UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CAMPUS DE ARAÇATUBA

Rubrivivax gelatinosus NA ALIMENTAÇÃO DE TILÁPIAS PARA INCREMENTAR A QUALIDADE DOS FILÉS

Edson Francisco do Espírito Santo

Médico Veterinário

Araçatuba – SP

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CAMPUS DE ARAÇATUBA

Rubrivivax gelatinosus NA ALIMENTAÇÃO DE TILÁPIAS PARA INCREMENTAR A QUALIDADE DOS FILÉS

Edson Francisco do Espírito Santo

Orientadora: Profª. Adj. Elisa Helena Giglio Ponsano

Co-orientadores: Pesquisadores Giovani Sampaio Gonçalves e Eduardo Gianini Abimorad

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal).

Araçatuba – SP

2014

Catalogação na Publicação (CIP)
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FMVA/UNESP

Espírito Santo, Edson Francisco do

E777r Rubrivivax gelatinosus na alimentação de tilápias para incrementar a qualidade dos filés / Edson Francisco do Espírito Santo. -- Araçatuba: [s.n], 2014.

123 f. il.; + CD-ROM

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária, 2014.

Orientador: Profa. Adj. Elisa Helena Giglio Ponsano
Co-orientadores: Pesquisadores Giovani Sampaio Gonçalves
Eduardo Gianini Abimorad

1. Indústria pesqueira. 2. antioxidantes. 3. biomassa. 4. cor . 5. pigmentos biológicos I. T.

CDD 338.3713

unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Araçatuba
Seção Técnica de Graduação e Pós-Graduação

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Rubrivivax gelatinosus na alimentação de tilápias para incrementar a qualidade dos filés

AUTOR: EDSON FRANCISCO DO ESPIRITO SANTO

ORIENTADORA: Dra. ELISA HELENA GIGLIO PONSANO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR em CIÊNCIA ANIMAL (MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA E PRODUÇÃO ANIMAL) pela Comissão Examinadora.

Dra. RACHEL CRISTINA PREHL ALVES

Dr. ROBERSON SAKABE

Dra. SILVIA HELENA VENTUROLI PERRI

Dr. MANOEL GARCIA NETO

Dra. ELISA HELENA GIGLIO PONSANO

DATA DA REALIZAÇÃO: 29 de agosto de 2014.

Presidente da Comissão Examinadora
Dra. ELISA HELENA GIGLIO PONSANO
- Orientadora -

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

EDSON FRANCISCO DO ESPÍRITO SANTO - nascido em 5 de agosto de 1981 no município de Caraguatatuba – SP. Cursou o ensino fundamental na antiga E.E.P.G. “Alcides de Castro Galvão” e o ensino médio na antiga E.E.P.S.G. “Thomaz Ribeiro de Lima” do município de Caraguatatuba – SP. Ingressou no curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba – SP da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP em 2002 e formou-se no ano de 2006. Durante a graduação, realizou estágios extra-curriculares em diversas áreas. Foi bolsista de projetos de extensão em educação ambiental e de esterilização de animais. Realizou estágio de iniciação científica em clínica cirúrgica de pequenos animais, sendo bolsista pela CNPq. Em 2006, realizou estágios curriculares, inclusive na área de inspeção e tecnologia de produtos de origem animal. Em 2008, através de um processo seletivo de trainees, foi supervisor de produção no frigorífico JBS. Também em 2008, iniciou o I Curso de Especialização em Gestão de Sistemas de Produção Animal na UNESP – Campus de Araçatuba sob orientação da Profa. Elisa Helena Giglio Ponsano, com término em 2009. Em 2009, iniciou o curso de Mestrado em Ciência Animal na UNESP – Campus de Araçatuba, na área de Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal, sob orientação da Profa. Elisa Helena Giglio Ponsano, com término em 2011. Neste mesmo ano, iniciou o curso de doutorado na mesma unidade acadêmica do mestrado, na área de Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal, sob orientação da Profa. Elisa Helena Giglio Ponsano, com término em 2014. Foi bolsista FAPESP tanto no mestrado como no doutorado. Em março de 2014, foi aprovado em concurso para docente do curso de Medicina Veterinária no Instituto Federal do Amazonas.

Dedico...

Inicialmente a Deus, pelo dom da vida e por me fornecer força nos caminhos, e a meus pais Benedito e Maria Aparecida, pelos seus esforços, apoio, dedicação e por acreditarem nos meus sonhos e compartilharem minhas vitórias conquistadas.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (processos 2011/01103-2 e 2011/50274-4) pela bolsa de estudos e pelo auxílio financeiro concedidos para a realização desta pesquisa.

À Indústria GeneSeas Aquacultura Ltda. pela confiança em nosso projeto, pela recepção e pelo fornecimento da matéria-prima cedida para a realização dos trabalhos. Em especial ao gerente industrial Gerlúcio Neri.

Ao Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP pelo apoio, pela recepção e pelos treinamentos concedidos. Em especial à Fabiana Pilarski, à Léa Santana, à Elisabete Viegas e suas equipes e ao Márcio.

À Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" Faculdade de Medicina Veterinária – Campus de Araçatuba, pela oportunidade de realização do curso de doutorado, nas pessoas do Diretor Francisco Leydson Formiga Feitosa e do Vice-diretor Max José de Araujo Faria Júnior. Em especial aos Professores Max José de Araujo Faria Júnior e Luiz Eduardo Corrêa Fonseca pelas contribuições no exame geral de qualificação, e aos Professores Marcos Franke Pinto e Manoel Garcia Neto pela atenção e apoio durante o desenvolvimento dessa pesquisa.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária – Campus de Araçatuba e à coordenadora da pós-graduação, Professora Juliana Peiró, pela amizade, apoio e orientações concedidas.

Aos Professores Manoel Garcia Neto, Silvia Helena Venturoli Perri, Róberson Sakabe e Rachel Cristina Prehl Alves pelo aceite de participação da defesa de tese e pelas consideráveis contribuições.

À Biblioteca – UNESP – Araçatuba-SP. Em especial à Fátima, pelo excelente atendimento e à Isabel pela revisão dos dados bibliográficos e pela atenção.

Ao Laboratório de Análises de Alimentos – UNESP – Araçatuba-SP e ao funcionário Wellington pelo auxílio no experimento e nas práticas laboratoriais.

Ao Laboratório de Análises Clínicas, na pessoa do Professor Paulo Cesar Ciarlini e toda a sua equipe na contribuição da realização das análises hematológicas.

Ao Laboratório de Patologia, na pessoa da Professora Gisele Fabrino Machado e sua equipe na contribuição nas análises histológicas.

Aos pós-graduandos: Leandro, Thiago, Saulo, Dayse, Maria Clara, Alexandre, Breno, Silvia, Gustavo, Nycolas e Thais pelo companheirismo e apoio.

Aos estagiários: Marcelo e Jeferson pela grande ajuda durante a execução desse projeto.

Aos amigos: Michele, Luís, Maurício, Marcelo, Alan, Rui, Gabriela, Milena e Dona Luzinete, pela consideração e companheirismo na amizade.

Às minhas irmãs Edna, Kátia, Renata e Sabrina, pelo eterno apoio e conforto nos diversos momentos.

E, por fim, a todos que influenciaram direta e indiretamente neste momento de importante evolução, por possibilitarem que me tornasse uma pessoa melhor e mais instruída.

Agradecimentos especiais:

Ao funcionário Carlos Renato pela enorme contribuição e disponibilidade na implantação do sistema de criação para a realização desse projeto.

Aos pesquisadores Giovani Sampaio Gonçalves e Eduardo Gianini Abimorad pelo aceite como co-orientadores, desde a acolhida, atenção e por todas as informações técnicas concedidas para o desenvolvimento deste estudo.

À Professora Elisa Helena Giglio Ponsano, pela notória atenção, por seu empenho, por seu profissionalismo, por sua disponibilidade e orientação, fundamentais à minha formação.

SUMÁRIO

Página

SUMÁRIO.....

LISTA DE ABREVIATURAS.....

LISTA DE TABELAS.....

LISTA DE FIGURAS.....

RESUMO.....

SUMMARY.....

1 INTRODUÇÃO 16

2 REVISÃO DE LITERATURA..... 17

2.1 Produção de pescados e tilapicultura..... 18

2.2 Nutrição de peixes e aditivos..... 20

2.3 Efluente da indústria de pescado e *R. gelatinosus*..... 26

2.4 Desempenho zootécnico em peixes..... 30

2.5 Hematologia em peixes..... 34

2.6 Histologia em peixes..... 38

2.7 Qualidade do pescado..... 43

2.7.1 Composição químico-bromatológica..... 44

2.7.2 pH..... 46

2.7.3 Cor..... 47

2.7.4 Rancidez..... 50

3 OBJETIVOS..... 53

4 MATERIAL E MÉTODOS..... 53

4.1 Micro-organismo, reativação, pré-inóculo e inóculo..... 54

4.2 Preparo do substrato..... 55

4.3 Produção da biomassa..... 56

4.4 Infra-estrutura para o cultivo..... 58

4.5 Manejo dos animais e do sistema de recirculação de água..... 59

4.6 Delineamento, produção de ração experimental e arraçoamento... 60
4.7 Análises zootécnicas..... 63
4.8 Avaliação hematológica..... 63
4.9 Avaliação histológica..... 65
4.10 Análises de qualidade..... 65
4.10.1 pH..... 66
4.10.2 Composição químico-bromatológica..... 66
4.10.3 Avaliação colorimétrica..... 67
4.10.4 Análise da rancidez..... 68
4.11 Análise estatística..... 68
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 68
5.1 Análises de qualidade da água..... 68
5.2 Análises zootécnicas..... 70
5.3 Avaliação hematológica..... 73
5.4 Avaliação histológica..... 80
5.5 Análises de qualidade..... 83
5.5.1 pH e composição químico-bromatológica..... 83
5.5.2 Avaliação colorimétrica..... 85
5.5.3 Análise da rancidez..... 94
6 CONCLUSÃO..... 98
REFERÊNCIAS..... 98
APÊNDICE..... 123

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	=	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	=	Adenosina Trifosfato
BPNS	=	Bactérias Púrpuras Não-Sulfurosas
BPS	=	Bactérias Púrpuras Sulfurosas
CHCM	=	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
CIE	=	Commission Internationale de l'Eclairage
DBO	=	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	=	Demanda Química de Oxigênio
FAO	=	Food and Agriculture Organization
HCM	=	Hemoglobina Corpuscular Média
MA	=	Malonaldeído
MAPA	=	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MPA	=	Ministério da Pesca e Aquicultura
NMP	=	Número Mais Provável
OMS	=	Organização Mundial da Saúde
RDC	=	Resolução da Diretoria Colegiada
RIISPOA	=	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
SNK	=	Student-Newman-Keuls
TBARS	=	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
UFC	=	Unidades Formadoras de Colônia
VCM	=	Volume Corpuscular Médio

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tratamentos do experimento com tilápias e concentrações de aditivo..... 61

Tabela 2 - Rações experimentais e composição centesimal das dietas para tilápia-do-nilo com suplementação de Carophyll Pink e biomassa de *R. gelatinosus*..... 62

Tabela 3 - Médias e desvios padrões dos parâmetros de qualidade de água dos tratamentos T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 – Biomassa 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg..... 69

Tabela 4 - Médias e desvios padrões dos resultados de peso final (PF), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar aparente (CAA) dos tratamentos T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg..... 71

Tabela 5 - Médias e desvios padrões das variáveis hematológicas da série vermelha e proteínas plasmáticas dos tratamentos T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg, de acordo com o tempo. Ht: hematócrito; Hb: hemoglobina; RBC: contagem de células vermelhas; VCM: volume corpuscular médio; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; PPT: proteína plasmática total..... 73

Tabela 6 - Médias e desvios padrões das variáveis hematológicas da série branca e trombócitos dos tratamentos T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg, de acordo com o tempo..... 76

Tabela 7 - Análise histológica dos fígados, baços e intestinos dos animais segundo o tratamento (n = 8), T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa

175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg..... 81

Tabela 8 - Médias e desvios padrões dos valores de pH e composição químico-bromatológica dos filés de tilápias, de acordo com o tratamento, T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg..... 84

Tabela 9 - Médias e desvios padrões dos valores do atributo de cor *L* (luminosidade) em 3 pontos de mensuração nos filés de tilápias nos diferentes dias, sendo T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg..... 86

Tabela 10 - Médias e desvios padrões dos valores do atributo de cor *a* (intensidade de vermelho) em 3 pontos de mensuração nos filés de tilápias nos diferentes dias, sendo T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg..... 87

Tabela 11 - Médias e desvios padrões dos valores do atributo de cor *b* (intensidade de amarelo) em 3 pontos de mensuração nos filés de tilápias nos diferentes dias, sendo T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg..... 88

Tabela 12 - Médias e desvios padrões dos valores de TBARS (mg de MA/kg) em filés de tilápias de acordo com o tratamento e o tempo de armazenamento sob congelamento, sendo T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg..... 94

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1 - *Rubrivivax gelatinosus* armazenada em ágar inclinado de Pfennig como cultura de estoque..... 54

Figura 2 - Inóculo de *Rubrivivax gelatinosus*..... 55

Figura 3 - Reatores biológicos utilizados para o cultivo do micro-organismo no efluente de indústria de processamento de pescado..... 56

Figura 4 - Liofilizador utilizado para a secagem da biomassa de *R. gelatinosus*..... 57

Figura 5 - Biomassa *de R. gelatinosus*..... 58

Figura 6 - Sistema de recirculação de água utilizado para a criação dos animais..... 58

Figura 7 - Juvenis de tilápias utilizados no experimento..... 60

Figura 8 - Animal sedado em solução de óleo de cravo-da-índia e pesagem..... 63

Figura 9 - Punção sanguínea no vaso caudal..... 64

Figura 10 - Necropsia dos peixes..... 65

Figura 11 - Insensibilização pelo gelo..... 66

Figura 12 - Espaço *Lab*..... 67

Figura 13 - Superfície de resposta tridimensional para o atributo *L* nos 3 pontos dos filés dos tratamentos com a biomassa de *R. gelatinosus* de acordo com os dias de análise e tabelas dos dados da equação de regressão e dos efeitos lineares e quadráticos (valores de p)..... 89

Figura 14 - Superfície de resposta tridimensional para o atributo *a* nos 3 pontos dos filés dos tratamentos com a biomassa de *R. gelatinosus* de acordo com os dias de análise e tabelas dos dados da equação de regressão e dos efeitos lineares e quadráticos (valores de p)..... 90

Figura 15 - Superfície de resposta tridimensional para o atributo *b* nos 3 pontos dos filés dos tratamentos com a biomassa de *R. gelatinosus* de acordo com os dias de análise e tabelas dos dados da equação de regressão e dos efeitos lineares e quadráticos (valores de p)..... 91

Figura 16 - Análises de regressão dos valores de malonaldeído dos filés em função dos dias de armazenamento sob congelamento para cada tratamento com o respectivo coeficiente de determinação (R^2)..... 95

Figura 17 - A) Superfície de resposta tridimensional para a concentração de malonaldeído dos filés em função dos dias de armazenamento sob congelamento para cada tratamento com a biomassa de *R. gelatinosus*. B) Tabela dos dados da equação de regressão e dos efeitos lineares e quadráticos (valores de p)..... 96

Rubrivivax gelatinosus NA ALIMENTAÇÃO DE TILÁPIAS PARA INCREMENTAR A QUALIDADE DOS FILÉS

RESUMO – A tilápia, além de possuir vantagens produtivas, origina produtos com grande aceitação pelo mercado. Em sua nutrição, podem ser utilizados aditivos com fins zootécnicos, pigmentantes ou antioxidantes. Este estudo avaliou o efeito da suplementação da dieta para tilápias com biomassa de *Rubrivivax gelatinosus* sobre o desempenho zootécnico e parâmetros hematológicos e histológicos dos animais, e sobre as características de qualidade dos filés. O experimento contou com seis tratamentos, compostos de um grupo controle, um grupo com pigmentante comercial e quatro grupos com a biomassa nas concentrações de 175, 350, 700 e 1400 mg/kg. Peixes pesando 21,42 ± 5,65g foram criados por 74 dias em sistema com recirculação de água e abatidos nos dias 0, 18, 43, 58 e 74. Não foram encontradas diferenças para os resultados das análises de desempenho, histológicas e hematológicas. Os filés dos grupos alimentados com os aditivos apresentaram menor umidade que o controle ($p < 0,05$) e os filés dos grupos alimentados com biomassa apresentaram maiores teores protéicos ($p < 0,05$). Não houve diferenças entre os tratamentos para os valores de pH, lipídeos e cinzas. Quanto à cor dos filés, todos os tratamentos com aditivos aumentaram a intensidade de vermelho ($p < 0,05$). Em todos os tratamentos, a rancidez dos filés foi crescente durante o armazenamento, embora em menores valores nos filés dos grupos tratados com as maiores concentrações de biomassa ($p < 0,05$). A biomassa de *R. gelatinosus* não promoveu alterações no desempenho nem nos parâmetros hematológicos e histológicos, e mostrou-se capaz de melhorar os aspectos de qualidade e conservação dos filés. Dessa forma, confirma-se a viabilidade do uso desse aditivo na alimentação de tilápias para incrementar a preservação da carne congelada.

Palavras-chave: antioxidantes, biomassa, cor, indústria pesqueira, pigmentos biológicos

Rubrivivax gelatinosus IN TILAPIA FISH FEED TO INCREASE THE FILLETS QUALITY

SUMMARY – More than having productivity advantages, tilapia fish yields products with great market acceptance. For its nutrition, additives aiming at increasing zootechnical, pigmenting or antioxidant features may be used. This study evaluated the effect of the supplementation of tilapia diets with *Rubrivivax gelatinosus* biomass on the performance and hematological and histological parameters of the animals, and on the quality of the fillets. The experiment comprised six treatments, made of a control group, a group containing commercial pigment and four groups with biomass concentrations of 175, 350, 700 and 1400 mg/kg. Fishes weighing 21.42 ± 5.65 g were reared for 74 days in a system with water recirculation and slaughtered at days 0, 18, 43 and 74. No difference was detected for performance, histological and hematological analyzes among treatments. Fillets of the groups fed additives had lower moisture than the control ($p < 0.05$) while the fillets of the groups fed the biomass had the highest protein percentages ($p < 0.05$). No differences were detected among treatments for pH, lipids and ash values. Regarding to the color of the fillets, all treatments with additives increased redness at the measured sites ($p < 0.05$). For all treatments, rancidity in the fillets increased during storage, although the groups treated with the highest biomass concentrations had the lowest values ($p < 0.05$). *R. gelatinosus* biomass did not change performance or hematological and histological parameters, and proved to be capable of improving fillets quality features and conservation. Thus, it was shown the viability of the use of this additive in tilapia feed to increase the preservation of frozen meat.

Keywords: antioxidants, biomass, color, fishing industry, biological pigments

1 INTRODUÇÃO

No novo milênio, a produção aquícola global continua crescendo e a aquicultura também evolui em termos de inovação tecnológica e de adaptação para atender às mudanças mercadológicas. Dentre os setores de produção de alimentos de origem animal, a produção aquícola é o que mais cresce e, na próxima década, deve ultrapassar a produção de bovinos, suínos e frangos. Além de representar renda para parte da população mundial, o pescado constitui importante fonte de nutrientes, principalmente como fonte protéica (FAO, 2014).

Devido aos recursos hídricos disponíveis, ao clima favorável, à mão de obra relativamente barata e ao crescente mercado interno, o Brasil insere-se no contexto do aumento da produção de pescados (SILVA et al., 2012). A aquicultura brasileira, apoiada em tilápias e algumas espécies nativas como, por exemplo, pacus e pintados, é a segunda maior da América do Sul, vindo atrás somente da produção aquícola chilena (SUSSEL, 2013).

A tilápia (*Oreochromis niloticus*) é uma espécie exótica e, no Brasil, apresenta grande potencial produtivo em função da disponibilidade de alevinos, do domínio das técnicas reprodutivas, da capacidade de aclimatação aos diferentes ambientes de criação, dos índices zootécnicos desejáveis e da aceitação da carne pelo mercado consumidor (ARAUJO, 2009).

Na nutrição animal, podem ser utilizados aditivos, inclusive de origem bacteriana, para melhorar o desempenho animal e para pigmentar ou atuar como antioxidantes nos produtos finais (VALDUGA et al., 2009). Ao se utilizar aditivos na criação de animais, são necessárias a manutenção e a verificação da homeostase animal, ou seja, da saúde animal, já que esta reflete diretamente sobre os índices zootécnicos e a qualidade dos produtos (SANTOS et al., 2009).

Rubrivivax gelatinosus é uma bactéria fototrófica natural de ambientes aquáticos e de efluentes (SASIKALA et al., 1995) que, além de diminuir a carga

orgânica, produz biomassa que contém aminoácidos essenciais, lipídeos, vitaminas e pigmentos carotenoides. Devido à sua composição, este produto pode ser utilizado como biofertilizante e como suplemento em ração animal, objetivando-se fins zootécnicos, pigmentantes ou antioxidantes (KANTACHOTE et al., 2005; PONSANO et al., 2003; 2004a; 2004b; SANTO et al., 2013).

Na produção animal intensiva, os produtos, sejam ovos, frangos ou peixes, não apresentam as mesmas cores quando comparados aos originados de animais criados em seu ambiente natural. Na natureza, os peixes se alimentam de pequenos crustáceos, plantas e algas que fornecem os pigmentos carotenoides, havendo deposição na carcaça. Dessa forma, justifica-se a adição dessas substâncias para aumentar a qualidade dos produtos finais e a aceitação do mercado consumidor (ALMEIDA JÚNIOR et al., 2012; MOTTA et al., 2009).

As características organolépticas do produto final determinam a aceitabilidade do consumidor. Dentre elas, a cor é um atributo de extrema importância, pois é um indicador das alterações químicas e bioquímicas possíveis de ocorrer durante o processamento e o armazenamento (RIBEIRO et al., 2007). Essas alterações também acarretam a deterioração do pescado, sendo a oxidação lipídica um dos mais importantes processos de degradação por gerar sabores e odores desagradáveis nos produtos (LAROSA, 2011), e que pode ser minimizada pela atuação de substâncias com propriedades antioxidantes, tais como as apresentadas por alguns carotenoides.

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação da ração de tilápias com biomassa de *R. gelatinosus* sobre o desempenho zootécnico e os parâmetros hematológicos e histológicos dos animais, e sobre as características de qualidade dos filés obtidos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRODUÇÃO DE PESCADOS E TILAPICULTURA

O cultivo de organismos aquáticos com valor econômico ou Aquicultura (ARANA, 2004) constitui uma atividade vital e em expansão do segmento agrícola e da produção animal. Enquanto a produção de pesca de captura permanece estável, a produção aquícola continua em expansão. Nas últimas cinco décadas, a oferta de pescado, como alimento, ultrapassou o crescimento da população global e, atualmente, o pescado constitui uma importante fonte de nutrientes e de proteína animal para grande parte da população mundial. Além disso, o setor proporciona meios de subsistência e de renda, tanto direta como indiretamente, para parte significativa da população mundial (FAO, 2014).

A pesca e a aquicultura forneceram ao mundo cerca de 158 milhões de toneladas de pescado em 2012 (com um valor de 144,4 bilhões de dólares), das quais, cerca de 136,2 milhões de toneladas foram utilizadas para a alimentação humana. Dentre os setores de alimentos de origem animal, a produção aquícola é a que mais cresce e, na próxima década, deve ultrapassar a produção de bovinos, suínos e frangos. Peixes e seus produtos derivados estão entre os alimentos mais comercializados, com volumes e valores em crescente expansão, contabilizando grande parte das exportações mundiais (FAO, 2014). O pescado é um dos alimentos mais versáteis e pode ser utilizado e processado em uma grande variedade de produtos, que podem ser apresentados vivos, refrigerados, congelados, tratados termicamente, fermentados, secos, defumados, salgados, em conserva, cozidos, fritos, liofilizados, picados, em pó ou como combinação dessas formas (FAO, 2009).

O Brasil possui enorme potencial para a aquicultura e como fornecedor de pescado para o mundo. Nosso país destaca-se por possuir 12% da água doce disponível do planeta (5,5 milhões de hectares de reservatórios de águas doces), um litoral de mais de oito mil quilômetros e ainda uma faixa marítima, ou seja, uma Zona Econômica Exclusiva, equivalente ao tamanho da Amazônia (BRASIL, 2011b).

A aquicultura brasileira tem se desenvolvido muitos nos últimos anos, inclusive se impondo como uma nova atividade pecuária. No Brasil, a aquicultura tem se firmado cada vez mais com caráter profissionalizante, em decorrência dos recursos hídricos disponíveis, clima favorável, mão de obra relativamente barata e crescente mercado interno (SILVA et al., 2012). A produção aquícola brasileira, apoiada em tilápias e algumas espécies nativas, como, por exemplo, pacus e pintados, é a segunda maior da América do Sul, vindo atrás somente da produção chilena. A liderança na produção já foi ocupada por vários estados e, atualmente o Nordeste é a região com maior produção, apesar de todas as regiões apresentam crescimento. Além da entrada de novos investidores na atividade, nota-se a tecnificação e a ampliação das estruturas como, por exemplo, tanques-rede e tanques escavados de maior volume, despesca mecanizada, classificador de peixes, entre outros (SUSSEL, 2013). Um levantamento do MPA apontou que os brasileiros consomem hoje 17,3 kg de pescado per capita/ano, quantidade que alcança a média mundial divulgada pela OMS (BRASIL, 2013).

A tilápia pertence à família dos ciclídeos e é considerada um exemplar exótico por proceder da Costa do Marfim, e encontra-se amplamente disseminada em regiões tropicais e subtropicais, como em Israel, no sudeste asiático (Indonésia, Filipinas e Formosa) e no continente Americano (EUA, México, Panamá e toda a América do Sul) (CARVALHO, 2006). A introdução da tilápia, em alguns países da América Latina, ocorre na década de 70 e devido aos seus excelentes parâmetros produtivos mudou o cenário da tilapicultura no continente. No Brasil, foi introduzida pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas, em 1971 (SILVA et al., 2012).

A tilápia constitui, atualmente, a espécie de maior produção da aquicultura brasileira, tendo alcançado um total de 253.824 toneladas em 2011, dos quais, 46,61% provenientes da aquicultura continental nacional, com um valor de mercado estimado em R$ 1,3 bilhões (BRASIL, 2011a). Em 2013, devido aos investimentos em ações de melhoramento genético, a produção

brasileira cresceu 17% (BRASIL, 2013), tornando o Brasil um dos maiores produtores e exportadores de tilápia (KUBITZA, 2007).

O Brasil apresenta grande potencial de produção na criação dessa espécie por ela apresentar características particulares, tais como disponibilidade de alevinos, domínio das técnicas reprodutivas, capacidade de aclimatação aos diferentes ambientes de criação, índices zootécnicos adequados, alta resistência às doenças e grande aceitação da carne pelo mercado consumidor (ARAUJO, 2009; DRUZIAN et al., 2012).

2.2 NUTRIÇÃO DE PEIXES E ADITIVOS

O fornecimento de alimentos de uma maneira adequada aos peixes pressupõe o conhecimento de uma série de informações sobre a espécie considerada, bem como sobre o valor nutritivo dos diferentes ingredientes que poderão ser utilizados na formulação da dieta a ser administrada. Estes conhecimentos devem ainda ser acrescidos de noções básicas sobre o balanceamento de dietas, processamento e preservação dos alimentos. O fato de os peixes viverem no meio aquático cria uma série de dificuldades para a obtenção de dados importantes sobre a nutrição das espécies próprias para a piscicultura intensiva, como a determinação da digestibilidade, energia metabolizável ou mesmo uma estimativa mais rigorosa da conversão alimentar (LOGATO, 2000). Estas dificuldades explicam o fato de os estudos de nutrição de peixes não terem acompanhado o desenvolvimento da nutrição de outros animais domésticos, como das aves, de suínos e de bovinos, onde a tecnologia já atingiu um estágio de controle na formulação e manipulação de rações (PEZZATO et al., 2008). A nutrição dos peixes ganhou um impulso definitivo a partir 1978, com a realização do “Simpósio Mundial de Alimentação e Processamento de Alimentos para os Peixes”, realizado em Hamburgo, na Alemanha. Em 1979, no Brasil, foi criado o Laboratório de Nutrição de Peixes, no Centro Regional Latino-Americano de Aquicultura em Pirassununga, na

esperança do desenvolvimento de trabalhos de nutrição em peixes, principalmente das espécies brasileiras potencialmente promissoras para a aquicultura (CASTAGNOLLI; CYRINO, 1986).

Os peixes, de forma geral, podem ser considerados oportunistas em relação aos itens alimentares ingeridos, principalmente em ambientes naturais. Os fatores que determinam o tipo de alimento a ser ingerido pelos peixes são: disponibilidade do alimento; distribuição espacial do peixe e do alimento no ambiente; capacidade de disfarce do peixe (predador) e do alimento (presa); mobilidade e capacidade de escape da presa; fatores abióticos do ambiente (temperatura, pH, turbidez da água) e condicionamento do peixe a determinados tipos de alimentos (LOGATO, 2000).

O manejo alimentar deve levar em consideração os hábitos e exigências nutricionais do animal, os sistemas de cultivo, a produtividade natural, as condições climáticas, o manuseio do alimento, entre outros aspectos (FURUYA et al., 2010; GOMES et al., 2012; PEZZATO et al., 2008; SANTOS et al., 2009; SILVA-SOUZA, 2006). Em relação aos tipos de cultivo, nos intensivos, usa-se uma ração completa devido às maiores exigências nutricionais pois, nesse caso, os animais não têm acesso ao alimento natural; já no cultivo semi-intensivo, usa-se a ração suplementar que deverá suprir as deficiências da alimentação natural (FURUYA et al., 2010; ROSSI; VIDAL JUNIOR, 2008).

A dieta influencia o comportamento, a integridade estrutural, a saúde, as funções fisiológicas, a reprodução e o crescimento dos peixes. Portanto, a determinação das exigências qualitativas e quantitativas dos nutrientes essenciais é de fundamental importância para uma adequada formulação das dietas para os peixes (FURUYA et al., 2010; PEZZATO et al., 2008; SILVA-SOUZA, 2006). Assim, Furuya et al. (2010) compilaram diversas informações nutricionais provenientes de pesquisas realizadas no Brasil e no exterior com tilápias e elaboraram um compêndio nutricional denominado “Tabelas Brasileiras para Nutrição de Tilápias”.

A dieta representa entre 40 e 70% do custo operacional da criação. Na dieta a ser adotada, deve-se fornecer quantidades adequadas de proteínas, lipídeos, carboidratos, vitaminas e minerais, associadas a fatores como a palatabilidade, o tamanho das partículas, a cor, a textura, a densidade e a qualidade dos ingredientes (FURUYA et al., 2010; KUBITZA, 2011; POND et al., 1995). Dentre os nutrientes exigidos para fornecimento de energia na dieta de peixes, assumem destaque os lipídeos, componentes principais por seu elevado valor energético e aplicabilidade em dietas, e as proteínas (constituinte mais oneroso), da mesma forma que para os animais terrestres. A relação energia/proteína é um dos itens de fundamental importância para a nutrição de peixes, de acordo com a espécie cultivada. No entanto, os peixes são mais eficientes no uso da energia comparados às aves e aos mamíferos. Neles, a exigência de proteínas é quantitativamente maior que a energética, como decorrência do menor consumo de energia por esses animais para a locomoção, da excreção de resíduos nitrogenados (principalmente amônia) e da maior capacidade de produção de energia pelo catabolismo protéico, além de não perderem energia para a termorregulação do organismo por serem pecilotermos (CASTAGNOLLI; CYRINO, 1986; PAIVA, 2010).

Dessa forma, verifica-se que as proteínas representam o principal nutriente para o desenvolvimento dos peixes, sendo os aminoácidos essenciais para eles os mesmos de outros animais domésticos. Os carboidratos são encontrados em pequenas proporções principalmente no fígado e nos músculos de peixes e, enquanto peixes carnívoros apresentam pouca ou nenhuma habilidade na assimilação de carboidratos, os peixes herbívoros, onívoros e planctófagos, facilmente hidrolisam os carboidratos contidos nos alimentos vegetais ou nas rações. Os lipídeos correspondem ao depósito primário de energia e os ácidos graxos presentes no corpo dos peixes caracterizam-se por conter numerosas ligações duplas não saturadas em sua estrutura, como o ácido linoléico e linolênico. As vitaminas e os minerais são importantes suplementos que, em pequenas proporções na dieta, facilitam a

ação enzimática e aceleram os processos metabólicos dos nutrientes, facilitando sua assimilação (CASTAGNOLLI; CYRINO, 1986).

As rações são processadas visando o mais eficiente aproveitamento pelos peixes e são fornecidas nas formas granuladas úmidas, granuladas secas e extrusadas (ROSSI; VIDAL JUNIOR, 2008). Os grânulos extrusados constituem, atualmente, o tipo de ração mais utilizado na aquicultura, devido à facilidade de preparação, transporte, armazenamento e alimentação dos peixes, sendo o tamanho dos grânulos muito importante para a produtividade. Geralmente, encontram-se no mercado rações para peixes carnívoros e onívoros, em diferentes fases de crescimento (LOGATO, 2000).

O adequado arraçoamento (número diário de alimentações) varia principalmente conforme a espécie, idade, qualidade da água e temperatura e é prática de fundamental importância para uma elevada produção. Espécies carnívoras podem ter maior frequência de arraçoamento em relação às onívoras e, à medida que os peixes crescem, os valores protéicos na ração devem ser reduzidos e a quantidade de ração deve ser determinada em função do peso vivo dos peixes e também da temperatura da água (médias de 2 a 5% do peso vivo, em temperaturas entre 20 a 30 ºC) (KUBITZA, 2011; PEZZATO et al., 2008).

O armazenamento das rações é um aspecto importante pois, quando estocadas de forma inadequada podem perder peso e sofrer ataque de insetos e fungos, que promovem o desenvolvimento de micotoxinas e a rancificação. Por essas razões, o teor de lipídeos não deve exceder o teor de 8% dos ingredientes totais na formulação, e a ração deve ser armazenada em locais secos e livres do ataque de ratos e insetos (CASTAGNOLLI; CYRINO, 1986).

O hábito alimentar das tilápias é fitoplantófago, ou seja, principalmente à base de algas clorofíceas, que predominam na água doce. Essa espécie aceita também outros tipos de alimento, o que a torna realmente interessante para a piscicultura, especialmente em países tropicais onde, com o aproveitamento de resíduos, é possível obter-se uma intensa produção primária. Sua exigência

protéica não é muito elevada (cerca de 22% de proteína bruta na fase de crescimento), o que reduz o custo de produção dessa espécie, mesmo se criada em sistemas intensivos (FURUYA et al., 2010; PROENÇA; BITTENCOURT, 1994). Com a recente intensificação do cultivo das tilápias em diversos países, inclusive no Brasil, utilizando tanques-rede, *raceways* e tanques com recirculação de água, houve um aumento na incidência de desordens nutricionais devido ao inadequado suprimento vitamínico e mineral das rações. Esses sistemas mais intensivos demandam o uso de rações nutricionalmente completas, com maior enriquecimento vitamínico e mineral, comparado ao utilizado em rações para cultivos de tilápias em viveiros (DRUZIAN et al., 2012; KUBITZA, 2011).

Nas rações, podem ser utilizados aditivos, que são substâncias químicas empregadas para aumentar os índices de crescimento, a produtividade, a conservação e a palatabilidade. De acordo com a definição do MAPA “aditivo para alimento é toda substância intencionalmente adicionada ao mesmo com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique seu valor nutritivo” (BRASIL, 1976). Segundo a FAO, aditivos são substâncias não nutritivas adicionadas aos alimentos com a finalidade de melhorar a aparência, sabor, textura e o tempo de armazenamento, sendo que “em certos casos, os aditivos incluídos nos alimentos para melhorar a qualidade poderão elevar a sua capacidade nutritiva” (CALIL; AGUIAR, 1999).

Segundo Logato (2000), os principais tipos de aditivos empregados em rações de peixes são:

a) Antioxidantes: possuem o objetivo de prevenir ou retardar a peroxidação. Os antioxidantes protegem, principalmente, os ácidos graxos insaturados, as vitaminas lipossolúveis e os carotenos. Podem ser naturais (α-tocoferol e lecitina), que são pouco usados devido ao seu alto custo, ou artificiais (etoxiquinina, BHA, BHT), sendo esses os mais utilizados em rações comerciais.

b) Pigmentantes: utilizados em rações de peixes em que é esperada melhor aparência para os animais ou para os produtos, segundo exigências comerciais como, por exemplo, para peixes ornamentais e salmões. Existem diferentes tipos de pigmentantes que conferem cor avermelhada à carne, sendo mais comum o β-caroteno, a criptoxantina e a astaxantina. Os pigmentantes naturais podem ser de origem animal (farinha de camarões e seus resíduos, farinha de krill e subprodutos de ovos) e vegetal (páprica, farinha de alfafa, farinha de glúten de milho e leveduras). Os pigmentantes artificiais são citranaxantina, cantaxantina e astaxantina.

c) Estimuladores de consumo: utilizados para aumentar a taxa de crescimento. Um problema comum para algumas espécies de peixe, como por exemplo os carnívoros, é conseguir um bom crescimento com fontes de proteína de origem vegetal, principalmente o farelo de soja. Dessa forma, surgiram aditivos chamados de quimioatrativos ou quimioativadores, para melhorar o flavor das rações como, por exemplo, a betaína (subproduto da extração do açúcar da beterraba).

d) Ligantes: utilizados para promover a aglutinação e/ou aumentar o valor nutricional das rações, como por exemplo, a farinha de trigo e o ágar. Devem apresentar boa estabilidade, não alterar a digestibilidade da ração e ser economicamente viáveis. Podem ser comerciais (finalidade de aglutinação) e naturais (finalidade de aglutinação e valor nutricional). Os naturais são os mais usados pois conferem maior estabilidade nas rações, principalmente, nas peletizadas.

Alguns aditivos utilizados para mamíferos e aves têm sido avaliados para peixes, principalmente carpas, *catfish* e tilápias, sendo os mais comuns os promotores de crescimento e as enzimas exógenas, visando melhorar o desempenho animal. Dentre as enzimas, destaca-se a fitase, visando melhorar o aproveitamento do fósforo e a menor poluição do ambiente aquático (LOGATO, 2000).

2.3 EFLUENTE DA INDÚSTRIA DE PESCADO e *R. gelatinosus*

A indústria de pescado gera resíduos que podem ser transformados e utilizados no desenvolvimento de novos produtos com aproveitamento mercadológico (ARRUDA, 2004). Os efluentes gerados nas indústrias de pescado apresentam elevada vazão (5,4 m^3/t de peixe processado) e concentração de matéria orgânica biodegradável, principalmente representada por proteínas e lipídeos. Os resíduos sólidos e líquidos são gerados durante as etapas de processamento do pescado, tais como recepção, condensação nas câmaras frigoríficas, evisceração, salmoura, acondicionamento em latas, cozimento, adição de óleo, recravação e lavagem das latas, autoclavagem e lavagens para resfriamento, além das lavagens de pisos e equipamentos (LIU, 2007; VALENTE et al., 2010).

O efluente da indústria de pescado apresenta pH próximo ao neutro (6,2 a 7,0), DQO média de 4300 mg/L, DBO média de 1700 mg/L e teor de óleos e graxas superior a 800 mg/L (GIORDANO, 2004). Lima et al. (2011) verificaram nesse efluente valores médios de temperatura de 20,3 ºC, sólidos totais de 1,5 g/L, turbidez de 35,7 (UT) e nitrogênio total de 813,3 mg/L. Observa-se grande variação na caracterização desse efluente, pois sua composição depende do modo de operação das indústrias, do pescado a ser processado e da época do ano, entre outros fatores (VALENTE et al., 2010). Com base na Resolução nº 430 de 2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (BRASIL, 2011), para o efluente com essas características são necessárias operações de tratamento antes do descarte.

A preocupação com a sustentabilidade ambiental dos sistemas produtivos do pescado tem levado ao desenvolvimento de práticas mitigadoras dos impactos ambientais em diversos países (SCHRYVER et al., 2008; SUBASINGHE; PHILLIPS, 2005). Além dos tratamentos convencionais existentes, os processos biotecnológicos vêm sendo empregados para tal finalidade.

Os processos realizados por agentes biológicos são denominados de bioprocessos e definidos como um conjunto de operações que efetuam o tratamento da matéria-prima/resíduo, o preparo dos meios, a esterilização e a transformação do substrato em produtos por rota bioquímica, seguida de processos de separação e purificação de produtos (PEREIRA JUNIOR et al., 2008). Muitos processos biotecnológicos utilizam micro-organismos objetivando-se a despoluição de esgotos domésticos e industriais e, adicionalmente, gerar serviços e obter novos produtos (AZEVEDO; MELO, 1998; GURPILHARES et al., 2008).

Os organismos procariontes fotossintetizantes são divididos em bactérias púrpuras e verdes e as cianobactérias. O primeiro grupo realiza a processo fotossintético anoxigênico (sem produção de O_2); já o segundo grupo, durante seu metabolismo, promove a fotossíntese oxigênica (com produção de O_2). Essas bactérias produzem vários tipos de bacterioclorofilas e pigmentos carotenoides (BROCK et al., 1994).

As bactérias púrpuras dividem-se em BPS e BPNS conforme a existência ou não da habilidade em utilizar o enxofre como doador de elétron para a utilização do dióxido de carbono (BROCK et al., 1994). A remoção de contaminantes e a recuperação de nutrientes feitas pelas bactérias fotossintéticas representam um método econômico no tratamento de águas residuais e na recuperação de recursos (MUÑOZ; GUIEYSSE, 2006). Essa capacidade já foi detectada em estudos com esses micro-organismos, em que, além de ocorrer a remoção da carga poluente, houve, também, a produção de biomassa (AZAD et al., 2001; 2004; KANTACHOTE et al., 2005; LIMA et al. 2011; PONSANO et al., 2003). Segundo Marconato e Santini (2008), biomassa é todo recurso renovável oriundo de matéria orgânica, tanto vegetal como animal.

O metabolismo anaeróbio desses micro-organismos é importante na produção da matéria orgânica, atuando como produtores primários (fotoautotróficos) ou como consumidores de compostos orgânicos reduzidos

(fotoheterotróficos) (MADIGAN et al., 2006). O bioproduto elaborado por esses organismos contém elevadas concentrações de aminoácidos essenciais, lipídeos, vitaminas e carotenoides, podendo ser utilizado como biofertilizante e suplemento em ração animal (KANTACHOTE et al., 2005; PONSANO et al., 2003; 2004a; 2004b; PRASERTSAN et al., 1997; SANTO et al., 2013; SASIKALA et al., 1995).

Rubrivivax gelatinosus é uma bactéria púrpura não-sulfurosa, natural de ambientes aquáticos e de efluentes, onde cresce contribuindo para a diminuição da carga orgânica e, consequentemente, para a purificação da água (SASIKALA et al., 1995). Sua estrutura celular possui forma de bacilo encurvado ou reto, medindo 0,4 - 0,7 X 1,0 - 3,0 µm. Pequenas invaginações em forma de dedo da membrana citoplasmática representam suas membranas fotossintéticas. As células possuem formato oval e são móveis devido à presença de flagelos e sua multiplicação ocorre à temperatura de 30 ºC e pH entre 6,0 - 8,5. Sob condições anaeróbias na presença de luz, ocorre o crescimento fotoheterotrófico com vários substratos orgânicos como doadores de elétrons, sendo o modo preferido de crescimento sob condições de laboratório, embora os crescimentos aeróbico e fermentativo também sejam possíveis de ocorrer. *Rubrivivax gelatinosus* utiliza um conjunto de fontes de carbono, incluindo amido hidrolizado e gelatina, por causa das enzimas hidrolisantes peculiares que produz. Essa bactéria também possui a capacidade de fixação de carbono e nitrogênio (NAGASHIMA et al., 2012; WILLEMS et al., 1991). A bacterioclorofila *a* e os carotenoides estão presentes como pigmentos fotossintéticos. Suas colônias vão do rosa ao vermelho escuro devido à presença dos pigmentos, sendo que, em condições heterotróficas, as colônias são inicialmente rosas (WILLEMS et al., 1991).

Ponsano et al. (2003; 2008) avaliaram a capacidade despoluente de *Rubrivivax gelatinosus* em efluente de abatedouro avícola e obtiveram uma redução de cerca de 90% da DQO. O crescimento de *Rubrivivax gelatinosus* também foi avaliado em efluente de indústria de processamento de pescado

com resultados positivos para redução da carga poluente e produção de biomassa (LIMA et al., 2011). Esse produto apresenta em sua composição proteínas, carboidratos, lipídeos, cinzas e pigmentos carotenoides da série espiriloxantina (LIMA et al., 2011; PONSANO et al. 2002b; 2003; 2004a; 2004b), motivo pelo qual esses autores indicam a utilização da biomassa da bactéria como aditivo alimentar em ração de aves, a fim de intensificar a pigmentação de carcaças de frangos de corte e da gema de ovos.

Ponsano et al. (2002b) compararam o uso da biomassa de *Rhodocyclus gelatinosus* (nome científico anterior) com o uso de pigmentos sintéticos na ração de frangos de corte e verificaram um amarelamento das carcaças, principalmente na pele. Ponsano et al. (2004a) encontraram resultados positivos para ganho de peso e conversão alimentar de frangos de corte, na concentração de 300 ppm de biomassa na ração das aves. Avanço (2012) avaliou o efeito de diferentes concentrações da biomassa de *R. gelatinosus*, adicionada na ração de frangos de corte e verificou um aumento da pigmentação na pele da coxa e na carne do peito desses animais. Em outros estudos, Polonio et al. (2010) e Ponsano et al. (2004b) encontraram uma intensificação da cor das gemas de ovos utilizando a biomassa da bactéria na alimentação das galinhas poedeiras. Os autores verificaram que o uso do produto tornou as gemas mais escuras e avermelhadas, alcançando a preferência de consumidores locais.

A fim de sugerir a aplicação segura da biomassa de *Rubrivivax gelatinosus* em alimentação animal, Ponsano et al. (2011) investigaram sua composição microbiológica, obtendo os seguintes resultados: bactérias mesófilas aeróbias e facultativas viáveis 5,3 x 10^6 UFC/g, coliformes a 35 ºC 20,27 NMP/g, coliformes a 45 ºC < 1,0 NMP/g, bolores e leveduras 1,2 x 10^3 UFC/g e ausência de estafilococos coagulase positivo, *Aeromonas* sp. e *Salmonella* sp. Os resultados encontrados confirmaram as boas práticas utilizadas na produção da biomassa e estão em acordo com a RDC 12/2001, que regulamenta os padrões microbiológicos para alimentos de consumo

humano no item “Aditivos intencionais, coadjuvantes de tecnologia e similares” (ANVISA, 2001), assegurando, assim, sua utilização em ração animal.

Em relação ao processo produtivo, Santo et al. (2013) compararam duas técnicas para a secagem da biomassa de *Rubrivivax gelatinosus* e encontraram em sua composição aproximadamente 55% de proteinas, 12% de lipídeos e 4% de sais minerais e 0,3% de oxicarotenoides.

2.4 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO EM PEIXES

O grande objetivo de uma criação de peixes é que esses cresçam rapidamente e apresentem índices produtivos adequados (BALDISSEROTO, 2009). Os índices zootécnicos de produção dos peixes estão associados à sua homeostase orgânica, com reflexos na qualidade do filé produzido (SANTOS et al., 2009). Os mecanismos que contribuem para o crescimento dos peixes ainda não estão totalmente compreendidos; porém, sabe-se que a ingestão e a qualidade do alimento, a secreção hormonal, a idade e o genoma animal e o ambiente são fatores que regem o crescimento (PEZZATO et al., 2008).

Uma das dúvidas mais frequentes na produção é se o manejo alimentar empregado é o mais adequado e eficiente (MACENA et al., 2012). Deficiências nutricionais podem reduzir a taxa de crescimento ou resultar em doenças e, em alguns casos, o excesso de nutrientes pode causar uma redução na taxa de crescimento (LOUREIRO, 2005). Os peixes, mesmo quando alimentados com dietas formuladas para um bom desempenho, podem apresentar deficiência, denominada marginal. Nessas condições o peixe pode ter crescimento adequado, estar aparentemente saudável, porém com reduzida resistência a doenças. Essa condição pode ser agravada quando os animais são submetidos a condições de estresse (ARAUJO, 2009).

Com relação ao crescimento, a presença de estressores gera prejuízos na produção e a redução do potencial de crescimento de peixes nessa situação está ligada ao aumento do gasto energético na busca da homeostase. O

consumo de alimento também pode ser afetado, influenciando os índices de desempenho animal. Dessa forma, o estado fisiológico em peixes, regido por fatores bióticos e abióticos, é considerado indicador de bem-estar animal (OLIVEIRA, 2009).

O consumo de ração pelos peixes varia com: a temperatura da água; o tamanho dos peixes; a concentração de oxigênio dissolvido, gás carbônico e amônia não ionizada na água; a disponibilidade de alimentos; a ocorrência de doenças; qualidade da ração (palatabilidade, valor nutritivo, tamanho do *pellet* e estabilidade na água). Sob as mais variadas condições de cultivo, estes fatores agem de forma simultânea e complexa, influenciando o bem-estar geral e, consequentemente, na resposta alimentar dos peixes. Assim, o piscicultor deve ficar atento ao manejo da alimentação, ajustando a taxa de arraçoamento de acordo com a resposta dos peixes e com as condições ambientais. Uma boa resposta alimentar indica que os peixes se encontram em boa condição de saúde e em água de adequada qualidade (KUBITZA, 2011).

Para se obter a produtividade desejada, é aconselhável fazer um acompanhamento periódico por meio de amostragens que servem para verificar se os peixes apresentam crescimento esperado, corrigir o fornecimento da ração e identificar problemas nutricionais ou doenças, ainda na fase inicial da criação. As amostragens podem ser realizadas em 20% do plantel, com cuidado para evitar ferimentos, situação na qual se deve pesar os animais, individualmente ou em grupo. Com as informações obtidas, são calculados alguns índices que permitirão verificar a eficiência da produção de peixes como, por exemplo, o ganho de peso, a conversão alimentar aparente, a taxa de sobrevivência e a taxa de crescimento específico (ROSSI; VIDAL JUNIOR, 2008).

No estudo do crescimento, é importante considerar a conversão alimentar aparente, pois é difícil precisar se realmente os peixes ingeriram todo o alimento fornecido (BALDISSEROTO, 2009). O índice de conversão alimentar aparente é calculado dividindo-se a quantidade total de ração

fornecida pelo ganho de peso total dos peixes. O ganho de peso é calculado subtraindo-se, da produção obtida, o peso total dos peixes no início da criação (KUBITZA, 2011). A conversão alimentar indica se o peixe está aproveitando bem o alimento e, quanto maior o ganho de peso com menor quantidade de alimento fornecido, melhor será a conversão, ou seja, menores valores são melhores (BALDISSEROTO, 2009). A correta determinação da conversão e do tempo de cultivo é fundamental para a avaliação da relação custo/benefício das rações comerciais disponíveis (KUBITZA, 2011).

Segundo Kubitza (2011) os índices de desempenho zootécnico nos peixes podem ser afetados por vários fatores, entre eles:

a) Qualidade do alimento: a composição deve suprir as exigências nutricionais, resultando em melhores índices;

b) Espécie: há variação de acordo com as demandas energéticas e fisiológicas; com o comportamento e as interações sociais; com a precocidade e com o comportamento na reprodução; com a eficiência da digestão dos alimentos e com o metabolismo dos nutrientes. Em qualquer grupo de peixes sempre existem alguns animais que crescem mais rápido, sendo que os peixes socialmente dominantes tendem a tornar-se maiores. Dessa forma, indica-se fazer uma separação periódica dos lotes.

c) Idade ou tamanho dos peixes: peixes menores (mais jovens) apresentam melhores índices, pois apresentam uma maior relação de crescimento/exigência de manutenção comparados a peixes de tamanho maior.

d) Sexo e reprodução: algumas fêmeas direcionam grande quantidade de energia para a produção de ovos e no cuidado parental, portanto, crescem mais lentamente e apresentam piores índices. De uma forma geral, os índices tendem a diminuir na fase de reprodução, devido ao maior gasto energético (formação de gônadas, cortejo, disputa pelos parceiros, construção e defesa dos ninhos e cuidado parental).

e) Disponibilidade e capacidade de aproveitamento do alimento natural: uma maior disponibilidade de alimento natural contribui para melhores índices. Peixes como as tilápias, por apresentarem melhor aproveitamento do alimento natural, tendem a apresentar melhores índices de conversão alimentar aparente em relação, por exemplo, aos peixes carnívoros, já que esses não aproveitam o plâncton.

f) Qualidade da água: quanto melhor a qualidade da água, melhores serão os índices. Baixos níveis de oxigênio, variações de pH, elevada concentração de gás carbônico e metabólitos tóxicos e baixas temperaturas resultam em redução no consumo de alimento. No inverno, a conversão de tilápias, por exemplo, tende a dobrar.

g) Densidade de estocagem: o aumento da densidade geralmente piora os índices, pois reduz a disponibilidade de alimento e compromete a qualidade da água.

h) Níveis de alimentação: com níveis baixos, apenas serão satisfeitas as exigências de manutenção, resultando em ganho de peso praticamente zero; o aumento nos níveis de alimentação, acima do exigido para a manutenção, promove o crescimento e a melhora da conversão. Com uma maior ingestão, a passagem do alimento no trato digestório é mais rápida, com diminuição da eficiência digestiva e da assimilação dos nutrientes.

i) Doenças: animais doentes deixam de se alimentar e de ganhar peso, com menores índices. Além disso, podem causar elevada mortalidade.

A tilápia é uma espécie que vem se destacando no cenário de produção de peixes de água doce e é bastante apreciada por piscicultores de todo o mundo por apresentar elevada prolificidade e rusticidade, bons índices de crescimento e alta resistência às doenças, destacando-se os fatos de aceitar bem as rações e de apresentar custo de produção relativamente baixo, resultando num desenvolvimento satisfatório (ASSANO et al., 2011; DRUZIAN et al., 2012; MORAES et al. 2009). A viabilidade econômica dessa atividade zootécnica está associada, entre outros aspectos, ao manejo e gerenciamento,

não bastando ter apenas bons viveiros a baixo custo, mas sendo preciso observar, também, a quantidade e qualidade da água, o manejo da densidade e o tipo de ração (CARVALHO et al., 2010).

É um peixe típico de regiões quentes e possui capacidade fisiológica de adaptar-se a diferentes sistemas de produção, sendo a faixa ótima para seu desenvolvimento produtivo, de 25 a 30 ºC, com temperaturas letais mais baixas e mais elevadas de 9 ºC e 42 ºC, respectivamente. Além disso, as tilápias suportam bem faixas de pH entre 5 e 9; abaixo e acima desses valores, apresentam baixa sobrevivência e menores taxas de desenvolvimento (ALMEIDA JÚNIOR et al., 2012; BARBOSA et al., 2009; SILVA et al., 2012). Macêdo et al. (2004) afirmam que, em águas com teores de oxigênio dissolvido em torno de 4 - 5 mg/L, ocorre a mortalidade de algumas espécies de peixes, com exceção da tilápia, que é bastante resistente a baixas concentrações de oxigênio dissolvido, como por exemplo, até 1,2 mg/L. Entretanto, baixos teores de oxigênio tornam os peixes susceptíveis às doenças e diminuem seu desempenho (KUBITZA, 2011).

2.5 HEMATOLOGIA EM PEIXES

Com o crescente interesse pelo cultivo de peixes, cada vez mais informações sobre as características hematológicas são necessárias, uma vez que constituem valiosa contribuição para o diagnóstico de doenças e para a avaliação dos efeitos de medicamentos e de tratamentos, de situações de estresse, do estado nutricional, das interações parasito-hospedeiro, da reprodução e das variações ambientais (GHIRALDELLI, 2005; SILVA-SOUZA et al., 2012; TAVARES-DIAS, 2009). A hematologia em pesquisas com animais é bem aceita e considerada procedimento de rotina em métodos de diagnóstico. Entretanto, em peixes, este tipo de diagnóstico tem se aperfeiçoado nos últimos anos e ainda necessita de novas informações (SILVA-SOUZA et al., 2012). Os estudos hematológicos das diferentes espécies piscícolas são de

interesse ecológico e fisiológico, pois auxiliam na compreensão da relação entre as características sanguíneas, a filogenia, a atividade física, o habitat e a adaptabilidade (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004).

As características hematológicas normais de peixes sadios devem ser conhecidas para que o diagnóstico do seu estado de saúde, ou nutricional, seja confiável, principalmente por apresentarem ampla variação em função de fatores bióticos e abióticos (ARAUJO, 2009; PEREIRA, 2013). Fatores como espécie, sexo, idade, alimentação, temperatura da água, concentração de oxigênio e de gás carbônico, salinidade e pH do meio devem ser considerados por ocasião da interpretação do quadro sanguíneo dos peixes (FURUYA et al., 2010; GHIRALDELLI, 2005).

O tecido sanguíneo, que é um dos tecidos mais dinâmicos do organismo, banha todos os demais, exceto o epitelial e cartilaginoso e, devido a essa condição fisiológica, seu estudo torna-se estratégico para a avaliação do quadro homeostático de peixes (ISHIKAWA et al., 2010; SARAN-NETO et al., 2009). Nos peixes teleósteos, o tecido hematopoiético localiza-se, preferencialmente, no interstício renal, no estroma esplênico e, em menor proporção, nos espaços periportais hepáticos, na mucosa intestinal, no peritôneo e no timo (DIAS et al., 2007; TAVARES-DIAS; MORAES, 2004).

O exame hematológico exige que a colheita sanguínea seja realizada de forma rápida e precisa, pois se a captura, a contenção e a punção do animal forem realizadas de forma inadequada, podem ocasionar alterações nos parâmetros sanguíneos. Em relação à captura, os peixes devem estar em jejum por pelo menos 12 horas e deve-se evitar o estresse, os traumas e a retirada excessiva de muco. A contenção deve ser feita com um pano úmido sobre os olhos, e em alguns casos é indicado o uso de anestésicos. A punção mais realizada é a venopunção de vasos localizados na região caudal, sendo que as punções branquial e intracardíaca também são utilizadas, principalmente em situações em que a venopunção caudal não pode ser realizada, como em casos que as peculiaridades anatômicas dos peixes não a

permitem. Após a colheita do sangue recomenda-se a confecção das extensões sanguíneas, que serão fixadas, coradas e utilizadas posteriormente para contagem total e diferencial das células. O sangue colhido deve ser armazenado sob refrigeração (entre 5 a 7 ºC) e o processamento deve ser realizado o mais breve possível (cerca de 12 h), devido às possíveis alterações que podem interferir nos resultados (ISHIKAWA et al., 2010).

Embora existam inúmeras pesquisas a respeito dos parâmetros hematológicos em peixes, a literatura apresenta muitas informações inconsistentes em relação à nomenclatura, à diferenciação celular, à maturação e à função das células sanguíneas dos peixes (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004). As oscilações dos valores hematológicos em peixes são influenciadas por diversos fatores ambientais e endógenos e essas variações ocorrem não só entre espécies, mas, também, entre indivíduos da mesma espécie (SILVA et al., 2012; UEDA et al., 1997).

Um dos procedimentos mais importantes para a avaliação hematológica é o exame dos elementos figurados no sangue, que incluem a quantificação da concentração de cada elemento, o cálculo dos índices hematimétricos e uma observação microscópica meticulosa da morfologia celular. A maioria das disfunções hematológicas pode ser definida pelas anormalidades específicas apontadas nestes procedimentos. Eritrócitos, leucócitos e trombócitos são os componentes do sangue dos peixes teleósteos (MILLER; GONÇALVES, 1999; PAIVA, 2010).

A série vermelha inclui a contagem de eritrócitos, a determinação do índice hematócrito (relação percentual células do sangue pelo volume de sangue), a concentração de hemoglobina e a determinação dos índices hematimétricos (VCM, HCM e CHCM) capazes de detectar alterações provocadas pela ação de drogas sobre a eritropoiese, na depleção de ferro e em estados anêmicos (GHIRALDELLI, 2005). Os eritrócitos são nucleados, sendo as células mais abundantes na circulação. A principal função é o transporte de oxigênio e gás carbônico por meio da combinação da

hemoglobina com oxigênio formando oxihemoglobina, nos tecidos respiratórios, ocorrendo posterior troca pelo gás carbônico tecidual (LEDIC-NETO, 2013). A avaliação morfológica dos glóbulos vermelhos (tamanho, forma e coloração) pode permitir a caracterização de um quadro de anemia e seus efeitos (MILLER; GONÇALVES, 1999; PAIVA, 2010).

Os leucócitos são as células responsáveis pela defesa do organismo e utilizam as vias sanguíneas para realizar o monitoramento de possíveis infecções e/ou injúrias teciduais (LEDIC-NETO, 2013). Os linfócitos estão relacionados à produção de anticorpos e resposta celular humoral e representam a quase totalidade dos leucócitos. Os neutrófilos são importantes componentes do sistema imunológico que formam a primeira linha de defesa celular contra agentes invasores e têm como função a fagocitose. Os monócitos são células com função fagocitária e de eliminação de bactérias, além de serem precursores de macrófagos (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004). As funções dos eosinófilos e basófilos ainda estão por ser mais bem esclarecidas, mas estão ligadas a processos alérgicos e resposta imunológica (SILVA-SOUZA, 2006).

Os trombócitos são células responsáveis pela coagulação sanguínea, que migram para focos inflamatórios e também atuam na defesa humoral desempenhando função fagocítica. Os trombócitos, juntamente com os leucócitos formam uma população celular de defesa orgânica; assim os trombócitos têm sido incluídos na contagem diferencial de células de defesa (MARTINS et al., 2008; TAVARES-DIAS; MORAES, 2004).

As metodologias de quantificação dos leucócitos em peixes, ao contrário das dos mamíferos, apresentam uma série de dificuldades devido à imprecisão da diferenciação entre os leucócitos e os trombócitos. Dessa forma, a contagem de eritrócitos é realizada na câmara de Neubauer; já a contagem de leucócitos e trombócitos é realizada em extensões sanguíneas, pois é um método de melhor diferenciação entre esses dois tipos celulares (ISHIKAWA et al., 2008; TAVARES-DIAS; MORAES, 2004).

A avaliação desses componentes auxilia na determinação da influência de condições fisiopatológicas que possam afetar a homeostase, colaborando, assim, no diagnóstico de condições adversas (GHIRALDELLI, 2005; SARAN-NETO et al., 2009; SILVA-SOUZA et al., 2012).

Em tilápias, os elementos figurados do sangue periférico são eritrócitos, trombócitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos. Ueda et al. (1997), ao avaliar parâmetros hematológicos de tilápias entre 135 a 370 g, mantidas em tanques aerados e com temperatura da água de 20 ºC, encontraram valores médios de eritrócitos, de hemoglobina e de hematócrito de, respectivamente, 2,35 x 10^6/mm^3, 7,04 g/dL e 27,85%. Os eritrócitos e os trombócitos geralmente possuem forma elíptica (UEDA et al., 1997).

2.6 HISTOLOGIA EM PEIXES

A histologia é a ciência que estuda os tecidos e a histopatologia a ciência que estuda os fenômenos patológicos que ocorrem nos tecidos (SILVA-SOUZA, 2006). A histopatologia constitui uma ferramenta valiosa para avaliar o dano celular direto e indireto e suas consequências. A análise histopatológica inclui a avaliação de processos agudos e crônicos, tais como a inflamação aguda, onde as células são lesadas ou mortas e as estruturas vizinhas permanecem intactas. A inflamação crônica constitui parâmetro de grande importância em avaliações de efeitos de um determinado agente (medicação, suplementos), pois há formação de tecidos de granulação, granulomas com a presença de células gigantes, observações conclusivas da ação tóxica de certos compostos. Outro padrão de doença diagnosticável no exame histopatológico é a alergia, sendo que, neste caso, a análise revela um infiltrado de eosinófilos e alterações nos tecidos, como o espessamento da membrana das células (LEDIC-NETO, 2013; PAIVA, 2010).

Dessa forma, para o reconhecimento de fenômenos histopatológicos é necessário se conhecer a constituição e a estrutura normais dos tecidos e/ou

órgãos. Os estudos histopatológicos são, com frequência, um forte adjuvante no diagnóstico de doenças de peixes e de alterações teciduais, verificando-se um interesse crescente, especialmente após o forte desenvolvimento da piscicultura (SILVA-SOUZA, 2006). Apesar disso, Gomes et al. (2012) sugerem a realização de mais estudos histológicos para uma melhor análise da anatomia dos órgãos de peixes, por exemplo, em situações de doenças, de exposição a agentes tóxicos e a interferência da alimentação nos órgãos desses animais.

Isoladamente, a histopatologia gera dados sobre lesões em níveis teciduais, não especificando a causa pontual da lesão, mas sim a resposta biológica à agressão, ao estresse. No entanto, quando associados a outros métodos de análises, os estudos histológicos podem auxiliar na compreensão profunda de determinadas situações. As técnicas de colheita, o processamento do material histológico e a escolha de um fixador adequado são pré-requisitos para a obtenção de bons resultados, com correta interpretação. Para isso, a escolha dos órgãos que serão alvo de estudo é crucial para a relevância dos dados obtidos (LINS et al., 2010).

Os principais órgãos envolvidos em alterações patológicas em peixes são as brânquias, o tegumento, os olhos, o tubo digestivo, a bexiga natatória, o fígado, o pâncreas, os rins, o baço e o coração (SILVA-SOUZA, 2006). Nesta seção serão abordados os aspectos histológicos e anatômicos do fígado, do baço e dos intestinos de peixes, órgãos em análise no presente estudo.

O baço funciona como um órgão hematopoiético, um local de filtração do sangue e de destruição celular, de degradação de antígenos e de produção de anticorpos e para o armazenamento de eritrócitos, sendo local de reserva imediata de células sanguíneas. Está envolvido em todas as inflamações sistêmicas, doenças hematopoiéticas generalizadas e distúrbios metabólicos mas, raramente, é o local primário de doenças. É o único órgão semelhante aos linfonodos encontrados em mamíferos, sendo vermelho escuro ou preto e, geralmente de bordas definidas. Situa-se perto da maior curvatura do

estômago ou da flexão do intestino. Embora geralmente único, pode, em algumas espécies, ser dividido em dois ou mais baços menores. A maioria dos baços examinados à necropsia é normal e, em sua avaliação, pode ser constatada grande quantidade de sangue (GENTEN et al., 2009; NOGA, 2010). É principalmente linfopoiético, mas não exclusivamente. O baço de peixes teleósteos é diferente do baço de mamíferos, pois as áreas de polpa vermelha e branca são difusas e a estrutura do tecido conjuntivo não é proeminente (GENTEN et al., 2009; MUMFORD et al., 2007; NOGA, 2010).

A polpa esplênica é constituída de elipsoides (capilares filtradores que possuem uma parede espessa) com capacidade fagocitária e com numerosos eritrócitos e por tecido hematopoiético, onde se podem observar eritroblastos, eritrócitos imaturos e maduros, linfócitos, macrófagos e outras células (SILVA-SOUZA, 2006).

Os teleósteos apresentam quantidade variável de centros de melanomacrófagos nos diferentes tecidos, em particular fígado, baço e rim (MESSEGUER et al., 1994). Centros de melanomacrófagos são frequentemente observados próximos dos vasos sanguíneos; são agregados pigmentados de macrófagos e variam com a espécie, a idade e o estado de saúde do animal (DIAS et al., 2007; LEDIC-NETO, 2013). Lipofucsina, hemossiderina, ceróide e melanina são pigmentos que os constituem e apresentam atividades funcionais (BALAMURUGAN et al., 2012). A função geral destes agregados é a centralização da destruição, desintoxicação ou reciclagem de materiais endógenos e exógenos. Embora encontrados em peixes saudáveis, os centros de melanomacrófagos aumentam em número com o estresse crônico. A formação desses centros, quando apropriadamente analisados, pode evidenciar a resposta de organismos aquáticos diante de agentes estressores, tais como patógenos, agentes tóxicos e mudanças na temperatura da água, além de serem considerados bioindicadores de poluição (LEDIC-NETO, 2013).

O fígado é um órgão central, com inúmeras funções vitais do metabolismo básico dos vertebrados, pois processa, distribui e fornece nutrientes para todos os outros órgãos e tecidos pela circulação, além de atuar na detoxificação de poluentes e de medicamentos (SANTOS et al., 2004; SILVA-SOUZA et al., 2012). Exerce funções muito importantes no metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídeos, além de secretar a bile (SILVA-SOUZA, 2006).

O fígado de peixes teleósteos possui um considerável volume em relação ao corpo. É marrom-avermelhado nas espécies carnívoras e marrom-claro nas herbívoras. Nos peixes cultivados, que se alimentam de ração, sua cor é habitualmente mais clara do que a dos peixes, da mesma espécie, que se encontram na natureza. Em algumas espécies é um órgão compacto que se combina com o pâncreas, formando o hepatopâncreas (MUMFORD et al., 2007).

O fígado é uma glândula digestiva composta por parênquima celular (hepatócitos) e por fibras que promovem sua sustentação. A superfície hepática é revestida por uma membrana serosa e o tecido conectivo dessa cápsula penetra no parênquima hepático. Os hepatócitos são células uninucleadas com forma poligonal que possuem importantes funções metabólicas. Também é possível visualizar no fígado vascularização de grande calibre, sinusoides (vasos sanguíneos de pequeno calibre), ductos biliares, tecido pancreático e centros melanomacrofágicos. A histologia do fígado dos peixes difere da dos mamíferos, pois os hepatócitos possuem menor tendência a se dispor em cordões ou em lóbulos e as tríades típicas do portal não são óbvias (LINS et al., 2010; MUMFORD et al., 2007; ROTTA, 2003). Nos peixes cultivados, os hepatócitos são, muitas vezes, inchados com glicogênio (extensas vacuolações irregulares) ou com gordura. O fígado com degeneração gordurosa é amarelado, com grau de intensidade proporcional ao acúmulo de gordura. A quantidade de gordura pode ser tão extensa que desloca o núcleo do hepatócito para a periferia e dá ao parênquima a

aparência de um tecido adiposo (GENTEN et al., 2009; MUMFORD et al., 2007; NOGA, 2010).

A detoxificação de substâncias estranhas é uma das mais importantes funções do fígado dos peixes, por isso, é considerado o órgão alvo de muitos parâmetros biológicos e ambientais. Essas substâncias podem causar alterações na estrutura e no metabolismo, e podem ser provenientes da alimentação, da presença de parasitas e micro-organismos, e da contaminação ambiental (FRODELLO et al., 2001; SANTOS et al., 2004). O fígado dos peixes é especialmente susceptível à ação de produtos químicos devido à lentidão do fluxo sanguíneo em relação ao débito cardíaco. Além disso, o fluxo biliar é cerca de 50 vezes mais lento que o de mamíferos, tornando a depuração de produtos tóxicos mais vagarosa. Dessa forma, os elementos tóxicos que chegam ao fígado pela corrente sanguínea exercem efeitos nos hepatócitos por maior tempo do que o fariam em mamíferos, mesmo em concentrações mais baixas (CAMPOS et al., 2008).

Necrose hepática é frequentemente observada em situações tóxicas de origem vírica, bacteriana, micótica, algal e em casos de contaminação da água por pesticidas ou metais pesados. Doenças de etiologia nutricional, especialmente as relacionadas com alterações lipídicas, provocam frequentemente alterações em nível hepático (SILVA-SOUZA, 2006).

O intestino, na maioria dos peixes, apesar de sua relativa extensão, é um simples tubo que pode variar de acordo com a dieta (GENTEN et al., 2009; MUMFORD et al., 2007; NOGA, 2010). Nos peixes, além da função de digestão e absorção, o intestino pode desempenhar outras funções, como auxiliar na osmorregulação ou na respiração. O intestino é um tubo que possui início na válvula pilórica e término no reto, não sendo separado em delgado e grosso, como nos mamíferos (ROTTA, 2003). Pode ser reto, sigmoide ou enrolado, de acordo com a forma da cavidade celomática. Tem um epitélio mucóide, simples e colunar, que recobre uma submucosa e, essa, em muitas vezes apresenta abundantes células granulares eosinofílicas e é limitada por uma camada

mucosa muscular densa e fibroelástica (GENTEN et al., 2009; MUMFORD et al., 2007; NOGA, 2010). Possui glândulas digestivas e um suprimento abundante de vasos sanguíneos e linfáticos, sendo o local do término da digestão iniciada no estômago (ROTTA, 2003).

A porção anterior do intestino funciona para transportar o alimento do estômago para o intestino posterior, para completar a digestão pela secreção de enzimas a partir das suas paredes e das glândulas acessórias, para absorver os produtos finais da digestão e para a secreção de certos hormônios. As funções do intestino posterior incluem a absorção de líquidos, a secreção mucosa (mais células caliciformes), a digestão enzimática e a excreção (GENTEN et al., 2009; NOGA, 2010).

Os enterócitos (células que revestem as paredes do intestino) possuem pequenas pregas em sua membrana apical, as microvilosidades, formando a chamada "borda em escova" que mantêm contato com o lúmen intestinal e têm por finalidade aumentar a área de absorção dos nutrientes. O comprimento dessas microvilosidades também pode ser alterado conforme o estado nutricional do peixe, diminuindo nas situações de jejum prolongado. Os mecanismos de absorção dos nutrientes são semelhantes aos de outros vertebrados, mas ainda não estão totalmente definidos (ROTTA, 2003).

Condições tóxicas agudas de origem vírica, bacteriana, química ou provocadas pela proliferação de algas ou cianobactérias podem provocar descamação e arrasamento da mucosa intestinal e lesões inflamatórias (SILVA-SOUZA, 2006).

2.7 QUALIDADE DO PESCADO

Existe uma variedade de definições sobre a qualidade de produtos alimentícios. Para o consumidor, os atributos de qualidade mais importantes são suas características sensoriais (textura, sabor, aroma, forma e cor). Elas determinam a preferência individual por produtos específicos e fazem com que

pequenas diferenças entre marcas de produtos tenham uma diferença substancial na aceitação. Um objetivo contínuo dos fabricantes de alimentos é buscar melhorias no processamento que retenham ou criem qualidades sensoriais desejáveis ou reduzam os danos causados pelo processamento (PEREDA et al., 2005).

Em relação aos produtos da pesca e aquicultura, geralmente o termo qualidade se refere, principalmente, à aparência estética, ao frescor, à deterioração e à inocuidade. Além disso, deve atender às expectativas dos quatro segmentos que participam de sua cadeia produtiva, que são o consumidor final, a cadeia de criação e distribuição, os transformadores e os poderes públicos (GONÇALVES, 2011). A verificação dos atributos de qualidade pode ser realizada por métodos físicos, químicos, bioquímicos, microbiológicos e sensoriais. Devido à complexidade do processo de deterioração do pescado, o uso combinado de alguns métodos para avaliar os atributos de qualidade é mais viável (OGAWA; MAIA, 1999; OTANI, 2009).

O pescado é um componente importante na dieta humana, como fonte de nutrientes (proteínas, lipídeos e componentes bioativos) e, dessa forma, a indústria do pescado fornece grande variedade de produtos e subprodutos para o consumo (GONÇALVES, 2011; OLIVEIRA et al., 2012).

A carne de tilápia apresenta características típicas preferidas pelo mercado consumidor, tais como sabor e textura delicados, fácil filetagem e ausência de espinhas em Y, o que coloca a tilápia como o segundo grupo de peixes de maior importância na aquicultura mundial, somente atrás das carpas (ASSANO et al., 2011; JAMAS, 2012; SOUZA, 2002).

2.7.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICO-BROMATOLÓGICA

O pescado é um alimento de alto valor nutritivo e o grande atrativo desta carne em relação às demais é conter proteínas de alta qualidade e de rápida digestibilidade, todos os aminoácidos essenciais, alto teor de lisina, ser fonte

de vitaminas lipossolúveis e do complexo B, minerais e ácidos graxos poli-insaturados ω3, necessários ao desenvolvimento do cérebro e do corpo, e baixo teor de colesterol (LAROSA, 2011; OLIVEIRA et al., 2012; SANTOS, 2013).

O conhecimento da composição química do pescado é importante, não somente sob o ponto de vista nutricional, como também no aspecto tecnológico, como indicativo para o manejo adequado para um melhor aproveitamento das espécies (GONÇALVES, 2011; OGAWA; MAIA, 1999). A composição química do pescado é extremamente variável e depende de vários fatores como da época do ano, do tipo, quantidade e qualidade do alimento consumido, do estágio de maturação sexual, da idade e da parte do corpo analisada (KUBITZA, 2011; SANTOS et al., 2009).

O músculo do pescado contém aproximadamente 60 a 85% de umidade, 16 a 22% de proteínas, 0,4 a 2% de cinzas, 0,3 a 1% de carboidratos, e 0,6 a 36% de lipídeos, sendo que este último componente apresenta uma variação mais significativa. O pescado possui uma variável proporção de carne escura no seu corpo, o que não se observa em outros animais. Esta carne mostra-se com menor conteúdo de umidade do que a carne branca; além disso, o conteúdo de proteína é consideravelemnte menor e o conteúdo lipídico mostra-se mais alto. Cinzas quase não apresentam diferenças nos dois tipos de carne (MONTEIRO, 2011; OGAWA; MAIA, 1999; SARMIENTO, 2006).

Dentre as vitaminas encontradas estão A, D, E, K, tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido nicotínico, ácido pantotênico, ácido fólico e vitamina C. Em relação aos minerais, sódio, potássio, cálcio, magnésio, fósforo, cloro, enxofre, ferro, iodo, cobre, zinco, selênio, cromo e níquel, entre outros são encontrados no músculo dos peixes (OGAWA; MAIA, 1999). Peixes de água doce contêm, eventualmente, teores inferiores de sódio e potássio quando comparados às variedades de água salgada (GONÇALVES, 2011; KUBITZA, 2011).

O filé da tilápia possui em média 75% de água, entre 3,4 a 8,5% de lipídeos, 20% de proteína e 2% de minerais, sendo que a composição pode

variar em função da composição da dieta, do manejo alimentar, da idade e do tamanho dos peixes. A tilápia do Nilo pode ser considerada como pertencente à categoria dos peixes magros (KUBITZA, 2011; PINTO, 2006).

2.7.2 pH

Os métodos de abate ou atordoamento de animais mais utilizados são a imersão em água e gelo, a asfixia no ar, a eletricidade, a narcose por gases e o atordoamento percussivo. No entanto, o abate ideal é aquele procedimento que considera o bem-estar animal e a qualidade da carne (VIEGAS et al., 2012). O pescado, logo após abate/captura, sofre uma série de alterações bioquímicas, físicas e microbiológicas, que se iniciam pela ação autolítica de enzimas musculares que hidrolisam proteínas e gorduras. Logo a seguir, ocorre a ação de micro-organismos, o que provoca alterações químicas e físicas profundas no pescado, cujo estágio final é sua completa deterioração (GONÇALVES, 2011). Imediatamente após a morte do pescado, o músculo do mesmo está totalmente relaxado e a textura, flexível e elástica, geralmente persiste durante algumas horas, até que ocorra a contração. Quando se torna duro e rígido, todo o corpo se torna inflexível e se diz que o pescado está em *rigor mortis*, processo resultante da diminuição do ATP (TORRES, 2011).

Quando o animal morre, o músculo não se converte instantaneamente em carne. Inicialmente, ainda há fornecimento de energia por meio do ATP e, quanto mais glicogênio armazenado nos músculos houver, mais lentamente o *rigor mortis* irá se instalar (podendo demorar mais de 6 h) e terminará mais tarde também, o que mantém o peixe em boa qualidade (GONÇALVES, 2011; MONTEIRO, 2011). Quando há falência do sistema circulatório, não há mais oxigênio disponível para o metabolismo aeróbico: ocorre glicólise, com formação de ácido lático e abaixamento do pH (ARGENTA, 2012; FAO, 1999; GONÇALVES, 2011). Em geral, no músculo do pescado, por conter

concentrações mais baixas de glicogênio quando comparado aos dos mamíferos, é gerado muito menos ácido láctico depois da morte.

O estresse do abate propicia maior atividade do músculo, reduzindo suas reservas energéticas de ATP, afetando inicialmente o pH e o desenvolvimento do *rigor mortis* e, posteriormente, outros fatores determinantes de qualidade como a capacidade de retenção de água, a desnaturação de proteínas, a maciez, a cor, a oxidação lipídica e o aumento da população microbiana (OGAWA; MAIA, 1999; SANTOS, 2013). Além disso, modificações de pH no pescado também podem ser ocasionadas pela decomposição das moléculas, pois a atividade enzimática e a ação das bactérias alteram a concentração de íons hidrogênio livre (OGAWA; MAIA, 1999). É importante ressaltar que a produção de amônia por degradação de nucleotídeos e desaminação de aminoácidos é fator fundamental para alterar o valor do pH e caracterizar perda de qualidade (MONTEIRO, 2011).

O pH é um dos índices de qualidade mais utilizados para a determinação do frescor em pescados, em decorrência da rapidez e da facilidade de medição. Pode-se dizer, de forma geral, que o pH pode variar com o tipo de pescado e a época do ano. Decresce de 6,9 a 7,0 até 6,2 a 6,3 em pescados magros e de carne branca, embora possa atingir valores de aproximadamente 5,5 a 5,7, em pescados de carne escura, como alguns tunídeos, cavala, etc. (ARGENTA, 2012; OGAWA; MAIA, 1999). Albuquerque et al. (2004) encontraram valores de pH no músculo de tilápias de 6,18 a 6,77.

O RIISPOA dispõe que, para ser considerado como pescado fresco, este deve apresentar valores de pH inferiores a 6,8 na carne externa e a 6,5 na carne interna (BRASIL, 1952).

2.7.3 COR

A alta qualidade de produtos na aquicultura deve cumprir vários requisitos apreciados pelos consumidores, incluindo a cor adequada, que está

entre os mais importantes parâmetros de qualidade dos peixes no mercado. A cor é a primeira característica percebida e é um critério de seleção determinante, diretamente relacionadas com a aceitação ou rejeição do produto (SHAHIDI et al., 1998).

As alterações autolíticas e microbiológicas que ocorrem durante a degradação provocam alteração da cor. Outros fatores que podem levar a alteração da cor de um produto de pescado são as condições de criação, no caso de animais provenientes de aquicultura, as condições de armazenamento e o tipo de manuseio a que estão sujeitos. Outro fator de variação a considerar são as diferentes condições biológicas e de alimentação de cada animal (ERIKSON; MISIMI, 2008).

Em geral, as diversas variedades de pescado apresentam coloração própria do músculo, do líquido corporal, das gônadas, das vísceras e, sobretudo, da pele ou do couro. Esta diversificação de cor se deve à presença de vários pigmentos como, mioglobina, bilinas, hemocianina, melaninas e carotenoides (OGAWA; MAIA, 1999).

O termo carotenoides se refere a um grupo de pigmentos coloridos variando de amarelo alaranjado ao vermelho que podem ser encontrados nos vegetais, como nas frutas, pétalas e raízes, nos micro-organismos, como nas bactérias e fungos, e nos animais. No reino animal, esses pigmentos são amplamente distribuídos em crustáceos, insetos e peixes, na plumagem de aves e numa variedade alimentos como leite, manteiga, gema de ovos, queijos, etc. (LATSCHA, 1990; OGAWA; MAIA, 1999). Os carotenoides são solúveis em lipídeos e têm uma grande importância na saúde humana por estarem associados à redução do risco de doenças degenerativas devido ao seu elevado poder antioxidante e por sua atividade como pró-vitamina A (OLIVEIRA et al., 2011; VALDUGA et al., 2009). Podem ser divididos em duas classes principais: os carotenos, que são hidrocarbonetos poli-insaturados, e as xantofilas, que são os derivados oxigenados (OGAWA; MAIA, 1999).

Os animais são incapazes de sintetizá-los, mas são capazes de realizar sua absorção, transformação e deposição em vários tecidos (BREITHAUPT, 2007). No pescado, os carotenoides originados da dieta são depositados diretamente nos órgãos ou convertidos em carotenoides específicos, de acordo com seus requerimentos metabólicos. É possível melhorar a coloração do pescado conhecendo-se os percursos da biossíntese desses pigmentos. O grau de fixação de carotenoides por alguns peixes depende de alguns fatores como peso, maturidade sexual, estabilidade e digestibilidade da ração e iluminação (GONÇALVES, 2011; OGAWA; MAIA, 1999).

Na natureza, a coloração característica do filé e da pele de alguns peixes é conferida através da absorção e da deposição de pigmentos carotenoides presentes no alimento natural. Sob condições de cultivo intensivo, a disponibilidade de alimento natural é baixa, sendo necessária a adição de pigmentos naturais ou sintéticos nas rações para garantir uma pigmentação dos filés e da pele dos peixes e garantir um aspecto atraente do pescado perante os consumidores (ALMEIDA JÚNIOR et al., 2012; KUBITZA, 2011; OLIVEIRA, 2009).

Com a expansão da aquicultura, vários carotenoides sintéticos (β-caroteno, cantaxantina, zeaxantina e astaxantina) e fontes naturais (fermentos, bactérias, algas, vegetais superiores e farinhas de crustáceos) têm sido usados como suplemento dietético para intensificar a pigmentação de peixes e crustáceos (REZENDE, 2010). O uso de carotenoides na alimentação de peixes é importante devido à coloração vermelha, amarela e rosa que eles dão à pele e à carne (LATSCHA, 1990).

A astaxantina, por exemplo, é um carotenoide amplamente distribuído na natureza, sendo encontrado como principal pigmento em peixes (truta e salmão), provenientes da alimentação destes animais, e em micro-organismos e algas que produzem tal pigmento. É utilizada principalmente na criação em cativeiro de trutas e salmões (situação em que os animais não têm acesso a algumas algas e a outras fontes naturais de pigmentos), proporcionando a

pigmentação característica destas espécies e aumentando a qualidade e aceitação de seus produtos no mercado (ALMEIDA JÚNIOR et al., 2012; MOTTA et al., 2009; OGAWA; MAIA, 1999). Além de atuar como aditivo de cor, a astaxantina tem mostrado atividade preventiva na oxidação de lipídeos durante o armazenamento da truta congelada. Não têm sido relatados dados sobre os efeitos adversos associados à administração de astaxantina em animais (GONÇALVES, 2011). O conteúdo de astaxantina é variável com a fase de crescimento do peixe e, no músculo, pode ocorrer nas formas livre, fracamente ligada com proteína miofibrilar ou esterificada no grupo OH com um ácido graxo (OGAWA; MAIA, 1999) Outro carotenoide utilizado para conferir a pigmentação rosada em filés de trutas e salmões é a cantaxantina (KUBITZA, 2011).

Uma pigmentação indesejada no filé de alguns peixes pode ocorrer com o uso excessivo de milho ou de seus produtos refinados, como o farelo de glúten de milho nas rações. Tais produtos são ricos em carotenoides, notadamente a luteína e a zeaxantina. Rações com grandes concentrações desses produtos podem conferir coloração amarela ou alaranjada no filé de peixes como o bagre-do-canal e o pintado. Em tilápias, este efeito não foi observado (KUBITZA, 2011).

2.7.4 RANCIDEZ

A oxidação lipídica é o processo primário de deterioração da qualidade dos peixes, manifestando-se por mudanças em seu cheiro, cor, textura, valor nutritivo e, possível produção de compostos tóxicos, afetando sua aceitabilidade para o consumo. É acentuada imediatamente após o abate e durante o processamento, quando ocorre a destruição da integridade das membranas celulares pelo corte das carnes, facilitando a propagação das reações oxidativas (FOGAÇA; SANT'ANA, 2009; FRANCO et al., 2013). No músculo, a rancificação da gordura é causada por compostos químicos ou

espécies reativas ao oxigênio que reagem com lipídeos, proteínas, carboidratos e vitaminas produzindo compostos voláteis indesejáveis, destruindo ácidos graxos essenciais, aminoácidos e vitaminas, além de produzirem compostos carcinogênicos (OLIVEIRA, 2009; OTANI, 2009). As espécies reativas ao oxigênio causam quebra das ligações duplas nas frações fosfolipídicas das membranas celulares, que nos peixes são mais suscetíveis por possuírem maior grau de insaturação. Isso prejudica a fluidez das membranas e altera sua função como barreira semipermeável devido à perda de ácidos graxos poli-insaturados essenciais e à formação de hidroperóxidos, aldeídos e outros produtos tóxicos secundários (FOGAÇA; SANT'ANA, 2009; JAMAS, 2012). Os hidroperóxidos se decompõem em várias substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico, sendo o malonaldeído a substância mais reativa (LOUREIRO, 2005; SARMIENTO, 2006).

O malonaldeído é o aldeído mais encontrado como produto da oxidação lipídica, sendo produzido durante a autoxidação dos ácidos graxos poli-insaturados (TORRES; OKANI, 1997). Por isso, o método utilizado para avaliar a extensão da estabilidade lipídica em pescados é o teste de TBARS (ácido 2-tiobarbitúrico), que quantifica o malonaldeído (JAMAS, 2012; LAROSA, 2011; PAIVA, 2010). Pescados, em geral, apresentam maiores valores de TBARS do que as demais carnes, em razão de sua rica composição em ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (FRANCO et al., 2013). As vantagens desse método são rapidez, facilidade de execução, baixo custo, além de apresentar boa reprodutibilidade e correlação com os resultados das análises sensoriais (MONTEIRO, 2011).

A maioria dos estudos sobre oxidação em pescado é voltada para espécies de peixes gordurosos, que são mais susceptíveis à rancificação. Entretanto, embora a tilápia seja um peixe de carne branca com baixo teor de gordura, é susceptível à oxidação das gorduras devido à predominância de ácidos graxos poli-insaturados na sua composição (HUANG et al., 1998). Ke et al. (1984), trabalhando com diversas espécies de pescado, sugeriram uma

escala para TBARS, na qual consideram baixos valores inferiores a 0,576 mg de MA/kg, levemente rançosos os valores entre 0,648 e 1,44 mg de MA/kg e, como inaceitáveis valores superiores a 1,51 mg de MA/kg. Na legislação brasileira não há indicativo do valor máximo de TBARS permitido para produtos de pescado; no entanto, altos valores de TBARS comprometem a comercialização e aceitação do produto final (FRANCO et al., 2013; LAROSA, 2011).

A taxa de oxidação lipídica depende de inúmeros fatores, entre eles a espécie de pescado e os relacionados aos produtos, como o frescor, a exposição ao ar atmosférico, a temperatura de armazenamento, a desidratação, a composição de ácidos graxos poli-insaturados e a concentração de agentes pró e antioxidantes. A composição de ácidos graxos e a concentração de agentes pró e antioxidantes podem ser manipuladas pela dieta dos animais e serem eficientes na conservação do pescado durante o processamento e a estocagem (FOGAÇA; SANT'ANA, 2009; OTANI, 2009). A estocagem sob congelamento não interrompe completamente todas as alterações de qualidade do pescado, já que reações que induzem as alterações oxidativas e a desnaturação protéica continuam a ocorrer, mesmo em baixas temperaturas (KIRSCHNIK; VIEGAS, 2009; OTANI, 2009).

Antioxidantes são substâncias capazes de prevenir os efeitos deletérios da oxidação, pela inibição ou interferência na formação de radicais livres. Entretanto, os antioxidantes não previnem a oxidação totalmente, mas sim retardam a reação em cadeia e, consequentemente, aumentam a vida de prateleira dos alimentos (LAROSA, 2011; OGAWA; MAIA, 1999; OTANI, 2009). Os antioxidantes exógenos ou provenientes da nutrição (vitaminas C, E e os carotenoides) e seus cofatores (cobre, manganês, zinco, selênio, ferro e a riboflavina), também mantêm equilíbrio na produção e controle das espécies reativas (FOGAÇA; SANT'ANA, 2009).

Embora os antioxidantes sintéticos sejam benéficos na preservação de alimentos, a sua utilização é restrita devido aos possíveis efeitos adversos em

animais experimentais, como efeito carcinogênico, hiperplasia gastrointestinal e redução do nível de hemoglobina e hiperplasia de células basais (RAMALHO; JORGE, 2006; ZHENG; WANG, 2001). Assim, a procura por antioxidantes naturais tem aumentado consideravelmente (LAROSA, 2011).

3 OBJETIVOS

Objetivo Geral:

- Avaliar o efeito da suplementação da ração de tilápias com diferentes concentrações da biomassa de *Rubrivivax gelatinosus* sobre o desempenho zootécnico e parâmetros hematológicos e histológicos dos animais, e sobre as características de qualidade dos filés obtidos.

Objetivos Específicos:

- Desenvolver um sistema de recirculação de água para a criação dos animais;
- Alimentar os animais com as rações suplementadas com aditivos pigmentantes;
- Avaliar o desempenho zootécnico (peso final, consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar aparente) dos animais;
- Avaliar os parâmetros hematológicos e histológicos dos animais;
- Avaliar as características de qualidade dos filés obtidos (composição químico-bromatológica, pH, cor e rancidez).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento do projeto foi solicitada sua aprovação junto à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), tendo sido aprovado conforme certificado do Processo FOA nº 2013-01329, localizado no apêndice.

4.1 MICRO-ORGANISMO, REATIVAÇÃO, PRÉ-INÓCULO E INÓCULO

A bactéria fototrófica *Rubrivivax gelatinosus* (Figura 1) utilizada no experimento foi isolada do efluente de abatedouro avícola e caracterizada com base em testes bioquímicos, morfológicos e pelo espectro de absorção de pigmentos fotossintetizantes, de acordo com o descrito por Ponsano et al. (2002a) e encontrava-se armazenada a -20 ^{o}C em ágar inclinado de Pfennig (PFENNIG, 1974).

FIGURA 1 - *Rubrivivax gelatinosus* armazenada em ágar inclinado de Pfennig como cultura de estoque.

As etapas de reativação da cultura de *Rubrivivax gelatinosus* foram realizadas conforme descrito em Ponsano et al. (2002b). Para o preparo do pré-inóculo, uma alçada da cultura de *Rubrivivax gelatinosus* foi transferida para tubos de ensaio de vidro de boca esmerilhada contendo meio de Pfennig líquido acrescido de 1% (v/v) das soluções de microelementos e das vitaminas tiamina e biotina (PFENNIG, 1974). Os tubos foram completamente preenchidos para fornecer atmosfera de anaerobiose. O cultivo foi incubado em estufa DBO a 30 $\pm$ 2 ^{o}C com 1.400 $\pm$ 200 lux até atingir densidade ótica de 0,5 a 600 nm, estando, assim, pronto para ser utilizado como pré-inóculo. Para a produção dos inóculos (Figura 2), os pré-inóculos bacterianos foram

transferidos na concentração de 1% (v/v) para provetas de vidro de 1.000 mL dotadas de tampa e boca esmerilhadas, contendo meio de Pfennig líquido (PFENNIG, 1974). As provetas foram completamente preenchidas com o meio para fornecer ambiente de anaerobiose e incubadas a 30 ± 2 ^{o}C e 1.400 ± 200 lux, por sete dias.

FIGURA 2 – Inóculo de *Rubrivivax gelatinosus*.

4.2 PREPARO DO SUBSTRATO

O efluente de pescado foi obtido de indústria de abate e processamento de pescado – GeneSeas Aquacultura Ltda (Promissão - SP). Após ser submetido ao gradeamento na indústria, o efluente foi colhido e transportado ao laboratório em bombonas plásticas, filtrado em sistema de porosidade de 5 µm, tratado a 60 – 65 ºC/30 min em tanque de pasteurização lenta (Incomar/TL500) e imediatamente resfriado para 30 ºC, tornando-se apto a receber o inóculo bacteriano.

4.3 PRODUÇÃO DA BIOMASSA

Os inóculos foram adicionados ao substrato (1%, v/v) já acondicionado em reatores de vidro (capacidade de 100 L), que foram completamente preenchidos e vedados com tampas adequadas a fim de fornecer uma atmosfera de anaerobiose. A incubação foi realizada durante sete dias em temperatura de 30 ± 5 ^{o}C e luminosidade de 2.000 ± 500 lux. Após esse período, os cultivos (Figura 3) apresentaram cor vermelho-púrpura, característica do desenvolvimento da bactéria nos substratos.

FIGURA 3 - Reatores biológicos utilizados para o cultivo do micro-organismo no efluente de indústria de processamento de pescado.

Ao final do período de produção, todo o cultivo foi filtrado em sistema com unidade de filtração de 0,75 m^2, porosidade de 0,2 µm, vazão de 1,5 m^3/h e pressão de 1,5 bar (Frings do Brasil). O retentado produzido foi centrifugado (Incibrás Spin VI) a 3.400 x g durante 30 min a 5 ºC. O sobrenadante foi descartado e o resíduo obtido foi congelado a -40 ºC e liofilizado (Liobrás L 101) durante 48 h (Figura 4).

FIGURA 4 – Liofilizador utilizado para a secagem da biomassa de *R. gelatinosus.*

O material obtido foi pulverizado manualmente em almofariz e pesado, dando origem a um pó e constituindo-se na biomassa de *Rubrivivax gelatinosus* (Figura 5). A biomassa continha aproximadamente 55% de proteínas, 12% de lipídeos, 4% de sais minerais e 0,3% de oxicarotenoides (SANTO et al., 2013), e foi mantida refrigerada e ao abrigo da luz e do ar, até o uso. No presente experimento foi utilizada a mesma cepa bacteriana do trabalho anteriormente citado.

FIGURA 5 - Biomassa *de R. gelatinosus.*

4.4 INFRA-ESTRUTURA PARA O CULTIVO

A criação dos animais foi conduzida no Setor Experimental de Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da UNESP, em sistema fechado de recirculação de água (Figura 6).

FIGURA 6 – Sistema de recirculação de água utilizado para a criação dos animais.

Esse sistema era composto de 24 caixas d'água com capacidade de 1000 L, onde ficaram os animais, um decantador onde ocorria a retenção de sujidades sólidas, três caixas d'água de 1000 L para a realização do tratamento biológico (degradação da amônia até nitrato) e duas caixas d'água de 1000 L onde ocorria o aquecimento da água por meio de resistências elétricas para posterior retorno para o sistema por bombeamento hidráulico com vazão de 11000 L/h. Toda a movimentação de água era realizada por tubulações de PVC. O sistema contou também com um soprador de oxigênio, mangueiras e pedras porosas de 15 cm para oxigenação das caixas.

4.5 MANEJO DOS ANIMAIS E DO SISTEMA DE RECIRCULAÇÃO DE ÁGUA

Anteriormente à realização do experimento, foram adquiridos 250 peixes de diferentes tamanhos de uma piscicultura da região de Araçatuba. Após período de quarentena, esses animais, foram distribuídos nas caixas do sistema, com o objetivo de promover a colonização bacteriana do filtro biológico e sua maturação, por um período de 15 dias. Após esse período, os animais foram retirados do sistema, que permaneceu em descanso por dois dias para então receber os animais do experimento.

Os juvenis de tilápias sexualmente revertidos (aproximadamente 1100 animais), com peso médio de 21,42 ± 5,65g (Figura 7), provenientes de uma empresa de criação e reprodução de peixes localizada no município de Mirassol – SP foram aclimatados em caixas próprias e, posteriormente, alocados nas caixas do sistema. A aclimatação e a adaptação dos animais ao sistema foram realizadas por um período de 15 dias, juntamente com o monitoramento dos parâmetros de água, entre eles, pH, temperatura, oxigênio dissolvido, aferidos por sonda multiparâmetros e, cloro, amônia total não ionizada (tóxica) e nitrito, aferidos por kits, com o objetivo de avaliar as condições do sistema e a eficácia do tratamento biológico.

FIGURA 7 – Juvenis de tilápias utilizados no experimento.

Nessa fase, os animais foram alimentados com a dieta controle, antes do início da aplicação dos tratamentos. Após o período de adaptação dos animais ao sistema, deu-se início ao experimento, com alocação de 40 animais por caixa, sendo classificados conforme os pesos. A limpeza e o acompanhamento do sistema foram realizados constantemente, com sifonamentos periódicos das caixas d'água e do decantador; assim como as análises de água, realizadas de duas a três vezes por semana.

4.6 DELINEAMENTO, PRODUÇÃO DE RAÇÃO EXPERIMENTAL E ARRAÇOAMENTO

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições, totalizando 24 tanques, dentro dos quais foram divididos 960 peixes, resultando em 40 peixes por caixa d'água. Os tratamentos foram constituídos de um grupo controle basal (T1), recebendo apenas uma dieta base sem aditivos, um grupo controle positivo (T2), recebendo pigmentante comercial sintético Carophyll Pink (astaxantina 10%, DSM) junto à dieta base e de quatro grupos (T3, T4, T5 e T6), recebendo

diferentes concentrações da biomassa de *R. gelatinosus* como aditivo à dieta base (Tabela 1).

Tabela 1 - Tratamentos do experimento com tilápias e concentrações de aditivo

Tratamento	Dieta alimentar
T1	Dieta base
T2	Dieta base + Carophyll Pink (350 mg/kg)
T3	Dieta base + biomassa de *R. gelatinosus* (175 mg/kg)
T4	Dieta base + biomassa de *R. gelatinosus* (350 mg/kg)
T5	Dieta base + biomassa de *R. gelatinosus* (700 mg/kg)
T6	Dieta base + biomassa de *R. gelatinosus* (1400 mg/kg)

A elaboração da ração experimental extrusada (Tabela 2), com *pellets* de 2 - 4 mm, foi realizada no Instituto de Pesca de São José do Rio Preto, formulada pelo programa Optimal Formula 2000, de acordo com os valores de referência das Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias (FURUYA et al., 2010).

A adição dos ingredientes pigmentantes foi efetuada posteriormente à elaboração da ração, em intervalos periódicos, com o objetivo de evitar a excessiva exposição ambiental dos pigmentos e foi realizada em misturador de baixa rotação, com prévia mistura dos pigmentos em óleo de soja dentro das quantidades estabelecidas calculadas na formulação da ração.

As rações foram acondicionadas em sacos plásticos e estocadas em congelador. Para o manejo e a alimentação dos animais, foram utilizados potes brancos de 500 g, que eram preenchidos com as rações experimentais sempre que necessário, de acordo com o consumo.

No período de adaptação, o arraçoamento foi realizado duas vezes por dia. A partir do início do experimento, o arraçoamento foi realizado em uma frequência de quatro vezes diárias, observando-se a saciedade dos animais, de modo a evitar sobras. O período experimental foi de 74 dias.

Tabela 2 - Rações experimentais e composição centesimal das dietas para tilápia-do-nilo com suplementação de Carophyll Pink e biomassa de *R. gelatinosus*[1]

Ingredientes	Tratamento [Aditivo pigmentante (%)]					
	T1	T2 (Carophyll Pink)	T3	T4	T5	T6
			(Biomassa de *R. gelatinosus*)			
Milho moído	6,42	6,42	6,42	6,41	6,40	6,38
Farinha de vísceras de aves	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Farelo de soja	45,00	45,00	45,00	45,00	45,00	45,00
Farelo de trigo	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00
Quirera de arroz	7,60	7,60	7,60	7,60	7,60	7,60
Farelo de arroz gordo	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Farinha de carne	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Aglutinante (Binder)	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Sal	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Fosfato bicálcico	1,32	1,32	1,32	1,32	1,32	1,32
Óleo de soja	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13	2,13
Cloreto de colina 70%	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
DL-Metionina	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Antifúngico (Fylax)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Suplemento mineral/ vitamínico[2]	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Aditivo pigmentante	0,00	0,035	0,0175	0,035	0,070	0,140
Nutrientes/Energia - valores calculados						
Energia digestível (kcal/kg)	3000	3000	3000	3000	3000	3000
Proteína digestível (%)	27,20	27,20	27,20	27,20	27,20	27,20
Proteína bruta (%)	32,00	32,00	32,00	32,00	32,00	32,00
Extrato etéreo (%)	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Fibra bruta (%)	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50
Matéria mineral (%)	9,00	9,00	9,00	9,00	9,00	9,00
Cálcio total (%)	1,63	1,63	1,63	1,63	1,63	1,63
Fósforo total (%)	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30
Amido (%)	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00
Fósforo disponível (%)	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Lisina (%)	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Treonina (%)	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20
Triptofano (%)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Metionina (%)	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
Vitamina C (mg/kg)	300	300	300	300	300	300
Cálcio/Fósforo total	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50

[1]Baseados nos valores de composição dos alimentos e nutrição de tilápias de Furuya et al. (2010); [2]Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 2.400.000 UI; Vit. D3, 600.000 UI; Vit. E, 30.000 mg; Vit. K3, 3.000 mg; Vit. B1, 4.000 mg; Vit. B2, 4.000 mg; Vit. B6, 3.500 mg; Vit. B12, 8.000 mg; Vit. C, 60.000 mg; Ác. Nicotínico, 20.000 mg; Pantotenato Ca, 10.000 mg; Biotina, 200 mg; Ác. Fólico, 1.200 mg; Cobre, 3.500 mg; Ferro, 20.000 mg; Manganês, 10.000 mg; Zinco, 24.000 mg; Cálcio, 160 mg; Sódio, 100 mg; Cobalto, 80 mg; Inositol, 25.000 mg; Cloreto de Colina, 100.000 mg.

4.7 ANÁLISES ZOOTÉCNICAS

O desempenho zootécnico dos peixes foi determinado no início e no fim do experimento pelas medidas de peso final (PF), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar aparente (CAA), conforme fórmulas abaixo:

[GP = peso final - peso inicial]

[CR = soma da ração consumida durante todo o experimento]

[CAA = consumo de ração / ganho de peso]

Para o manejo e a pesagem dos peixes (Figura 8), objetivando a sedação, foi utilizado o óleo de cravo-da-índia diluído em água na concentração de 75 mg/L (VIDAL et al., 2008).

FIGURA 8 – Animal sedado em solução de óleo de cravo-da-índia e pesagem.

4.8 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA

A avaliação do perfil hematológico foi realizada durante o período de cultivo das tilápias. As coletas foram realizadas em cinco momentos durante o experimento, nos dias 0, 18, 43, 58 e 74, para a determinação dos elementos e dos índices sanguíneos. Oito peixes por tratamento (dois animais de cada caixa) foram anestesiados em solução aquosa de benzocaína (0,1 g/L),

pesados e, então, puncionados nos vasos caudais, com a utilização de seringas com anti-coagulante heparina, coletando-se aproximadamente 0,5 mL de sangue (Figura 9). O hemograma total foi composto pelo eritrograma, leucograma e trombocitograma; também foi realizada a determinação das proteínas plasmáticas.

FIGURA 9 – Punção sanguínea no vaso caudal.

A determinação da quantidade de eritrócitos foi realizada utilizando-se 10 µL de sangue com anticoagulante, que foi mesclado a 2 mL de formol citrato, para posterior contagem em câmara de Neubauer. O percentual do hematócrito foi determinado por meio da centrifugação do sangue em centrífuga de microhematócrito a 1500 g por cinco minutos (GOLDENFARB et al., 1971). A determinação da quantidade de hemoglobina presente no sangue foi realizada pelo método da cianometahemoglobina em espectrofotômetro semiautomático (COLLIER, 1944). As extensões sanguíneas foram coradas com solução corante MG-G-W (May-Grünwald-Gyemsa-Writh) para posterior contagem total e diferencial de trombócitos e leucócitos. Foram utilizadas as equações hematimétricas de acordo com Wintrobe (1934) para a determinação do VCM e

do CHCM. A concentração plasmática de proteína total foi determinada utilizando-se refratômetro clínico.

4.9 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

A avaliação histológica, realizada com o objetivo de detectar lesões, foi conduzida no final do experimento. Oito peixes por tratamento (dois animais de cada caixa) foram anestesiados em plano profundo com óleo de cravo-da-índia (180 mg/L por 10 min), seguindo-se a eutanásia por secção medular. A necropsia foi realizada para a remoção de fígado, baço e intestino (Figura 10), sendo os fragmentos acondicionados em solução de formaldeído a 10% tamponado durante 24 horas e, depois, transferidas para solução de álcool a 70% para posterior inclusão em parafina e processamento de rotina para coloração de hematoxilina-eosina. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio de luz com a ocular de 40X.

FIGURA 10 – Necropsia dos peixes.

4.10 ANÁLISES DE QUALIDADE

As análises de pH, composição químico-bromatológica, cor e rancidez foram realizadas nos filés. Para a determinação do pH, da composição

químico-bromatológica e da rancidez, oito animais por tratamento foram insensibilizados em água e gelo (1:2) (Figura 11), sangrados na região branquial e filetados, sendo essas análises realizadas no final do experimento. As avaliações colorimétricas foram realizadas durante o período de cultivo das tilápias, em quatro momentos durante o experimento, nos dias 0,18, 58 e 74, concomitantemente às análises hematológicas. Doze animais por tratamento (mesmos animais para as análises hematológicas) foram anestesiados em solução aquosa de benzocaína (0,1 g/L), sangrados e filetados.

FIGURA 11 – Insensibilização pelo gelo.

4.10.1 pH

Para a determinação do pH, dez gramas das amostras dos filés foram homogeneizados em 100 mL de água destilada e a leitura foi realizada com o medidor de pH digital microprocessado (Tecnal Tec-5) calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0.

4.10.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICO-BROMATOLÓGICA

Para a análise de composição, foram realizadas as seguintes determinações: umidade - secagem a 105 ^{o}C, até a obtenção de peso constante; proteínas totais - método de micro Kjehdahl; lipídeos totais - método

de Folch; e cinzas - incineração a 550 ^{o}C. As análises foram realizadas em duplicata seguindo as metodologias descritas em Folch et al. (1957) e Horwitz e Latimer Junior (2006).

4.10.3 AVALIAÇÃO COLORIMÉTRICA

Para a avaliação colorimétrica foram realizadas, nos filés esquerdos, três leituras consecutivas dos atributos *L* (luminosidade), *a* (intensidade de vermelho) e *b* (intensidade de amarelo), de acordo com espaço *Lab* ilustrado na Figura 12.

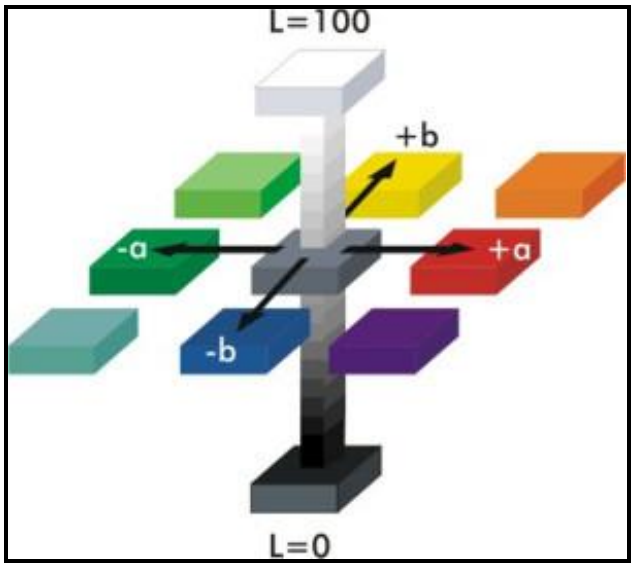


FIGURA 12 – Espaço *Lab*. Quimanil (2014).

As leituras foram realizadas em três pontos, conforme metodologia descrita em Choubert et al. (1997), definidos como: ponto 1 (cranial), ponto 2 (medial) e ponto 3 (caudal), utilizando-se colorímetro portátil Mini Scan XE Plus calibrado com padrões branco e preto, utilizando-se área de abertura de visão de uma polegada, iluminante D65 e ângulo de 10º para o observador (CIE, 2004).

4.10.4 ANÁLISE DA RANCIDEZ

Para a avaliação da rancidez, foram determinados os valores das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) conforme metodologia descrita por Vyncke (1970). As análises foram realizadas nos filés antes do congelamento e aos 20, 40, 60 e 80 dias de armazenamento, realizado a -22 ºC em freezer estático, sendo as amostras acondicionadas em filme plástico.

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando-se o teste exato de Fisher para os resultados histológicos e a análise de variância e o teste SNK para a comparação múltipla das médias dos demais dados. Para os resultados de cor e de rancidez também foi utilizada a análise de superfície de resposta para a avaliação dos efeitos lineares e quadráticos entre as variáveis. As análises foram realizadas com o programa SAS 9.3 (2011), utilizando nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISES DE QUALIDADE DA ÁGUA

As médias e os desvios padrões das análises de qualidade de água estão apresentados na Tabela 3. Durante todo o período experimental, foi mantida a qualidade da água e os parâmetros avaliados permaneceram dentro da faixa de conforto para a espécie, que são: temperatura de 26 a 30 ºC, oxigênio dissolvido acima de 1,8 mg/L, pH de 5,0 a 9,0, amônia tóxica inferior a 0,24 ppm e nitrito inferior a 1,0 ppm (KUBITZA, 2011).

Segundo Barbosa et al. (2009), a avaliação da qualidade da água na criação dos peixes é um aspecto fundamental para garantir saúde, bom

desenvolvimento e sobrevivência dos animais. Os efeitos da qualidade da água sobre os peixes variam consideravelmente em função da espécie, tamanho, idade e histórico de exposição a cada elemento em questão (KUBITZA, 2011). As tilápias se adaptam bem a diferentes condições de qualidade de água, pois são bastante tolerantes ao baixo oxigênio dissolvido e às variações de pH e de metabólitos tóxicos, comparadas a outras espécies (KUBITZA, 2011; PEREIRA, 2013).

Tabela 3 – Médias e desvios padrões dos parâmetros de qualidade de água dos tratamentos T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa[1] 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg

Tratamento	T (ºC)	O_2 (mg/L)	pH	NH_3 tóxica (ppm)	NO_2 (ppm)	Cl (ppm)
T1	26,94 ± 0,19	2,76 ± 0,09	7,30 ± 0,04	0,0048 ± 0,0010	0,76 ± 0,09	0,013 ± 0,005
T2	26,74 ± 0,44	2,76 ± 0,10	7,24 ± 0,02	0,0045 ± 0,0006	0,75 ± 0,11	0,010 ± 0,000
T3	26,70 ± 0,31	3,02 ± 0,17	7,25 ± 0,03	0,0040 ± 0,0008	0,80 ± 0,11	0,010 ± 0,000
T4	26,69 ± 0,34	2,92 ± 0,16	7,29 ± 0,04	0,0038 ± 0,0005	0,75 ± 0,11	0,010 ± 0,000
T5	26,69 ± 0,40	2,99 ± 0,20	7,25 ± 0,04	0,0038 ± 0,0005	0,78 ± 0,09	0,008 ± 0,005
T6	26,65 ± 0,25	3,01 ± 0,32	7,25 ± 0,02	0,0043 ± 0,0005	0,81 ± 0,17	0,010 ± 0,000

[1]Biomassa da bactéria *Rubrivivax gelatinosus*.

O oxigênio dissolvido é, provavelmente, a variável de qualidade da água mais importante para o cultivo de animais aquáticos e sua diminuição pode ocasionar consideráveis perdas econômicas devido aos efeitos negativos que exerce sobre o ganho de peso e a conversão alimentar, assim como a morte súbita dos peixes (BARBOSA et al., 2009). Segundo Kubitza (2011), apesar da tolerância a baixas concentrações de oxigênio, a tilápia, nessa situação, apresenta diminuição do desempenho e maior susceptibilidade a doenças.

As médias ideais de temperatura para a criação de tilápias estão entre 26 a 28 ºC, com mínimas e máximas entre 23 e 33 ºC, respectivamente. As temperaturas abaixo de 18 ºC e acima de 30 ºC são exacerbadamente estressantes e devem ser evitadas (ARAUJO, 2009). Em relação ao pH, as tilápias suportam faixas de pH entre 5 a 9; abaixo e acima desses valores, apresentam baixa sobrevivência e menores taxas de desenvolvimento (BARBOSA et al., 2010).

As concentrações de amônia, nitrito e cloro obtidos neste trabalho não foram tóxicas para as tilápias. Níveis elevados de nitrito causam estresse e afetam o transporte de oxigênio pelos eritrócitos. Altos níveis de amônia provocam estresse, diminuição da capacidade respiratória, redução da resistência imunológica, danos nas brânquias, nas nadadeiras e nas células epiteliais e intestinais. O cloro é um componente tóxico para os peixes, que altera a limosidade epitelial e causa alterações branquiais (KUBITZA, 2011).

5.2 ANÁLISES ZOOTÉCNICAS

As médias e os desvios padrões das análises de desempenho zootécnico estão apresentados na Tabela 4. A suplementação com diferentes níveis de aditivos na ração não influenciou os parâmetros de desempenho, quando comparados ao uso da dieta base ($p > 0,05$). Isso indica uma situação positiva, pois não houve rejeição da ração suplementada pelos animais nem efeitos negativos sobre o crescimento. Em relação à mortalidade, apenas três animais de diferentes parcelas vieram a óbito durante o experimento.

Os parâmetros zootécnicos dos peixes são características importantes a serem avaliadas, pois estão associados à sua homeostase, com reflexos na qualidade dos produtos finais, além de estarem intensamente associados ao ponto de vista econômico (OLIVEIRA, 2009; SANTOS et al., 2009). O desempenho depende do manejo dos animais e da sua nutrição e os valores encontrados neste estudo estiveram dentro da normalidade.

Tabela 4 – Médias e desvios padrões dos resultados de peso final (PF), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar aparente (CAA) dos tratamentos T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa[1] 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg

Tratamento	PF (g)	GP (g)	CR (g)	CAA
T1	173,44 ± 30,34	152,50 ± 27,80	218,04 ± 15,60	1,45 ± 0,16
T2	166,38 ± 17,90	142,70 ± 18,37	213,12 ± 15,47	1,50 ± 0,11
T3	153,76 ± 18,43	134,31 ± 15,58	206,74 ± 14,42	1,54 ± 0,10
T4	169,69 ± 26,60	143,12 ± 24,62	212,62 ± 17,34	1,50 ± 0,15
T5	133,73 ± 14,34	113,91 ± 20,51	189,82 ± 17,53	1,68 ± 0,18
T6	136,38 ± 21,03	118,28 ± 21,03	194,19 ± 11,50	1,66 ± 0,18

[1]Biomassa da bactéria *Rubrivivax gelatinosus*.

Carmo et al. (2008), avaliando o crescimento de três linhagens de tilápia em viveiros de cultivo semi-intensivo durante 112 dias, identificaram valores de GP de 147,00 a 396,42 g e de CAA de 1,14 a 1,59. Moraes et al. (2009) avaliaram o desempenho zootécnico de tilápias do Nilo cultivadas em tanques-rede, alimentadas com diferentes rações comerciais e encontraram valores de PF entre 396,67 e 491,67 g e de CAA entre 1,34 e 1,59.

Santos et al. (2009) avaliaram o desempenho produtivo e a composição química de filés de tilápias alimentadas com dietas com diferentes níveis de farelo de nabo forrageiro em substituição à proteína do farelo de soja e encontraram valores de GP de 141,85 e 286,2 g e de CAA de 1,10 e 1,59. Araujo (2009), avaliando os efeitos de diferentes relações entre ômega-6 e ômega-3 sobre o desempenho, composição químico-bromatológica da carcaça e índices corporais de tilápias do nilo, encontrou GP de 118,35 a 135,03 g e CAA de 1,09 a 1,26.

Nos últimos anos, têm-se intensificado o número de pesquisas voltadas ao desenvolvimento de produtos com a finalidade de melhorar o bem-estar e o desempenho dos peixes; entretanto, ainda faltam informações a respeito da influência ambiental e dos processos fisiológicos da digestão nesses animais

(PAIVA, 2010; TACHIBANA et al., 2011). El-Haroun et al. (2006), utilizando *Bacillus subtilis* como probiótico na ração de tilápias, observaram aumento nos valores de GP e de CAA. Pereira (2013) avaliou os efeitos profiláticos do β-1,3-glucano em substituição da oxitetraciclina em tilápias, após um estímulo estressante (classificação dos peixes), por meio de parâmetros hematológicos, imunológicos, bioquímicos e de desempenho produtivo e concluiu que a incorporação da substância melhorou o desempenho e reduziu a mortalidade dos animais.

De um modo geral, não há relatos de efeitos negativos da utilização de pigmentos carotenoides em peixes sobre o crescimento e a sobrevivência (BELL et al., 2000; WANG et al., 2006). Storebakken e Choubert (1991) avaliaram o crescimento, a conversão alimentar e a concentração de carotenoides em trutas alimentadas com rações suplementadas com 25 ou 50 mg de astaxantina ou cantaxantina em água doce e salgada. Os resultados demonstraram diferenças significativas no crescimento e na conversão alimentar, com maiores valores para a os animais alimentados com a taxa de 1,5% do peso corporal por dia.

Ponce-Palafox et al. (2004), ao utilizarem Carophyll e pigmentos da flor cempasúchil na ração de tilápias para avaliação da pigmentação, verificaram que o uso desses produtos não acarretou efeitos negativos sobre o desempenho dos animais. Oliveira (2009), avaliando a inclusão do licopeno na dieta de tilápias, verificou que, além de reduzir os efeitos negativos do estresse de contenção, o licopeno não afetou os parâmetros zootécnicos, como o GP, CAA e CR.

Rezende (2010), ao avaliar os efeitos de diferentes pigmentos (extrato de açaí, extrato de urucum, extrato de tomate e cantaxantina) na alimentação de peixes ornamentais, verificou que esses aditivos foram capazes de promover a pigmentação, sem interferir no desempenho dos animais. Gomes et al. (2012), utilizando a microalga *Spirulina platensis* como suplemento alimentar

no crescimento e coloração de tilápias vermelhas, verificaram aumento no desempenho e na pigmentação desses animais.

5.3 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA

As médias e os desvios padrões das variáveis hematológicas dos tratamentos nos diferentes momentos de análise estão descritos nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 - Médias e desvios padrões das variáveis hematológicas da série vermelha e proteínas plasmáticas dos tratamentos T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa[1] 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg, de acordo com o tempo. Ht: hematócrito; Hb: hemoglobina; RBC: contagem de células vermelhas; VCM: volume corpuscular médio; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; PPT: proteína plasmática total

continua

Variável	Tratamento	Dia				
		0	18	43	58	74
Ht (%)	T1	33,00 ± 2,83	37,50 ± 2,38	35,13 ± 3,59	33,00 ± 2,12	35,25 ± 2,47
	T2	31,89 ± 1,50	37,67 ± 3,33	33,38 ± 1,31	33,00 ± 1,87	36,63 ± 2,50
	T3	34,75 ± 1,33	36,92 ± 0,88	37,00 ± 2,16	32,50 ± 2,83	37,25 ± 2,10
	T4	30,91 ± 2,05	36,08 ± 2,47	35,00 ± 2,48	33,88 ± 2,63	37,75 ± 1,94
	T5	31,39 ± 2,28	35,25 ± 2,59	35,38 ± 1,31	33,63 ± 4,40	35,50 ± 1,78
	T6	30,64 ± 0,71	37,08 ± 4,09	35,13 ± 1,80	34,25 ± 0,50	37,00 ± 1,96
Hb (g/dL)	T1	7,82 ± 0,77	7,82 ± 0,52	7,31 ± 0,66	7,75 ± 1,24	8,38 ± 1,66
	T2	7,54 ± 0,34	7,85 ± 0,27	7,50 ± 0,53	7,54 ± 0,65	8,09 ± 1,70
	T3	7,84 ± 0,86	7,98 ± 0,39	8,14 ± 0,71	7,68 ± 1,23	8,54 ± 1,00

continuação

	T4	7,57 ± 0,40	7,67 ± 0,46	7,69 ± 0,53	7,69 ± 0,84	8,53 ± 0,60
	T5	7,38 ± 1,02	7,68 ± 0,50	7,79 ± 0,51	7,85 ± 1,31	8,43 ± 0,90
	T6	7,71 ± 0,43	7,96 ± 0,69	7,86 ± 0,27	8,04 ± 0,89	8,18 ± 0,37
RBC (10^6/mm^3)	T1	2,74 ± 0,10	2,15 ± 0,25	2,32 ± 0,14	2,28 ± 0,39	2,32 ± 0,13
	T2	2,73 ± 0,05	2,38 ± 0,17	2,30 ± 0,15	2,51 ± 0,31	2,31 ± 0,11
	T3	2,86 ± 0,05	2,26 ± 0,16	2,37 ± 0,22	2,53 ± 0,18	2,38 ± 0,19
	T4	2,76 ± 0,01	2,27 ± 0,34	2,22 ± 0,17	2,35 ± 0,33	2,38 ± 0,19
	T5	2,73 ± 0,06	2,32 ± 0,05	2,23 ± 0,15	2,31 ± 0,35	2,35 ± 0,09
	T6	2,77 ± 0,03	2,35 ± 0,12	2,22 ± 0,12	2,46 ± 0,23	2,34 ± 0,22
VCM (fL)	T1	108,43 ± 13,73	177,71 ± 12,40	153,12 ± 21,32	146,88 ± 17,12	151,63 ± 4,28
	T2	116,66 ± 4,23	158,84 ± 10,20	145,76 ± 10,32	134,17 ± 24,40	159,14 ± 14,93
	T3	116,79 ± 9,79	165,43 ± 8,63	156,97 ± 15,75	130,14 ± 19,33	157,92 ± 11,41
	T4	112,21 ± 7,61	162,31 ± 22,33	157,82 ± 14,79	147,49 ± 24,28	159,10 ± 7,50
	T5	104,38 ± 14,18	153,13 ± 14,09	160,58 ± 18,19	146,35 ± 5,63	151,98 ± 6,06
	T6	110,81 ± 1,69	159,41 ± 16,92	158,79 ± 1,82	140,31 ± 12,06	161,25 ± 22,92
CHCM (g/dL)	T1	26,57 ± 3,28	20,96 ± 1,11	20,83 ± 1,36	23,41 ± 2,84	23,74 ± 4,38
	T2	23,67 ± 1,17	20,95 ± 1,60	22,51 ± 1,71	22,82 ± 1,23	22,10 ± 3,02
	T3	22,54	21,73	21,96	23,59	23,22

conclusão

		± 1,85	± 1,49	± 0,69	± 1,86	± 4,28
	T4	24,52 ± 0,45	21,39 ± 1,81	21,98 ± 1,01	22,69 ± 2,08	22,62 ± 1,22
	T5	26,02 ± 2,30	21,96 ± 1,17	22,04 ± 1,76	23,30 ± 1,77	23,73 ± 2,43
	T6	25,14 ± 0,97	21,56 ± 1,46	22,36 ± 1,14	23,49 ± 2,51	22,10 ± 0,34
PPT (g/dL)	T1	3,90 ± 0,77	4,07 ± 0,38	3,48 ± 0,43	3,84 ± 0,32	3,98 ± 0,05
	T2	3,48 ± 0,29	4,07 ± 0,40	3,85 ± 0,56	4,40 ± 0,42	4,28 ± 0,38
	T3	3,87 ± 0,37	4,03 ± 0,19	3,75 ± 0,31	3,93 ± 0,62	4,75 ± 0,49
	T4	3,59 ± 0,34	3,98 ± 0,18	3,64 ± 0,35	4,08 ± 0,24	4,03 ± 0,68
	T5	3,36 ± 0,21	3,85 ± 0,18	3,46 ± 0,45	3,60 ± 0,44	4,23 ± 0,34
	T6	3,33 ± 0,33	3,85 ± 0,38	3,79 ± 0,22	4,25 ± 0,29	4,03 ± 0,33

[1]Biomassa da bactéria *Rubrivivax gelatinosus*.

Os parâmetros hematológicos não diferiram entre os tratamentos ($p > 0,05$) e se mantiveram dentro da normalidade (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004; UEDA et al., 1997). Estes dados demonstram que a biomassa não promoveu alterações na composição sanguínea e que os animais se mantiveram saudáveis durante o período experimental.

A avaliação dos parâmetros hematológicos dos peixes indica a capacidade dos animais em responder às demandas energéticas em situações adversas e, consequentemente, seu estado fisiológico, oferecendo uma visão geral sobre a higidez animal (FARIAS, 2012; ISHIKAWA et al., 2008). Segundo trabalhos consultados, as variáveis hematológicas em peixes podem ser influenciadas pela qualidade da água, pela exposição a metais pesados, por

estresse, pelo ciclo sazonal e por fatores endógenos como o sexo, o estágio gonadal, o estado nutricional e a presença de doenças (ISHIKAWA et al., 2008; SILVA et al., 2012).

Tabela 6 - Médias e desvios padrões das variáveis hematológicas da série branca e trombócitos dos tratamentos T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa[1] 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg, de acordo com o tempo. continua

Variável	Tratamento	Dia				
		0	18	43	58	74
Leucócitos (10^3 células/µL)	T1	105,13 ± 7,55	91,50 ± 8,44	80,13 ± 7,43	92,00 ± 7,36	88,50 ± 8,61
	T2	103,50 ± 8,15	91,00 ± 6,23	81,25 ± 4,25	91,38 ± 10,09	87,25 ± 10,46
	T3	106,50 ± 13,58	92,50 ± 13,50	82,63 ± 0,95	90,13 ± 3,57	89,88 ± 10,43
	T4	103,50 ± 14,45	91,00 ± 11,71	81,50 ± 10,06	87,75 ± 6,50	88,25 ± 11,21
	T5	104,50 ± 9,44	91,38 ± 7,18	82,75 ± 8,92	88,00 ± 5,58	91,38 ± 7,18
	T6	104,75 ± 10,24	91,25 ± 8,22	81,25 ± 8,35	87,38 ± 7,74	90,75 ± 6,30
Neutrófilos (10^3 células/µL)	T1	11,75 ± 2,33	12,00 ± 1,83	9,38 ± 2,56	8,38 ± 0,85	10,25 ± 2,90
	T2	11,50 ± 0,71	11,13 ± 1,11	9,38 ± 2,75	8,88 ± 2,39	11,00 ± 3,58
	T3	10,88 ± 2,14	11,38 ± 1,03	10,88 ± 3,28	8,00 ± 2,00	11,38 ± 2,66
	T4	12,13 ± 1,97	11,50 ± 1,41	8,13 ± 1,11	8,63 ± 1,11	11,00 ± 2,35
	T5	12,50 ± 1,96	11,00 ± 1,87	8,75 ± 3,18	8,00 ± 0,71	10,25 ± 1,32
	T6	12,50 ± 0,82	11,38 ± 2,17	9,38 ± 2,53	7,88 ± 1,89	10,25 ± 0,96
Linfócitos (10^3 células/µL)	T1	85,63 ± 3,12	84,75 ± 2,22	87,25 ± 3,28	90,13 ± 0,48	87,75 ± 3,88
	T2	86,13	86,13	87,25	89,25	87,00

continuação

		± 1,31	± 1,44	± 2,63	± 3,57	± 4,92
	T3	86,88 ± 2,50	85,00 ± 1,47	86,88 ± 4,27	89,75 ± 2,96	86,13 ± 3,59
	T4	85,38 ± 1,97	85,00 ± 1,47	88,38 ± 1,44	89,00 ± 1,68	86,38 ± 3,09
	T5	85,00 ± 1,78	86,38 ± 2,06	88,88 ± 3,57	89,50 ± 1,08	86,88 ± 1,25
	T6	84,38 ± 1,70	86,13 ± 3,25	88,00 ± 1,73	89,88 ± 2,17	87,63 ± 1,03
Monócitos (10^3 células/µL)	T1	2,37 ± 1,11	3,00 ± 0,41	3,13 ± 1,03	1,38 ± 1,11	1,88 ± 1,03
	T2	2,00 ± 0,41	2,63 ± 0,85	2,75 ± 0,50	1,63 ± 1,25	1,63 ± 1,31
	T3	2,13 ± 1,03	3,50 ± 0,58	2,00 ± 1,41	1,88 ± 1,03	2,25 ± 1,19
	T4	2,25 ± 0,50	3,13 ± 0,75	3,50 ± 1,08	2,38 ± 1,25	2,38 ± 0,85
	T5	2,38 ± 1,11	2,25 ± 1,04	1,88 ± 0,63	2,25 ± 0,65	2,50 ± 1,08
	T6	2,50 ± 0,82	2,50 ± 1,22	2,13 ± 0,48	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,41
Basófilos (10^3 células/µL)	T1	0,13 ± 0,25	0,13 ± 0,25	0,13 ± 0,25	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
	T2	0,13 ± 0,25	0,00 ± 0,00	0,25 ± 0,29	0,00 ± 0,00	0,25 ± 0,29
	T3	0,00 ± 0,00	0,13 ± 0,25	0,13 ± 0,25	0,25 ± 0,29	0,13 ± 0,25
	T4	0,00 ± 0,00	0,25 ± 0,50	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
	T5	0,00 ± 0,00	0,13 ± 0,25	0,38 ± 0,25	0,13 ± 0,25	0,13 ± 0,25
	T6	0,25 ± 0,50	0,00 ± 0,00	0,38 ± 0,75	0,13 ± 0,25	0,00 ± 0,00
Eosinófilos (10^3 células/µL)	T1	0,13 ± 0,25	0,13 ± 0,25	0,13 ± 0,25	0,13 ± 0,25	0,13 ± 0,25
	T2	0,25	0,13	0,38	0,25	0,13

conclusão

		± 0,50	± 0,25	± 0,25	± 0,50	± 0,25
	T3	0,13 ± 0,25	0,00 ± 0,00	0,13 ± 0,25	0,13 ± 0,25	0,13 ± 0,25
	T4	0,25 ± 0,50	0,13 ± 0,25	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,25 ± 0,50
	T5	0,13 ± 0,25	0,25 ± 0,50	0,13 ± 0,25	0,13 ± 0,25	0,25 ± 0,29
	T6	0,38 ± 0,48	0,00 ± 0,00	0,13 ± 0,25	0,13 ± 0,25	0,13 ± 0,25
Trombócitos (10^3 células/µL)	T1	22,25 ± 2,53	26,50 ± 3,29	28,25 ± 1,94	30,50 ± 2,35	34,50 ± 2,74
	T2	23,63 ± 3,71	26,00 ± 2,58	32,38 ± 2,56	32,00 ± 3,03	35,25 ± 4,33
	T3	23,38 ± 2,10	28,75 ± 1,19	29,25 ± 4,19	30,88 ± 4,71	35,75 ± 2,10
	T4	21,88 ± 3,64	27,25 ± 2,06	30,88 ± 3,22	32,88 ± 3,82	34,00 ± 2,89
	T5	21,75 ± 2,78	28,00 ± 3,11	29,38 ± 2,84	30,38 ± 4,42	35,38 ± 3,57
	T6	23,63 ± 3,57	28,25 ± 5,24	28,50 ± 2,80	32,25 ± 2,10	35,00 ± 4,20

[1]Biomassa da bactéria *Rubrivivax gelatinosus*.

Apesar de existirem diversas pesquisas com parâmetros hematológicos em peixes, a literatura apresenta informações inconsistentes com relação a nomenclaturas, diferenciação celular, maturação e função das células sanguíneas dos peixes; além disso, os índices podem variar entre animais da mesma espécie ou entre espécies (ISHIKAWA et al., 2008; UEDA et al., 1997). São relativamente poucos os trabalhos envolvendo variações na dieta e no perfil hematológico voltados à detecção e à compreensão das variações alimentares e às características sanguíneas (PAIVA, 2010). Em relação ao estudo hematológico associado ao uso de aditivos pigmentantes, a literatura é escassa. Dessa forma, realizou-se uma consulta de trabalhos envolvendo diferentes ensaios.

Hisano et al. (2006), ao incluírem levedura na alimentação de tilápias, avaliaram parâmetros hematológicos e não identificaram alterações na contagem de eritrócitos, na taxa de hemoglobina, na concentração de proteína plasmática total, na porcentagem de hematócrito, no volume globular médio e na concentração de hemoglobina globular média. Araujo (2009) avaliou os efeitos do consumo de rações com diferentes relações entre ácidos graxos poli-insaturados ômega-6 e ômega-3 sobre os parâmetros hematológicos e a concentração de lipídeos plasmáticos de tilápias, antes e após estímulo pelo frio. Esse autor relata que não houve efeito da dieta sobre nenhuma das variáveis analisadas no período anterior ao desafio, mas observou que os grupos alimentados com uma melhor relação de ácidos graxos apresentaram melhor resistência frente ao estresse do frio, comparados ao tratamento controle, que apresentaram piora do estado geral de saúde, como a leucopenia.

Paiva (2010), substituindo o milho pelo sorgo em rações experimentais de tilápias, observou que os grupos alimentados com sorgo tiveram valores hematológicos normais, embora tenha ocorrido um aumento do hematócrito e da taxa de hemoglobina e a diminuição do número de hemácias, indicando macrocitose, a qual foi comprovada pelo aumento do VCM. A autora sugere que isso pode ter ocorrido pelos quelatos formados entre o mineral ferro e os compostos fenólicos, em especial os taninos, presentes no sorgo. Silva et al. (2012), ao determinarem os parâmetros hematológicos e bioquímicos de tilápias sob a influência do fator estresse fisiológico em animais submetidos à exposição ao ar, relatam que houve elevação do cortisol e neutrofilia e linfopenia com o aumento da exposição ao ar.

Farias (2012), avaliando a influência de diferentes níveis de inclusão de *Bacillus subtilis e Bacillus cereus* em rações experimentais sobre as respostas hematológicas, bioquímicas, imunológicas, desempenho produtivo e resistência à infecção por *Aeromonas hydrophila* em pacus, relata que a administração dos probióticos não influenciou o número de eritrócitos, a taxa de hemoglobina, o hematócrito, os índices hematimétricos, a contagem total e diferencial de

leucócitos, a contagem de trombócitos e a quantidade de proteínas plasmáticas, concluindo que houve a manutenção da homeostasia dos fluidos corpóreos nos peixes. Já Al-Dohail et al. (2009) verificaram que bagres africanos, alimentados com *Lactobacillus acidophillus*, apresentaram melhor desempenho com melhora dos parâmetros hematológicos, como o aumento do volume corpuscular médio, do nível de hemoglobina, das proteínas totais, das células vermelhas e dos leucócitos comparados ao grupo controle.

Pereira (2013), em busca de substitutos para a utilização de antimicrobianos de modo profilático na alimentação de tilápias, avaliou os efeitos do β-glucano e do mananoligossacarídeo em substituição da oxitetraciclina sobre as respostas hematológicas, imunológicas, bioquímicas e de desempenho produtivo. Esse autor relata que as substâncias promoveram uma melhora no desempenho e que não houve diferença nas análises hematológicas entre os tratamentos, mas sim à quantidade de dias, porém com valores dentro da normalidade. Ledic-Neto (2013), ao estudar a influência da suplementação com própolis na ração de tilápias sobre os parâmetros hematológicos e histológicos, verificaram, após 21 dias de alimentação, menores números totais de leucócitos e linfócitos, bem como aumento no número de eritrócitos em relação aos não suplementados, concluindo que, apesar de poucas variações hematológicas, o produto não teve efeito agressor.

5.4 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

A avaliação histopatológica comparativa está ilustrada na Tabela 7. Não houve diferença significativa entre os fígados, baços e intestinos avaliados, apesar de terem sido encontradas algumas alterações em órgãos de animais de diferentes tratamentos. Esses dados indicam que o uso de aditivos pigmentantes, tanto do Carophyll, como da biomassa bacteriana, não foi capaz de causar efeitos negativos na morfologia dos órgãos de eleição para alterações patológicas. As principais alterações encontradas em alguns órgãos

foram: esteatose nos fígados, congestão moderada e aumento de melanomacrófagos nos baços e, achatamento/arrasamento das células caliciformes e edema com infiltrado de neutrófilos nos intestinos.

Tabela 7 - Análise histológica dos fígados, baços e intestinos dos animais segundo o tratamento (n = 8), T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa[1] 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg

Órgão	Tratamento	Alteração		p[2]
		Ausência	Presença	
Fígado	T1	0	8	0,1317
	T2	2	6	
	T3	0	8	
	T4	0	8	
	T5	0	8	
	T6	2	6	
Intestino	T1	8	0	0,4079
	T2	8	0	
	T3	7	1	
	T4	8	0	
	T5	6	2	
	T6	8	0	
Baço	T1	7	1	0,5148
	T2	8	0	
	T3	5	3	
	T4	5	3	
	T5	6	2	
	T6	6	2	

[1]Biomassa da bactéria *Rubrivivax gelatinosus*. [2]Teste exato de Fisher.

A análise histopatológica constitui uma ferramenta valiosa para avaliar o dano celular e suas consequências nos diferentes órgãos, nos processos crônicos e agudos (LEDIC-NETO, 2013; PAIVA, 2010). A discussão de dados relacionando pigmentos carotenoides na alimentação e alterações

histopatológicas em peixes ficou prejudicada devido à escassez de dados na literatura. Por isso, a utilização desses aditivos merece ser estudada para a avaliação de seus benefícios e possíveis alterações nos órgãos. Dessa forma, aqui são apresentados dados de alguns trabalhos sobre histopatologia de peixes de uma forma geral. Segundo Segner et al. (1989), o fígado atua como o órgão central do metabolismo intermediário, o que inclui a biotransformação de carotenoides e, possivelmente, reflete possíveis efeitos positivos e negativos desses pigmentos no metabolismo dos peixes. Esses mesmos autores, avaliando a influência de diferentes concentrações de astaxantina na dieta de *Oreochromis niloticus* e de *Colisa labiosa*, verificaram que esse pigmento, além de não provocar alterações patológicas no fígado, possui uma influência positiva sobre a estrutura hepática em relação à organização parenquimal e intracelular. Seguindo essa linha, Ponce-Palafox et al. (2004) também relatam que a administração de astaxantina em tilápia vermelhas, em diferentes concentrações, tem uma função nutricional positiva no metabolismo, baseada em exames histológicos do fígado.

Hisano et al. (2006), ao incluírem levedura na alimentação de tilápias, não identificaram alterações na morfologia do fígado, mas observaram aumento das vilosidades intestinais, concluindo que a levedura influenciou positivamente na diferenciação e no crescimento de células do epitélio intestinal. Dias et al. (2007), avaliando os efeitos tóxicos do cloreto de mercúrio em concentrações subletais sobre o quadro histológico de tilápias, verificaram que o coração e o encéfalo não apresentaram alterações, mas que os baços apresentaram hiperplasia e hipertrofia dos centros de melanomacrófagos, proporcionais às concentrações testadas.

Bombardelli et al. (2009), ao alimentarem tilápias com rações contendo diferentes níveis de energia digestível, obtidos pela inclusão de óleo de soja, observaram que a deposição lipídica no tecido hepático foi maior com o aumento dos níveis de energia nas rações.

Graciano (2009), ao avaliar os efeitos da metionina e da colina sobre o desempenho produtivo e a morfologia do fígado e do músculo de tilápias, verificou que a colina possui importante ação na utilização do lipídeo hepático, evidenciada pela redução de inclusões, enquanto que os animais que não receberam colina apresentaram fígados com degeneração gordurosa. Paiva (2010), utilizando diferentes níveis de substituição do milho pelo sorgo com baixo teor de tanino em rações de tilápias, observou um aumento das vilosidades intestinais e dos pesos dos fígados. Ledic-Neto (2013), avaliando a influência da suplementação com própolis na ração de tilápias sobre os parâmetros hematológicos e na histologia de baços e rins, verificou que houve um aumento no número de centros de melanomacrófagos nos baços com presença de hemossiderina, embora essas alterações não tenham alterado a higidez dos peixes.

5.5 ANÁLISES DE QUALIDADE

5.5.1 pH E COMPOSIÇÃO QUÍMICO-BROMATOLÓGICA

As médias e os desvios padrões do pH e da composição químico-bromatológica encontrados nos filés estão descritos na Tabela 8. Os filés dos grupos alimentados com a biomassa apresentaram maiores concentrações de proteínas ($p = 0,0016$) e menores concentrações de umidade ($p = 0,0003$). Como o aumento proteico dos filés não era previsto nesse experimento, não foram realizados testes de digestibilidade para elucidar os resultados encontrados. No entanto, esse achado leva a crer que a biomassa de *R. gelatinosus* possua algum princípio ativo que favoreça a absorção e a deposição de proteínas, fato que futuramente deverá ser estudado. A maior concentração protéica nos filés esclarece a consequente redução da umidade nos produtos, já que os constituintes orgânicos e inorgânicos são inversamente proporcionais à quantidade de água na carne. Além disso, um menor teor de

umidade nos filés constitui fator positivo para a sua conservação. Para os demais parâmetros avaliados, pH, lipídeos e cinzas, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos.

Os valores de pH encontrados neste experimento foram inferiores ao valor legal máximo preconizado pela legislação brasileira (RIISPOA). Este regulamento cita que o pH do pescado fresco deve ser inferior a 6,8 (BRASIL, 1952). Os valores desse parâmetro no presente estudo indicam um correto manejo no abate, o que propiciou uma queda de pH apropriada para a conservação da carne. Moura et al. (2009) avaliaram o pH de filés de tilápias provenientes do médio rio Tietê e encontraram valores de 6,2 a 6,4. Santos (2013), ao avaliar o pH de filés de tilápias resfriados e submetidos a diferentes métodos de abate, também encontrou valores inferiores a 6,8.

Tabela 8 – Médias e desvios padrões dos valores de pH e composição químico-bromatológica dos filés de tilápias, de acordo com o tratamento, T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa[1] 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg

Tratamento	pH	Umidade (%)	Lipídeos (%)	Proteína (%)	Cinzas (%)
T1	6,36 ± 0,08	79,03 ± 0,60[a]	1,16 ± 0,08	18,20 ± 0,48[b]	1,30 ± 0,09
T2	6,27 ± 0,13	77,86 ± 0,46[b]	1,25 ± 0,21	18,43 ± 0,82[b]	1,32 ± 0,08
T3	6,31 ± 0,05	77,90 ± 0,31[b]	1,30 ± 0,37	19,99 ± 0,42[a]	1,26 ± 0,07
T4	6,32 ± 0,12	77,29 ± 0,47[b]	1,22 ± 0,19	19,45 ± 0,46[a]	1,34 ± 0,08
T5	6,24 ± 0,03	77,23 ± 0,64[b]	1,38 ± 0,16	19,53 ± 0,58[a]	1,38 ± 0,05
T6	6,19 ± 0,01	77,25 ± 0,29[b]	1,44 ± 0,24	19,76 ± 0,67[a]	1,44 ± 0,24

Valores na coluna seguidos da mesma letra não diferem entre si segundo o teste SNK ($p > 0,05$). [1]Biomassa da bactéria *Rubrivivax gelatinosus*.

A composição químico-bromatológica dos filés de pescado pode variar com o sexo, a idade, a época de captura, o habitat e a dieta consumida

(PEREDA et al., 2005) e, segundo trabalhos realizados, os valores aqui encontrados para a composição de files de tilápias estão dentro da normalidade. Souza et al. (2005) avaliaram o efeito de diferentes pesos de tilápias sobre o rendimento e a qualidade dos filés *in natura* e submetidos à defumação e encontraram 78,00 a 79,99% de umidade, 1,41 a 1,79% de lipídeos, 17,51 a 19,31% de proteínas e 1,09 a 1,10% de cinzas para os produtos *in natura*. Otani (2009), utilizando a vitamina E como antioxidante na dieta de tilápias, identificou 78,69% de umidade, 0,97 a 1,11% de lipídeos, 18,98 a 19,37% de proteínas, e 1,13 a 1,15% de cinzas nos filés. Moura et al. (2009), devido ao grande volume de pescado desembarcado na região do médio rio Tietê, avaliaram a composição físico-química e o frescor de filés de tilápia, sendo encontrados os seguintes valores: 77,9 a 81,69% de umidade, 0,6 a 1,9% de lipídeos, 13,72 a 18,25% de proteínas e 0,6 a 1,0% de cinzas. Druzian et al. (2012), utilizando rações com diferentes formulações, encontraram os seguintes valores para os filés de tilápias: 78,52 a 80,63% de umidade, 0,98 a 1,08% de lipídeos, 18,50 a 19,07% de proteína e 1,07 a 1,18% de cinzas.

5.5.2 AVALIAÇÃO COLORIMÉTRICA

As médias e os desvios padrões dos atributos de cor dos filés nos 3 pontos avaliados estão apresentados nas Tabelas 9, 10 e 11 e as Figuras 13, 14 e 15 ilustram os gráficos tridimensionais de superfície de resposta para os atributos de cor dos filés provenientes dos tratamentos com a biomassa de *R. gelatinosus*. Os valores de *L* foram menores para o T5 (700 mg de biomassa/kg), quando comparados ao controle, apenas no ponto caudal no dia 18, o que indica uma menor luminosidade nos filés.

Para os valores de *a*, foram encontradas diferenças em 2 momentos: no dia 18 houve maiores valores para o T6 (1400 mg de biomassa/kg) no ponto cranial em relação ao controle e, no dia 74 identificaram-se maiores valores

para os tratamentos com aditivos pigmentantes quando comparados ao controle, o que indica uma maior intensidade de vermelho. Além disso, podemos afirmar que, no ponto cranial, a intensidade de vermelho produzida pelas maiores concentrações da biomassa foi superior à produzida pelo aditivo pigmentante sintético Carophyll Pink. Os valores de *b* não apresentaram diferenças em nenhum dos pontos analisados ($p > 0,05$).

Tabela 9 – Médias e desvios padrões dos valores do atributo de cor *L* (luminosidade) em 3 pontos de mensuração nos filés de tilápias nos diferentes dias, sendo T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa[1] 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg

Ponto	Tratamento	Dia			
		0	18	58	74
Cranial	T1	57,16 ± 1,80	59,59 ± 1,40	56,39 ± 2,94	51,33 ± 1,24
	T2	59,60 ± 2,76	57,36 ± 2,04	55,34 ± 1,46	51,50 ± 1,26
	T3	60,22 ± 2,08	55,92 ± 1,36	56,32 ± 2,84	52,91 ± 1,84
	T4	56,23 ± 2,98	56,31 ± 4,54	55,89 ± 1,71	51,69 ± 1,40
	T5	57,94 ± 3,64	55,52 ± 4,46	55,48 ± 1,19	51,77 ± 1,74
	T6	60,87 ± 0,96	56,38 ± 1,10	56,17 ± 1,50	52,01 ± 2,21
Medial	T1	59,87 ± 1,92	54,73 ± 3,16	54,17 ± 2,19	52,25 ± 0,40
	T2	59,47 ± 3,12	53,93 ± 1,36	53,25 ± 2,14	51,84 ± 2,34
	T3	61,67 ± 2,91	52,60 ± 2,56	54,05 ± 1,74	51,85 ± 1,46
	T4	57,22 ± 2,27	55,14 ± 2,26	54,00 ± 1,48	50,68 ± 0,53
	T5	60,22 ± 3,04	52,92 ± 3,08	54,55 ± 1,11	50,89 ± 0,98
	T6	59,60 ± 2,04	52,70 ± 3,27	54,45 ± 1,42	50,18 ± 1,80
Caudal	T1	58,93 ± 2,44	63,85 ± 4,59^{a}	57,65 ± 3,59	54,89 ± 2,58
	T2	58,09 ± 1,96	60,73 ± 4,20^{ab}	54,30 ± 5,12	54,01 ± 2,54
	T3	59,65 ± 3,46	57,71 ± 3,07^{ab}	55,82 ± 3,48	53,02 ± 3,60
	T4	55,19 ± 2,37	56,26 ± 3,32^{ab}	57,56 ± 4,83	52,98 ± 4,83
	T5	57,11 ± 1,19	53,29 ± 0,68^{b}	56,55 ± 5,31	55,07 ± 1,63
	T6	58,79 ± 1,06	58,47 ± 2,10^{ab}	55,78 ± 3,68	54,60 ± 3,47

Valores na coluna seguidos da mesma letra não diferem entre si segundo o teste SNK ($p > 0,05$). [1]Biomassa da bactéria *Rubrivivax gelatinosus*.

Tabela 10 – Médias e desvios padrões dos valores do atributo de cor *a* (intensidade de vermelho) em 3 pontos de mensuração nos filés de tilápias nos diferentes dias, sendo T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa[1] 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg

Ponto	Tratamento	Dia			
		0	18	58	74
Cranial	T1	-1,15 ± 0,74	-0,69 ± 0,95^{b}	0,30 ± 0,46	-0,22 ± 0,13^{d}
	T2	-0,20 ± 0,45	0,64 ± 0,50^{b}	0,50 ± 0,34	0,20 ± 0,09^{c}
	T3	-1,48 ± 0,71	-1,06 ± 0,76^{b}	0,22 ± 0,36	0,44 ± 0,14^{b}
	T4	-0,76 ± 0,73	0,50 ± 0,46^{ab}	0,92 ± 1,29	0,35 ± 0,09^{bc}
	T5	-1,28 ± 0,97	0,29 ± 0,19^{ab}	0,86 ± 1,03	0,89 ± 0,07^{a}
	T6	-1,22 ± 0,53	1,07 ± 0,71^{a}	0,37 ± 0,31	0,53 ± 0,14^{b}
Medial	T1	-0,68 ± 0,80	2,26 ± 0,66	2,93 ± 1,35	1,20 ± 0,26^{c}
	T2	-0,20 ± 0,66	2,11 ± 0,77	2,67 ± 0,90	2,48 ± 0,26^{ab}
	T3	-0,79 ± 0,22	2,12 ± 1,05	2,24 ± 0,90	1,37 ± 0,17^{c}
	T4	0,72 ± 0,22	2,16 ± 0,31	2,35 ± 0,81	2,08 ± 0,31^{b}
	T5	0,42 ± 1,19	2,03 ± 0,56	2,56 ± 0,62	2,65 ± 0,31^{a}
	T6	0,15 ± 0,51	2,74 ± 1,52	1,85 ± 0,38	2,48 ± 0,30^{ab}
Caudal	T1	1,64 ± 0,24	1,66 ± 1,57	3,75 ± 1,46	2,99 ± 0,37^{b}
	T2	2,85 ± 0,98	2,67 ± 0,85	3,11 ± 1,88	4,58 ± 0,38^{a}
	T3	1,59 ± 1,96	2,32 ± 0,89	3,93 ± 0,91	4,01 ± 0,34^{a}
	T4	2,04 ± 1,16	2,36 ± 1,08	3,01 ± 1,96	4,08 ± 0,39^{a}
	T5	2,94 ± 0,88	3,07 ± 1,34	3,65 ± 1,09	4,24 ± 0,27^{a}
	T6	1,97 ± 0,86	3,22 ± 0,61	4,38 ± 1,94	4,63 ± 0,25^{a}

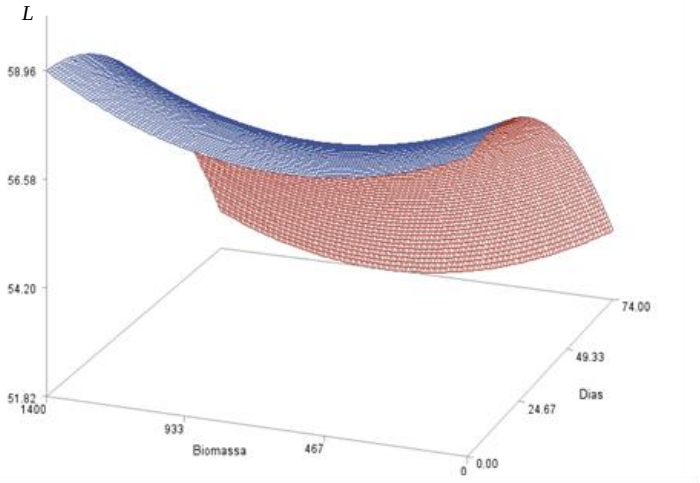
Valores na coluna seguidos da mesma letra não diferem entre si segundo o teste SNK ($p > 0,05$). [1]Biomassa da bactéria *Rubrivivax gelatinosus*.

Tabela 11 – Médias e desvios padrões dos valores do atributo de cor *b* (intensidade de amarelo) em 3 pontos de mensuração nos filés de tilápias nos diferentes dias, sendo T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa[1] 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg

Ponto	Tratamento	Dia			
		0	18	58	74
Cranial	T1	10,90 ± 2,07	9,32 ± 1,28	10,61 ± 0,56	10,01 ± 0,73
	T2	11,59 ± 1,80	9,26 ± 0,65	11,30 ± 0,78	10,21 ± 0,97
	T3	12,02 ± 2,45	9,59 ± 0,94	10,18 ± 1,47	10,59 ± 1,53
	T4	11,96 ± 1,12	10,09 ± 1,92	10,08 ± 1,57	10,17 ± 0,43
	T5	11,79 ± 1,18	10,00 ± 0,74	10,80 ± 1,09	10,90 ± 1,71
	T6	12,27 ± 2,19	8,93 ± 0,72	10,19 ± 0,70	11,29 ± 1,07
Medial	T1	12,52 ± 1,82	11,17 ± 0,75	11,47 ± 1,25	10,96 ± 0,77
	T2	13,21 ± 1,14	11,20 ± 0,62	11,25 ± 0,67	11,37 ± 0,41
	T3	14,14 ± 2,56	11,80 ± 0,73	10,84 ± 1,38	10,53 ± 0,19
	T4	13,10 ± 2,50	10,64 ± 1,87	10,41 ± 0,80	10,87 ± 1,41
	T5	12,37 ± 1,25	11,76 ± 2,00	11,13 ± 1,07	12,01 ± 2,21
	T6	12,91 ± 1,88	11,44 ± 1,57	10,78 ± 0,79	11,88 ± 0,85
Caudal	T1	12,59 ± 0,80	11,03 ± 1,60	12,52 ± 0,34	11,52 ± 0,59
	T2	12,93 ± 1,29	11,28 ± 0,78	10,81 ± 2,16	12,00 ± 0,60
	T3	14,11 ± 2,02	10,48 ± 1,37	12,75 ± 1,06	11,83 ± 1,10
	T4	13,02 ± 1,67	10,83 ± 2,49	11,75 ± 1,85	11,15 ± 0,74
	T5	12,86 ± 1,96	11,91 ± 1,90	12,03 ± 1,49	12,38 ± 2,04
	T6	13,31 ± 1,68	11,76 ± 1,29	13,12 ± 2,05	12,98 ± 1,55

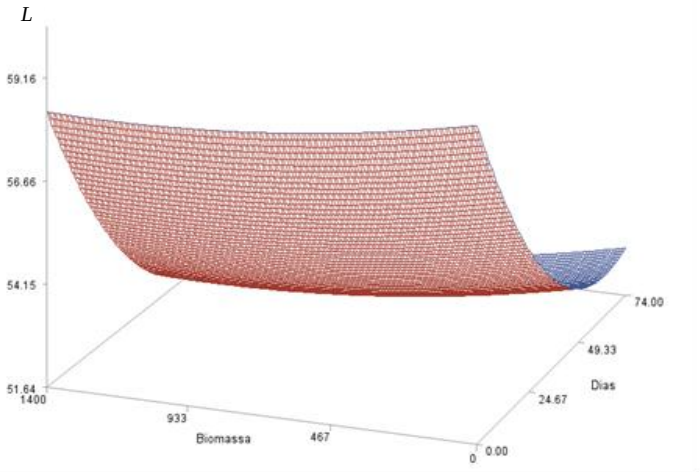
Valores na coluna seguidos da mesma letra não diferem entre si segundo o teste SNK ($p > 0,05$). [1]Biomassa da bactéria *Rubrivivax gelatinosus*.

A análise de superfície de resposta para a cor, após o teste de ajustes, relacionou a concentração da biomassa, os valores dos atributos e o tempo e os efeitos lineares e quadráticos. A Figura 13 mostra que, nos pontos cranial e medial, a luminosidade não foi influenciada pela concentração da biomassa, mas sim pelo tempo de consumo. Apesar disso, apenas o ponto medial apresentou diferença significativa com efeitos linear e quadrático. No ponto caudal, a luminosidade foi influenciada pela presença da biomassa (efeito quadrático, $p = 0,0167$), apresentando menores valores com concentrações intermediárias do produto, o que indica escurecimento da carne.



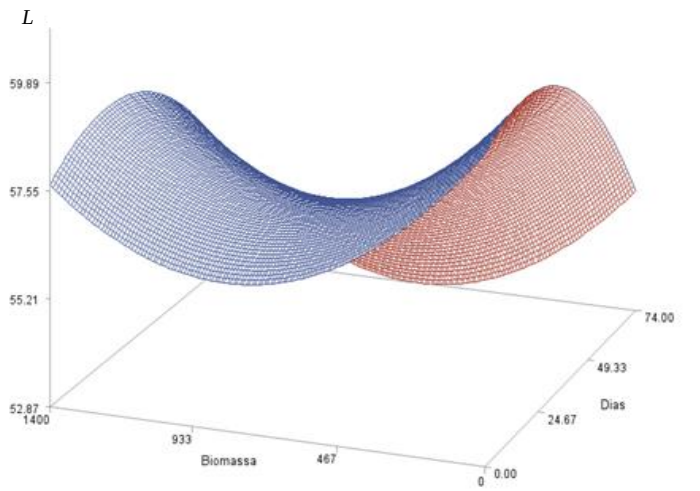
Ponto Cranial

Parâmetro	Estimativa	*L* > |T|
Intercepto	58,1894	<0,0001
Biomassa	-0,0029	0,2236
Dias	0,0225	0,6301
Biomassa*Biomassa	0,0000	0,1043
Dias*Biomassa	0,0000	0,4705
Dias*Dias	-0,0012	0,0527



Ponto Medial

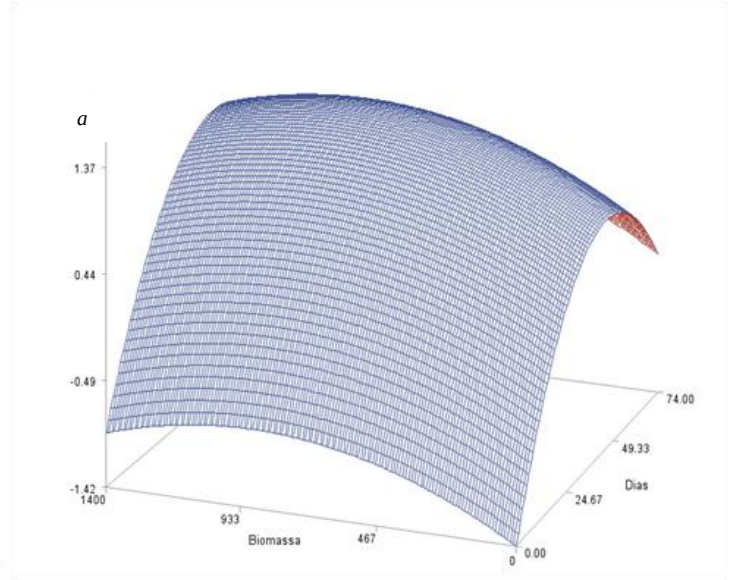
Parâmetro	Estimativa	*L* > |T|
Intercepto	59,1632	<0,0001
Biomassa	-0,0015	0,5338
Dias	-0,2060	<0,0001
Biomassa*Biomassa	0,0000	0,6645
Dias*Biomassa	0,0000	0,9246
Dias*Dias	0,0016	0,0113



Ponto Caudal

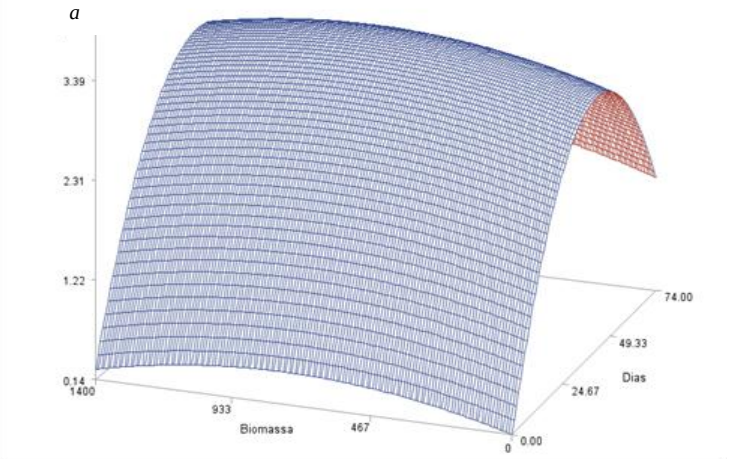
Parâmetro	Estimativa	*L* > |T|
Intercepto	59,4295	<0,0001
Biomassa	-0,0082	0,0144
Dias	0,0508	0,4328
Biomassa*Biomassa	0,0000	0,0167
Dias*Biomassa	0,0000	0,6645
Dias*Dias	-0,0014	0,0950

FIGURA 13 - Superfície de resposta tridimensional para o atributo *L* nos 3 pontos dos filés dos tratamentos com a biomassa de *R. gelatinosus* de acordo com os dias de análise e tabelas dos dados da equação de regressão e dos efeitos lineares e quadráticos (valores de p).



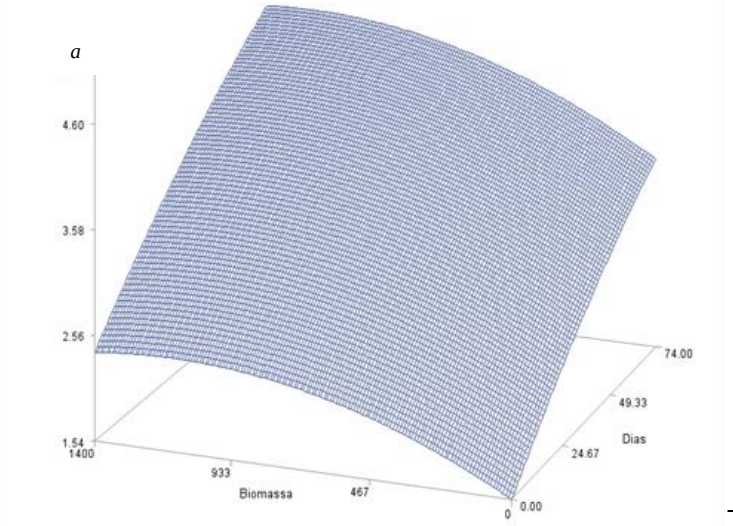
Ponto Cranial

Parâmetro	Estimativa	*a* > |T|
Intercepto	-1,4171	<0,0001
Biomassa	0,0015	0,0298
Dias	0,0885	<0,0001
Biomassa*Biomassa	0,0000	0,0528
Dias*Biomassa	0,0000	0,7386
Dias*Dias	-0,0010	<0,0001



Ponto Medial

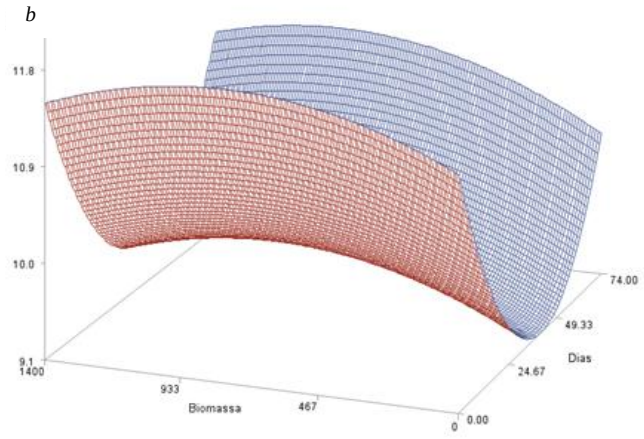
Parâmetro	Estimativa	*a* > |T|
Intercepto	0,1427	0,6876
Biomassa	0,0009	0,3365
Dias	0,1306	<0,0001
Biomassa*Biomassa	0,0000	0,3109
Dias*Biomassa	0,0000	0,6868
Dias*Dias	-0,0015	<0,0001



Ponto Caudal

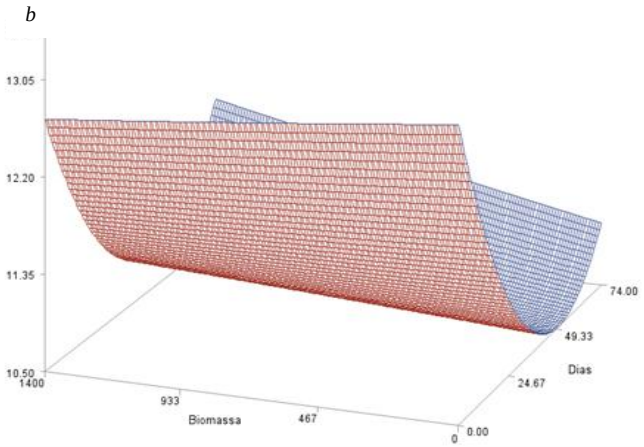
Parâmetro	Estimativa	*a* > |T|
Intercepto	1,5409	<0,0001
Biomassa	0,0016	0,1065
Dias	0,0336	0,0834
Biomassa*Biomassa	0,0000	0,2535
Dias*Biomassa	0,0000	0,7245
Dias*Dias	-0,0001	0,6640

FIGURA 14 - Superfície de resposta tridimensional para o atributo *a* nos 3 pontos dos filés dos tratamentos com a biomassa de *R. gelatinosus* de acordo com os dias de análise e tabelas dos dados da equação de regressão e dos efeitos lineares e quadráticos (valores de p).



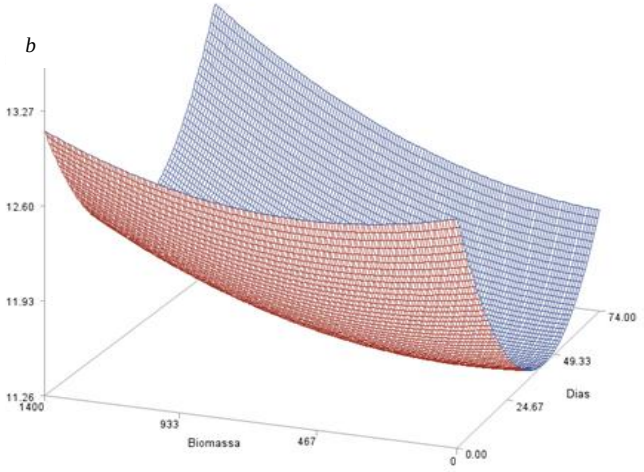
Ponto Cranial

Parâmetro	Estimativa	*b* > |T|
Intercepto	11,2641	<0,0001
Biomassa	0,0014	0,2912
Dias	-0,1050	<0,0001
Biomassa*Biomassa	0,0000	0,2958
Dias*Biomassa	0,0000	0,7301
Dias*Dias	0,0013	0,0002



Ponto Medial

Parâmetro	Estimativa	*b* > |T|
Intercepto	13,0549	<0,0001
Biomassa	-0,0003	0,8389
Dias	-0,1016	0,0002
Biomassa*Biomassa	0,0000	0,9835
Dias*Biomassa	0,0000	0,3414
Dias*Dias	0,0010	0,0038



Ponto Caudal

Parâmetro	Estimativa	*b* > |T|
Intercepto	12,8297	<0,0001
Biomassa	-0,0005	0,7297
Dias	-0,0712	0,0161
Biomassa*Biomassa	0,0000	0,5790
Dias*Biomassa	0,0000	0,4524
Dias*Dias	0,0008	0,0323

FIGURA 15 - Superfície de resposta tridimensional para o atributo *b* nos 3 pontos dos filés dos tratamentos com a biomassa de *R. gelatinosus* de acordo com os dias de análise e tabelas dos dados da equação de regressão e dos efeitos lineares e quadráticos (valores de p).

Para o atributo *a* (Figura 14), nota-se que o ponto cranial foi o único local em que a concentração da biomassa (efeito linear, p = 0,0298) e o tempo de administração (efeito quadrático, p = 0,0528) aumentaram sua intensidade. No ponto medial, apesar do aumento da intensidade de vermelho, não se observa influência da concentração do aditivo, mas apenas do tempo, com efeitos linear (p < 0,0001) e quadrático (p < 0,0001). Além disso, esses dois pontos apresentaram diminuição dos valores de *a* no final do experimento.

Para o atributo *b* (Figura 15), em todos os pontos, apenas o tempo promoveu variações, com efeitos linear (p < 0,05) e quadrático (p < 0,05). Houve um comportamento semelhante nos três pontos analisados, com inicial queda e posterior elevação de *b*. Com esses resultados percebemos que, concomitante ao aumento da intensidade de vermelho, houve uma redução na intensidade de amarelo nos filés.

Pigmentos carotenoides são utilizados na alimentação de trutas e salmões para se obter a coloração característica destes produtos. A taxa de deposição dos carotenoides na musculatura de salmonídeos depende do tipo do pigmento, de sua concentração na ração, da densidade energética da ração, do tamanho do peixe, do estado fisiológico, dos fatores ambientais, das doenças, do histórico genético e do tempo de arraçoamento com o carotenoide selecionado (TAKAHASHI et al., 2008). A astaxantina é um carotenoide amplamente distribuído na natureza, sendo encontrado como principal pigmento na alimentação de peixes (truta e salmão).

A astaxantina sintética, que é, atualmente, o pigmento comercial mais utilizado na piscicultura, possui uso restrito em alguns países devido a uma potencial toxicidade. Segundo Ponce-Palafox et al. (2004), estudos com pigmentação de tilápias são escassos e, por isso, justifica-se o desenvolvimento de alternativas para a obtenção de pigmentos carotenoides naturais. Com a melhora da pigmentação dos filés de tilápias, além de outras características apontadas nesse experimento, esses produtos podem ser

indicados como uma nova opção para o mercado de pescado, com possibilidade de agregação de valor, como ocorreu com a truta salmonada, produto com grande aceitação.

Os atributos de cor podem variar de acordo com o abate, a alimentação e o local de mensuração. Ponce-Palafox et al. (2004) avaliaram a pigmentação da pele em tilápias alimentadas com rações com pigmentantes carotenoides e notaram intensificação da cor com o tempo de criação. Esses autores utilizaram Carophyll e pigmentos da flor cempasúchil, e identificaram coloração rosada e amarelada nos animais, respectivamente. Tolasa et al. (2005) avaliaram o total de carotenoides (astaxantina, cantaxantina) e a pigmentação de salmões (em sistema tradicional e de forma natural) e trutas. Os autores constataram uma maior pigmentação com o uso da astaxantina e o total de carotenoides foi maior no salmão cultivado de forma tradicional. Oliveira (2009), ao adicionar licopeno na ração de tilápias para verificação de seus efeitos nos animais, constatou que este pigmento não alterou a cor dos filés, quando comparados ao controle, obtendo valores de 54,88 para *L*, de 2,41 para *a* e de 9,95 para *b*. Souza et al. (2005) compararam a qualidade de filés de tilápias *in natura* e defumados e, encontraram valores para o produto *in natura* de 61,70 para o atributo *L*, -0,74 para *a* e 10,17 para *b*. Santos (2013) encontrou valores médios para *L* de 54, *a* de 2, e *b* de 8 em filés de tilápias abatidas com água e gelo.

Este estudo analisa, pela primeira vez, a utilização da biomassa de *R. gelatinosus* como aditivo em peixes mas já existem estudos com o uso do produto para a suplementação da dieta de aves. Ponsano et al. (2003) avaliaram o uso da biomassa da bactéria na ração de frangos e seus efeitos sobre a pigmentação da carcaça, comparados com o uso de glúten de milho, e sugeriram o uso do produto em ração animal, devido a seu potencial pigmentante. Ponsano et al. (2004b), objetivando avaliar o ganho de peso, produção e peso de ovos e cor da gema, notaram resultados positivos com a suplementação da dieta de poedeiras pela biomassa. Ponsano et al. (2004a)

obtiveram bons resultados no ganho de peso de aves e maior coloração vermelha na pele do peito e coxa de frangos de corte pelo uso da biomassa. Polonio et al. (2010) realizaram a adição de biomassa *Rubrivivax gelatinosus* na dieta de galinhas poedeiras e avaliaram a coloração das gemas, a preferência do consumidor pelos ovos e a função hepática e renal dos animais. As diferentes concentrações de biomassa testadas provocaram escurecimento e aumento da cor vermelha na gema, mas não afetaram a cor amarela. Avanço (2012) avaliou o efeito da suplementação da ração de frangos de corte com a biomassa de *R. gelatinosus*, sobre a coloração da pele da coxa e da carne do peito e verificou que o produto foi eficiente em promover a pigmentação.

5.5.3 ANÁLISE DA RANCIDEZ

As médias e os desvios padrões dos valores de TBARS nos filés estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Médias e desvios padrões dos valores de TBARS (mg de MA/kg) em filés de tilápias de acordo com o tratamento e o tempo de armazenamento sob congelamento[1], sendo T1 - Controle, T2 - Carophyll 350 mg/kg, T3 - Biomassa[2] 175 mg/kg, T4 - Biomassa 350 mg/kg, T5 - Biomassa 700 mg/kg e T6 - Biomassa 1400 mg/kg

Tratamento	Dia				
	0	20	40	60	80
T1	0,071 ± 0,025^{D}	0,343 ± 0,048^{Ca}	0,647 ± 0,090^{Ba}	0,799 ± 0,046^{Aa}	0,807 ± 0,028^{Aa}
T2	0,052 ± 0,022^{D}	0,331 ± 0,084^{Ca}	0,454 ± 0,049^{Bb}	0,579 ± 0,049^{Ab}	0,596 ± 0,124^{Ab}
T3	0,040 ± 0,002^{D}	0,192 ± 0,062^{Cb}	0,484 ± 0,076^{Bb}	0,596 ± 0,055^{Ab}	0,604 ± 0,034^{Ab}
T4	0,046 ± 0,022^{C}	0,155 ± 0,028^{Bb}	0,378 ± 0,048^{Bbc}	0,453 ± 0,087^{Ac}	0,468 ± 0,044^{Ac}
T5	0,033 ± 0,013^{D}	0,143 ± 0,036^{Cb}	0,358 ± 0,045^{Bbc}	0,448 ± 0,032^{Ac}	0,453 ± 0,036^{Ac}
T6	0,033 ± 0,009^{D}	0,124 ± 0,034^{Cb}	0,317 ± 0,069^{Bc}	0,444 ± 0,061^{Ac}	0,459 ± 0,039^{Ac}

[1]Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas (linha) e minúsculas (coluna), não diferem entre si pelo teste SNK ($p > 0,05$). [2]Biomassa da bactéria *Rubrivivax gelatinosus*.

A Figura 16 ilustra os gráficos das análises de regressão dos valores de oxidação lipídica dos filés dos diferentes tratamentos, que se ajustam em equações de 2º grau com coeficientes de determinação elevados ($R^2 > 0,90$), e a Figura 17 ilustra o gráfico tridimensional de superfície de resposta para os valores de oxidação lipídica dos filés oriundos dos tratamentos com a biomassa de *R. gelatinosus*.

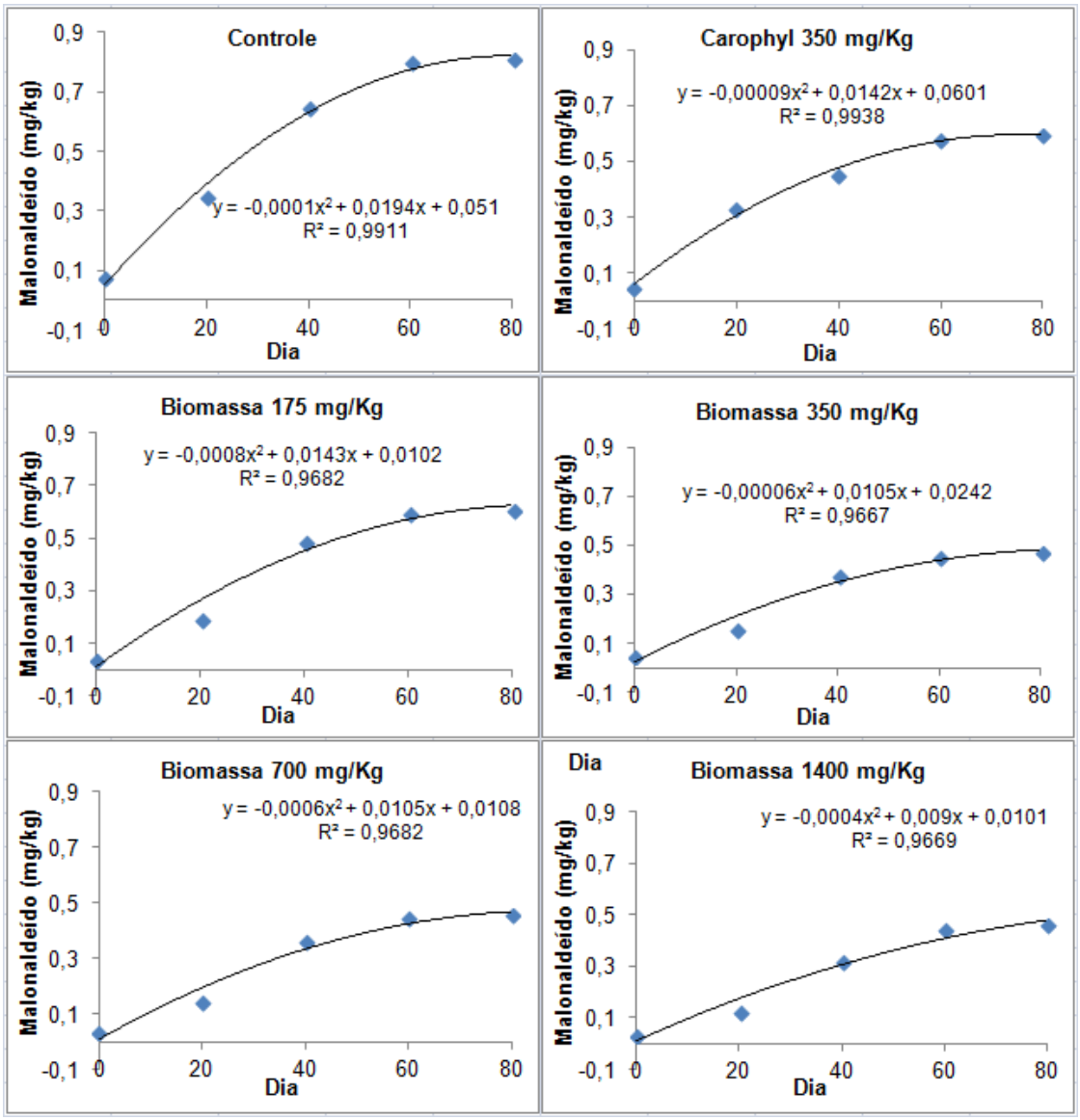
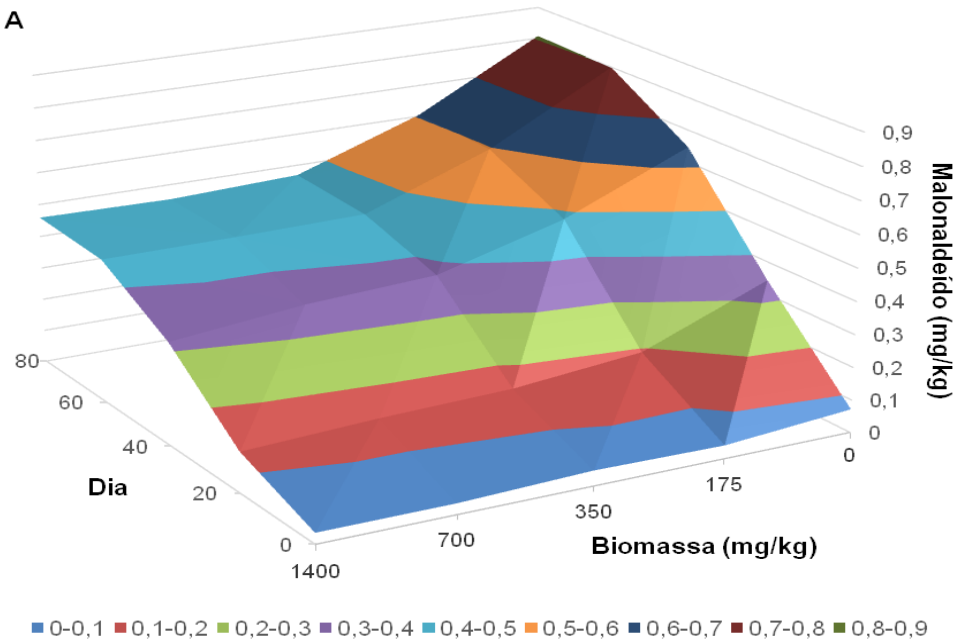


FIGURA 16 - Análises de regressão dos valores de malonaldeído dos filés em função dos dias de armazenamento sob congelamento para cada tratamento com o respectivo coeficiente de determinação (R^2).

Ao se comparar a rancidez nos diferentes momentos, verifica-se que o uso da biomassa na ração foi efetivo em minimizar a reação já a partir de 20 dias de armazenamento. Os resultados mais significativos foram encontrados para as maiores concentrações do produto, diferindo, também dos valores apresentados pelo grupo contendo Carophyll. Para os mesmos tratamentos, os valores de TBARS mostraram-se crescentes durante o armazenamento, com estabilização a partir de 60 dias (Tabela 12). A partir do 20º dia, o tratamento controle apresentou maiores valores de TBARS.

A



B

Parâmetro	Estimativa	MA > |T|
Intercepto	0,1222	<0,0001
Biomassa	-0,0005	<0,0001
Dias	0,0138	<0,0001
Biomassa*Biomassa	0,0000	<0,0001
Dias*Biomassa	0,0000	0,0001
Dias*Dias	-0,0001	<0,0001

FIGURA 17 - A) Superfície de resposta tridimensional para a concentração de malonaldeído dos filés em função dos dias de armazenamento sob congelamento para cada tratamento com a biomassa de *R. gelatinosus*. B) Tabela dos dados da equação de regressão e dos efeitos lineares e quadráticos (valores de p).

Em relação ao gráfico de superfície de resposta (Figura 17), todos os parâmetros em análise apresentaram diferenças significativas com efeitos lineares e quadráticos ($p < 0,0001$), o que indica que os valores de oxidação lipídica dos filés dos tratamentos variaram em função da concentração de biomassa e dos dias de armazenamento. Os tratamentos com as maiores concentrações de biomassa promoveram menor rancidez devido à capacidade antioxidante dos pigmentos carotenoides encontrados no aditivo.

A estocagem sob congelamento e o uso dos pigmentantes não interromperam todas as reações oxidativas, porém os aditivos amenizaram essa ocorrência, contribuindo para a manutenção da qualidade dos filés.

A taxa de oxidação depende de inúmeros fatores, incluindo a composição de ácidos graxos e a concentração de agentes pró e antioxidantes que podem ser manipulados pela dieta (FOGAÇA; SANTANA, 2009). Os valores do TBARS são utilizados como indicador do grau de oxidação lipídica. Ke et al. (1984) trabalhando com diversas espécies de pescado, sugeriram uma escala para TBARS, na qual consideram baixos valores inferiores a 0,576 mg de MA/kg, levemente rançosos os valores entre 0,648 e 1,44 mg de MA/kg, e inaceitáveis valores superiores a 1,51 mg de MA/kg. No presente experimento, apenas os filés dos tratamentos suplementados com 175 mg/kg de biomassa e o grupo controle apresentaram-se levemente rançosos a partir de 40 dias de armazenamento.

Wang et al. (2006) utilizaram a astaxantina na alimentação de peixes e encontraram menor oxidação na musculatura, concluindo que esse carotenoide, além de possuir efeito pigmentante, possui função antioxidante nesses animais. Rodríguez et al. (2007) avaliaram alterações lipídicas em salmões alimentados com rações suplementadas com astaxantina e tocoferol, e identificaram menor rancidez no armazenamento. Otani (2009), utilizando a vitamina E na dieta de tilápias, verificou sua positiva ação na redução das taxas de oxidação lipídica nos filés durante o armazenamento. Oliveira (2009), com o uso do licopeno na alimentação de tilápias, observou efeitos antioxidantes nos filés de animais

submetidos a estresse. Kirschnik et al. (2013) avaliaram a carne mecanicamente separada de tilápias e observaram que a lavagem e a adição de conservantes reduziram a rancidez dos produtos durante o armazenamento, apesar do gradual aumento, com valores de 0,15 a 0,7 mg de MA/kg.

6 CONCLUSÃO

A biomassa de *R. gelatinosus* não promoveu alterações no desempenho e na saúde animal, sob os pontos de vista histológico e hematológico, e mostrou-se capaz de aumentar o teor protéico e a coloração vermelha dos filés e de diminuir a oxidação lipídica durante o armazenamento. Dessa forma, dentro das condições estudadas neste experimento, confirma-se a viabilidade do uso desse aditivo na alimentação de tilápias para incrementar a preservação da carne congelada.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, W. F.; ZAPATA, J. F. F.; ALMEIDA, R. S. Estado de frescor, textura e composição muscular da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) abatida com dióxido de carbono e armazenada em gelo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 35, Número Especial, p. 264-271, 2004.

AL-DOHAIL, M. A.; HASHIM, R.; ALIYU-PAIKO, M. Effects of the probiotic, *Lactobacillus acidophilus*, on the growth performance, haematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerling. **Aquaculture Research**, v. 40, n. 14, p. 1642-1652, 2009.

ALMEIDA JÚNIOR, G. A.; STRADIOTTI JÚNIOR, D.; SILVA, E. C. G.; ANDRADE, M. A. N.; VARGAS JÚNIOR, J. G.; CORDEIRO, M. D. **O**

profissional de zootecnia no século XXI, 2012. Disponível em: <http://www.zootecnia.alegre.ufes.br/sites/zootecnia.alegre.ufes.br/files/field/file/Livro%20Zootecnia%20em%20recurso%20eletr%C3%B4nico%20_%20ebook.pdf#page=6>. Acesso: 13 jun. 2014.

ANVISA. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Disponível em: <http://www.abic.com.br/arquivos;leg_resolução12_01_anvisa.pdf.>. Acesso em: 4 de jun. 2014.

ARANA, L. V. **Fundamentos de aquicultura**. Florianópolis: UFSC, 2004. 348 p.

ARAUJO, D. M. **Fontes de lipídeos poliinsaturados na nutrição e saúde da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2009. 80f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

ARGENTA, F. F. **Tecnologia de pescado:** características e processamento da matéria-prima. 2012. 61f. Monografia (Especialização em Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

ARRUDA, L. F. **Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da tilápia do Nilo.** 2004. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

ASSANO, M.; RAMIREZ, A. P. M.; STECH, M. R.; HONORATO, C. A.; MALHEIROS, E. B.; CARNEIRO, D. J. Desempenho de tilápias do nilo cultivadas em viveiros alimentadas com diferentes fontes e níveis protéicos.

Ensaios e Ciência: Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde, v. 15, n. 5, p. 83-92, 2011.

AVANÇO, S. V. **Aplicação da biomassa de *Rubrivivax gelatinosus* na ração de frangos de corte:** desempenho animal e características dos produtos. 2012. 71f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2012.

AZAD, S. A.; VIKINESWARY, S.; RAMACHANDRAN, K. B. Growth and production of biomass of *Rhodovulum sulfidophilum* in sardine processing wastewater. **Letters in Applied Microbiology**, v. 33, n. 4, p. 264-268, 2001.

AZAD, S. A.; VIKINESWARY, S.; CHONG, V. C.; RAMACHANDRAN, K. B. *Rhodovulum sulfidophilum* in the treatment and utilization of sardine processing wastewater. **Letters in Applied Microbiology**, v. 38, n. 1, p.13-18, 2004.

AZEVEDO, J. L.; MELO, I. S. **Biodiversidade microbiana e potencial biotecnológico**. Ecologia microbiana. Jaguariúna: Embrapa CNPMA, 1998. p. 445-461.

BALAMURUGAN, S.; DEIVASIGAMANI, B.; KUMARAN, S.; SAKTHIVEL, M.; RAJSEKAR, T.; PRIYADHARSINI, P. Melanomacrophage centers aggregation in *P. lineatus* spleen as bioindicator of environmental change. **Asian Pacific Journal of Tropical Diseases**, v. 2, supl. 2, p. S635-S638, 2012.

BALDISSEROTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 2.ed. Santa Maria: UFMS, 2009. 352p.

BARBOSA, A. C.; FERREIRA, P. M. F.; SOUZA, R. N.; BARBOSA, J. M. Avaliação da taxa metabólica do tambaqui (*Colossoma macropomum*) e da

tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 4, n. 2, p. 46-55, 2009.

BARBOSA, A. C. A.; MOURA, E. V.; SANTOS, R. V. **Cultivo de tilápias em gaiolas**. Natal: EMPARN, 2010. 33 p. Disponível em: <http://adcon.rn.gov.br/ACERVO/EMPARN/DOC/DOC000000000024667.PDF. Acesso em: 28 jun. 2014.

BELL, J. G.; MCEVOY, J.; TOCHER, D. R.; SARGENT, J. R. Depletion of alpha-tocopherol and astaxanthin in Atlantic salmon (Salmo salar) affects autoxidative defense and fatty acid metabolism. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 7, p. 1800-1808, 2000.

BOMBARDELLI, R. A.; HAYASHI, C.; NATALI, M. R. M.; SANCHES, E. A.; PIANA, P. A. Desempenho reprodutivo e zootécnico e deposição de lipídeos nos hepatócitos de fêmeas de tilápia-do-nilo alimentadas com rações de diversos níveis energéticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 8, p. 1391-1399, 2009.

BRASIL. CONAMA. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. **[Diário Oficial da República Federativa do Brasil]**. Poder Executivo, Brasília, DF, 16 maio 2011. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646> . Acesso em: 05 set. 2014.

BRASIL. MAPA. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **[Diário Oficial da República Federativa do Brasil]**. Poder Executivo, Brasília, DF, 7 jul. 1952.

Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal> . Acesso em: 20 abr. 2014.

BRASIL. MAPA. Decreto nº 76.986, de 06 de janeiro de 1976. Dispõe sobre a inspeção e a fiscalização dos produtos destinados à alimentação animal. **[Diário Oficial da República Federativa do Brasil]**. Poder Executivo, Brasília, DF, 7 jan. 1976. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=3976> . Acesso em: 15 jan. 2014.

BRASIL. MPA. **Balanço 2013 da pesca e aquicultura**, 2013. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Publicidade/Cartilha-Balanço-2013-Ministério-Pesca-Aquicultura.pdf>. Acesso em: 09 jun. 2014.

BRASIL. MPA. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura**, 2011a**.** Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/index.php/informacoes-e-estatisticas/estatistica-da-pesca-e-aquicultura>. Acesso em: 16 jun. 2014.

BRASIL. MPA. **O potencial brasileiro para a aquicultura**, 2011b**.** Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/index.php/aquiculturampa/informacoes/potencialbrasileiro>. Acesso em: 08 jun. 2014.

BREITHAUPT, D. E. Modern application of xanthophylls in animal feeding: a review. **Trends Food Science Technology**, v. 18, n. 10, p. 501-506, 2007.

BROCK, T. D.; MADIGAN, M. T.; MARTINGO, J. M.; PARKER, J. **Biology of microorganisms**. 7.ed. New York: Prentice Hall, 1994.

CALIL, R.; AGUIAR, J. **Aditivos nos alimentos**. São Paulo: R. M. Calil, 1999. 140 p.

CAMPOS, C. M.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F. R. Histopatologia de fígado, rim e baço de *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* e *Pseudoplatystoma fasciatum* parasitados por myxosporídios, capturados no rio Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 4, p. 200-205, 2008.

CARMO, J. L.; FERREIRA, D. A.; SILVA JUNIOR, R. F.; SANTOS, R. M. S.; CORREIA, E. S. Crescimento de três linhagens de tilápia sob cultivo semi-intensivo em viveiros. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 2, p. 20-26, 2008.

CARVALHO, E. D. **Avaliação dos impactos da piscicultura em tanques-rede nas represas dos grandes tributários do alto Paraná (Tietê e Paranapanema):** o pescado, a ictiofauna agregada e as condições limnológicas. 2006. 46f. Relatório Científico (FAPESP) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

CARVALHO, E. D.; CAMARGO, A. L. S.; ZANATTA, A. S. Desempenho produtivo da tilápia do nilo em tanques-rede numa represa pública: modelo empírico de classificação. **Ciência Rural**, v. 40, n. 7, p. 1616-1622, 2010.

CASTAGNOLLI, N.; CYRINO, J. E. P. **Piscicultura nos trópicos**. São Paulo: Manole, 1986. 152p.

CHOUBERT, G.; BLANC, J. M.; VALLÉE, F. Colour measurement, using the CIELCH colour space, of muscle of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaun), fed astaxanthin: effects of family, ploidy, sex, and location of reading. **Aquaculture Research**, v. 28, n. 1, p. 15-22, 1997.

CIE. **Colorimetry**, 3.ed. Viena: Commission Internationale de l'Eclairage Publications, 2004. Disponível em: <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/003/cie.15.2004.pdf>. Acesso em: 20 maio 2014.

COLLIER, H. B. The standardization of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, v. 50, n. 6, p. 550-552, 1944.

DIAS, D. C.; MAIORINO, F. C.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; ISHIKAWA, N. M.; LOMBARDI, J. V.; FERREIRA, J. R.; FRANÇA, F. M.; FERREIRA, C. M. Avaliação histopatológica do baço, coração e encéfalo de tilápia *Oreochromis niloticus* (linnaeus, 1758) exposta ao cloreto de mercúrio. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 33, n. 2, p. 213-220, 2007.

DRUZIAN, J. I.; MACHADO, B. A. S.; SOUZA, C. O.; FRAGA, L. M.; DURAN, V. A. A.; BURGHGRAVE, U. S.; BASTOS, B. L.; ALBINATI, R. C. B.; GUIMARÃES, J. E. Influência da dieta suplementada com óleo de soja na composição centesimal e perfil lipídico de tilápias do Nilo. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 85-92, 2012.

EL-HAROUN, E. R.; GODA, A. M. A-S.; CHOWDHURY, M. A. K. Effect of dietary probiotic Biogen® supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture Research**, v. 37, n. 14, p. 1473-1480, 2006.

ERIKSON, U.; MISIMI, E. Atlantic salmon skin and fillet color changes effected by *perimortem* handling stress, *rigor mortis,* and ice storage. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 2, p. 50-59, 2008.

FAO. **FAO Documento técnico de pesca 348**, 1999. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s00.htm>. Acesso em: 19 jun. 2014.

FAO. **The state of world fisheries and aquaculture**, 2008. Roma: FAO, 2009. 196 p.

FAO. **The state of world fisheries and aquaculture**, 2014. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i3720e.pdf>. Acesso em: 04 set. 2014.

FARIAS, T. H. V. **Probiótico na alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*):** avaliação hematológica, bioquímica, imunológica e desempenho produtivo. 2012. 92f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

FOGAÇA, F. H. S.; SANT'ANA, L. S. Oxidação lipídica em peixes: mecanismo de ação e prevenção. **Archives of Veterinary Science**, v.14, n. 2, p. 117-127, 2009.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANNE, S. G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

FRANCO, M. L. R. S.; AMARAL, L. A.; VIEGAS, E. M. M.; KRONKA, S. N.; GASPARINO, E.; MIKCHA, J. M. G.; DEL VESCO, A. P. Qualidade microbiológica e vida útil de filés defumados de tilápia-do-nilo sob refrigeração ou congelamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 1071-1079, 2013.

FRODELLO, J. P.; RAQBI, A.; MATTEI, X.; VIALE, D.; MARCHAND, B. Quantification of macrophage aggregates in the liver of *Mugil cephalus*. **Journal**

of Submicroscopy Cytology and Pathology, v. 33, n. 4, p. 473-476, 2001.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; BOSCOLO, W. R.; CYRINO, J. E. P.; FURUYA, V. R. B.; FEIDEN, A. **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo: GFM, 2010. 100 p. Disponível em: <http://www.lisina.com.br/composicao.aspx>. Acesso em: 25 out. 2011.

GENTEN, F.; TERWINGHE, E.; DANGUY, A. **Atlas of fish histology**. New Hampshire: Science Publishers, 2009. 215p.

GHIRALDELLI, L. **Parasitologia e hematologia de peixes cultivados em três municípios do Estado de Santa Catarina**. 2005. 82f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

GIORDANO, G. **Tratamento e controle de efluentes industriais**. Departamento de Engenharia Sanitária e Meio Ambiente, UERJ, Rio de Janeiro. 2004. Disponível em: <http://www.ufmt.br/esa/Modulo_II_Efluentes_Industriais/Apost_EI_2004_1ABES_Mato_Grosso_UFMT2.pdf>. Acesso em: 4 maio 2014.

GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; HALL, E.; BROSIUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 56, p. 35-39, 1971.

GOMES, G. R. F. I.; CHAVES, F. H.; BARROS, R. N. A.; MOREIRA, R. L.; TEIXEIRA, E. G.; MOREIRA, A. G. L.; FARIAS, W. R. L. Dietary supplementation with *Spirulina platensis* increases growth and color of red tilapia. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 25, p. 462-471, 2012.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do pescado:** ciência, tecnologia, inovação e legislação. São Paulo: Atheneu, 2011. 608p.

GRACIANO, T. S. **Metionina e colina em dietas para juvenis de tilápia-do-nilo, desempenho produtivo, morfologia hepática e muscular**. 2009. 58f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.

GURPILHARES, D. B.; HASMANN F. A.; PESSOA JUNIOR, A. Microbiologia industrial: micro-organismos como unidade de produção. **Microbiologia in foco**, v. 2, p. 33-43, 2008.

HISANO, H.; SILVA, M. P.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E. Levedura íntegra e derivados do seu processamento em rações para tilápia do Nilo: aspectos hematológicos e histológicos. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 28, n. 4, p. 311-318, 2006.

HORWITZ, W.; LATIMER JUNIOR (Eds.). **Official methods of analysis of AOAC International**. 18.ed. Gaithersburg: AOAC International, 2006. 201p.

HUANG, C. H.; LAI, H. T.; WENG, Y. M. Suitability of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) muscle for gel formation. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 33, n. 4, p. 339-344, 1998.

ISHIKAWA, M. M.; PÁDUA, S. B.; SATAKE, S.; PIETRO, P. S.; HISANO, H. **Procedimentos básicos para colheita de sangue em peixes**, 2010. Disponível em: <www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/874164/1/CT201017.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2014.

ISHIKAWA, N. M.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; LOMBARDI, J. V. Metodologia para quantificação de leucócitos totais em peixe, *Oreochromis niloticus*. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n. 1, p. 54-63, 2008.

JAMAS, E**. Valor agregado aos resíduos do processamento de tilápia:** aspectos tecnológicos, químicos e microestruturais. 2012. 48f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

KANTACHOTE, D.; TORPEE, S.; UMSAKUL, K. The potencial use of anoxygenic phototrophic bacteria for treating latex rubber sheet wastewater. **Eletronic Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 3, 2005. Disponível em: <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol8/issue3/full/8/>. Acesso em: 4 jun. 2014.

KE, P. J.; CERVANTES, E.; ROBLES-MARTINEZ, C. Determination of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in fish tissue by an improved distillation-spectrophometric method. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 35, n. 11, p. 1248-1254, 1984.

KIRSCHNIK, P. G.; VIEGAS. E. M. M. Efeito da lavagem e da adição de aditivos sobre a estabilidade de carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante estocagem a -18ºC. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, p. 200-206, 2009.

KIRSCHNIK, P. G.; TRINDADE, M. A.; GOMIDE, C.; MORO, M. E. G.; VIEGAS, E. M. M. Estabilidade em armazenamento da carne de tilápia-do-nilo mecanicamente separada, lavada, adicionada de conservantes e congelada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 935-942, 2013.

KUBITZA, F. A produção de pescado no mundo e a aquicultura. **Revista Panorama da Aquicultura**, v. 17, n. 100, p. 17, 2007.

KUBITZA, F. **Tilápia:** tecnologia e planejamento na produção comercial. 2.ed. Jundiaí: F. Kubitza, 2011. 316p.

LAROSA, G. **Desenvolvimento de produto cárneo de tilápia com antioxidantes naturais**. 2011. 93f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

LATSCHA, T. **Carotenoids**: Their nature and significance in animal feeds. Basel: F. Hoffmann-La Roche, 1990. 110p.

LEDIC-NETO, J. **Hematologia e histologia de tilápia do Nilo alimentada com própolis na dieta**. 2013. 58f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

LIMA, L. K. F.; PONSANO, E. H. G.; PINTO, M. F. Cultivation of Rubrivivax gelatinosus in fish industry effluent for depollution and biomass production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 11, p. 2553–2558, 2011.

LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIK, P. G.; QUEIROZ, V. S.; CIRIO, S. M. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 8, n. 4, p. 469-484, 2010.

LIU, S. X. **Food and agricultural wastewater utilization and treatment**. 1.ed. Ames: Blackwell, 2007.

LOGATO, P. R. L. **Nutrição e alimentação de peixes de água doce**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2000. 128p.

LOUREIRO, G. C. **Efeito da suplementação de β-caroteno no processo oxidativo do filé da tilápia tailandesa durante 7 dias de refrigeração**. 2005. 56f. Monografia (Curso de Oceanografia) – Departamento de Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2005.

MACÊDO, J. A. B. **Águas & águas**. 3.ed. CRQ: Belo Horizonte, 2004. 977p. 2004.

MACENA, O. M. C. F.; FIRMINO, A. G. L.; REIS, R. M. S. **Avaliação de desempenho zootécnico da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) revertida sexualmente, em tanque de alvenaria**. 2012. Disponível em: <http://www.essentiaeditora.iff.edu.br/index.php/ENNUPAS/article/view/2594/1436>. Acesso em: 11 jun. 2014.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Brock biology of microorganisms**. 11.ed. Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall, 2006. 992p.

MARCONATO, M. S.; SANTINI, G. A. **Alternativas para a geração de energia renovável no Brasil**: a opção pela biomassa. 2008. Disponível em: <http://www.ecodesenvolvimento.org.br/.../energias-alternativas...opcao-pela.../Energia-renovavel-no-Brasil.-A-opcao-pela-Biomassa.pdf.>. Acesso em: 22 fev. 2014.

MARTINS, M. L.; VIEIRA, F. N.; JERÔNIMO, G. T.; MOURIÑO, J. L. P.; DOTTA, G.; SPECK, G. M.; BEZERRA, A. J. M.; PEDROTTI, F. S.; BUGLIONE-NETO, C. C.; PEREIRA-JUNIOR, G. Leukocyte response and phagocytic activity in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus* sp. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 68, p. 635-641, 2008.

MESSEGUER, J.; LOPEZ-RUIZ, A.; ESTEBAN, M. A. Melano-macrophages of the seawater teleosts, sea bass (*Dicentarchus labrax*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*): morphology, formation and possible function. **Cell Tissue Research**, v. 277, n. 1, p. 1-10, 1994.

MILLER, O.; GONÇALVES, R. R. **Laboratório para o clínico.** São Paulo: Atheneu, 1999. 549p.

MONTEIRO, M. L. G. **Validade comercial de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados tratados com irradiação e embalados em atmosfera modificada**. 2011. 100f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2011.

MORAES, A. M.; SEIFFERT, W. Q.; TAVARES, F.; FRACALOSSI, D. M. Desempenho zootécnico de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus,* em tanques-rede, com diferentes rações comerciais. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 3, p. 388-395, 2009.

MOTTA, J. H. S.; VIDAL, J. M. V.; MATTOS, D. C. Desenvolvimento de tecnologias para transporte de peixes visando exportação. 2009. In: CONGRESSO FLUMINENSE DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA. 2009. **Resumos**...Campos dos Goitacazes: UENF, 2009.

MOURA, M. A. M.; GALVÃO, J. A.; HENRIQUE, C. M.; SILVA, L. K. S.; OETTERER, M. Caracterização físico-química e de frescor de filés de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) oriundas da pesca extrativista no médio rio Tietê/SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 35, n. 3, p. 487-495, 2009.

MUMFORD, S.; HEIDEL, J.; SMITH, C.; MORRISON, J.; MACCONNELL, B.; BLAZER, V. **Fish histology and histopathology**. 4.ed. Shepherdstown: National Conservation Training Center, 2007. 357p. Disponível em: <https://www.yumpu.com/en/document/view/11297110/fish-histology-and-histopathology-national-conservation-training->. Acesso em: 15 jun. 2014.

MUÑOZ, R.; GUIEYSSE, B. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. **Water Research**, v. 40, n. 15, p. 2799–2815, 2006.

NAGASHIMA, S.; KAMIMURA, A.; SHIMIZU, T.; NAKAMURA-ISAKI, S.; AONO, E.; SAKAMOTO, K.; ICHIKAWA, N.; NAKAZAWA, H.; SEKINE, M.; YAMAZAKI, S.; FUJITA, N.; SHIMADA, K.; HANADA, S.; NAGASHIMA, K. V. P. Complete genome sequence of phototrophic betaproteobacterium *Rubrivivax gelatinosus* IL144. **Journal of Bacteriology**, v. 194, n. 13, p. 3541-3542, 2012.

NOGA, E. J. **Fish disease**: diagnosis and treatment. 2.ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2010. 519p.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca**. São Paulo: Varela, 1999. 430p.

OLIVEIRA, M. C.; CRUZ, G. R. B; ALMEIDA, N. M. Características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de “almôndegas” à base de polpa de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Unopar *Científica* Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 1, p. 37-44, 2012.

OLIVEIRA, P. J. M. J. **Licopeno no bem-estar de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*):** efeitos sobre desempenho e parâmetros químicos. 2009. 103f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

OLIVEIRA, S. C.; CIRILO, A. T. O.; BASTOS, V. S.; AQUINO, A. C. M. S.; CASTRO, A. A.; NARAIN, N. Estudo da extração e estabilidade dos carotenoides em amostras de salmão (*Salmo salar*) cru resfriado e congelado durante o armazenamento. **Scientia Plena**, v. 7, n. 5, p. 1-6, 2011.

OTANI, F. S. **Influência da adição in vivo de vitamina E e de métodos de abate nos atributos de qualidade de filés de tilápia**. 2009. 60f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

PAIVA, K. C. **Utilização de ração a base de sorgo na alimentação de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus)* sobre as características zootécnicas do peixe e características físicas, químicas, bioquímicas, histomorfológicas viscerais e sensoriais do filé**. 2010. 122f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

PEREDA, J. A. O; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. Porto alegre: Artmed, 2005. v. 1, 294p.

PEREIRA, N. L. **Beta-glucano e mananoligossacarídeo na alimentação de tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) sobre as respostas hematológica,**

imunológica e desempenho produtivo. 2013. 99f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

PEREIRA JUNIOR, N.; BON, E. P. S.; FERRARA, F. M. **Tecnologia de bioprocessos**. Rio de Janeiro: Escola de Química/UFRJ, 2008. Disponível em: <http://www.eq.ufrj.br/vestibular/nukleo/pdfs/series-em-biotecnologia-vol-i-tecnologia-de-bioprocessos.pdf >. Acesso em: 18 jan. 2014.

PEZZATO, L. E.; CASTAGNOLLI, N.; ROSSI, F.; FERREIRA, D. G. S. FERREIRA, R. G. S. **Nutrição e alimentação de peixes**. Viçosa: CPT, 2008. 242p.

PFENNIG, N. *Rhodopseudomonas globiformis*, sp. n., a new species of the *Rhodospirillaceae*. **Archives of Microbiology**, v. 100, n. 1, p. 197-206, 1974.

PINTO, C. S. R. M. **Tanques-rede de pequeno volume instalados em viveiros de piscicultura:** uma alternativa para tilapicultura na região sudeste do Brasil. 2006. 118f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

POLONIO, L. B.; PONSANO, E. H. G.; PINTO, M. F.; GARCIA-NETO, M. Utilization of bacterial (*Rubrivivax gelatinosus*) biomass for egg yolk pigmentation. **Animal Production Science**, v. 50, p. 1-5, 2010.

PONCE-PALAFOX, J. T.; ARREDONDO-FIGUEROA, J. L.; VENON-CARTER, E. J. Pigmentación de la Tilapia (*Oreochromis niloticus*) con carotenoides de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) in comparación con la astaxantina. **Revista Mexicana de Ingeniería Química**, v. 3, n. 2, p. 219-225, 2004.

POND, W. G.; CHURCH, D. C.; POND, K. R. **Basic animal nutrition and feeding**. 4.ed. Nova Iorque: Jonh Wiley & Sons, 1995. 615p.

PONSANO, E. H. G.; LACAVA, P. M.; PINTO, M. F. Chemical composition of *Rhodocyclus gelatinosus* biomass produced in poultry slaughterhouse wastewater. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46, n. 2, p. 143-147, 2003.

PONSANO, E. H. G.; LACAVA, P. M.; PINTO, M. F. Isolation of *Rhodocyclus gelatinosus* from poultry slaughterhouse wastewater. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 4, p. 445-449. 2002a.

PONSANO, E. H. G.; LIMA, L. K. F.; TORRES, A. P. C. **From a pollutant byproduct to a feed ingredient, biomass - detection, production and usage**. Rijeka: InTech, 2011. 443p. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/biomassdetection-production-and-usage/from-a-pollutant-byproduct-to-a-feed-ingredient>. Acesso em: 09 jun. 2014.

PONSANO, E. H. G.; PAULINO, C. Z.; PINTO, M. F. Phototrophic growth of *Rubrivivax gelatinosus* in poultry slaughterhouse wastewater. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 9, p. 3836-3842, 2008.

PONSANO, E. H. G.; PINTO, M. F.; GARCIA-NETO, M.; LACAVA, P. M. Evaluation of *Rhodocyclus gelatinosus* biomass for broiler pigmentation. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 11, n. 1, p. 77-82, 2002b.

PONSANO, E. H. G.; PINTO, M. F.; GARCIA-NETO, M.; LACAVA, P. M. Performance and color of broilers fed diets containing *Rhodocyclus gelatinosus*

biomass. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 6, n. 4, p. 237-242, 2004a.

PONSANO, E. H. G.; PINTO, M. F.; GARCIA-NETO, M.; LACAVA, P. M. *Rhodocyclus gelatinosus* biomass for egg yolk pigmentation. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 13, n. 3, p. 421-425, 2004b.

PRASERTSAN, P.; JATURAPORNIPIPAT, M.; SIRIPATANA, C. Utilization and treatment of tune condensate by photosynthetic bacteria. **Pure and Applied Chemistry**, v. 69, n.11, p. 2439-2445, 1997.

PROENÇA, C. E. M.; BITTENCOURT, P. R. L. **Manual de piscicultura tropical**. Brasília: IBAMA, 1994. 195p.

QUIMANIL. **Colorimetria**. 2014. Disponível em: <http://www.quimanil.com.br/empresa/informacoes_detalhe.php?id=7>. Acesso em: 27 jun. 2014.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

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

RIBEIRO, S. C. A.; RIBEIRO, C. F. A.; PARK, K. J.; ARAUJO, E. A. F.; TOBINAGA, S. Alteração da cor da carne de mapará (*Hypophthalmus edentatus*) desidratada osmoticamente e seca. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 9, n. 2, p. 125-135, 2007.

RODRÍGUEZ, A.; LOSADA, V.; LARRAÍN, M. A.; QUITRAL, V.; VINAGRE, J.; AUBOURG, S. P. Development of lipid changes related to quality loss during the frozen storage of farmed coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 84, p. 727-734, 2007.

ROSSI, F.; VIDAL JUNIOR, M. V. **Criação de tilápias**. Viçosa: CPT, 2008. 150p.

ROTTA, M. A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura.** Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC53.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2014.

SANTO, E. F. E.; LIMA, L. K. F.; TORRES, A. P. C.; OLIVEIRA, G.; PONSANO, E. H. G. Comparison between freeze and spray drying to obtain powder *Rubrivivax gelatinosus* biomass. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 47-51, 2013.

SANTOS, A. A.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; FELIZARDO, N. N.; RODRIGUES, E. L. Análise histopatológica de fígado de tilápia-do-nilo, O*reochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 30, n. 2, p. 141-145, 2004.

SANTOS, E. C. B. **Métodos de abate e qualidade da tilápia do Nilo**. 2013. 100f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

SANTOS, V. G.; FERNANDES JUNIOR, A. C.; KOCH, J. F. A; BARROS, M. M.; GUIMARÃES, I. G.; PEZZATO, L. E. Desempenho produtivo da tilápia-do-

nilo arraçoada com dieta contendo farelo de nabo forrageiro. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 35, n. 3, p. 451-459, 2009.

SARAN-NETO, A.; MARIANO, W. S.; SÓRIA, S. F. P. **Tópicos especiais em saúde e criação animal**. São Carlos: Pedro & João Editores, 2009. 304p.

SARMIENTO, A. M. L. **Características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de filés de tilápias (*Oreochromis niloticus*) conservados em atmosferas modificadas sob refrigeração**. 2006. 120f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

SAS Institute. **SAS/STAT 9.3 user's guide**. SAS Institute, Cary: NC, 2011.

SASIKALA, C.; RAMANA, C. V.; CHALAM, A. V.; JAYASRI, K.; RAO, P. R. A survey of purple non-sulfur anoxygenic phototrophic bacteria associated with some industrial effluents. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 33, p. 136-138, 1995.

SCHRYVER, P. D.; CRAB, R.; DEFOIRDT, T.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. **Aquaculture**, v. 277, n. 3–4, p. 125–137, 2008.

SEGNER, H.; AREND, P.; POEPPINGHAUSEN, K. V.; SCHMIDT, H. The effect of feeding astaxanthin to *Oreochromis niloticus* and *Colisa labiosa* on the histology of the liver. **Aquaculture**, v. 79, p. 381-390, 1989.

SHAHIDI, F.; METUSALACH, A.; BROWN, J. A. Carotenoid pigments in seafood and aquaculture. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 1, p. 1-67, 1998.

SILVA, R. D.; ROCHA, L. O.; FORTES, B. D. A.; VIERA, D.; FIORAVANTI, M. C. S. Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, supl. 1, p. 99-107, 2012.

SILVA-SOUZA, A. T. **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil**. Maringá: ABRAPOA, 2006. 387p.

SILVA-SOUZA, M. L. A. P. L.; LIZAMA, M. A. P.; TAKEMOTO, R. M. (org.). **Patologia e sanidade de organismos aquáticos**. Maringá: Massoni, 2012. 404p.

SOUZA, M. L. R. Comparação de seis métodos de filetagem, em relação ao rendimento de filé e de subprodutos do processamento da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1076-1084, 2002.

SOUZA, M. L. R.; VIEGAS, E. M. M.; SOBRAL, P. J. A.; KRONKA, S. N. Efeito do peso de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) sobre o rendimento e a qualidade de seus filés defumados com e sem pele. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 51-59, 2005.

STOREBAKKEN, T.; CHOUBERTB, G. Flesh pigmentation of rainbow trout fed astaxanthin or canthaxanthin at different feeding rates in freshwater and saltwater. **Aquaculture**, v. 95, n. 3, p. 289-295, 1991.

SUBASINGHE, R. P.; PHILLIPS, M. J. Aquaculture certifications: a challenge for the small farmer. **FAO Aquaculture Newsletter (FAN)**, n. 38, p. 34–40, 2005.

SUSSEL, F. R. **Tilapicultura no Brasil e entraves na produção**. 2013. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/TilapiculturaEntraves2013.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2014.

TACHIBANA, L.; DIAS, D. C.; ISHIKAWA, C. M.; CORRÊA, C. F.; LEONARDO, A. F. G.; RANZANI-PAIVA, M. J. T. Probiótico na alimentação da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), durante a inversão sexual: desempenho zootécnico e recuperação da bactéria probiótica intestinal. **Bioikos**, v. 25, n. 1, p. 25-31, 2011.

TAKAHASHI, N. S.; TSUKAMOTO, R. Y.; TABATA, Y. A.; RIGOLINO, M. G. Truta salmonada. **Panorama da Aquicultura**, v. 18, n. 105, p. 28-33, 2008.

TAVARES-DIAS, M. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009. 724p. Disponível em: <http://projetopacu.com.br/public/paginas/203-livro-manejo-e-sanidade-de-peixes-em-cultivo.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2014.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto: M. Tavares-Dias, 2004. 144p.

TOLASA, S.; CAKLI, S.; OSTERMEYER, U. Determination of astaxanthin and canthaxanthin in salmonid. **European Food Research and Technology**, v. 22, n. 6, p. 787-791, 2005.

TORRES, E. A. F. S.; OKANI, E. T. Teste de TBA: ranço em alimentos. **Revista Nacional da Carne**, v. 24, n. 243, p. 68-78, 1997.

TORRES, L. **Perfil de ácidos graxos de espécies de pescado de água-doce nativas da região sul do Rio Grande do Sul e do Uruguai**. 2011. 121f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2011.

UEDA, I. K.; EGAMI, M. I.; SASSO, W. S.; MATUSHIMA, E. R. Estudos hematológicos em *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) (*Cichlidae*, *Teleostei*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 34, n. 5, p. 270-275, 1997.

VALDUGA, E.; TATSCH, P. O.; TIGGEMANN, L.; TREICHEL, H.; TONIAZZO, G.; ZENI, J.; DI LUCCIO, M. Produção de carotenoides: microrganismos como fonte de pigmentos naturais. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2429-2436, 2009.

VALENTE, A. M.; ALEXANDRE, V. M.; CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. M. G. Pré-hidrólise enzimática da gordura de efluente da indústria de pescado objetivando o aumento da produção de metano. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 483-488, 2010.

VIDAL, L. V. O.; ALBINATI, R. C. B.; ALBINATI, A. C. L.; LIRA, A. D.; ALMEIDA, T. R.; SANTOS, G. B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 8, p. 1069-1074, 2008.

VIEGAS, E. M. M.; PIMENTA, F. A.; PREVIERO, T. C.; GONÇALVES, L. U.; DURÃES, J. P.; RIBEIRO, M. A. R.; OLIVEIRA FILHO, P. R. C. Métodos de abate e qualidade da carne de peixe. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, p. 41-50, 2012.

VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloracetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 72, n. 12, p. 1084-1087, 1970.

WANG, Y. J.; CHIEN, Y. H.; PAN, C. H. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. **Aquaculture**, v. 261, p. 641-648, 2006.

WILLEMS, A.; GILLIS, M.; DE LEY, J. Transfer of *Rhodocyclus gelatinosus* to *Rubrivivax gelatinosus* gen. nov., comb. nov., and Phylogenetic Relationships with *Leptothrix, Sphaerotilus natans, Pseudomonas Saccharophila,* and *Alcaligenes latus.* **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 41, n. 1, p. 65-73, 1991.

WINTROBE, M. M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematologica**, v. 51, 32-49, 1934.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5165-5170, 2001.

APÊNDICE

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Aplicação da biomassa bacteriana na alimentação de tilápias"**, Processo FOA nº 2013-01329, sob responsabilidade de Elisa Helena Giglio Ponsano apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 12 de março de 2014.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 01 de Maio de 2014.
DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 01 de Junho de 2014.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Aplication of bacterial biomass in the tilapia fish farm"**, Protocol FOA nº 2013-01329, under the supervision of Elisa Helena Giglio Ponsano presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on March 12, 2014.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: May 01, 2014.
DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: June 01, 2014.

Prof. Dr. Edilson Ervolino
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP
Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua@foa.unesp.br