-41.

Ju, Z. Y., Deng, D. F., Dominy, W. 2012. A defatted microalgae (*Haematococcus pluvialis*) meal as a protein ingredient to partially replace fishmeal in diets of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931). *Aquaculture*. 354-355: 50-55.

Khatoon, N., Sengupta, P., Homechaudhuri, S., e Pal, R., 2010. Evaluation of algae based feed in goldfish (*Carassius auratus*) nutrition. *Proceedings of the Zoological Society* 63: 109-114.

Kestmonts, P., Stalmans, J. M., 1992. Initial feeding of European minnow larvae *Phoxinus phoxinus* L. 1. Influence of diet and feeding level. *Aquaculture*. 104: 327-340.

Koroleff, F, 1976. Determination of nutrients. In Grassnof, K.(Ed.). *Methods of seawater analysis*. New York: Verlag Cemie, Weinhein.7.

Koste, W. 1978. *Rotatoria die radertiere mitteleuropas, Übeiordnung Monogononta*. Berlim, Gebriider Bernträger, 1010 p.

Madhu, K., Rema-Madhu., Retheesh, T. 2012. Broodstock development, breeding, embryonic development and larviculture of spine-cheek anemonefish, *Premnas biaculeatus* (Bloch, 1790). *Indian Journal of Fisheries*. 59: 65-75.

Miltra, G., Mukhopadhyay, P. K., Ayyappan, S. 2007. Biochemical composition of zooplankton community grown in freshwater earthen ponds: Nutritional implication in nursery rearing of fish larvae and early juveniles. *Aquaculture*. 272: 346-360.

Murugesan, S., Sivasubramanian V., Altaff, K. 2010. Nutritional evaluation and culture of freshwater live food organisms on *Catla catla*. *Journal of Algal Biomass Utilization*. 3:82-103.

Pellicice, F. M., Agostinho, A. A. 2006. Feeding ecology of fishes associated with *Egeria spp.* Patches in a tropical reservoir, Brazil. *Ecology of Freshwater Fish*. 15:10-19.

Pinto-Coelho, R. M., Amorim, M. K., Costa, A. R. 1997. Temporal dynamics of lipids in the zooplankton of two tropical reservoirs of different trophic status. *Verh. Int. Ver. Limnological*. 26: 584-587.

Priyadarshani I., Sahu D., Rath B. 2012. Algae in Aquaculture. *International Journal of Health Sciences and Research*. 2: 108-114.

Rahman, M. M., Kadowaki, S., Balcombe, S. R., Wahab, M. A. 2010. Common carp (*Cyprinus carpio* L.) alters its feeding niche in response to changing food resources: direct observations in simulated ponds. *Ecological Research*. 25: 303-309.

Rocha, O., Sipaúba-Tavares, L. H. 1994. Cultivo em larga escala de organismos planctônicos para alimentação de larvas e alevinos de peixes: II Organismos zooplânctônicos. *Biotemas*. 7:94-109.

Saika, S. K., Das, D. N. 2009. Feeding ecology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in rice-fish culture system of the Apatani plateau (Arunachal Pradesh, India). *Aquatic Ecology*. 43:559-568.

Sampson, S. J., Chick, J. H., Pegg, M. A. 2009. Diet overlap among two Asian carp and three native fishes in backwater lakes on the Illinois and Mississippi rivers. *Biological Invasions*. 11:483-496.

Santeiro, R. M., Pinto-Coelho, R. M. 2000. Efeitos de fertilização na biomassa e qualidade nutricional do zooplâncton utilizado para alimentação de alevinos na estação de hidrobiologia e piscicultura de Furnas, MG. *Acta Scientiarum*. 22:707-716.

Santeiro, R. M., Pinto-Coelho, R. M., Sipaúba-Tavares, L. H. 2006. Diurnal variation of zooplankton biochemical composition and biomass in plankton production tanks. *Maringá*. 28:103-108.

Segers, H. 1995. Rotifera: The Lecanidae (Monogononta). In: DUMONT, H. J. F. *Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental Waters of the world*. Netherlands: SPB Academic, 217 p.

Seixas, P., Rey-Méndez, M., Valente, L. M. P., Otero, A. 2008. Producing juvenile *Artemia* as prey for *Octopus vulgaris* paralarvae with diferente microalgal species of controlled biochemical composition. *Aquaculture* 283: 83-91.

Seixas, P., Coutinho, P., Ferreira, M., Otero, A. 2009. Nutricional value of the cryptophyte *Rhodomonas lens* for *Artemia* sp. *Journal of Experimental Marine Biology Ecology* 381: 1-9.

Shields, R. J., Lupatsch, I. 2012. Algae for aquaculture and animal feeds. *Jahrgang*. 1:23-37.

Siegel, S. 1975. *Estatística não paramétrica*. Editora Mcgraw-Hill do Brasil Ltda, São Paulo, 137p.

Silva, F. C., Pereira, A., Canozzi, M. B., Araújo, S. C. 2004. Cultivo de microalgas marinhas. In: Poli, C. R., Poli, A. T. B., Anfreatta, E., Beltrame, E. (Org.). *Aquicultura: experiências brasileiras*. Multitarefa, Florianópolis, 93-120.

Silva, W. M., Matsumura-Tundisi, T. 2005. Taxonomy, ecology and geographical distribution of the species of the genus *Thermocyclops* Kiefer, 1927 (Copepoda, Cyclopoida) in São Paulo State, Brazil, with description of a new species. *Brazilian Journal of Biology*. 65: 521-531.

Sipaúba-Tavares, L. H., Rocha, O. 1993. Cultivo em larga escala de organismos planctônicos para alimentação de larvas e alevinos de peixes: I- algas clorofíceas. *Biotemas*, 6 (1), 93-106.

Sipaúba-Tavares, L. H., Bachion, M. A., Braga, F. M. S. 2001. Effects of food quality on growth and biochemical composition of a calanoid copepod, *Argyrodiaptomus furcatus*, and its importance as a natural food source for larvae of two tropical fishes. *Hydrobiologia*. 543-454: 393-401.

Sipaúba-Tavares, L. H., Baccarin, A. E., Braga, F. M. de S. 2006. Limnological parameters and plankton community responses in Nile tilapia ponds under chicken dung and NPK (4-14-8) fertilizers. *Acta Limnologica Brasiliensia*, Botucatu. 18: 335-346.

Sipaúba-Tavares, L. H., Alvarez, E. J. da S., Braga, F. M. de S. 2008. Water quality and zooplankton in tanks with larvae of *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1949). Brazilian Journal of Biology. 68:77-86.

Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A. 2006. Commercial applications of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering 101: 87-96.

Statsoft, 2007. INC. STATISTICA (data analysis software system), version 8.0, www.statsoft.com.

Vazzoler, A. E. A. M, 1996. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. EDUEM, Maringá, 169.

Yamamoto, T., Shima, T., Furuita, H., Suzuki, N. 2003. Effect of water temperature and short-term fasting on micronutrient self-selection by common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture. 220: 655-666.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Futuras pesquisas devem ser realizadas utilizando microalgas em associação ao alimento inerte ou vivo (zooplâncton) na alimentação de peixes ornamentais;
- Deve-se utilizar o pigmento astaxantina para intensificar a coloração aos peixes ornamentais e permitir melhor venda de mercado, podendo ser obtida naturalmente de microalgas, sendo a quantidade requerida acima de 2% ou comercial (astaxantina sintética) com concentrações acima de 8% realizando experimentos por um curto período de tempo.