

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

**CANTAXANTINA PODE INTENSIFICAR A COLORAÇÃO DO ESPADINHA
SANGUE *Xiphophorus helleri* ?**

Bruno Silva Olier

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca - APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

São Paulo

Abril– 2021

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

**CANTAXANTINA PODE INTENSIFICAR A COLORAÇÃO DO ESPADINHA
SANGUE *Xiphophorus helleri* ?**

Bruno Silva Olier

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca - APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

São Paulo
Abril – 202

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Elaborada pelo Núcleo de Informação e Documentação. Instituto de Pesca, São Paulo

O39c Olier, Bruno Silva.

Cantaxantina pode intensificar a coloração do espadinha sangue *Xiphophorus helleri*? / Bruno Silva
Olier – São Paulo, 2021.
v; 36f.; il.

Dissertação (mestrado) apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - Secretaria de Agricultura e
Abastecimento.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches.

1. Aquicultura ornamental 2. Pigmentação 3. Astaxantina 4. Carotenóides 5.
Cromatóforos.

I. Sanches, Eduardo. II. Título.

CDD 639.4

Permitida a cópia parcial, desde que citada a fonte

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

“CANTAXANTINA PODE INTENSIFICAR A COLORAÇÃO DO
ESPADA SANGUE *Xiphophorus helleri* ?”

AUTOR: Bruno Silva Olier

ORIENTADOR: Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de
MESTRE EM AQUICULTURA E PESCA, Área de Concentração em
Aquicultura, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches



Prof. Dr. Rodrigo Schweitzer



Prof. Dr. Anita Rademaker Valença

Data da realização: 29 de abril de 2021



Presidente da Comissão Examinadora
Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches

“O tempo é o melhor autor, sempre
encontra um final perfeito”
Charles Chaplin, 1952

AGRADECIMENTOS

Ao longo desses quase dois anos de estadia em Ubatuba e como aluno do programa de pós-graduação em aquícultura e pesca do Instituto de Pesca, muitas coisas boas aconteceram, conheci pessoas fantásticas e adquirei muito conhecimento nessa trajetória. Possuo muita gratidão aos meus pais Maria José da Silva Olier e Edson Galhego Olier que sempre me apoiaram em minha jornada, seja com apoio econômico, conselhos, incentivos para nunca desistir e sempre buscar o meu melhor. A minha irmã Carolina Silva Olier, que sempre me encheu de orgulho em seu brilhante trajetória e contagiando as pessoas a sua volta com sua alegria.

Ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches que desde o início dos trabalhos sempre foi muito prestativo e paciente em sua orientação e sempre buscando e me incentivando a entregar o meu melhor.

Ao meu colega de laboratório Otavio Mesquita de Sousa pela parceria diária e paciência em transmitir o seu conhecimento e apoio com as questões relacionadas a cidade.

A minha colega de laboratório a Dr. Vanessa Villanova Kuhnen pelo apoio científico que foi dado na execução dos meus trabalhos.

Aos professores do programa de pós-graduação e seus colaboradores pelo excelente trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTO.....	ii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. Aquicultura ornamental mundial	1
1.2. Ingredientes pigmentantes.....	2
1.3. Espécie estudada Espadinha Sangue.....	5
2. OBJETIVO GERAL	13
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3. REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL	14
ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO	19
1. Introdução.....	16
2. Materiais e Métodos.....	18
3. Resultados.....	22
4. Discussão.....	27
5. Referências.....	32
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36

RESUMO

A coloração exerce grande influencia na comercialização de peixes ornamentais. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar diferentes concentrações de cantaxantina na dieta do espadinha *Xiphophorus helleri* variedade sangue visando a obtenção de coloração vermelha mais intensa. Foram utilizadas seis concentrações de cantaxantina (0, 50, 100, 250, 400 e 600 mg kg⁻¹ dieta). O experimento teve duração de 60 dias. Os peixes foram avaliados em relação ao desempenho produtivo e ao incremento da pigmentação vermelha por meio de utilização de fotografias (realizada por smartphone) e aplicativos de imagem considerando o método Hunter e o CMYK. Não foram observadas diferenças significativas para desempenho produtivo. A utilização de fotografias por meio de smartphone e a utilização de aplicativos de imagem se mostraram adequadas para avaliar diferenças na coloração da espécie. A pigmentação vermelha dos espadinhas não apresentou incremento significativo independentemente das dosagens de cantaxantina.

Palavras chave: Aquicultura ornamental, pigmentação, astaxantina, carotenoides, cromatóforos

ABSTRACT

The coloring has a great influence on the commercialization of ornamental fish. The aim of this work was to evaluate different concentrations of canthaxanthin in the diet of the swordfish *Xiphophorus helleri* blood variety, aiming to obtain a more intense red color. Six concentrations of canthaxanthin (0, 50, 100, 250, 400 and 600 mg kg⁻¹ diet) were used. The experiment lasted 60 days. Fish were evaluated for productive performance and increased red pigmentation through the use of photographs (performed by smartphone) and imaging applications considering the Hunter method and the CMYK. No significant differences were observed for productive performance. The use of photographs by means of a smartphone and the use of imaging applications proved to be adequate to assess differences in color in the species. Swordfish red pigmentation did not show significant increase regardless of canthaxanthin dosages. Varieties of ornamental fish genetically improved to red may have limits for increased color due to the storage capacity of carotenoids by chromatophores.

Keywords: Ornamental aquaculture, pigmentation, astaxanthin, carotenoids, chromatophores

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Aquicultura ornamental mundial

Aquicultura representa o cultivo de moluscos, crustáceos, plantas aquáticas e peixes. A atividade é considerada como milenar porém apenas depois da segunda guerra mundial que a atividade pode ser considerada como algo amplamente difundida. Entre as diversas ramificações que a atividade apresenta. O setor de aquarioria apresenta a maior lucratividade dentre as demais atividades que a aquicultura engloba, necessitando de áreas menores e investimento reduzido, contudo o ganho por unidade é superior aos individuais destinados ao corte. A expansão da aquicultura ornamental ocorre a partir de 1930 com a ampliação do acesso à energia elétrica. Desde então o setor vem trabalhando para aprimorar e desenvolver novas técnicas de manutenção de peixes em aquários (Militz e Foale, 2017; Troell et al., 2017).

O desenvolvimento de rações para grupos ou espécies de peixes específicos é um dos principais condicionantes que ajudou na manutenção de peixes em aquários e impulsionou o mercado. Essa evolução proporcionou o surgimento de grandes empresas voltadas para a produção de equipamentos e produção de peixes marinhos e de água doce em escala comercial. Existem em torno de 2 milhões de residências com aquários somente nos Estados Unidos. São comercializados de 20 a 30 milhões de organismos marinhos por ano em todo o mundo. Aproximadamente 1.500 espécies de peixes são comercializadas, tendo como destino principal os Estados Unidos seguido por alguns países europeus e o Japão (Rhyne et al., 2012). Espécies de peixes de água doce são majoritariamente cultivadas em diversos países, sendo que 10% das espécies são enviadas ao mercado decorrente do extrativismo, centrado principalmente na bacia do Rio Amazonas (Pantoja et al., 2015; Fujimoto et al., 2016).

Nos dias atuais o setor tem valor de mercado estimado em torno de US\$ 25 bilhões com crescimento anual médio de 14% (Jiang et al., 2019; Pouil et al., 2019). Para que os peixes ornamentais despertem o interesse do público, a coloração é essencial. A coloração influencia no preço e na aceitação, onde o consumidor pode associar a cor do peixe com padrões de qualidade e de saúde (Nanthini et al., 2016; Daniel et al., 2017).

1.2. Ingredientes pigmentantes

Ao ser domesticado os peixes passam a ter acesso apenas a ração industrializada acarretando na perda da intensidade da cor e brilho (Rhyne et al., 2012; Nhan et al., 2018). Esta mudança na pigmentação é devida à incapacidade dos peixes em sintetizar carotenoides (Ho et al., 2013; Weeratunge e Perera, 2016). No ambiente natural os peixes possuem acesso a alimentação natural como zooplâncton (Weaver et al., 2018), fitoplâncton (Shah et al., 2016) e organismos bentônicos (Grassi et al., 2014) que são ricos em carotenoides (Yesilayer et al., 2020; Putra et al., 2020). Nos peixes os carotenoides são expressos principalmente pela astaxantina (vermelho), cantaxantina (laranja e vermelho), luteína (amarelo) e zeaxantina (amarelo e laranja) (Das e Biswas., 2016).

O pigmento nos peixes fica localizado dentro dos cromatóforos. Existem cinco tipos de cromatóforos: eritróforos (possuem cor avermelhada), xantóforos (com coloração amarelada), leucóforos e iridóforos (apresentam a cor branca e prateada) e purinas (cor azul, prateada, dourada e branca) (Grempele e Visconti, 2014). Os cromatóforos exercem influência durante os processos reprodutivos, ativando a atração das fêmeas pelos machos que expressem cores mais vivas. A *Colisa lalia* ao ser alimentada com astaxantina consegue alterar a cor vermelha de seu corpo, fazendo com que, na época de reprodução, as fêmeas procurassem os machos que possuíam cor mais intensa (Baron et al., 2008).

A utilização de aditivos pigmentantes na dieta de organismos aquáticos foi iniciada na samonicultura, com o objetivo de alterar a coloração do filé, reforçando a tonalidade do produto comercializado (Davinelli et al., 2018). Para atender a demanda do mercado que cada vez mais consome carotenoides, a indústria desenvolveu os carotenóides sintéticos, que são responsáveis por ocupar 95% de um mercado estimado em US\$ 200 milhões. A vantagem frente ao produto natural se deve ao fato do mesmo fornecer pigmentos de alta pureza comparativamente aos pigmentos naturais (Li et al., 2011; Daniel et al., 2017; Jiang et al., 2019).

Estudos com a aplicação de astaxantina sintética na dieta, com o intuito de agregar valor aos peixes vêm sendo realizados há mais de uma década (Paripatananont, et al., 1999). A inclusão de 0,4 g/Kg de astaxantina sintética na ração do peixe papagaio sangue híbrido (*Cichlasoma synspilum* ♀ × *Cichlasoma citrinellum* ♂) se mostrou eficaz no incremento da

pigmento (Li et al., 2016). Testes com Carophyll Pink na dieta do peixe palhaço *Amphiprion ocellaris*, demonstraram que quanto maior os níveis de astaxantina na dieta, maior a intensidade da coloração laranja dos peixes (Seyedi et al., 2013). Porém acima de 400 ppm não ocorre incremento de cor, o que indica que existe um limite na capacidade do peixe em estocar carotenoides e alterar a sua coloração (Cook, 2016). Níveis acima do considerado ideal, além de não alterar a coloração dos peixes, podem afetar a taxa de crescimento e a conversão alimentar (Song et al., 2016).

Além de níveis de inclusão o tempo de exposição dos peixes a dieta contendo o carotenoides pode influenciar na intensidade da pigmentação. Peixes marinhos submetidos a astaxantina extraída de microalgas (*Hematococcus puvialis*) e astaxantina sintética (Carophil pink) demonstraram que o fator tempo de exposição afeta a coloração (Jing et al., 2019). Entretanto, a incorporação de pigmentos sintéticos na dieta eleva os custos e gera questões quanto à sustentabilidade da atividade.

Ingredientes alternativos à astaxantina vêm sendo testados na dieta de peixes ornamentais. O acará disco (*Symphysodon aequifasciatus*) consegue intensificar sua coloração através da adição de xantofila na dieta (Liu et al., 2014). Exemplares de Mato Grosso (*Hyphessobrycon eques*) ao serem suplementados com β -caroteno conseguiram intensificar a pigmentação demonstrando a possibilidade de substituição da astaxantina (Wang, 2016).

A utilização de pigmentos oriundos de extração de duas espécies de fungos, *Penicillium purpurogenum* e *Talaromyces purpurogenus*, promoveu resultados promissores. Exemplares de nishikigoi *Cyprinus carpio* foram alimentados com dieta contendo estes pigmentos por 21 dias. O pigmento extraído do *Penicillium purpurogenum* proporcionou peixes com intensificação do brilho e da cor (Patil e Thakare., 2017).

Visando avaliar se a espécie de ciclídeo africano *Labidochromis caeruleus* possuía capacidade de aproveitar fontes de carotenoides naturais e sintéticos, foram testados distintos pigmentos (Urtiga *Urtica* spp. Calêndula *Tagetes erecta*, alfalfa *Medicago sativa*, e formas sintéticas de astaxantina e xanthofyll - zeaxanthina) (Yeşilayer et al., 2020). Foi possível observar o incremento no Hue-angle que se refere a saturação da cor dos peixes, em todos os tratamentos comprovou a intensificação da coloração amarela. Por outro lado, a urtiga originou peixes com maior brilho.

As flores apresentam um vasto campo de oportunidades para a produção de carotenoides. Em um estudo realizado por Jorjani et al. (2018), foi utilizada calêndula em pó (*Tagetes erecta*) com o intuito de incrementar a pigmentação do *Trichogaster trichopterus*. A concentração de 2,5 % de pó de calêndula na dieta alterou a coloração dos peixes. Os autores recomendaram estudos direcionados à identificar os tipos de pigmentos que a espécie é capaz de aproveitar. Cabe destacar que além da especificidade de ação do pigmento, ainda pode existir deposição desuniforme do pigmento ao longo do corpo. Os kinguios *Carassius auratus* distribuem de forma desuniforme ao longo de seu corpo os pigmentos do pó de calêndula da dieta. Com a adição de 200 mg/Kg, os peixes intensificaram a coloração, mas a nadadeira caudal apresentou o maior acúmulo de pigmentos (Villar-Martínez et al., 2013).

Os carotenóides além de incrementar a pigmentação, também podem promover melhorias no sistema imunológico dos peixes. O transporte de peixes acarreta em muito estresse aos organismos, ocasionando a perda temporária de brilho e cor do animal. Com o intuito de evitar este problema e proporcionar ganho de cor foi realizada a adição de 17 g/Kg de pó de cúrcuma na dieta. Apesar de não reduzir o estresse, foi possível reduzir a perda de coloração durante o transporte (Nascimento et al., 2019). Outros pigmentos vegetais tais como a batata doce também podem promover estes benefícios (Nhan et al., 2018). Pigmentos vegetais conseguem promover intensificação da pigmentação em matizes distintas das proporcionadas pela astaxantina (Kaur et al., 2016). A comparação da incorporação de *Spirulina*, astaxantina e luteína (extraída do milho) na dieta para o peixe *Maylandia estherae* resultou em diferentes incrementos de cor. Astaxantina conferiu uma coloração vermelha e alaranjada, *Spirulina* intensificou a cor laranja e amarelo e por sua vez a luteína conferiu cor amarela viva (Yedier et al., 2014).

Crustáceos representam uma das principais fontes de pigmentos para os peixes. Camarões tem a capacidade de acumular pigmentos em sua carapaça, proporcionando incremento deste pigmento ao peixe (Davinelli et al., 2018). A carapaça de camarão apresenta 68% de astaxantina, sendo que ao ser ofertada aos kinguios promove intensificação da pigmentação a partir do décimo dia de fornecimento na dieta (Weeratunge e Perera, 2016) .

A alimentação de peixes ornamentais com base em organismos bentônicos e planctônicos exerce influência no crescimento e na coloração no peixes. Dietas com *Tubifex* sp. (vivo e na forma liofilizada) e *Daphnia* sp. liofilizada foram utilizadas comparativamente à

dieta comercial. Os peixes demonstraram melhor aproveitamento do carotenoide contido no alimento vivo (*Tubifex* sp.) (Mandal et al., 2010).

1.3. Espécies estudada Espada sangue

Os peixes mais populares no aquarismo pertencem à família *Poeciliidae*. São peixes de água doce de porte pequeno, que podem ser encontrados do norte do México a Belize e Honduras (Kang et al., 2013). As principais espécies são as molinesias (*Poecilia sphenops*), guppy (*Poecilia reticulata*), além do gênero *Xiphophorus* com uma variedade de 27 espécies. Processo de hibridização entre espécies deste gênero são comuns. Como espécies mais representativas deste gênero podemos citar o Platy (*Xiphophorus maculatus*) e o espada (*Xiphophorus helleri*). Os espadas se caracterizam por apresentar na nadadeira caudal um raio prolongado em forma de “espada” (Kang., et al 2013).

Estudos com a espécie identificam a predominância de zeaxantina, luteína e α -caroteno na epiderme (Rempetersa et al., 1981). O espada consegue acumular carotenóides e intensificar sua coloração. A adição do microorganismo *Streptomyces* sp. na dieta do espada resultou no incremento da coloração e na elevação do preço de mercado (Dharmaraj e Dhevendaran, 2011). Pigmentos de origem vegetal também parecem ser metabolizados pelo espada. A incorporação de flores (*H. rosasinensis*, *Rosa indica*, *Ixora coccinea* e *Crossandra infundibuliformis*) na dieta do espada proporcionaram incremento de coloração (Sujath et al., 2011). A alimentação de outra espécie do gênero, o platy, *Xiphophorus maculatus*, com *Artemia* sp. enriquecida com *Dunaliella salina* (rica em β -caroteno) aprimorou a coloração vermelha (Abdollahi et al., 2019) .

OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar se diferentes concentrações de cantaxantina na dieta do espadinha *Xiphophorus helleri* variedade sangue promovem coloração vermelha mais intensa e afetam o desempenho zootécnicos dos organismos

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar a efeito da inclusão de diferentes níveis de Cantaxantina na ração;
2. Verificar o desempenho produtivo dos organismos submetidos a diferentes dosagens de cantaxantina.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- Abdollahi, Y.; Ahmadifard, N.; Agh, N.; Rahmanifarah, k.; Hejazi, N.A.; 2019. β -Carotene-enriched Artemia as a natural carotenoid improved skin pigmentation and enhanced the mucus immune responses of platyfish *Xiphophorus maculatus*. *Aquaculture international*, 27:1847–1858. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00437-8>
- Baron, M.; Davies, S.; Alexander, L.; Snellgrove, D.; Sloman, A. 2008. The effect of dietary pigments on the coloration and behaviour of flame-red dwarf gourami, *Colisa lalia*. *Animal Behaviour*, 75(3), 1041-1051 . doi: Cejas, J.R.; Almansa , E.; Tejera ,N.; Jerez, S.; Bolaños, A.; Lorenzo, A. 2003. Effect of dietary supplementation with shrimp on skin pigmentation and lipid composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) alevins. *Aquaculture*, 218(1-4):457–469. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00226-010.1016/j.anbehav.2007.08.014](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00226-010.1016/j.anbehav.2007.08.014)
- Cook, L. 2016. Determining an Optimum Level of Dietary Astaxanthin to Improve Coloration of *Amphiprion ocellaris*. Governor’s School for Science & Technology.
- Daniel, N.; Sivaramakrishnan, T.; Subramaniyan, S.; Faizullah, M.M.; Fernando,H. 2017. Application of carotenoids on coloration of aquatic animals. *International Journal of Fisheries and Aquatic Research*. 2(1):01-07.
- Das, A.P e Biswas, S.P. 2016. Carotenoids and Pigmentation in Ornamental Fish. *Journal of Aquaculture & Marine Biology*. 4(4).
- Davinelli, S.; Nielsen, M.E.; Scapagninim G. 2018. Astaxanthin in skin helth, repair, and disease: A comprehensive review. *Nutrients*. 10(4): 522. <https://doi.org/10.3390/nu10040522>
- Del Villar-Martínez, A.A.; Orbe-Rogel, J.C.; Vanegas-Espinoza, P.; Quintero-Gutiérrez, A.G.; Lara-Flores.M. 2013. The effect of marigold (*Tagetes erecta*) as

natural carotenoid source for the pigmentation of goldfish (*Carassius auratus* L.). ResearchGate, 8(2):31-37.

Dharmaraj, S.; Dhevendaran, K . 2011. Application of Microbial Carotenoids as a Source of Colouration and Growth of Ornamental Fish *Xiphophorus helleri*. World Journal of Fish and Marine Sciences 3 (2): 137-144.

Fujimoto, R.Y.; Santos, R.F.B.; Dias, H.M.; Ramos, F.M.; Silva, D.J.F.; Honorato, C.A. 2016. Feeding frequency on the production viability of production and quantitative descriptors of parasitism in angelfish. Ciência Rural, 46(2). [https:// doi.org/10.1590/0103-8478cr20141704](https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141704)

Grempel, R.G.; Visconti, M.A. 2014. Coloração e Fisiologia da pigmentação. In: Baldisserotto, B.; Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C. Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce. FUNEP, Jaboticabal. p. 142-155.

Grassi, T. L. M.; Santos, E.F.E.; Marcos, M.T.S.; Cavazzana, J.F.; Oliveira, D.L.; Bossolani, I.L.; Posano, E.H.G. 2015. Bacterial pigment for Nile tilapia feeding. *Aquaculture International*, 24(2):1-14. [https:// doi:10.1007/s10499-015-9955-y](https://doi:10.1007/s10499-015-9955-y)

Ho, A.L.F.C.; Zong, S.; Lin, J. 2013. Skin color retention after dietary carotenoid deprivation and dominance mediated skin coloration in clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris*. *AACL Bioflux*, 7(2):103-115.

Jiang, J.; Nuez-Ortin, W.; Angell, A.; Zeng, C.; de Nys, R.; Vucko, M.J. 2019. Enhancing the colouration of the marine ornamental fish *Pseudochromis fridmani* using natural and synthetic sources of astaxanthin. *Algal Research*, 42:101596. [https:// doi.org/10.1016/j.algal.2019.101596](https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101596).

Jorjani, M e Rohani, M.;S. 2018. Pigmentation and grow performance in the blue gourami, *Yricholgaster trichopterus*, fed marigold, *Calendula officinalis*, powder, a natural carotenoid source. World Aquaculture Society, 1:11. [https://doi.org /10.1111/jwas.12562](https://doi.org/10.1111/jwas.12562)

- Kang, J.K.; Scharl, M.; Walter, R.B.; Meyer, A. 2013. Comprehensive phylogenetic analysis of all species of swordtails and platies (Pisces: Genus Xiphophorus) uncovers a hybrid origin of a swordtail fish, *Xiphophorus monticolus*, and demonstrates that the sexually selected sword originated in the ancestral lineage of the genus, but was lost again secondarily. *BMC Evolutionary Biology*, 13(1):25. [https:// doi: 10.1186/1471-2148-13-25](https://doi.org/10.1186/1471-2148-13-25)
- Kaur, S.; Kaur, V.I.; Holeyappa, S.A.; Khairnar, S.O. 2016. Effect of Dietary Supplementation of Synthetic and Natural β -Carotene on Survival, Growth and Pigmentation in Freshwater Ornamental Koi (*Cyprinus carpio* L.) Carp. *Indian journal Animal Nutrition*, 33 (4): 448-455. [https:// doi: 10.5958/2231-6744.2016.00079.7](https://doi.org/10.5958/2231-6744.2016.00079.7)
- Liu, X.; Wang, H.; Chen, Z. 2014. Effect of carotenoids on body colour of discus fish (*Symphysodon aequifasciatus axelrodi* Schultz, 1960). *Aquaculture Research*, 47(4): 1309-1314. [https:// doi.org/10.1111/are.12591](https://doi.org/10.1111/are.12591)
- Li, J.; Zhu, D.; Niu J.; Shen, S.; Wang, G. 2011. An economic assessment of astaxanthin production by large scale cultivation of *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnology Advances* 29:568–574. [https://doi:10.1016/j.biotechadv.2011.04.001](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.04.001)
- Li, T.; He, C.; Ma, M.; Xing, W.; Jiang, N.; Li, W.; Sun, W.; Luo, L. 2016. Effects of Different Carotenoids on Pigmentation of Blood Parrot (*Cichlasoma synspilum* × *Cichlasoma citrinellum*). *Journal of Aquaculture Research & Development*, 7(3):414. [https:// doi : 10.4172/2155-9546.1000414](https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000414)
- Mandal, B.; Mukherjee, A.; Banerjee, S. 2010. Growth and pigmentation development efficiencies in fantail guppy, *Poecilia reticulata* fed with commercially available feeds. *Agriculture and biology journal of north America*, 1(6): 1264-1267. [https:// doi:10.5251/abjna.2010.1.6.1264.1267](https://doi.org/10.5251/abjna.2010.1.6.1264.1267)
- Militz, T.A.; Foale, S. 2017. The “Nemo Effect”: Perception and reality of Finding Nemo’s impact on marine aquarium fisheries. *Fish and Fisheries* 18(3): 596-606. [https:// doi.org/10.1111/faf.12202](https://doi.org/10.1111/faf.12202)

- Nascimento, L.D.; Reis, S.M.; Ferreira, P.M.F.; Kanashiro, M.Y.; Salaro, A.L.; Zuanon, J,A,S. 2019. Effects of *Curcuma longa* rhizome on growth, skin pigmentation, and stress tolerance after transport of *Trichogaster labiosa*. Revista Brasileira de Zootecnia, 48. [https:// doi: 10.1590/rbz4820160282](https://doi.org/10.1590/rbz4820160282)
- Nanthini, DEVI. K.; Ajith, K. T.; Balasubramanian, T. 2016. Pigment Deficiency Correction in Captive Clown Fish, *Amphiprion ocellaris* Using Different Carotenoid Sources. Journal of Fisheries sciences, 10(1):4–11. [https:// doi: 10.13140/RG.2.1.5111.8164](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5111.8164)
- Nhan, H.T.; Minh, T.X.; Liew, H.J.; Hien,T.T.T.; Jha, R. 2018. Effects of natural dietary carotenoids on skin coloration of false Clownfish (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830). Aquaculture Nutrition, 25(3): 662-668. [https:// doi.org/10.1111/anu.12887](https://doi.org/10.1111/anu.12887)
- Patil, S.A e Thakare, D.B. (2017). Impact of fungal pigment (Carotenoides) in feed for *Cyprinus carpio* fish (KOI KARP). International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 5(3): 77-82.
- Paripatananont, T. (1999). Effect of astaxanthin on the pigmentation of goldfish *Carassius auratus*. Journal of the world aquaculture society, 30(4).
- Putra, D.F.; Qadri, A.; El-Rahimi, S.A.; Othman, N. 2020. Effects of Astaxanthin on The Skin Color of Green Swordtail, *Xyphophorus helleri*. E3S Web of Conferences 151:01065. [https:// doi.org/10.1051/e3sconf/202015101065](https://doi.org/10.1051/e3sconf/202015101065)
- Pantoja, W.M.F.; Flores, L.V.; Tavares-Dias, M. 2015. Parasites component community in wild population of *Pterophyllum scalare* Schultze, 1823 and *Mesonauta acora* Castelnau, 1855, cichlids from the Brazilian Amazon. Journal Applied Ichthyol. 31:1043–1048.
- Pouil, S.; Tlusty,M.F.; Rhyne, A.L.; Metian, M. 2019. Aquaculture of marine ornamental fish: overview of the production trends and the role of academia in research progress. Reviews in Aquaculture, 1–14. [https:// doi: 10.1111/raq.12381](https://doi.org/10.1111/raq.12381)

- Rhyne, A.L.; Tlusty, M.F.; Schofield, P.J.; Kaufman, L.; Jr Morris, J.A.; Bruckner, A.W. 2012. Revealing the appetite of the marine aquarium fish trade: The volume and biodiversity of fish imported into the United States. *Plos one*, 7(5): e35808. <https://doi:10.1371/journal.pone.0035808>
- Rempetersa, G.; Henzea, M.; Andersa, F. 1981. Carotenoids and pteridines in the skin of interspecific hybrids of *Xiphophorus*. *Comp. Biochem. Physiol. B.*, 69(1): 91-98.
- Seyedi, S.M.; Sharifpour, I.; Ramin, M.; Jamili, S.H. 2013. Effect of dietary astaxanthin on survival, growth, pigmentation Clownfish, *Amphiprion ocellaris*, Cuvier. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 3(3).
- Song, X.; Wang, L.; Li, x.; Chen, Z.; Liang, G.; Leng,X. 2016. Dietary astaxanthin improved the body pigmentation and antioxidant function, but not the grow of discus fish (*Symphysodon spp.*). *Aquaculture Research*, 1–9. <https://doi:10.1111/are.13200>
- Sujath, B.J.S.; J. Jemima Shalin, J.J.; Palavesam, A. 2011. Influence of Four ornamental flowers on the growth and colouration of orange sword tail Chicilidae fish (*Xiphophorus hellerei*, Heckel, 1940). *International Journal Biol Med Res.* 2011; 2(3): 621-626
- Shah, M. R.; Ling, Y.; Cheng, J.J.; Droch. M. 2016. Astaxanthin-Producing Green From Single Cell to High Value Commercial Products. *frontiers in plant Science*, 7. <https://doi:10.3389/fpls.2016.00531>
- Troell, M.; Kautsky, N.; Beveridge, M.; Henriksson, P.; Primavera, J .; Rönnbäck, P.; Folke, C. 2017. *Aquaculture*, In Reference Module in Life Sciences, Elsevier, 2017, ISBN: 978-0-12-809633-8. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.02007-0>
- Wang, Y.J.; Chien, Y.H.; Pan, C.H. 2016. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacityof characins, *Hyphessobrycon callistus*. *Aquaculture* 261:641–648. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2006.08.040>

- Weeratunge, W.K.O.V e Perera, B.G.K. 2016. Formulation of a fish feed for goldfish with natural astaxanthin extracted from shrimp waste. Weeratunge and Perera Chemistry Central Journal, 10:44. [https:// doi 10.1186/s13065-016-0190-z](https://doi.org/10.1186/s13065-016-0190-z)
- Weaver, R.J, Gonzalez, B.K.; Santos, S.R.; Hacird, J.C. 2020. Red Coloration in an Anchialine Shrimp: Carotenoids, Genetic Variation, and Candidate Genes. The Biological Bulletin. 238: 119–130. [https:// doi: 10.1086/708625](https://doi.org/10.1086/708625)
- Yeşilayer, N.; Mutlu,G.; Yıldırım, A. 2020. Effect of nettle (*Urtica* spp.), marigold (*Tagetes erecta*), alfalfa (*Medicago sativa*) extracts and synthetic xanthophyll (zeaxanthin) carotenoid supplementations into diets on skin pigmentation and growth parameters of electric yellow cichlid (*Labidochromis caeruleus*), *Aquaculture*, 520 :734964. [https:// doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734964](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734964)
- Yedier, S e Gümüs. E. 2014. The relationship between carotenoid type and skin color in the ornamental red zebra cichlid *Maylandia estherae*. *AACL Bioflux*, 4:3.

ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

Can canthaxanthin intensify the color of the blood swordfish *Xiphophorus helleri*?

Artigo redigido nas normas do periódico científico

Aquaculture Research

QUALIS A2

**Cantaxantina pode intensificar a coloração do espada sangue
Xiphophorus helleri?**

Bruno Silva Olier¹, Otávio Mesquita de Sousa², Eduardo Gomes Sanches^{2*}

¹Postgraduate Program in Aquaculture and Fisheries, Fisheries Institute, Secretariat of Agriculture and Supply, State of São Paulo, São Paulo, Brazil.

²Marine Fish Laboratory, Fisheries Institute, Ubatuba, SP, Brazil.

**Corresponding author - Eduardo Gomes Sanches
(eduardo.sanches2005@gmail.com)*

Marine Fish Laboratory, Fisheries Institute

Av. Cais do Porto, 2275

Ubatuba/SP, Brazil.

CEP - 11680-000.

phone/fax: (+55) 12-3832-1254

Running title: Canthaxanthin in blood swordfish

RESUMO

A coloração exerce grande influencia na comercialização de peixes ornamentais. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar diferentes concentrações de cantaxantina na dieta do espadinha *Xiphophorus helleri* variedade sangue visando a obtenção de coloração vermelha mais intensa. Foram utilizadas seis concentrações de cantaxantina (0, 50, 100, 250, 400 e 600 mg kg⁻¹dieta). O experimento teve duração de 60 dias. Os peixes foram avaliados em relação ao desempenho produtivo e ao incremento da pigmentação vermelha por meio de utilização de fotografias (realizadas por smartphone) e aplicativos de imagem considerando o método Hunter e o CMYK. Não foram observadas diferenças significativas para desempenho produtivo. A utilização de fotografias por meio de smartphone e a utilização de aplicativos de imagem se mostraram adequadas para avaliar diferenças na coloração da espécie. A pigmentação vermelha dos espadinhas não apresentou incremento significativo independentemente das dosagens de cantaxantina.

Palavras chave:

Aquicultura ornamental, pigmentação, astaxantina, carotenoides, cromatóforos

Can canthaxanthin intensify the color of the blood swordfish *Xiphophorus helleri*?

ABSTRACT

The coloring has a great influence on the commercialization of ornamental fish. The aim of this work was to evaluate different concentrations of canthaxanthin in the diet of the swordfish *Xiphophorus helleri* blood variety, aiming to obtain a more intense red color. Six concentrations of canthaxanthin (0, 50, 100, 250, 400 and 600 mg kg⁻¹ diet) were used. The experiment lasted 60 days. Fish were evaluated for productive performance and increased red pigmentation through the use of photographs (performed by smartphone) and imaging applications considering the Hunter method and the CMYK. No significant differences were observed for productive performance. The use of photographs by means of a smartphone and the use of imaging applications proved to be adequate to assess differences in color in the species. Swordfish red pigmentation did not show significant increase regardless of canthaxanthin dosages. Varieties of ornamental fish genetically improved to red may have limits for increased color due to the storage capacity of carotenoids by chromatophores.

Keywords: Ornamental aquaculture, pigmentation, astaxanthin, carotenoids, chromatophores

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura ornamental visa a produção de organismos aquáticos com a finalidade de ornamentação. Esta atividade econômica é uma alternativa para o desenvolvimento da aquicultura urbana já que necessita de pouco espaço e gerar produção com elevado valor unitário (Kodama, Annuniação, Sanches, Gomes, & Tsuzuki, 2011; Sousa, Oliveira, Kuhnen, & Sanches., 2019). Além disso, a aquicultura ornamental urbana pode ser realizada em sistemas fechados de recirculação de água, aumentando a produtividade e evitando a introdução de agentes patogênicos no sistema (Paixão, Sousa, Couto, Sanches, Kuhnen, Maria, Carneiro, & Fujimoto, 2020). O sucesso desta atividade, entretanto, depende de se produzir exemplares com coloração intensa. A ausência de coloração nos organismos ornamentais se reflete no preço e aceitação dos mesmos (Nanthini Devi, Ajith Kumar, & Balasubramanian, 2016).

A coloração da pele e das escamas dos peixes é proveniente das células pigmentares conhecidas como cromatóforos. Estes são classificados conforme a expressão de sua cor: iridóforos e leucóforos, que contêm purina e hidroxapatita produzindo a coloração branca ou prateada; xantóforos que produzem a coloração amarela; eritróforos que produzem a coloração vermelha; melanóforos que através da melanina produzem a coloração preta ou marrom (Avtalion & Reich, 1989). Os cromatóforos contêm pigmentos que refletem a luz. Entre estes pigmentos se destacam os carotenóides. Os peixes, assim como outros animais, não têm capacidade de síntese de carotenóides sendo necessária a inclusão na dieta (Zuanon, Salaro, & Furuya, 2011). Na alimentação da maior parte dos peixes ornamentais cultivados são utilizadas dietas formuladas para peixes de corte, geralmente pobres em pigmentos, fato que, somado à baixa produção de organismos planctônicos em sistemas de criação intensivos, impossibilitam a acumulação de pigmentos carotenóides em níveis suficientes para intensificação da coloração da pele (Kaur & Shah, 2017). Na aquicultura, a produtividade dos sistemas de criação baseia-se em critérios de desempenho relacionados ao ganho de peso e consumo de alimento (Herrera, Kuhnen, & Sanches, 2019; Tosta, Albinati, Carvalho, Souza Filho, Vasconcelos, Kuhnen, & Sanches, 2019). Entretanto, na aquicultura ornamental, a produtividade depende também da coloração. A utilização de carotenóides em dietas para peixes vai além da simples intensificação da pigmentação e

melhoria de desempenho zootécnico. Os carotenóides proporcionam, redução de estresse, combate aos radicais livres e aumento de resposta imunológica, favorecendo o crescimento, a reprodução e auxiliando no bem-estar animal (Sinha & Asimi, 2007).

A inclusão de carotenoides sintéticos, a exemplo da astaxantina e da cantaxantina, possibilita intensificar a pigmentação dos peixes, permitindo obter maiores valores na comercialização. A astaxantina é um carotenoide que vem sendo utilizado para a pigmentação do filé do salmão *Salmo salar* e da truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Panis & Carreon, 2016). Recentemente vem sendo utilizada para incrementar a pigmentação em peixes ornamentais (Das & Biswas, 2016). Astaxantina tem se mostrado eficiente em promover intensificação da coloração. Peixes palhaço *Amphiprion ocellaris* submetidos a dieta com distintos níveis de astaxantina (0, 150, 250, 400, 640 e 1020 mg kg⁻¹) por sete semanas apresentaram significativo incremento na coloração (Ho, O'Shea, & Pomeroy, 2013a). Bem menos estudada para peixes ornamentais, a cantaxantina pode ser outra alternativa como carotenóide. Cantaxantina pode ser mais eficiente na pigmentação de peixes ornamentais do que a astaxantina (Yeşilayer, Aral, Karsli, Öz, Karaçuha, & Yağci, 2011). Por outro lado, a dosagem de carotenoides deve ser ajustada à espécie e ao incremento de pigmentação desejado. A inclusão de 20 a 100 ppm de astaxantina na dieta do peixe palhaço não proporcionou incremento na coloração (Yasir & Qin, 2010). Níveis elevados, entretanto, encarecem muito a dieta, não resultando em incremento de coloração proporcional expressivo (Ho, Bertran, & Lin, 2013b).

Para mensurar de forma quantitativa a coloração dos peixes é necessário utilizar a colorimetria. Infelizmente, os colorímetros são equipamentos de custo elevado e, portanto, distantes da realidade do setor produtivo da aquicultura ornamental. Um estudo recente demonstrou a viabilidade de substituição dos colorímetros por smartphones e aplicativos de imagem, facilitando a avaliação da pigmentação em frutos de fisális *Physalis peruviana* (Cerutti, Wille, Adams, Barichello, Santos, & Gemeli, 2018). Os resultados demonstraram que não houve diferenças significativas entre leituras, considerando-se colorímetros e smartphones com aplicativos de imagem. Neste sentido, torna-se importante verificar a aplicação deste equipamento na avaliação da pigmentação de peixes ornamentais.

Uma das espécies mais populares na aquicultura ornamental é o espadinha *Xiphophorus helleri* (Heckel, 1848). O macho da espécie possui em sua nadadeira caudal

uma projeção em forma de espada originando sua denominação popular. São peixes de pequeno porte, encontrados do norte do México, Belize e Honduras, possuindo uma coloração com linhas vermelhas e verdes na forma selvagem (Julia, Andriani, Yuliadi, & Iskandar, 2019). O processo de melhoramento genético originou diversas variedades com coloração intensa, a exemplo da variedade sangue, com coloração vermelha em toda a superfície do corpo. Entretanto, a utilização de dietas pobres em carotenóides faz com que a coloração vermelha perca intensidade, sendo substituída por um tom alaranjado.

Neste aspecto, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar se o incremento do nível de cantaxantina na dieta do espadinha *Xiphophorus helleri* variedade sangue aumenta a intensidade da cor avermelhada nos peixes sem implicar em prejuízo ao desempenho produtivo. Nossa hipótese é de que o incremento do nível de inclusão de cantaxantina aumentaria a intensidade da cor vermelha nos peixes sem implicar em prejuízo ao desempenho produtivo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Formas jovens de espadinha *Xiphophorus helleri* variedade sangue obtidos por reprodução em cativeiro foram distribuídos aleatoriamente em vinte e quatro aquários de 50x25x35 cm (43 litros), em sistema estático de água doce, dotados de aeração e filtragem por filtro interno de espuma. O estudo foi desenvolvido de acordo com as recomendações do guia da CCAC sobre o uso de peixes em pesquisas científicas que auxilia na redução do sofrimento dos peixes. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Pesca (CEEAIIP).

Os peixes (dez indivíduos por aquário, peso inicial $0,69 \pm 0,33$ g, comprimento inicial $3,5 \pm 0,7$ cm) foram divididos em seis tratamentos: (1) alimentação com dieta padrão sem componente pigmentante; (2) alimentação com dieta contendo 50 mg cantaxantina kg^{-1} ; (3) alimentação com dieta contendo 100 mg cantaxantina kg^{-1} ; (4) alimentação com dieta contendo 250 mg cantaxantina kg^{-1} ; (5) alimentação com dieta contendo 400 mg cantaxantina kg^{-1} e (6) alimentação com dieta contendo 600 mg cantaxantina kg^{-1} . O experimento teve duração de 60 dias. A cantaxantina comercial, contendo 10% de cantaxantina (101 g kg^{-1}), é destinada para alimentação animal, especialmente pássaros, comercializada pela Vansil Ltda. e foi adquirida através de

compra. O processo de incorporação da cantaxantina ocorreu após o descongelamento em temperatura ambiente de dois quilogramas da ração experimental (Laguna Larvas 55, Socil Ltda., 55% PB e 4% EE). O pigmento foi inicialmente pesado em balança de precisão e dissolvido em água destilada a 50°C, no escuro, com agitação por cinco minutos para que os cristais se dissolvessem por completo. A seguir foram feitas as diluições em água destilada, para que, com a incorporação de 50 mL de cada diluição por quilograma de ração correspondesse ao nível de pigmento desejado na ração experimental (Rezende, Vidal-Júnior, Andrade, Mendonça, & Santos, 2012).

A incorporação foi feita utilizando-se pulverizador manual, sendo a solução diluída contendo a cantaxantina pulverizada sobre a ração constantemente misturada. Para que as quantidades de pigmentos correspondessem aos níveis experimentais, após a inclusão da solução diluída de cantaxantina no pulverizador manual, este foi pesado e feito a tara da balança, periodicamente este pulverizador era novamente pesado e a redução no seu peso até -50 g serviram como indicador de que a quantidade necessária já havia sido incorporada à ração conforme os níveis experimentais. Em seguida à incorporação da cantaxantina, as rações foram acondicionadas em bandejas plásticas e permaneceram em estufa ventilada a 55°C por 12h para evaporação da água utilizada como veículo na incorporação do pigmento. Neste período as rações foram revolvidas nas bandejas a cada hora durante as primeiras 4h. Após esta etapa as rações foram deixadas em temperatura ambiente por 4h para que resfriassem e equilibrassem a umidade com o ar. A verificação da quantidade de cantaxantina na dieta foi feita por extração de carotenóides de acordo com Weber & Davoli (2003). As rações experimentais foram acondicionadas em recipientes plásticos escuros com tampa devidamente identificados, permanecendo armazenadas em freezer a -20°C, sendo retiradas apenas no momento do arraçoamento dos peixes.

Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia. A quantidade utilizada de cada dieta foi mensurada por pesagem após cada alimentação. Os peixes foram alimentados até a sua saciedade. Como prática de operação, diariamente foram sifonadas as sobras de ração em cada unidade experimental. Semanalmente, 10% do volume total do aquários foi substituído, visando a eliminação de componentes nitrogenados.

Diariamente foi verificada a ocorrência de mortalidade. As biometrias foram realizadas no início, após 30 dias e ao término do experimento. Para realização das

biometrias todos os 10 peixes de cada aquário foram medidos com ictiômetro e pesados individualmente em balança eletrônica digital (1000g; precisão de 0,01g). A partir dos valores de consumo de ração, comprimento e peso de todos os peixes, foram calculados os parâmetros de desempenho zootécnico, quais sejam: ganho de peso e conversão alimentar aparente. Além destes parâmetros no termino do experimento foi avaliado o índice viscerossomáticos, que representa o peso das vísceras em relação ao corpo do animal. Para o cálculo desse índice foram selecionados aleatoriamente dez peixes de cada tratamento que foram insensibilizados por choque térmico, pesados individualmente, e dissecados na região abdominal para retirada das vísceras.

Para averiguar a progressão dos efeitos dos pigmentos na coloração dos peixes, três exemplares de cada unidade experimental foram fotografados ao início e ao final do período experimental. Considerando a avaliação de metodologias de menor custo para valorar a pigmentação da pele de peixes ornamentais, foram avaliadas duas técnicas. A primeira utilizou o software AdobePhotoshop® e a segunda, como alternativa de programa de menor custo e para comparativo de eficiência, foi utilizado o aplicativo Colorímetro Lab Tools disponível na Apple Store e Play Store para dispositivo móvel (smartphone).

Para aplicação destas duas metodologias alternativas, os peixes foram anestesiados (Eugenol, 100 mg L⁻¹) e fotografados individualmente. Para a realização das fotografias foi montado um módulo experimental que consistiu em uma caixa plástica branca onde os peixes foram alocados sob uma placa de Petri. Uma folha branca foi colocada embaixo da placa de Petri, com o intuito de eliminar riscos e manchas na caixa plástica. Para não ocorrer interferência da luz natural, foi utilizado uma fonte artificial de iluminação, constituída por uma lâmpada incandescentes de 100 watts, posicionada 50 cm de distância do peixe à direita. As fotografias foram obtidas pelo dispositivo móvel (celular) Moto G 5 plus, posicionado a 20 cm dos peixes, a um ângulo de 60 graus em relação à superfície de acomodação do peixe a ser fotografado. Inicialmente as fotografias foram passadas para a configuração CMYK e com a programação de níveis automáticos de tonalidade. Após esta padronização foram analisadas pelas coordenadas de Hunter no software AdobePhotoshop® e no aplicativo LabTools.

Para quantificar a coloração dos peixes foram cotados cinco pontos pré-determinados do corpo dos peixes, sendo cada ponto com área de 25 pixels quadrados.

Foram utilizadas as coordenadas de Hunter ($L^*a^*b^*$), onde L^* representa brilho (-100, preto e +100, branco), a^* (-100, verde e +100, vermelho) e b^* (-100, azul e +100, amarelo). O Croma é a relação entre os valores de a^* e b^* , onde se obtém a cor real do objeto analisado. Hue-Angle é o ângulo formado entre a^* e b^* , indicando a saturação da cor do objeto. Para cálculo do Croma foi utilizada a fórmula matemática: $C = \sqrt{a^2+b^2}$ e, para se calcular Hue-Angle, utilizou-se a fórmula: $H^\circ = \arctg b^*/a^*$. No padrão de cores CMYK, as cores são decompostas em percentuais das cores básicas: ciano (C), magenta (M), amarelo (Y) e preto (K). O ciano é a cor oposta ao vermelho, o magenta é a oposta ao verde e o amarelo é a oposta ao azul. Magenta com mais amarelo produz vermelho, magenta mais ciano produz azul e ciano mais amarelo produz verde.

Dez espadinhas selvagens foram mantidos em um aquário de 50x25x35 cm (43 litros), em sistema estático de água doce, dotados de aeração e filtração por filtro interno de espuma. Estes peixes foram utilizados para identificação e comparação com os cromatóforos dos peixes da variedade sangue submetidos ao tratamento com cantaxantina. Ao final do período experimental três destes exemplares e três exemplares de cada tratamento foram insensibilizados por choque térmico. Os peixes foram dissecados tendo a pele da lateral do corpo removida e analisada por meio de um estereomicroscópio e microscopia de luz. Imagens digitalizadas foram obtidas da lateral superior do peixe por meio de um microscópio com câmera de vídeo acoplada. A quantificação dos tipos de células pigmentares de acordo com sua distribuição conforme padrão de coloração da pele do espadinha, foi realizada com o auxílio do software de análise de imagens ImageJ. As imagens obtidas foram calibradas e as células quantificadas em um quadrante com área (mm^2) conhecida, a densidade dos cromatóforos foi expressa em número de células/ mm^2 .

Os parâmetros de qualidade da água foram monitorados semanalmente às 8:00h. A temperatura, o teor de oxigênio dissolvido da água, saturação de oxigênio, pH e a condutividade foram monitorados com sonda multiparâmetro Hanna HI 9828 (Hanna Instruments, EUA). A amônia total e a alcalinidade foram monitoradas com fotocolorímetro ATP-100 (Alfakit).

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições. Cada aquário foi considerado uma unidade experimental. As médias dos parâmetros avaliados foram submetidas à análise de

variância (ANOVA), para comparação entre os tratamentos. Os valores expressos em porcentagem sofreram transformação angular antes de serem analisados. Em caso de diferença significativa, foi aplicado o teste de Tukey ($P < 0,05$). Foi utilizado o pacote estatístico R.

3. RESULTADOS

O processo de incorporação de cantaxantina na ração mostrou eficiência média de 73,4% (Tabela 1).

Tabela 1. Eficiência da incorporação de cantaxantina na dieta para espadinha *Xiphophorus helleri* variedade sangue.

Nível adicionado (mg kg ⁻¹)	Nível incorporado (mg kg ⁻¹)	Eficiência de incorporação (%)
0	0	0
50	35.5	71.0
100	73.0	73.0
250	187.0	74.8
400	296.8	74.2
600	444.6	74.1

Os parâmetros de qualidade da água não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros de qualidade de água em aquários com espadinha *Xiphophorus helleri* variedade sangue submetidos a diferentes dosagens de cantaxantina.

Parâmetros	0 mg	50 mg	100 mg	250 mg	400mg	600mg
Temperatura (°C)	26,1±1,4	26,2±1,4	26,2±1,4	26,0±1,3	26,1±1,4	26,1±1,4
Oxigênio (mg/L)	5,3±0,5	5,3±0,5	5,4±0,8	5,3±0,4	5,3±0,5	5,4±0,5

Saturação (%)	66,5±4,8	66,6±5,0	66,0±5,0	65,6±4,9	68,1±5,1	66,4±4,9
pH	7,3±0,8	7,0±0,4	7,0±0,4	6,9±0,3	7,0±0,3	6,1±2,2
Condutividade e (µS/c ³)	32,6±20,1	33,6±23,0	38,7±29,9	29,1±27,5	32,9±23,0	30,5±17,4
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	17,9±0,0	17,9±0,0	17,9±0,0	17,9±0,0	17,9±0,0	17,9±0,0
Amônia (mg/L)	0,3±0,2	0,5±0,2	0,6±0,2	0,8±0,3	0,3±0,2	0,3±0,3

Não foram observadas diferenças significativas para os parâmetros de desempenho entre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros de desempenho zootécnico de espadinha *Xiphophorus helleri* variedade sangue submetidos a diferentes dosagens de cantaxantina.

Parâmetros	0 mg	50 mg	100 mg	250 mg	400mg	600mg
Peso Final (g)	0,90±0,4 0	0,97±0,3 1	0,93±0,4 4	0,85±0,3 4	1,14±0,6 6	0,97±0,5 6
Comprimento final (cm)	4,0±0,7	4,1±0,6	4,1±0,7	3,8±0,8	4,3±1,0	4,0±0,8
Sobrevivência (%)	82,5±22,2 2	85,0±23,8	95,0±5,8	87,5±15,0	70,0±21,6	70,0±27,1
Consumo ração (g)	2,32±0,5 7	3,45±0,2 1	2,61±0,4 4	2,95±0,5 3	3,09±0,2 5	3,59±0,3 7
Ganho de peso (g)	0,21±0,0 7	0,28±0,1 2	0,24±0,0 8	0,16±0,0 6	0,45±0,1 8	0,28±0,1 1
Conversão Alimentar	1,18±0,3 1	0,79±0,1 2	0,92±0,1 8	1,36±0,2 1	0,93±0,1 8	1,00±0,2 5

IVS	0,11±0,0	0,11±0,0	0,07±0,0	0,12±0,0	0,12±0,0	0,12±0,0
(%)	4	5	3	2	3	4

IVS=Índiceviscerosomático

A fotoidentificação dos exemplares para mensurar a pigmentação foi efetiva. Independente do sexo, os exemplares apresentaram intensa coloração vermelha (Fig. 01).

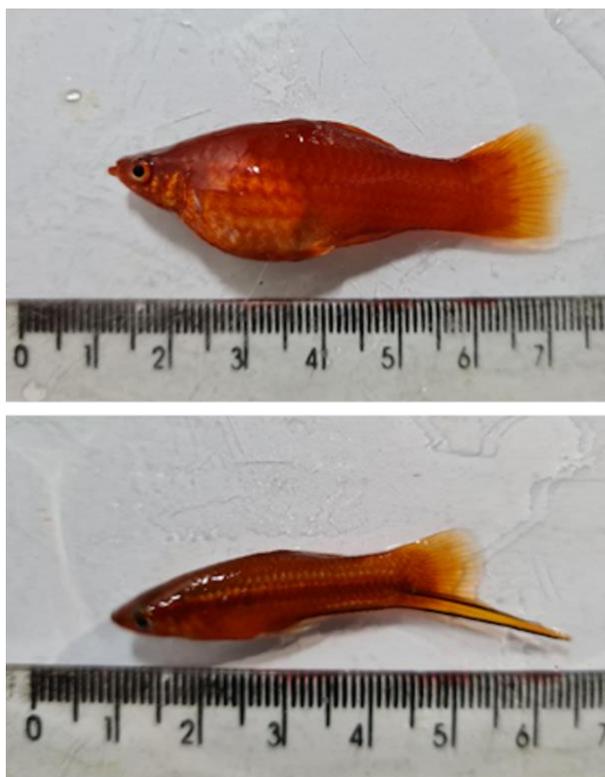


Fig. 1. Espadinha *Xiphophorus helleri* variedade sangue (fêmea acima, macho abaixo)

Os índices de coloração iniciais foram: L* (21,3±13,1), a* (23,0±11,3), b* (38,5±25,5), C (0,33±0,11), M (0,60±0,14), Y (0,63±0,17), K (0,24±0,14). Ao final do experimento não foi observada diferença significativa entre os índices avaliados para os distintos tratamentos e em relação ao controle (Tabela 4).

Tabela 4. Índices de coloração de espadinha *Xiphophorus helleri* variedade sangue submetidos a diferentes dosagens de cantaxantina.

Índices de coloração	0 mg	50 mg	100 mg	250 mg	400mg	600mg
L*	17,6±9,7	14,5±9,4	16,0±7,7	20,1±9,1	15,8±9,8	18,0±10,8
a*	17,6±9,7	21,2±12,4	24,6±8,3	26,8±9,4	22,6±11,5	23,4±12,5
b*	17,6±9,7	23,3±18,4	17,9±9,0	30,7±20,2	26,7±21,0	32,1±23,1
C	0,38±0,06	0,37±0,07	0,35±0,04	0,35±0,06	0,38±0,07	0,36±0,07
M	0,70±0,07	0,69±0,08	0,69±0,09	0,70±0,08	0,69±0,10	0,66±0,09
Y	0,64±0,12	0,65±0,13	0,64±0,10	0,67±0,11	0,63±0,14	0,63±0,14
K	0,29±0,12	0,26±0,08	0,25±0,08	0,25±0,09	0,37±0,16	0,41±0,22

Os valores do Cromo encontrados para a coloração de espadinha variaram entre 24,9 a 40,8. Para Hue-Angle, foram encontrados valores de 0,06 a 0,09 (Tabela 5).

Tabela 5. Valores do Cromo (C) e do Hue-Angle (°) da coloração de espadinha *Xiphophorus helleri* variedade sangue submetidos a diferentes dosagens de cantaxantina.

	0 mg	50 mg	100 mg	250 mg	400mg	600mg
Croma						
(C)	24,9±3,1	31,5±3,3	30,4±2,8	40,8±3,0	35,0±3,4	39,7±3,7
Hue (°)	0,09±0,02	0,07±0,02	0,06±0,03	0,06±0,03	0,07±0,02	0,07±0,03

Na faixa lateral do corpo dos espadinhas variedade sangue os eritróforos foram as células pigmentares mais abundantes (Fig. 02). No caso dos espadinhas selvagens foi observada a presença de melanóforos em maior quantidade. A densidade de cromatóforos dos espadinhas da variedade sangue não diferiu significativamente entre os tratamentos com diferentes dosagens de cantaxantina. Entretanto, a densidade de cromatóforos dos peixes de todos os tratamentos, inclusive do tratamento controle diferiram significativamente dos exemplares selvagens (Fig. 03).

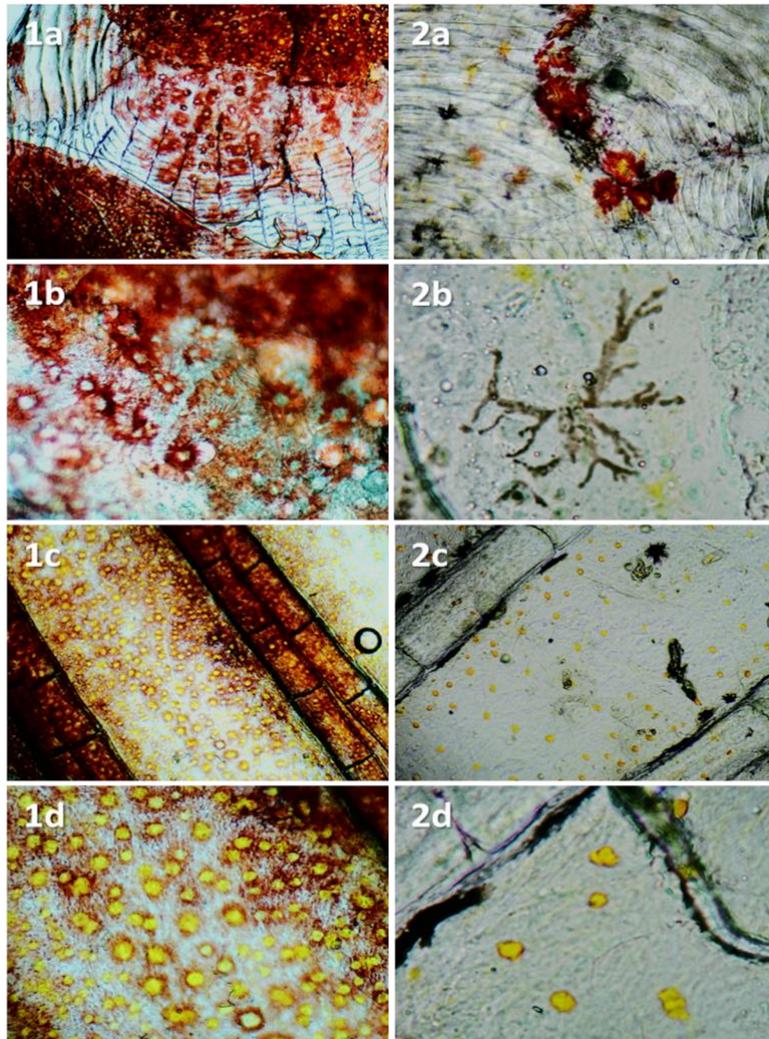


Fig. 2. Cromatóforos do espadinha *Xiphophorus helleri*. Na coluna da esquerda exemplar da variedade sangue após 60 dias de dieta com cantaxantina. Na coluna da direita variedade selvagem não submetida à dieta com cantaxantina. (1a = eritróforos, aumento 40X, 1b = eritróforos aumento 100X, 1c = xantóforos aumento 40X, 1d = xantóforos aumento 100X, 2a = eritróforos aumento 40X, 2b = melanóforo aumento 100X, 2c = xantóforos aumento 40X, 2d = xantóforos aumento 100X).

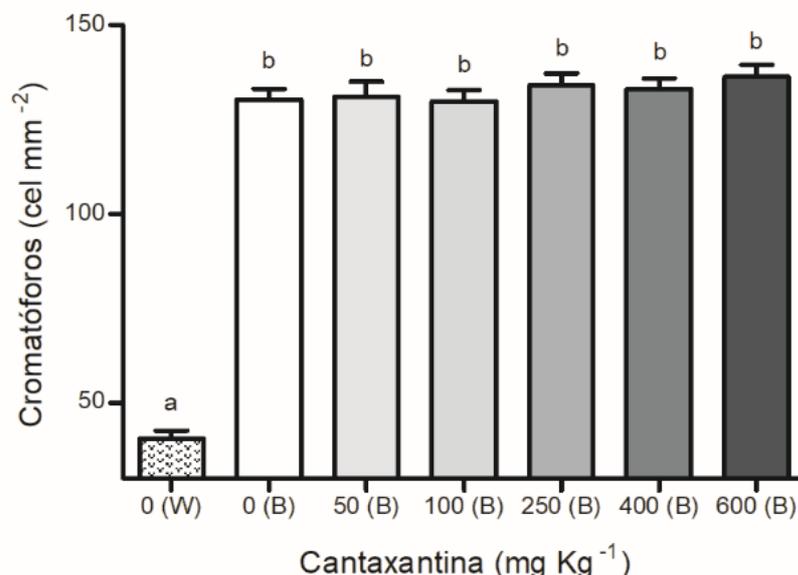


Fig. 03. Densidade de cromatóforos do espadinha *Xiphophorus helleri* selvagem (W) não submetida a dieta com cantaxantina e da variedade sangue (B) submetida a dieta com diferentes dosagens de cantaxantina. Colunas com diferentes letras diferem pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

4. DISCUSSÃO

O processo de incorporação de cantaxantina na ração resultou em perdas do pigmento. As perdas podem estar relacionadas à termodegradação ocorrida pela diluição do pigmento em água a 55°C e à fotodegradação pelo período de manipulação (Rezende et al., 2021). Os parâmetros da qualidade da água se mantiveram dentro da faixa ideal para a espécie (Monica, Neelakantan, & Seenappa, 2019; Julia et al., 2019; Putra, Qadri, El-Rahimi, & Othman, 2020), com exceção da amônia que apresentou valores elevados na fase inicial do experimento. Tal situação pode estar relacionada à baixa colonização de bactérias no filtro de espuma utilizado. Para contornar esta situação foram realizadas trocas de água até reduzir os níveis de amônia. Ao longo do período experimental com a intensificação da colonização bacteriana no filtro, os níveis de amônia mantiveram-se baixos. Os peixes não apresentaram mortalidade nesta fase inicial, demonstrando suportar concentrações de amônia elevadas.

A sobrevivência é um parâmetro importante de desempenho e que se reflete diretamente na viabilidade econômica dos cultivos. Neste estudo não foram observadas diferenças significativas para sobrevivência entre o tratamento controle e as diferentes

dosagens de cantaxantina. Espadinhas de diferentes variedades submetidos a distintas fontes de carotenoides também não apresentaram diferenças para a sobrevivência (Monica et al., 2019; Putra et al., 2020). Por outro lado, goldfish *Carassius auratus* submetidos a dosagem de 37 mg astaxantina kg⁻¹ por um período de 28 dias apresentaram sobrevivência mais elevada que o tratamento controle (Paripatananont, Tangtrongpaioj, Sailasuta, & Chansue, 1999). Estes autores creditaram estes resultados aos efeitos oxidantes da astaxantina em relação ao sistema imune desta espécie.

A maioria dos estudos em que os autores avaliaram fontes e níveis de inclusão de carotenoides em dietas para peixes ornamentais, a astaxantina foi o pigmento mais eficiente na pigmentação da pele (García-Chavarría & Lara-Flores, 2013). Entretanto, a cantaxantina vem proporcionando resultados similares. Considerando a valorização da cor vermelha em peixes ornamentais, exemplares de goldfish foram submetidos a diferentes dosagens de pigmentos na dieta (controle, astaxantina 100 mg kg⁻¹ e cantaxantina 100 mg kg⁻¹) (Nurhadi, Lili, Pratama, & Kiki Haetami, 2019). Os resultados não apresentaram diferenças significativas para nenhum parâmetro de desempenho produtivo, entretanto, ambos os pigmentos promoveram incremento da coloração dos peixes. Neste estudo com espadinhas, o incremento das dosagens de cantaxantina na dieta não proporcionou efeitos significativos em ganho de peso. Não foram observadas diferenças no índice viscerossomático dos distintos tratamentos. O incremento de pigmentos na dieta nem sempre proporciona modificações no desempenho produtivo. Avaliando a adição de astaxantina (75 mg Kg⁻¹ dieta) comparativamente à cantaxantina (75 mg Kg⁻¹ dieta) em goldfish não foram observadas diferenças para o desempenho após 144 dias para nenhum dos aditivos (Yeşilayer et al., 2011). A adição de 6% de *Clitoria ternatea* na dieta de espadinhas durante 40 dias não proporcionou influência significativa no ganho de peso ou comprimento dos peixes (Julia et al., 2019). Não foram observadas diferenças para ganho de peso ou crescimento em espadinhas submetidos a diferentes dosagens de astaxantina (Putra et al., 2020). Por outro lado, determinados pigmentos podem causar prejuízos ao desempenho. Carpa comum variedade nishikigoi *Cyprinus carpio* submetida por 62 dias a uma dieta com 6,38% de páprica apresentou redução na ingestão da dieta com piora no crescimento (Hancz, Magyary, Molnár, Sato, Horn, & Taniguchi, 2003).

Considerando a avaliação da pigmentação, o smartphone e os aplicativos utilizados na análise das imagens se mostraram práticos e eficientes na determinação da pigmentação dos peixes. A avaliação da pigmentação por meio de smartphones é bem

recente, existindo poucos estudos sobre sua aplicação na substituição de colorímetros (Cerutti et al., 2018). Este é o primeiro trabalho utilizando smartphones e aplicativo de análise de imagens para avaliação da pigmentação em peixes ornamentais. Neste aspecto, os resultados foram muito satisfatórios, reduzindo a necessidade de equipamentos de elevado custo para avaliar o incremento de pigmentação. Futuros trabalhos com outras espécies e diferentes fontes e dosagens de pigmentos podem contribuir para a popularização desta técnica junto à cadeia produtiva.

A quantificação da coloração pelo método Hunter ou CMYK a partir de regiões de coloração específicas predefinidas, mostrou-se eficiente como ferramenta para a avaliação da pigmentação em peixes ornamentais. O sistema de cores utilizado (Hunter e CMYK) proporcionou uma dupla checagem dos parâmetros. Em ambos os casos não houve diferença significativa entre as diferentes dosagens de cantaxantina avaliadas. A avaliação do Croma e do Hue-Angle também não proporcionou diferenças significativas entre os tratamentos. O Croma consiste na relação entre os valores de a^* e b^* , onde se obtém a cor real do objeto analisado. Hue-Angle é o ângulo formado entre a^* e b^* , indicando a saturação da cor do peixe. As variações de resultado nos parâmetros de cor avaliados podem ser atribuídos a três fatores: (a) distribuição não uniforme do carotenoide na região do corpo avaliada, (b) uso de poucos pontos de mensuração na pele do peixe e (c) Incidência de refração da luz (Ingle de la Mora, Arredondo-Figueroa, Ponce-Polofox, Delos Angeles Barriga-Soca & Vernon-Carter, 2006). A utilização de pigmentos vermelhos tende a elevar o valor de a^* e o Hue-Angle e reduzir o valor de L^* (Jain, Kaur, & Hollyappa, 2019). A suplementação de astaxantina (80 mg kg^{-1}) na dieta em carpa comum variedade nishikigoi promoveu a elevação de a^* e redução de L^* (Nguyen, Khanh, & Hai, 2014). A utilização de cantaxantina também proporcionou variação semelhante nestes parâmetros (Yeşilayer et al., 2011). Entretanto, no presente estudo não foi observada diferença significativa para estes parâmetros no espadinha. Acreditamos que isto possa estar relacionado à intensa coloração vermelha já pré-existente nos exemplares (decorrente do melhoramento genético). Duas possibilidades podem explicar a ausência de incremento da pigmentação nos espadinhas submetidos às diferentes dosagens de cantaxantina. Os cromatóforos são células grandes e possuem a forma de estrelas, sendo encontrados na camada superior da derme, distribuídas pela pele, olhos e também interno, nas gônadas por exemplo (Kaur&Shah, 2017). Os xantóforos e eritróforos são mais superficiais, enquanto os melanóforos estão profundamente inseridos na derme. Esses últimos estão estruturalmente associados aos iridóforos. Os melanóforos

e os iridóforos apresentam aspecto dendrítico que permite a distribuição das vesículas pigmentares ao longo dos prolongamentos citoplasmáticos. O arranjo dos cromatóforos nas camadas da pele está relacionado aos tipos de pigmentos e comprimento de onda que será refletido ou absorvido pela pele (Oliveira & Franco-Belussi, 2012). Peixes com mais cromatóforos e com grânulos em dispersão tornam-se mais coloridos. Por outro lado, a coloração vermelha é causada pela ausência de pigmentação preta evidenciada, principalmente, por melanóforos. Os melanóforos estavam presentes em maior quantidade nos exemplares selvagens. Paralelamente, nos espadinhas da variedade sangue podemos considerar que os eritróforos já se encontravam repletos de pigmentos, não sendo possível atingir padrão mais intenso de coloração. Estudos revelaram que os carotenoides podem induzir a proliferação de cromatóforos e o respectivo incremento de grânulos pigmentantes (Liu et al., 2014). Entretanto, existe um limite para a incorporação de pigmentos pelos cromatóforos (Julia et al., 2019). Nossos resultados corroboram isto, indicando que variedades melhoradas geneticamente podem já estar limitadas a incremento de coloração. Por outro lado, outro ponto que não pode ser descartado está relacionado a qualidade nutricional da dieta utilizada experimentalmente, distinta da comumente utilizada em criações comerciais. Os peixes em criações comerciais tendem a perder parte de sua coloração devido a deficiência nutricional das dietas utilizadas (Liu et al., 2014). A elevada disponibilidade de proteína e lipídeos pode também, ter proporcionado melhor condição nutricional aos peixes, mascarando o efeito do pigmento.

Entretanto, não pode ser descartada a possibilidade da cantaxantina não ser eficiente para pigmentação do espadinha e de outras espécies de peixes ornamentais. Utilizando comparativamente astaxantina e cantaxantina para pigmentação de acará disco *Symphysodon discus*, foi observado que a astaxantina foi mais eficiente que a cantaxantina na intensificação da coloração vermelha (Liu, Wang, & Chen, 2014). A eficiência de pigmentação de uma determinada fonte de carotenóide é espécie-específica, e as interações entre os diferentes componentes de uma dieta influenciam diretamente a deposição dos pigmentos nos animais (Chatzifotis, Pavlidis, Jimeno, Vardanis, Sterioti, & Divanach, 2005). A incorporação de astaxantina na dosagem de 200 mg kg⁻¹ promoveu incremento na coloração do espadinha selvagem (Putra et al., 2020). Cabe destacar que a variedade selvagem do espadinha apresenta pouca pigmentação vermelha, portanto, o efeito do carotenóide nesta condição é muito potencializado. Resultado similar de incremento da pigmentação vermelha foi observado em espadinhas laranja após 45 dias de dieta com incorporação de 400 mg kg⁻¹ extrato de antocianina (Monica et al., 2019).

Demonstrando a eficiência da suplementação de pigmentos, peixes palhaço *Amphiprion ocellaris* foram submetidos a uma dieta com distintos níveis de astaxantina (0, 150, 250, 400, 640 e 1020 mg) por sete semanas (Ho et al., 2013a). O melhor resultado foi obtido com 400 mg astaxantina por kg da dieta. Utilizando diferentes concentrações de astaxantina na dieta (23; 214; 2350 mg/kg ração) por 115 dias, em clownfish *Premnas biaculeatus* foi observado diferenças significativas no diâmetro dos grânulos de pigmentação no tratamento com concentração mais elevada de astaxantina (Ho et al., 2013b). Pode-se observar que existe uma relação direta entre a elevação das doses do carotenoide e o incremento da pigmentação. Utilizando astaxantina na dieta por 28 dias visando incrementar a pigmentação do acará-bandeira *Pterophyllum scalare*, observaram que a intensidade da coloração era incrementada conforme se aumentava a dosagem de carotenoide (Kouba, Sales, Sergejevová, Kozák, & Masojídek, 2013).

Carotenoides sintéticos oneram expressivamente a dieta e existem questionamentos em relação a seus efeitos deletérios no meio ambiente (Gubta, Jha, Pal, & Venkateshwarlu, 2007). Neste sentido, é preciso avaliar diferentes fontes naturais de carotenoides como substitutivos. No momento, poucos estudos têm demonstrado a eficiência na pigmentação de peixes ornamentais com carotenoides naturais. Recentemente foi demonstrada a capacidade do espadinha em sintetizar pigmentos naturais oriundos da ervilha azul (Julia et al., 2019). Seria desejável que futuros estudos abordassem a utilização de carotenoides naturais no incremento da pigmentação de peixes ornamentais comparativamente à utilização de pigmentos sintéticos.

ACKNOWLEDGMENTS

B.S.O. master scholarship was funded by National Council for the Improvement of Higher Education - CAPES (grant numbers: 1728668).

FUNDING

B.S.O. was funded by National Council for the Improvement of Higher Education (CAPES grant numbers: 1728668).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no competing interests.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

B.S.O. and O.M.S. were responsible for data collection, analysis and interpretation of data, statistical analyses and drafted paper. E.G.S. was responsible for designed study, financial support and the supervision of the study. All authors read and approved the final manuscript.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

ORCID

Bruno Silva Olier 0000-0001-5152-2608

Otavio Mesquita de Sousa 0000-0001-9275-4157

Eduardo Gomes Sanches 0000-0001-9976-9271

5. REFERENCIAS

- Avtalion, R.R., & Reich, L. (1989). Chomatophore in heritage in red tilapias. *Israeli Journal of Aquaculture, Bamidgeh*, 41: 98-104.
- Cerutti, P.H., Wille, C.L., Adams, C.R., Barichello, E.C., Santos, M., & Gemeli, M.S. (2018). Uso de smartphones como ferramenta de baixo custo na avaliação de cor em frutos. *Revista da 15ª Jornada de Pós graduação e Pesquisa*, <http://revista.urcamp.tche.br/index.php/rcjgpp/article/view/2927/2036>
- Chatzifotis, S., Pavlidis, M., Jimeno, C. D., Vardanis, G., Sterioti, A., & Divanach, P. (2005). The effect of different carotenoid sources on skin coloration of cultured red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture Research*, 36: 1517-1525.
- Das, A.P., & Biswas, S.P. (2016). Carotenoids and pigmentation in ornamental fish. *Journal of Aquaculture & Marine Biology*, 4: 00093.
- García-Chavarría, M., & Lara-Flores, M. (2013). The use of carotenoid in aquaculture. *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology*, 8: 38-49.
- Gubta, S.K., Jha, A.K., Pal, A.K., & Venkateshwarlu, G. (2007). Use of natural carotenoids for pigmentation in fishes. *Natural Product Radiance*, 6: 46-49.
- Hancz, C., Magyary, I., Molnár, T., Sato, S., Horn, P., & Taniguchi, N. (2003). Evaluation of color intensity enhancement by paprika as feed additive in goldfish and koi carpus using computer-assisted image analysis. *Fisheries Science*, 69: 1158-1161.

- Herrera, L.A., Kuhnen, V.V., & Sanches, E.G. (2019). Does intensive feeding frequency affect growth performance of common snook *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792)? *Brazilian Journal of Biology*, 79, 505-509. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.186394>
- Ho, A.L.F.C., O'Shea, S.K., & Pomeroy, H.F. (2013a). Dietary esterified astaxanthin effects on color, carotenoid concentrations, and compositions of clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris*, skin. *Aquaculture International*, 21: 361-374.
- Ho, A.L.F.C., Bertran, N.M.O., & Lin, J. (2013b). Dietary esterified astaxanthin concentration effect on dermal coloration and chromatophore physiology in spinecheek anemonefish, *Premnas biaculeatus*. *Journal of World Aquaculture Society*, 44: 76-85.
- Ingle de la Mora, G., Arredondo-Figueroa, J.L., Ponce-Polofox, J.T., Delos Angeles Barriga-Soca, I., & Vernon-Carter, J. E. (2006). Comparison of red chili (*Capsicum annum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet pigmentation. *Aquaculture*, 258:487-495.
- Jain, A., Kaur, V.I., & Hollyappa, S.A. (2019). Effect of dietary supplementation of carrot meal on survival, growth and pigmentation of freshwater ornamental fish, koi carp, *Cyprinus carpio* (L.). *Indian Journal of Animal Nutrition*, 36: 405-413.
- Julia, R.O., Andriani, Y., Yuliadi, P.S., & Iskandar, I. (2019). The effect of addition of butterfly pea leaf meal (*Clitoria ternatea*) in feed on the quality of color of swordtail fish head (*Xiphophorus helleri*). *World News of Natural Science*, 26: 28-137
- Kaur, R., & Shah, T.K. (2017). Role of feed additives in pigmentation of ornamental fishes. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 5: 684-686.
- Kodama, G., Annuniação, W.F., Sanches, E.G., Gomes, C.H.A.M., & Tsuzuki, M.Y. (2011). Viabilidade econômica do cultivo do peixepalhaço, *Amphiprion ocellaris*, em sistema de recirculação. *Boletim do Instituto de Pesca*, 37: 61-72.
- Kouba, A., Sales, J., Sergejevová, M., Kozák, P., & Masojídek, J. (2013). Colour intensity in angelfish (*Pterophyllum scalare*) as influenced by dietary microalgae addition. *Journal of Applied Ichthyology*, 29: 193-199.
- Liu, X., Wang, H., & Chen, Z. (2014). Effect of carotenoids on body colour of discus fish (*Symphysodon aequifasciatus axelrodi* Schultz, 1960). *Aquaculture Research*, 47: 1309-1314. <https://doi.org/10.1111/are.12591>
- Monica, J., Neelakantan, V., & Seenappa, D. (2019). Effect of dietary incorporation of anthocyanin pigments on the coloration and growth of orange sword tail fish

- (*Xiphophorus helleri*). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 7: 144-149.
- Nanthini Devi, K., Ajith Kumar, T.T., & Balasubramanian, T. (2016). Pigment deficiency correction in captive clown fish, *Amphiprion ocellaris* using different carotenoid sources. *Journal of Fisheries Science*, 1: 4-11.
- Nguyen, V.N., Khanh, T.V., & Hai, P.D. (2014). Study on development of formulated feed for improving growth and pigmentation of koi carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) juveniles. *Journal of Life Sciences*, 8: 433-441.
- Nurhadi, T., Lili, W., Pratama, R.I., & Kiki Haetami, K. (2019). Effects of astaxanthin and canthaxanthin addition to ranchu goldfish (*Carassius auratus*) diet related to rate of color quality enhancement. *World News of Natural Sciences*, 24: 178-183.
- Oliveira, C., & Franco-Belussi, L. (2012). Melanine pigmentation in ectothermic vertebrates: occurrence and function. In: Melanin: biosynthesis, functions and health effects (Ed. Ma, X-P, Sun, X-X). Nova Science Publishers Inc, New York, pp. 213-226.
- Paixão, P.E.G., Sousa, N.C., Couto, M.V.S., Sanches, E.G., Kuhnen, V.V., Maria, A.N., Carneiro, P.C.F., & Fujimoto, R.Y. (2020). Sanitary conditions of the Goliath grouper *Epinephelus itajara* in captivity on estuarine environment: case report. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 72: 889-894.
- Panis, G., & Carreon, J.R. (2016). Commercial astaxanthin production derived by green alga *Haematococcus pluvialis*: A microalgae process model and a techno-economic assessment all through production line. *Algal Research*, 18:175-190. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.06.007>
- Paripatananont, T., Tangtrongpairoj, J., Sailasuta, A., & Chansue, N. (1999). Effect of astaxanthin on the pigmentation of goldfish *Carassius auratus*. *Journal of World Aquaculture Society*, 30: 454-460.
- Putra, D.F., Qadri, A., El-Rahimi, S.A., & Othman, N. (2020). Effects of astaxanthin on the skin color of green swordtail, *Xyphophorus helleri*. *E3S Web of Conferences*, 151:01065. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202015101065>
- Rezende, F.P., Vidal-Júnior, M.V., Andrade, D.R., Mendonça, P.P., & Santos, M.V.B. (2012). Characterization of a new methodology based on the intensity of skin staining of ornamental fish with applications in nutrition. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2: 606-613.
- Sinha, A., & Asimi, O.A. (2007). China rose (*Hibiscus rosasinensis*) petals: a potent

- natural carotenoid source for goldfish (*Carassius auratus* L.). *Aquaculture Research*, 38: 1123-1128.
- Sousa, O.M., Oliveira, N.Y., Kuhnen, V.V., & Sanches, E.G. (2019). Feeding frequency for dusky grouper *Epinephelus marginatus* juveniles with automatic feeding system. *Aquaculture Research*, <https://doi.org/10.1111/are.14259>
- Tosta, G.A.M., Albinati, R.C.B., Carvalho, G.G.P., Souza Filho, J.J., Vasconcelos, F.R., Kuhnen, V.V., & Sanches, E.G. (2019). Performance of cobia grown in brackish water and fed with different feeding rates. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 54: 1-8. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.00696>
- Weber, R.W.S., & Davoli, P. (2003). Teaching techniques for mycology: Astaxanthin, a carotenoid of biotechnological importance from yeast and salmonid fish. *Mycology*, 17:30-34.
- Yasir, I., & Qin, J.G.(2010). Effect of Dietary Carotenoids on Skin Color and Pigments of False Clownfish, *Amphiprion ocellaris*, Cuvier. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41: 308-318. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00373.x>
- Yeşilayer, N., Aral, O., Karsli, Z., Öz, M., Karaçuha, A., & Yağci, F. (2011). The effects of different carotenoid sources on skin pigmentation of goldfish (*Carassius auratus*). *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, 63: 523-530.
- Zuanon, J.A.S., Salaro, A.L., Furuya, W.M. (2011). Produção e nutrição de peixes ornamentais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40: 165-17

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O incremento de cor dos peixes não foi alterada com a inclusão de cantaxantina, mostrando que o fator genético representa uma poderosa ferramenta de ganhos econômicos, seja na esfera da economia com aditivos na ração e com a valorização dos peixes. Os efeitos da cantaxantina devem ser testados em outras espécies com o intuito de se conhecer o seu efeito e fornecer conhecimento técnico a respeito do seu uso. Fatores como a eficiência na aplicação da cantaxantina e possíveis crises com a aquisição da astaxantina por falta de oferta, entre outros fatores podem ser contornadas com um ingrediente substituto.

Apesar de ser nova a aplicação das metodologias de análise de cor dos peixes com a utilização de app e programa de photoshop, se mostraram atraente e de fácil aplicação. Seus custos reduzidos, resolução de análise confiável e fácil operação, as tornam acessíveis aos pequenos e pedidos produtores de peixes ornamentais.

Com a tendência de mercado cada vez mais pressionada para a produção de produtos orgânicos e a base de compostos naturais, se faz necessário o desenvolvimento de pacotes tecnológicos com a utilização de ingredientes naturais.