



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

---

---



EFFECTO DE LA ADICIÓN DE FUENTES NATURALES DE  
PIGMENTO, EN LA PIGMENTACIÓN CUTÁNEA Y DEPOSICIÓN  
DE CAROTENOIDES EN PIEL Y MÚSCULO DEL CÍCLIDO REY  
MIDAS (*Amphilophus citrinellus*)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

SHARON GABRIELA RUIZ HERNÁNDEZ

Asesores:

DrC MPA MVZ Carlos Gutiérrez Olvera

Mtra en DO MVZ Alheli Tatiana Lugo García

Ciudad Universitaria, CD. MX. a 9 de Febrero del 2021



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# CONTENIDO

	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
2.1 Panorama de la acuicultura ornamental a nivel mundial	2
2.2 Acuicultura ornamental en México	3
2.2.1 Producción nacional	4
2.2.2 Clasificación de los sistemas de producción	6
2.2.3 Comercialización	8
2.3 El color en los peces de ornato	8
2.3.1 Carotenoides	9
2.3.1.1 Funciones de los carotenoides	10
2.3.1.2 Estructura y clasificación de los carotenoides	10
2.3.1.3 Principales carotenoides en los peces	12
2.3.1.4 Dinámica de los carotenoides en los peces	13
2.3.1.4.1 Absorción y transporte en sangre	13
2.3.1.4.2 Metabolismo hepático y excreción	14
2.3.1.4.3 Transporte y deposición en el músculo	14
2.3.1.4.4 Liberación del músculo y transporte a otros tejidos	15
2.3.1.5 Fuentes de carotenoides	16
2.3.1.5.1 Carotenoides naturales de origen animal.	16
2.3.1.5.2 Carotenoides naturales a partir de organismos autótrofos	17
2.3.1.5.2.1 Paprika	18
2.3.1.5.2.2 Achiote	19
2.3.1.5.2.3 Espirulina	19
2.3.2 Otros pigmentos naturales	20
2.3.2.1 Antocianinas	21

2.3.2.1.1	Jamaica	22
2.3.2.1.2	Ácido carmínico - Grana cochinilla	23
2.3.3	Cromatóforos en peces	24
2.4	Cíclidos como peces de ornato	30
2.4.1	Rey Midas ( <i>Amphilophus citrinellus</i> )	30
2.4.1.1	Comportamiento alimenticio en vida libre	32
2.5	Justificación	34
2.6	Hipótesis	35
2.7	Objetivo general	35
2.7.1	Objetivos específicos	35
3.	MATERIAL Y MÉTODOS	36
3.1	Ubicación de la fase experimental	36
3.2	Sujetos de estudio	37
3.3	Diseño experimental	37
3.4	Alojamiento de los organismos	38
3.5	Alimentación	39
3.6	Obtención de las fuentes de pigmento	40
3.7	Preparación de dietas	40
3.8	Biometrías y pesaje	41
3.9	Evaluación de la pigmentación cutánea de los cíclidos	41
3.10	Eutanasia	42
3.11	Análisis de laboratorio	43
3.11.1	Análisis Químico Proximal	43
3.11.2	Determinación de carotenoides totales.	44
3.11.3	Extracción y cuantificación de antocianinas totales	45
3.11.4	Determinación de porcentaje de ácido carmínico	46
3.12	Análisis estadístico	45
4.	RESULTADOS	47
4.1	Análisis Químico Proximal	47
4.2	Cuantificación de antocianinas totales	48
4.3	Determinación de ácido carmínico	48

4.4	Peso	49
4.5	Longitud Total	50
4.6	Altura Máxima	51
4.7	Pigmentación cutánea	52
4.8	Cuantificación de carotenoides totales	53
5.	DISCUSIÓN	55
6.	CONCLUSIÓN	65
7.	REFERENCIAS	66
	Anexo 1 - Peso	75
	Anexo 2 - Longitud total	76
	Anexo 3 - Altura máxima	77
	Anexo 4 - Pigmentación cutánea	78

## 1. RESUMEN

RUIZ HERNÁNDEZ SHARON GABRIELA. Efecto de la adición de fuentes naturales de pigmento, en la pigmentación cutánea y deposición de carotenoides en piel y músculo del cíclido Rey Midas (*Amphilophus citrinellus*). (Bajo la dirección de: DrC MPA MVZ Carlos Gutiérrez Olvera y Mtra en DO MVZ Alheli Tatiana Lugo García.

El acuarismo es una actividad creciente a nivel mundial, lo que representa un nicho de desarrollo económico para México. La producción de peces de ornato en México, se realiza principalmente en modo extensivo y semi-intensivo, se utilizan alimentos destinados a producción de tilapia, para reducir costos de alimentación. Estos alimentos, por lo general, no cubren los requerimientos nutricionales de los peces de ornato y carecen de carotenoides; lo que afectan su crecimiento y dificulta la expresión total de sus colores. Los carotenoides industriales que se adicionan a las dietas, representan un costo elevado (15-20% del costo de alimentación). Rey Midas (*Amphilophus citrinellus*), de los cíclidos más buscados por los acuaristas, debido a su particular cambio de coloración; cuyo factor desencadenante no se ha determinado aún.

En esta investigación se evaluó el efecto de la adición del 10% de fuentes naturales de pigmento (achiote, paprika, espirulina, jamaica y grana cochinilla) en alimento de tilapia, durante ocho semanas. Cuantificando la deposición de carotenoides en piel y músculo, y evaluando el cambio de pigmentación de la piel utilizando un colorímetro. Se realizó AQP a los alimentos y fuentes de pigmento, para conocer su aporte nutricional. Se evaluó el desarrollo de los peces realizando biometrías.

La concentración de carotenoides en tejidos aumentó al adicionar fuentes de pigmento en las dietas, pero esto no favoreció el cambio de color del Rey Midas. El alimento de tilapia no cubre los requerimientos de los peces ornamentales; la adición de fuentes de pigmentos mejoró el desarrollo de estos cíclidos.

## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1 Panorama de la acuicultura ornamental a nivel mundial

La acuicultura ornamental (acuarismo, acuariología o acuariofilia), es actualmente una de las actividades recreativas más populares a nivel mundial (Livengood y Chapman, 2007; Luchini y Panné, 2008; FAO, 2014). Los peces de ornato se han vuelto una alternativa popular especialmente en las urbes en donde resulta muy complicado para muchas personas mantener a animales de compañía que requieran grandes espacios o demanden atención por más de una hora al día, por lo que este nicho de mercado se desarrolla cada vez con mayor fuerza (Martinez Pateiro, 2017).

El término peces ornamentales se usan a menudo de forma genérica para describir animales acuáticos mantenidos en un acuario con propósitos de ornamento, incluyendo: peces, invertebrados (corales), crustáceos (cangrejos ermitaños, camarones), moluscos (caracoles, almejas, vieiras), así como roca viva (Livengood y Chapman, 2007; Luchini y Panné, 2008) .

The Observatory of Economic Complexity (OEC) reporta que en el 2017 la exportación mundial de peces ornamentales alcanzó un valor total de \$337 millones USD. Los principales exportadores de peces ornamentales vivos son: Indonesia (\$41,5 Millones USD), Singapur (\$38,1 Millones USD), Birmania (\$30,6 Millones USD), Japón (\$28 Millones USD) y Tailandia (\$22,2 Millones USD). De igual forma, la importación mundial de peces de ornato en el 2017 se estimó en \$337 millones de USD, siendo Estados Unidos (\$56,3 Millones USD), Tailandia (\$32,3 Millones USD), el Reino Unido (\$24,3 Millones USD), China (\$21,5 Millones USD) y Alemania (\$18,3 Millones USD) los principales países importadores (Simoes, 2019).

La mayoría de los peces que se mantienen en acuarios son de agua dulce y se producen en granjas acuícolas en todo el mundo. Las especies provenientes de captura se exportan desde Colombia, Perú y Brasil en Sudamérica; Tailandia e Indonesia en el Sudeste Asiático; el Congo, Nigeria y Malawi en África (Luchini y Panné, 2008).

En los últimos años la adquisición de peces ornamentales marinos ha aumentado considerablemente, a pesar de tener precios más altos que los peces de agua dulce. Algunos peces e invertebrados marinos son criados por la industria acuícola y los aficionados al acuarismo, sin embargo, la mayoría de los organismos marinos (más del 90%) provienen de capturadas en el medio natural. La mayoría de las especies marinas provienen de océanos tropicales en los archipiélagos de Indonesia, Filipinas, Sri Lanka, las Maldivas y las islas del Pacífico central, como Hawái. Otros también se importan del Caribe (Puerto Rico) y de regiones del Mar Rojo. (Livengood y Chapman, 2007; Luchini y Panné, 2008).

## 2.2 Acuicultura ornamental en México

En México la producción acuícola de peces de ornato creció un 250% durante el periodo 2007-2017 de acuerdo a datos de la Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca (CONAPESCA, 2017). En el 2016 se obtuvo una producción de 60 millones de organismos al año, con valor de \$11.9 millones M.X. (SIAP-SENASICA, 2017).

Aproximadamente el 52% de los organismos comercializados en México son cultivados en granjas acuícolas ubicadas en territorio nacional, mientras que el 48% restante son importados (SAGARPA, 2012). En la Tabla 1 se presentan los países a los que México realizó exportación de peces de ornato, así como los países de los cuales importó peces ornamentales en el 2017.

Tabla 1. Exportación e importación de peces de ornato en México en 2017.  
Modificado de:(Growth Lab at the Harvard University, 2019)

Exportaciones de Peces de Ornato - México 2017					
Exportación bruta			Exportación neta		
		\$131k			\$60.4 K
Estados Unidos de América	53.88%	\$70.6K	Japón	79.02%	\$47.7K
Japón	36.45%	\$47.7K	Malasia	14.81%	\$8.95K
Malasia	6.83%	\$8.95K	Canadá	3.28%	\$1.98K
Noruega	0.48%	\$629	El Salvador	1.85%	\$1.12K
			Noruega	1.04%	\$629
Importaciones de Peces de Ornato - México 2017					
Importación bruta			Importación neta		
		\$1.26 M			\$1.19 M
Estados Unidos de América	81.83%	\$1.03 M	Estados Unidos de América	80.75%	\$960 K
Colombia	13.43 %	\$169 K	Colombia	14.23%	\$169K
Perú	1.13%	\$14.2 K	Perú	1.19%	\$14.2K
Tailandia	1.87%	\$23.6 K	Tailandia	1.98%	\$23.6 K
China	1.54%	\$19.4 K	China	1.63%	\$19.4 K
Filipinas	0.12%	\$1.46 K	Filipinas	0.12%	\$1.46 K
Indonesia	0.09%	\$1.09K	Indonesia	0.09	\$1.09 K

\*Valores en USD. (K:miles USD, M: millones USD)

### 2.2.1 Producción nacional

En México en el año 2012 se reportaron más de 250 unidades de producción acuícola (UPA´s) distribuidas en 20 entidades federativas de la República Mexicana (SAGARPA, 2012) (Figura 1):

- |                    |             |               |                      |
|--------------------|-------------|---------------|----------------------|
| 1. Sonora          | 6. Nayarit  | 11. Quintana  | 16. Campeche         |
| 2. Sinaloa         | 7. Veracruz | Roo           | 17. Tabasco          |
| 3. Tamaulipas      | 8. Jalisco  | 12. Michoacán | 18. Hidalgo          |
| 4. Yucatán         | 9. México   | 13. Oaxaca    | 19. Ciudad De México |
| 5. San Luis Potosí | 10. Puebla  | 14. Guerrero  | 20. Chiapas          |
|                    |             | 15. Morelos   |                      |



Figura 1. Entidades con UPA´s dedicadas a producción de peces de ornato.  
Fuente:(SAGARPA, 2012)

Los principales estados productores de peces de ornato en México son: Morelos, Yucatán, México, Michoacán, Hidalgo, Puebla y Ciudad de México (CONAPESCA, 2017). Morelos es el principal productor, ya que genera más de 32 millones de organismos al año, seguido por Yucatán con 15 millones. Sin embargo Yucatán ocupa el primer lugar en exportaciones (SIAP-SENASICA, 2017).

En el estado de Morelos se cultivan aproximadamente 25 especies de peces de ornato, en más de 219 unidades de producción acuícola, distribuidas en 17 de los 33 municipios de la entidad. La mayor parte de los peces de ornato que actualmente se cultivan en México son de origen asiático (*Cyprinidae*, *Anabantidae* y *Belontidae*), africano (*Cichlidae*), sudamericano (*Characidae*, *Cichlidae* y *Loricaridae*) y nacional (*Poeciliidae*) (SAGARPA, 2012). En la Tabla 2 se enlistan las principales especies ornamentales cultivadas en México, siendo la carpa dorada la principal especie producida en México (SIAP-SENASICA, 2017).

Tabla 2. Principales especies de ornato cultivadas en México. Fuente:(SAGARPA, 2012)

Nombre común	Nombre científico	Origen
Carpa dorada	<i>Carassius auratus</i>	A
Guppy	<i>Poecilia reticulata</i>	Nac
Moly de velo	<i>Poecilia velifera</i>	Nac
Gurami	<i>Trichogaster trichopterus</i>	A
Danio cebra	<i>Brachydanio rerio</i>	Nac
Monja	<i>Gymnocorymbus ternetzi</i>	S
Tetra	<i>Hemigrammus caudovittatus</i>	S
Oscar	<i>Astronotus ocellatus</i>	S
Colisa	<i>Colisa lalia</i>	A
Plecos	<i>Hypostomus plecostomus</i>	S
Carpa Koi	<i>Cyprinus carpio sp.</i>	A
Moly común	<i>Poecilia latipinna</i>	Nac
Pez ángel	<i>Pterophyllum scalare</i>	S
Platy	<i>Xiphophorus maculatus</i>	N
Espada	<i>Xiphophorus helleri</i>	A
Cíclido Johani	<i>Melanochromis johanni</i>	Af
Cíclido fenestratus	<i>Haplochromis fenestratus</i>	Af
Barbo cereza	<i>Capoeta titteya</i>	A
Cíclido limón	<i>Neolamprologus leleupi</i>	Af
Betta	<i>Betta splendens</i>	A

Asiático (A), Africano (Af), Nacional (Nac) y Sudamericano (S).

### 2.2.2 Clasificación de los sistemas de producción

Tomando en cuenta la infraestructura y el equipamiento que presentan la mayoría de las granjas acuícolas en México se considera que existen 4 tipos de sistemas de producción de peces de ornato de agua dulce: extensivo, semi-intensivo, intensivo e hiperintensivo (Ramirez, Mendoza y Aguilera, 2010). Estas clasificaciones atienden a la cantidad de peces por superficie, el alimento a utilizar, el lugar de destino y el nivel de manejo, estas características se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Sistemas tecnológicos de producción empleados en acuicultura de ornato. Modificado de:(Martinez Pateiro, 2017)

Características	Extensivo	Semi-intensivo	Intensivo	Hiperintensivo
Ciclo completo	+/-	+	+	+
Estanques de piso de tierra	+	+/-	-	-
Estanques de cemento	-	+	+	-
Estanques geomembrana	+/-	+/-	+	-
Acuarios de cristal	-	-	+/-	+
Cultivo de alimentos vivos para alevines	-	-	+/-	+
Cultivo de alimento vivo para juveniles y adultos	-	-	+/-	+
Monocultivo	+	+/-	-	+
Policultivo	-	+	+	+
Encalado	+	+	+/-	-
Lavado y desinfección	-	-	+/-	+
Filtración	-	-	+/-	+
Entalle	-	+	+	+
Reproductores propios	+/-	+	+	+
Selección genética	-	-	+/-	+
Uso de invernaderos	-	-	+	+
Medidas de bioseguridad	-	+/-	+/-	+

En el centro del país 75% de la producción de peces de ornato se realiza en sistemas extensivos, un 17% en sistemas semi-intensivos, ambos son desarrollados en "granjas familiares"; el 8% restante corresponde a sistemas intensivos (Ramirez, Mendoza y Aguilera, 2010).

En las producciones extensivas y semi-intensivas, con el fin de disminuir los costos; los productores comúnmente emplean alimentos para peces de consumo como tilapia, aunque existe una gran gama de alimentos diseñados especialmente para peces de ornato. Otra práctica común en estas producciones es combinar el alimento para tilapia con alimento para gallina de postura con el fin de reducir aún más el costo de alimentación (Martinez Pateiro, 2017). El uso de estas fuentes de

alimento reduce los costos, sin embargo, no cubre de forma adecuada los requerimientos de todas las especies de peces de ornato, lo que repercute en el desarrollo de los organismos, y finalmente en su precio al mercado.

### 2.2.3 Comercialización

En México la comercialización de peces de ornato se realiza en diferentes niveles del mercado: local, regional, nacional o internacional. A nivel nacional a Ciudad de México constituye el principal centro de acopio y comercialización de peces de ornato del país, debido a su elevado consumo. Otras ciudades con importante grado de comercialización son Guadalajara, Puebla, Veracruz, Tijuana y Monterrey (INAPESCA, 2018).

Para la comercialización de peces de ornato, la forma del cuerpo, aletas, tamaño y pigmentación son factores que determinan la aceptación en el mercado y el precio que pueden tener los ejemplares a la venta. Uno de los mayores desafíos en la industria de peces ornamentales es replicar el color natural preciso de los peces en el ambiente cautivo (Gupta *et al.*, 2007; Garcia-Chavarria y Lara-Flores, 2013).

## 2.3 El color en los peces de ornato

Los hermosos colores, patrones y los espectaculares cambios en la coloración exhibidos por los peces son objeto de mucho interés, tanto para criadores como para científicos (Fujii, 1993). Para los peces la coloración corporal juega un papel importante en el camuflaje, la comunicación, las interacciones ecológicas y la especiación, también se ha relacionado positivamente con el éxito del apareamiento y el dominio social (de Carvalho y Caramujo, 2017).

El color es la primera característica percibida por el consumidor y es un criterio de selección determinante, directamente relacionado con la posterior aceptación o rechazo, así como la fijación del precio en el mercado (Wang, Chien y Pan, 2006;

Gupta *et al.*, 2007). Los pigmentos y las células que los contienen son los responsables del amplio espectro de colores que presentan los peces (Fujii, 2000; Garcia-Chavarria y Lara-Flores, 2013).

Tres grupos principales de pigmentos explican la coloración peces de importancia económica; estos son pteridinas, melaninas y carotenoides (Fox, 1979; Hudon, 1994). Las pteridinas son pigmentos que pueden contribuir a la coloración roja y anaranjada, pero se presentan principalmente en anfibios y reptiles, siendo de menor importancia en la coloración de los peces; estos pigmentos son solubles en agua y se sintetizan de forma endógena (Clotfelter, Ardia y McGraw, 2007). Las melaninas son polímeros heterogéneos compuestos de metabolitos de tirosina y generan todos los colores negros, grises y marrones presentes en los peces (Hudon, 1994). Los carotenoides, son los responsables de la pigmentación roja, amarilla y naranja brillantes, muy apreciados en la acuicultura (Gupta *et al.*, 2007; Garcia-Chavarria y Lara-Flores, 2013).

Bjerkeng, Hatlen y Jobling (2000) reportaron que la eficiencia de pigmentación en los peces está influenciada por el tipo de pigmento, su longitud de cadena y la concentración del mismo en los ingredientes que de la dieta.

### 2.3.1 Carotenoides

Los peces, utilizan pigmentos carotenoides derivados de su dieta para obtener la coloración característica de cada especie (Lin *et al.*, 2010), ya que al igual que otros animales, no pueden sintetizar los carotenoides *de novo* (Clotfelter, Ardia y McGraw, 2007). En vida libre obtienen los carotenoides alimentándose de micro y macro algas, pequeños crustáceos, huevos de otras especies e incluso de otros peces (Gomes *et al.*, 2002), es decir, su color característico depende de sus presas (Diler y Dilek, 2002). La ingestión y posterior depósito de carotenoides en el integumento y otros tejidos produce una coloración amarilla, naranja y roja en los peces, que a menudo se amplifica por selección sexual (Lin *et al.*, 2010). Sin embargo, en

condiciones de cautiverio donde normalmente se utiliza alimento procesado para su alimentación, el cual carece de carotenoides; la coloración de la piel, las gónadas y los músculos tiende a desvanecerse (Gomes *et al.*, 2002; Gupta *et al.*, 2007).

### 2.3.1.1 Funciones de los carotenoides

El hecho de que los carotenoides se depositen y almacenen selectivamente en el tejido enfatiza su importancia fisiológica. Ya que aparte de producir coloración, los carotenoides cumplen otras funciones (Diler y Dilek, 2002; Halver y Hardy, 2002; Garcia-Chavarria y Lara-Flores, 2013; de Carvalho y Caramujo, 2017; Quintana López *et al.*, 2018):

- Protección contra el daño de la radiación UV y las especies reactivas de oxígeno.
- Atrayente de color en la piel de los machos en reproducción.
- Provitamina A.
- Antioxidantes.
- Inmunorreguladores, mayor resistencia ante enfermedades bacterianas y fúngicas.
- Atrayente para el esperma, aumenta la proporción de óvulos fertilizados.
- Protección del huevo contra los efectos ambientales (luz nociva, alta temperatura, baja tensión de oxígeno, amoníaco, etc.) reduciendo así la mortalidad durante el desarrollo embrionario y la fase larvaria.
- Disminuyen los efectos adversos del estrés y favorecen el crecimiento de los organismos acuáticos durante su cultivo.

### 2.3.1.2 Estructura y clasificación de los carotenoides

Los carotenoides son pigmentos orgánicos solubles en grasa, que se encuentran de forma natural en algas, plantas, algunas clases de hongos y bacterias (Meyers, 2000). Debido a sus características fisicoquímicas, los carotenoides son

responsables de la gran mayoría de los colores amarillos, anaranjados y rojos presentes en los vegetales y algunos animales (Quintana López *et al.*, 2018).

Por su estructura química, los carotenoides pertenecen a un grupo mayor de compuestos conocidos como terpenoides, los cuales poseen unidades repetidas de cinco carbonos, isoprenos. La unión en cadena de cuatro unidades de isoprenos da lugar a tetraterpenoides, conocidos como carotenoides (C40) (Meyers, 2000).

Esta cadena de 40 carbonos puede finalizar en grupos terminales cíclicos (anillos) y puede complementarse con grupos funcionales que contienen oxígeno. Los carotenoides hidrocarbonados altamente insaturados se conocen como carotenos, mientras que las xantofilas son derivados oxigenados de carotenos y contienen uno o más grupos de oxígeno substituyendo sitios particulares en el anillo terminal (Meyers, 2000; Gupta *et al.*, 2007; Quintana López *et al.*, 2018).

Algunos carotenos comúnmente utilizados son:  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno y licopeno; estos se encuentran principalmente en micro y macro algas, así como en vegetales y frutas: zanahorias, papayas, melones y naranjas, entre otros. Algunos ejemplos de xantofilas son la luteína, zeaxantina, capsantina y astaxantina; pigmentos que le dan la coloración amarillenta, roja y anaranjada a las algas, bacterias y plantas superiores, como el pimiento rojo (García-Chavarria y Lara-Flores, 2013; Quintana López *et al.*, 2018).

Los carotenoides contienen de 3 a 11, o más enlaces dobles conjugados. Mientras el número de enlaces dobles conjugados aumenta, la longitud de onda de la luz absorbida también lo hace, dando al compuesto una apariencia más rojiza. Esto es lo que da a los carotenoides su variación de color, que va desde amarillo pálido, pasando por anaranjado, hasta rojo oscuro. Por ejemplo, el fitoeno que posee únicamente tres enlaces dobles conjugados absorbe luz en el rango ultravioleta y apareciendo por tanto incoloro a la vista, el licopeno, compuesto que confiere su color rojo al tomate contiene 11 enlaces dobles conjugados (Meyers, 2000; Kopec *et al.*, 2012; de Carvalho y Caramujo, 2017).

### 2.3.1.3 Principales carotenoides en los peces

Actualmente se conocen alrededor de 700 variedades de carotenoides, de los cuales 200 son de origen acuático (Quintana López *et al.*, 2018). Los peces contienen varios tipos de carotenoides en su organismo en diferentes concentraciones, la proporción entre ellos depende de la especie (Gupta *et al.*, 2007; Garcia-Chavarria y Lara-Flores, 2013).

Los carotenoides que comúnmente aparecen en los peces son: tunaxantina (amarillo), luteína (amarillo verdoso), betacaroteno (naranja), alfa y beta doradexantinas (amarillo), zeaxantina (amarillo-naranja), cantaxantina (amarillo), astaxantina (rojo), eichinenona (rojo) y taraxantina (amarillo). Entre estos, el carotenoide dominante es la astaxantina, que es común en los peces rojos. (Gupta *et al.*, 2007)

Aunque los peces no pueden sintetizar carotenoides de *novo*, ciertos peces tienen la capacidad de convertir una forma de carotenoide en otra, través de reacciones metabólicas para ajustarse a sus necesidades (Figura 2). Estas modificaciones metabólicas son principalmente oxidación, reducción, escisión de dobles enlaces o enlaces epoxi y traducción de dobles enlaces (de Carvalho y Caramujo, 2017). Según esta capacidad, los peces se clasifican en tres tipos (Meyers, 2000; Halver y Hardy, 2002; Gupta *et al.*, 2007; Garcia-Chavarria y Lara-Flores, 2013):

- Tipo carpa roja: pueden oxidar las posiciones 4 y 4' del anillo  $\beta$ -ionona y pueden convertir la zeaxantina y luteína de la dieta a astaxantina; como el pez dorado, la carpa roja.
- Tipo besugo: no pueden oxidar el anillo  $\beta$ -ionona y deben ingerir derivados oxigenados específicos como astaxantina para su depósito; como el salmón, la trucha y en besugo.
- Tipo langostino/crustáceos: pueden oxidar las posiciones 3 y 3' y 4 y 4' del anillo  $\beta$ -ionona del  $\beta$ -caroteno, y convertirlo en zeaxantina o intermedios para la astaxantina; la mayoría de los crustáceos se clasifican en este grupo.

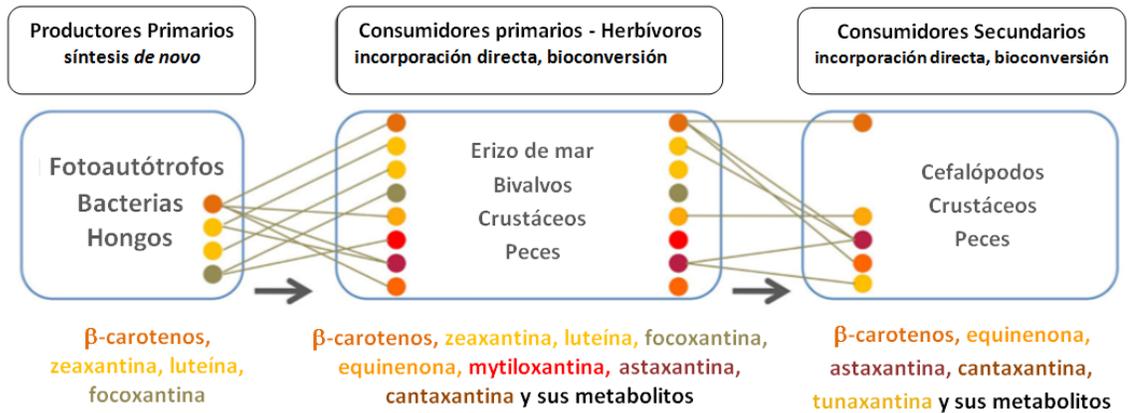


Figura 2. Principales carotenoides presentes en los compartimentos tróficos de la red alimentaria marina. Cada carotenoide se indica mediante un círculo de color, correspondiente al nombre en la lista ordenada en la parte inferior de cada compartimento. Las líneas indican la fuente principal de cada carotenoide en los consumidores. Las flechas indican la dirección de la transferencia de carotenoides y la transformación metabólica a través de la red alimentaria, desde las fuentes primarias en su base hasta los niveles tróficos más altos. Modificado de:(de Carvalho y Caramujo, 2017)

#### 2.3.1.4. Dinámica de los carotenoides en los peces

Los carotenoides debido a su naturaleza hidrofóbica, no se solubilizan fácilmente en el ambiente acuoso del tracto gastrointestinal de los peces. Por ello, los carotenoides están estrechamente asociados con los ácidos grasos y se transportan junto con ellos a través del intestino y la sangre. A continuación se describen los procesos de absorción, transporte, metabolismo, deposición en tejidos y excreción de un carotenoide (la astaxantina), usando como modelo al salmón del atlántico (Figura 3) (Meyers, 2000; Rajasingh *et al.*, 2006; Garcia-Chavarria y Lara-Flores, 2013).

##### 2.3.1.4.1 Absorción y transporte en sangre

La astaxantina de la dieta está en forma micelar en el intestino, junto con sales biliares, ácidos grasos, monoglicéridos y vitaminas liposolubles. Se difunde pasivamente en la luz intestinal, junto con los ácidos grasos, y la absorción es un proceso lento que tarda entre 18 y 30 horas. Los ácidos grasos se convierten en triacilgliceroles (TAG), y la astaxantina, se incorpora junto con los TAG en esferas

de lipoproteínas llamadas quilomicrones. Estos se transportan a la sangre y, debido a su polaridad, la astaxantina se adhiere a la superficie de las esferas de quilomicrones. Los quilomicrones se transportan a través de los vasos sanguíneos primarios del intestino.

La albúmina es el principal transportador de ácidos grasos libres, liberados durante la lipólisis por lipoproteín lipasa (LPL) a los tejidos (incluidos el hígado y los músculos). Como la astaxantina está fuertemente asociada con la albúmina sérica; se sugiere que la albúmina puede adquirir astaxantina de los quilomicrones durante la lipólisis, así como directamente de los quilomicrones en el torrente sanguíneo.

#### 2.3.1.4.2 Metabolismo hepático y excreción

El hígado es el principal órgano metabólico y excretor de los carotenoides, cataboliza la astaxantina a otros pigmentos o a metabolitos que ya no tienen un cromóforo. El hígado secreta bilis al intestino para ayudar en la digestión de los lípidos, así como en la excreción de productos de descomposición metabólica. Los metabolitos de astaxantina en la bilis son secretados en el intestino y reabsorbidos. Los riñones también excretan astaxantina o sus metabolitos.

La astaxantina administrada por quilomicrones que no se metaboliza se vuelve a empaquetar en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) antes de ser enviada a la sangre una vez más.

#### 2.3.1.4.3 Transporte y deposición en el músculo

El mecanismo por el cual los ácidos grasos libres ingresan a las células sigue siendo poco conocido. Sabemos que a través de la acción de los LPL en las paredes capilares de los tejidos, los VLDL se descomponen en lipoproteínas de baja densidad (LDL); lo que contribuye sustancialmente a la absorción de astaxantina mediada por LPL por parte de la albúmina circulante.

La astaxantina es llevada al músculo por circulación de la albúmina. Se cree que la unión a la pared celular muscular es inespecífica y saturable. Después de haber

ingresado a la célula muscular, la astaxantina se deposita en el miotoma y se une a la actomiosina mediante enlaces hidrófobos débiles, formando un complejo.

#### 2.3.1.4.4 Liberación del músculo y transporte a otros tejidos

Los salmónidos sexualmente maduros transfieren los carotenoides de la carne a la piel y gónadas, por lo que hay una pérdida importante de carotenoides de todo el cuerpo durante esta etapa. HDL parece ser el principal transportador de astaxantina del músculo a la piel. En la piel los carotenoides son almacenados dentro de los cromatóforos. En las hembras, la astaxantina también es transportada desde el músculo y el tracto gastrointestinal a los ovarios por la lipoproteína vitelogenina, que es producida por el hígado. También se ha informado que el HDL transporta astaxantina desde la piel a las gónadas y los huevos. En los huevos se une a la lipovitelina, la lipoproteína de la yema de huevo predominante derivada de la vitelogenina.

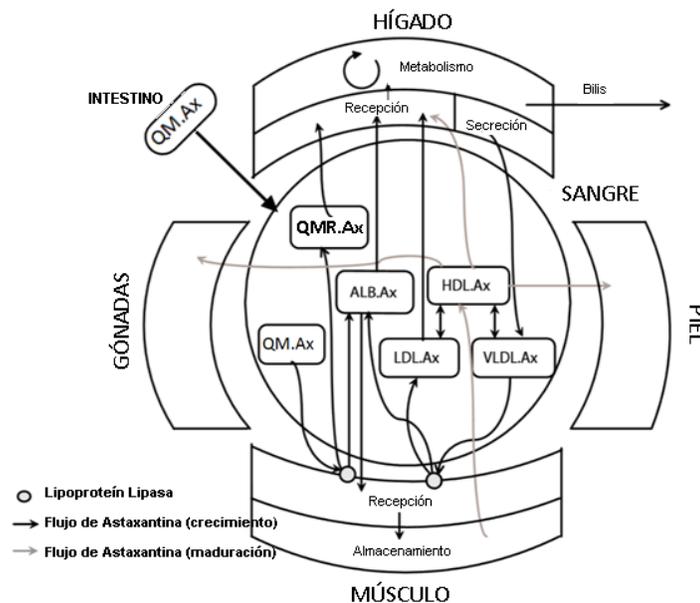


Figura 3. Absorción, transporte y deposición de astaxantina. La figura ilustra nuestra comprensión actual de la ruta de la astaxantina en los salmónidos. Se representa la absorción de astaxantina desde el intestino, el transporte en la sangre y el depósito en el músculo por las diversas lipoproteínas. Durante la maduración sexual / migración de desove (líneas grises), el HDL redistribuye la astaxantina desde el músculo a la piel y las gónadas. Modificado de: (Rajasingh *et al.*, 2006).

### 2.3.1.5 Fuentes de carotenoides

Los productores de peces de ornato adicionan a la dieta pigmentos sintéticos como zeaxantina, luteína y astaxantina para lograr una mejora en la pigmentación de los organismos. Por ello una variedad de carotenoides, tanto sintéticos como naturales, están disponibles o se están desarrollando para su uso en acuicultura (Pérez, 2013).

Los carotenoides derivados de fuentes naturales contienen una mezcla de varios carotenoides como  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, zeaxantina, luteína, criptoxantina, etc., mientras que los provenientes de procesos sintéticos solo proporcionan carotenoides específicos como el  $\beta$ -caroteno o la astaxantina. Los procesos para sintetizar carotenoides involucran solventes petroquímicos y otros solventes orgánicos complejos, lo que lleva a problemas de residuos. Además, los carotenoides sintéticos son caros y tiene limitaciones para usarse en la formulación de alimentos acuícolas dependiendo de la especie (Gupta *et al.*, 2007; Garcia-Chavarria y Lara-Flores, 2013; Quintana López *et al.*, 2018).

Estudios recientes se ha enfocado en usar compuestos naturales como una alternativa a los pigmentos sintéticos, debido a que existe la preocupación de que los pigmentos sintéticos puedan tener efectos adversos en el metabolismo de los organismos, además de los altos costos de los mismos. (Gomes *et al.*, 2002; Pérez, 2013). Rajasingh *et al.* (2006) reportan que en salmónidos la astaxantina es responsable del 15 al 20% del costo total de alimentación.

Los carotenoides naturales se clasifican en dos grupos de acuerdo a su origen: vegetal o animal.

#### 2.3.1.5.1 Carotenoides naturales de origen animal

La producción comercial de astaxantina natural utiliza subproductos de crustáceos como el krill antártico (*Euphausia superba*), harina de cangrejo de río, harina de camarones, harina de cangrejo, etc. La variabilidad en la concentración de

pigmentos, su alto contenido de cenizas y quitina reducen la digestibilidad para los peces; por ello, este tipo de fuente de carotenoides, tiene una inclusión severamente limitada en la formulación de dietas (Garcia-Chavarria y Lara-Flores, 2013; Quintana López *et al.*, 2018). La astaxantina también se encuentra densamente concentrada en organismos acuáticos como los camaridos, copépodos y estrellas de mar (Diler y Dilek, 2002).

Por otra parte, este tipo de carotenoides naturales tienen un suministro limitado ya que hay una tendencia decreciente en la captura de crustáceos como camarones, cangrejos, cangrejos de río, etc. Además, son fuentes caras de carotenoides y, por lo tanto, la producción de alimentos para acuicultura se vuelve más costosa (Gupta *et al.*, 2007; Garcia-Chavarria y Lara-Flores, 2013).

#### 2.3.1.5.2 Carotenoides naturales a partir de organismos autótrofos

Las plantas también tienen potencial como fuentes de carotenoides. Los ingredientes alimenticios como el maíz amarillo, la harina de gluten de maíz y la alfalfa también se usan como fuentes de carotenoides en la formulación de alimentos para acuicultura. Otros ingredientes ricos en carotenoides utilizados son la harina de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) y el extracto de pimiento rojo (*Capsicum annum*) (Gupta *et al.*, 2007; Garcia-Chavarria y Lara-Flores, 2013).

Frutas y verduras también son fuentes de diferentes carotenoides:  $\beta$ -caroteno (zanahoria, calabaza, papaya, verdolaga y espinaca);  $\alpha$ -caroteno (zanahoria, naranja, mandarina, maíz, melón y frambuesa); licopeno (tomate, sandía y pimientos) (Quintana López *et al.*, 2018).

Otras fuentes de pigmento que se evalúan actualmente son diferentes microorganismos; ya que también producen y acumulan carotenoides, por lo que su biomasa se puede usar como ingrediente colorante en la acuicultura. Algunos de estos microorganismos son (Gupta *et al.*, 2007; Garcia-Chavarria y Lara-Flores,

2013; Somanath y Jasmin, 2013; Quintana López *et al.*, 2018; Ponce Granillo, Monroy Dosta y Castro Mejía, 2019):

- Levaduras: *Phafia rhodozyma*, *Xanthophyllomyces dendrorhous*
- Microalgas: *Haematococcus pluvialis*, *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina* y *Arthrospira maxima*
- Cianobacterias: alga espirulina (*Spirulina sp*)
- Bacterias: género *Rhodococcus*

#### 2.3.1.5.2.1 Paprika

Mundialmente, la paprika es conocida como un condimento en polvo obtenido a partir del secado y molido de determinadas variedades de pimientos rojos (*Capsicum annum*). Esta se emplea principalmente para sazonar algunas comidas, proporcionándoles un color rojo anaranjado. Se puede encontrar como colorante natural en una gran variedad de productos; entre los cuales se pueden incluir derivados cárnicos, aderezos y salsas, embutidos, conservas, bebidas refrescantes, etc., además de tener aplicación en la industria cosmética y farmacéutica (IMBAREX, 2019).

La oleoresina de paprika es el extracto obtenido de la paprika y está compuesta por diferentes carotenoides. Los más importantes son la capsaicina, dihidrocapsaicina, capsantina y capsorrubina; las dos primeras son responsables del principio térmico o pungencia y las otras dos, de la coloración naranja o rojiza de los frutos (Gallego y Gallego, 2006; Garzón *et al.*, 2013).

Estudios recientes han incluido la paprika como fuente de carotenoides en diferentes especies acuícolas como: *Zacco platypus* (Lee, Pham y Lee, 2010), *Sparus aurata* (Scabini *et al.*, 2011), *Oreochromis mossambicus* (Yilmaz, Ergün y Soytaş, 2013).

#### 2.3.1.5.2.2 Achiote

Las semillas de achiote (*Bixa orellana* L.) fueron utilizados por los mayas y los aztecas como extracto para teñir telas y como pintura corporal, y además, se usó junto con la vainilla en la formulación de bebidas hechas con cacao (Valério *et al.*, 2015). Actualmente la semilla de achiote se considera una fuente importante de colorantes naturales para la industria alimentaria, farmacéutica y textil (Mantovani *et al.*, 2013).

Las semillas de achiote son una materia prima importante para obtener el pigmento bixina (representa más del 80% de sus carotenoides liposolubles totales), norbixina y norbixinato (Valério *et al.*, 2015), cuyos niveles son variables según la maduración de las semillas (Mantovani *et al.*, 2013; Dornelas *et al.*, 2015).

Se ha evaluado el incorporar semilla de achiote como fuente natural de carotenoides en alimentos para gallinas de postura, con el fin de modificar el color de la yema del huevo (Papa, Mabel y Domingos, 2015), de igual forma se ha evaluado su efecto en el color de la piel de pollos de engorda al adicionarlo en su dieta (Parente *et al.*, 2018).

#### 2.3.1.5.2.3 Espirulina

El término "Espirulina" o "Spirulina" ha sido ampliamente utilizado para referirse indistintamente a dos géneros, *Arthrospira* Stizenberger 1852 y *Spirulina* Turpin 1829, así como a dos especies de cianobacterias, *Arthrospira maxima* Setchell Gardner 1917 (sin. *Spirulina maxima* Geitler 1932), y *A. platensis* Gomont 1892 (sin. *S. platensis* Geitler 1925) (Ramírez y Olvera, 2006).

La microalga *Spirulina platensis* es una cianobacteria económicamente importante, producida comercialmente para alimentación humana, con fines farmacéuticos, como colorante, polisacáridos y en la industria cosmética (Huarachi-Olivera *et al.*, 2015). La espirulina se comercializa por su alto contenido de proteínas, ácidos

grasos esenciales y vitaminas. Los efectos benéficos que se le han atribuido, se deben a sus componentes, como los polifenoles, ácidos grasos poliinsaturados, terpenos, clorofila y pigmentos carotenoides (Romero Maza *et al.*, 2017).

Su cultivo se ha masificado con la finalidad de obtener biomasa con altos contenidos de pigmentos, tales como clorofila-a, carotenos (a-caroteno), xantófilas (mixoxantófilas, zeaxantina, criptoxantinas, entre otras) y muy especialmente las ficobiliproteínas: aloficocianina, ficocianina y ficoeritrina (Romero Maza *et al.*, 2017).

En acuicultura se utiliza como alimento para moluscos, microcrustáceos (*Artemia sp.*) y sobre todo para peces, ya que ayuda a mantener sana su piel e intensifica la coloración de la misma; además de incrementar las tasas de crecimiento, supervivencia y fertilidad (Ramírez y Olvera, 2006). En estudios recientes ha demostrado su efectividad como fuente de pigmento en *Carassius auratus* (Somanath y Jasmin, 2013), de igual forma se evaluó su adición en dietas de *Xiphophorus helleri*, *Pseudomugil furcatus*, y *Cichlasoma myrnae* (Ako, Tamaru y Yamamoto, 2000).

### 2.3.2 Otros pigmentos naturales

Existen diversos colorantes naturales empleados en la industria alimenticia, farmacéutica y cosmética, estos se dividen en hidrosolubles, liposolubles y minerales (Sánchez Juan, 2013), se enlistan en la Tabla 4.

Tabla 4. Colorantes naturales (Sánchez Juan, 2013)

COLORANTES NATURALES HIDROSOLUBLES	
Curcumina (E100)	Riboflavina, lactoflavina o B2 (E101)
Cochinilla o ácido carmínico (E120)	Caramelo (E150)
Betanina o rojo de remolacha (E162)	Antocianinas (E163)
COLORANTES NATURALES LIPOSOLUBLES	
Clorofilas (E140 y 141)	Carotenoides (E160)
Xantofilas (E161)	
COLORANTES MINERALES	
Carbón vegetal (E153)	Carbonato cálcico (E170)
Dióxido de titanio (E171)	Óxidos e hidróxidos de hierro (E172)
Aluminio (E173)	Plata (E174)
Oro (E175)	

### 2.3.2.1 Antocianinas

Existen otras fuentes naturales de pigmentos además de los carotenoides, que pueden ser una alternativa para la pigmentación de los peces. Las antocianinas pueden ingresar a las cadenas alimenticias acuáticas a través de algas marinas y raíces de plantas de agua dulce, siendo acumuladas por los peces y contribuyendo a su coloración (Baron *et al.*, 2008). Sin embargo, se ha realizado muy poca investigación sobre estos pigmentos (Baron *et al.*, 2008; Pérez, 2013).

Las antocianinas pertenecen a una clase de compuestos fenólicos de origen natural, denominados colectivamente flavonoides, por su estructura estos compuestos son hidrosolubles. Se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, son responsables de los colores rojo, azul y morado presenten en frutos, vegetales y granos, por ejemplo, en las uvas, cerezas, arándanos, jamaica, maíz morado o negro. (Baron *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2008; Pérez, 2013).

Las antocianinas son antocianidinas glicosiladas; existen 6 antocianidinas comunes (pelargonidina, cianidina, peonidina, delfinidina, petunidina y malvidina), cuyas estructuras pueden variar según la sustitución glucosídica en las posiciones 3 y 5. Se producen variaciones adicionales por acilación de los grupos de azúcar con ácidos orgánicos. Por ello se han identificado más de 450 pigmentos de antocianinas en la naturaleza (Lee, Durst y Wrolstad, 2005).

El interés en este tipo de pigmento ha aumentado sustancialmente debido a su posible utilización como colorantes alimentarios naturales destinados al consumo humano; por su fácil incorporación a sistemas acuosos y sus efectos benéficos para la salud: funciones antioxidantes y antiinflamatorias (Longo, Vasapollo y Rescio, 2005).

La estabilidad de las antocianinas es una de las características más importantes, que define su viabilidad como colorantes. Estudios anteriores mostraron que el pH afecta principalmente la estabilidad de las antocianinas, causando variaciones de color: rojo pH2, incolor (pH5), azul púrpura (pH7-8)(Pérez, 2013). Por otro lado se

ha demostrado que son estables en un amplio rango de temperaturas y tiempos de exposición a ellas. Estos resultados tienen una gran relevancia porque los procesos alimentarios, como el escaldado, la pasteurización, peletizado y la cocción, requieren altas temperaturas pero no implican ningún cambio de pH (Zhao *et al.*, 2008).

#### 2.3.2.1.1 Jamaica

Los cálices deshidratados de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) son apreciados comercialmente porque a partir de estos pueden obtenerse extractos concentrados de color rojo con aplicación en la industria alimenticia, cosmética y farmacéutica (Galicia-Flores *et al.*, 2008; Ramírez-Cortés *et al.*, 2011; Pérez, 2013).

En los cálices deshidratados de jamaica se ha identificado una diversidad de fitoquímicos, dentro de los que se encuentran: antocianinas, ácidos carboxílicos, ácidos fenólicos y otros flavonoides (Salinas-Moreno *et al.*, 2012). Varios de estos compuestos se asocian con las acciones farmacológicas reportadas para *H. sabdariffa*: antihipertensiva, cardioprotectora, antihipercolesterolemia (Galicia-Flores *et al.*, 2008; Ramírez-Cortés *et al.*, 2011).

La concentración de antocianinas en los cálices secos de jamaica cambia dependiendo de la variedad que se utilice, el sitio de producción, así como de la etapa de maduración en que la planta haya sido cosechada (Ramírez-Cortés *et al.*, 2011; Salinas-Moreno *et al.*, 2012).

Pérez (2013) evaluó la adición de extracto de jamaica como fuente de antocianinas en dietas de *Carasius auratus*, observando una mejoría en el desarrollo y coloración de los peces.

#### 2.3.2.1.2 Ácido carmínico - Grana cochinilla

La cochinilla silvestre es una plaga de importancia que afectan el cultivo de nopal verdura en la zona productora de Morelos. El insecto pertenece al orden *Homoptera* y familia *Dactylopiidae*, en la que se encuentran nueve especies del género *Dactylopius*. Todas son nativas de América y son insectos plaga específicos para cactáceas del género *Opuntia* (Rangel Estrada, Ramirez Rojas y Osuna Canizalez, 2013).

De la grana cochinilla se extra el colorante conocido como ácido carmínico o carmín. Este pigmento se localiza en todo el hemocele (cavidad interior del cuerpo) del insecto, ya que forma parte de la hemolinfa. Químicamente, el ácido carmínico es una metil-antraquinona hidroxilada, unida a una glucosa por enlaces carbono-carbono (De La Cruz Hernández-Hernández *et al.*, 2005).

El ácido carmínico es soluble en agua y en mezclas hidroacohólicas, su solubilidad aumenta al alcalinizar el medio. En solución acuosa toma un color rojo oscuro, cuya tonalidad varía en función del pH. En un medio ácido, hasta pH=4, es color naranja; en el intervalo de pH=5-6 toma una coloración roja y a partir de pH=6.2 toma una coloración púrpura (Galicia León, 2014).

El carmín se extrae de diversas maneras para transformarlo en un polvo fino color rojo-púrpura intenso, que se comercializa como colorante natural en la industria alimentaria, farmacéutica, textil y cosmética (Galicia León, 2014). Dentro de los colorantes naturales, el carmín, es probablemente el colorante con las mejores características tecnológicas: color y estabilidad (IMBAREX, 2019).

#### 2.3.4 Cromatóforos en peces

Los cromatóforos son las células pigmentarias presente en la piel de los peces. Son responsables no solo de la generación de color, sino también de los cambios en la coloración de la capa superficial de estos animales (Fujii, 1993).

Estas células pigmentarias se originan en la cresta neural, y conservan algunas características de las células nerviosas; por lo que las células pigmentarias móviles están realmente bajo el control del sistema nervioso autónomo (Otsuki *et al.*, 2020).

Los cromatóforos se encuentran casi exclusivamente en la dermis, sin embargo se pueden encontrar variedades de melanóforos en la epidermis, pero solo en raras ocasiones (Fujii, 1993). Obika y Meyer-Rochow (1990) informaron por primera vez la presencia de xantóforos en el tejido epidérmico en *Trematomus bernacchii*.

Los colores de la piel se generan como resultado de la absorción de los rayos de luz a ciertas longitudes de onda por las sustancias pigmentarias (melanina o carotenoides); y por la dispersión y el reflejo de la luz por las estructuras intracelulares con índices de refracción diferentes de la matriz citoplasmática (placas/cristales de purinas) (Fujii, 1993; Grether, Kolluru y Nersissian, 2004).

Existen cuatro tipos de cromatóforos comunes en los peces (Figura 4): melanóforos (negro-café), xantóforos (amarillo), eritróforos (rojo), leucóforos (blanco) e iridóforos (reflejante) (Tabla 5) (Fujii, 1993, 2000). En dos especies de *Callionymidae*, el pez mandarín, *Synchiropus splendidus*, y el pez psicodélico, *S. picturatus*; se encontraron cromatóforos que contenían orgánulos pigmentarios azules, a estas células se les llamó "cianóforos" (Goda y Fujii, 1995). Recientemente se describieron nuevos cromatóforos dicromáticos en *Pseudochromis diadema*, estos cromatóforos usan plaquetas reflectoras y pigmento rojo para mostrar tonos violetas y rojos en su tegumento, por un fenómeno de interferencia. A estos cromatóforos dicromáticos se les denominó "eritro-iridóforos" (Goda *et al.*, 2011).

Tabla 5. Características de los cromatóforos presentes en peces. Fuente:(Fujii, 1993, 2000; Goda y Fujii, 1995; Kimler y Taylor, 2002)

	Melanóforos	Xantóforos	Eritróforos	Cianóforos	Leucóforos	Iridóforos
Forma	Dendrítica	Dendrítica	Dendrítica	Pocos procesos dendríticos	Pocos procesos dendríticos	Redondos o poligonales
Acción con la luz	Absorción	Absorción	Absorción	Absorción	Reflexión Dispersión	Reflexión Dispersión
Colores que genera	Marrón -negro	Amarillos	Rojos	Azules	Blanquecinos	Blanquecino Plateado
Material pigmentario	Melanina	•Carotenoides •Pteridinas	•Carotenoides •Pteridinas	Naturaleza química indeterminada	Cristales: • Ácido úrico • Purinas	Cristales: • Guanina • Hipoxantina • Ácido úrico
Cromatosoma	Melanosomas	Xanthosoma	Eritrosoma	Cianosomas	Leucosomas	Plaquetas reflejantes
Forma del organelo de almacenamiento	Redondos o ligeramente elipsoidales	Redondos	Redondos	Forma irregular	Redondo	Pilas de plaquetas de al menos 15
Velocidad de respuesta	Rápida	Media-Lenta	Media-Lenta	Lenta	Lenta	Nula Muy lenta

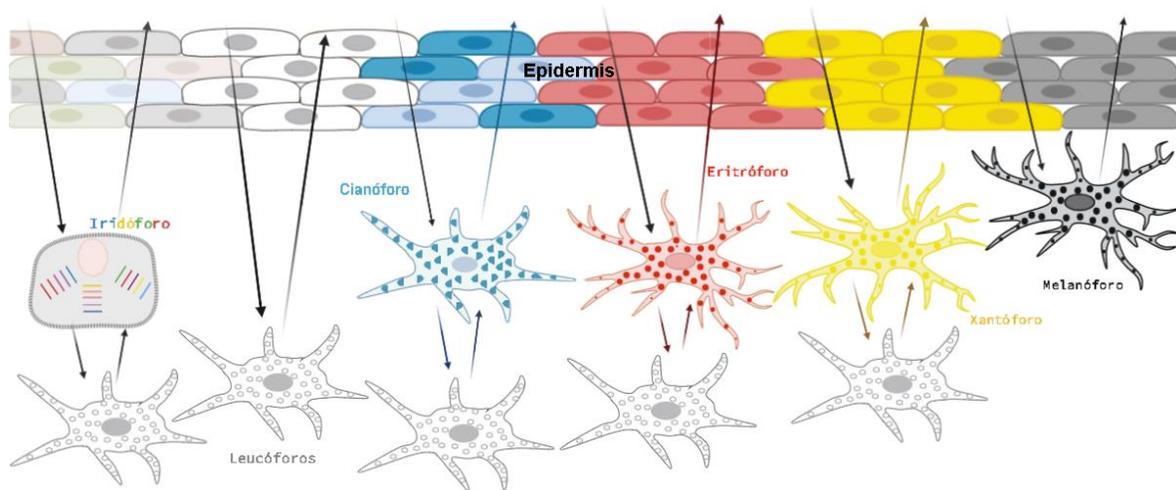


Figura 4. Tipos y colores de cromatóforos comunes en peces. Creado en BioRender.com por Sharon Ruiz

Cada cromatóforo es una entidad pequeña, que generalmente contiene un solo tipo de material pigmentario o pila(s) de plaquetas que absorben o reflejan la luz. Sin embargo el color particular que observamos en la piel de los peces se debe a estructuras tridimensionales complicadas, denominadas "unidades básicas de cromatóforos". Cuando los cromatóforos de diferentes colores se superponen unos a otros, el color resultante es una mezcla de diferentes colores, conocido como "fenómeno de la interferencia" o "translocación de pigmentos". Al hacer un buen uso de estos efectos ópticos, el pez puede exhibir varios tonos intermedios casi a voluntad (Fujii, 2000; Grether, Kolluru y Nersissian, 2004).

La unidad básica de cromatóforos consta de tres capas celulares contiguas, la cuales varían su orden y presencia dependiendo de la especie. Una de las capas está formada por los melanóforos, los cuales absorben la mayor parte o la totalidad del espectro de luz; la siguiente capa está formada por xantóforos y eritróforos, que absorben la luz de onda corta; en la capa basal los iridóforos y leucóforos reflejan la luz a través de los cromatóforos superiores (Grether, Kolluru y Nersissian, 2004; Kreit *et al.*, 2013) (Figura 5).

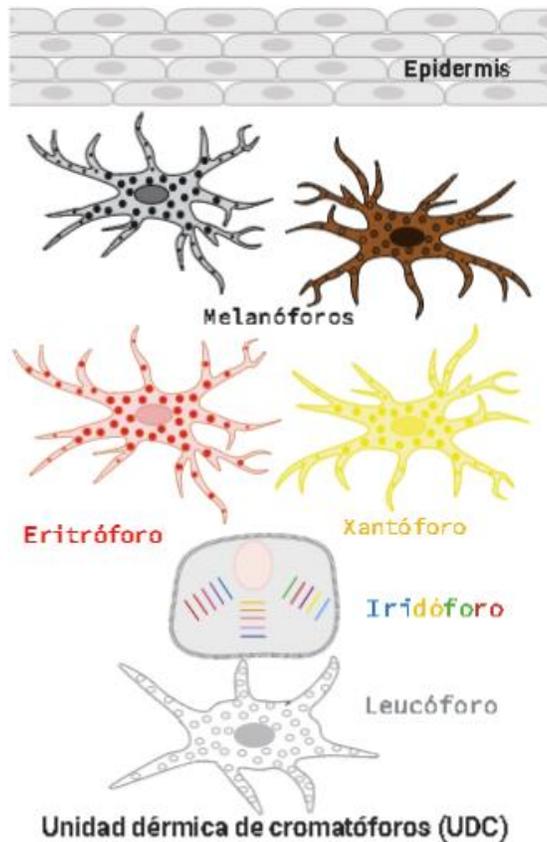


Figura 5. Unidad básica de cromatóforos. Creado en BioRender.com por Sharon Ruiz

Los cambios en cualquier componente de una unidad de cromatóforos pueden alterar drásticamente el espectro de reflectancia producido. Si las plaquetas reflectoras se dispersan y se orientan al azar dentro del citoplasma, todas las longitudes de onda de la luz se reflejarán y el parche de color aparecerá plateado, amarillo, naranja o rojo, dependiendo de las cantidades y tipos de pigmentos presentes en los xantóforos y eritroforos. Si las plaquetas reflectoras se apilan para producir interferencia constructiva en la región de longitud de onda corta, el resultado será un azul estructural en ausencia de xantóforos, o varios tonos de amarillo-verde, verde o azul-verde si hay xantóforos presentes (Figura 6) (Grether, Kolluru y Nersissian, 2004).

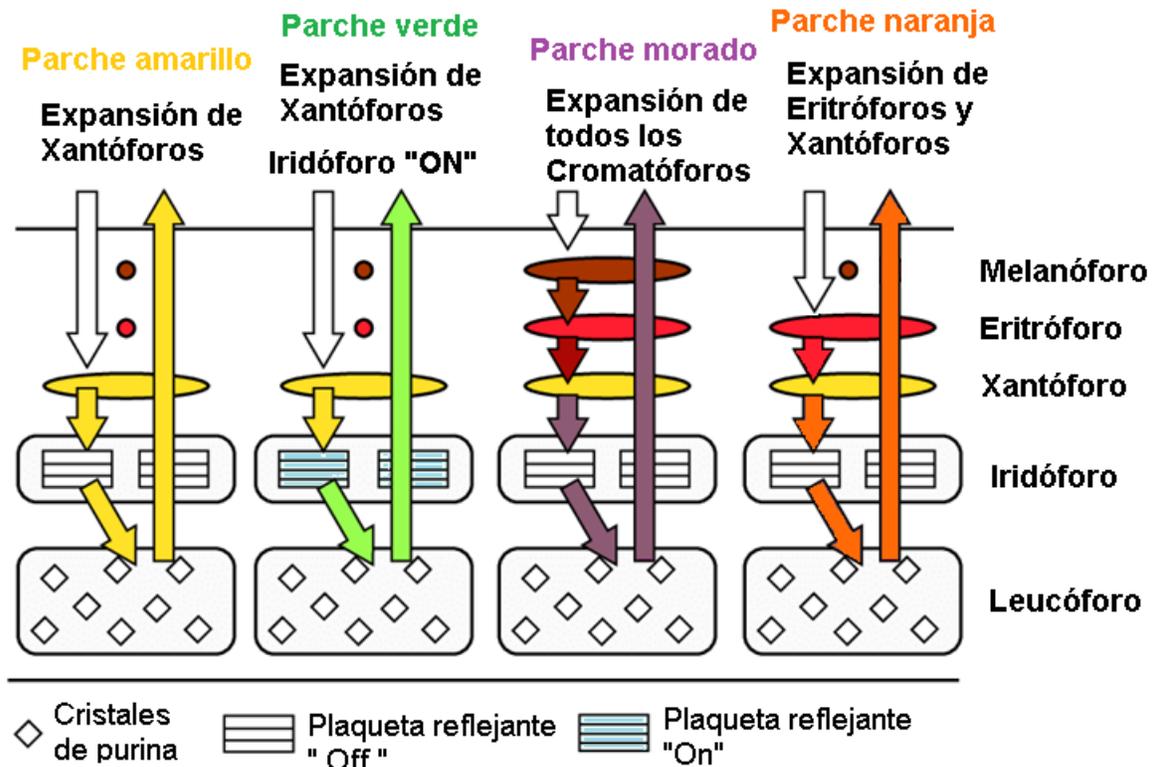


Figura 6. Expresión de colores. Fenómeno de interferencia - Translocación de pigmentos. Creado en BioRender.com por Sharon Ruiz

La distribución de cromatóforos en el integumento está controlada por las interacciones celulares entre los diferentes tipos de cromatóforos y está influenciada por la variación en la expresión génica. Además de los procesos involucrados en la disposición espacial de los cromatóforos, la pigmentación de los xantóforos y eritróforos depende del transporte y las conversiones metabólicas de los carotenoides dietéticos, así como de su captación y almacenamiento celular (Ahi *et al.*, 2020).

Las actividades móviles de los cromatóforos dependen de la presencia intracelular de proteínas motoras, como son: tubulina, dineína y kinesina (Fujii, 2000; Kimler y Taylor, 2002). Los cromatóforos dendríticos, extienden sus procesos paralelos al plano de la piel; sus gránulos de pigmento, o cromatosomas, migran centrípetamente (agregación) o centrífugamente (dispersión) en respuesta a varias

señales recibidas por las células (nerviosas y hormonales) (Figura 7). Por el contrario, en los iridóforos se han encontrado que la distancia entre las plaquetas adyacentes cambia en respuesta a diversos estímulos en algunas especies alterando la dispersión de la luz (Figura 8) (Fujii, 1993; Nilsson, 2000).

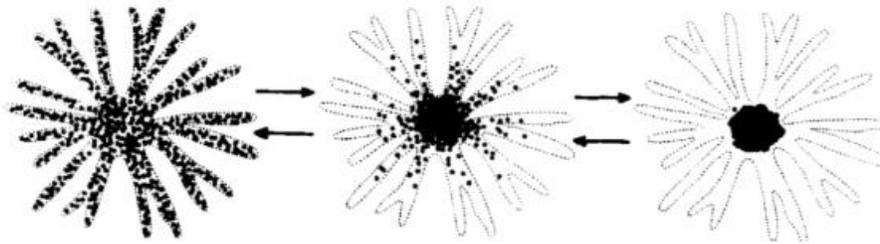


Figura 7. Respuestas móviles de un cromatóforo del tipo dendrítico, visto desde arriba del plano de la piel. Se muestran la respuesta de agregación de pigmento (lado derecho) y la respuesta de dispersión de pigmento (lado izquierdo). Modificado de:(Fujii, 1993)

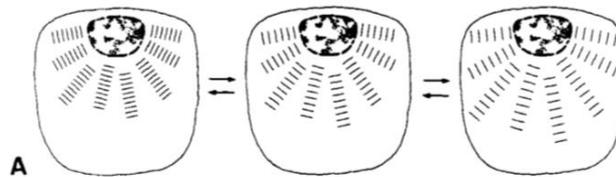


Figura 8. Respuestas móviles de los iridóforos. Modificado de:(Fujii, 1993)

Cuando los cambios de tono o patrones de coloración son lentos, podemos atribuirlo a aumentos o disminuciones en el número real de células de pigmento, o en la cantidad de material pigmentario dentro de ellas. Estos cambios se deben a fenómenos de síntesis o metabolismo de los materiales pigmentarios, se conocen como "cambios morfológicos de color". Los cambios más rápidos son causados por las actividades móviles de los cromatóforos, llamados "cambios fisiológicos de color" (Fujii, 1993).

## 2.4 Cíclidos como peces de ornato

Los cíclidos son una familia de peces común en los acuarios, ya que, son conocidos por su diversidad en los patrones de color y tonalidades. A diferencia de muchos otros organismos, en los que la coloración amarilla y roja de la piel se produce mediante mezclas de pigmentos de pteridina y carotenoides, los rojos y amarillos integumentarios de los cíclidos son principalmente, si no exclusivamente, producidos por carotenoides (Ahi *et al.*, 2020).

Esto se puede constatar en estudios como el de Evans y Norris (1996), quienes reportaron una mejora significativa en la coloración de la piel de cíclidos boca de fuego machos (*Cichlasoma meeki*) al adicionar carotenoides a su dieta.

### 2.4.1 Cíclido Rey Midas (*Amphilophus citrinellus*)

Los peces del complejo de especies de cíclidos de Midas incluyen varias especies del género *Amphilophus* que están comúnmente disponibles en el comercio de acuarios (McKaye *et al.*, 2002). Siendo el cíclido Rey Midas (*Amphilophus citrinellus*) la de mayor comercialización, seguido del cíclido Diablo Rojo (*A. labiatum*) (Barlow, 1976). Estas especies de cíclidos son buscadas por su particular morfotipo y la metamorfosis de color que presentan.

El cíclido Rey Midas (*Amphilophus citrinellus*) es una especie altamente agresiva cuando se coloca en un acuario pequeño; pueden mantenerse con éxito solo si se mantienen individualmente o a densidades muy bajas. Se ha observado que los cíclidos juveniles de *A. citrinellus* a pesar de alojarse en acuarios excepcionalmente grandes, solo interrumpen las persecuciones al encontrarse a una distancia 1.8–2.4 m de su rival (Oldfield, 2011).

La agresión se considera normal dentro del contexto ecológico, en la teoría de "la defensa de los recursos": los animales a menudo se comportan agresivamente para

defender los recursos; incluyen comida, refugio, compañeros y descendencia (Oldfield, 2011).

El cíclido Midas proviene de los lagos de Nicaragua. Exhibe un notable polimorfismo de color inter e intrapoblacional. La forma predominante en juveniles es gris con marcas negras. Algunos individuos en una población tienen tonos de amarillo a rojo en los ojos y la garganta. Además, alteran su coloración de acuerdo con el fondo y las interacciones sociales. Llamamos a estos fenotipos "normales", los naranjas se denominan "dorados" y los blancos simplemente "blancos" (Barlow, 1976; Dickman, Schliwa y Barlow, 1988).

Los cíclidos Midas de todas las poblaciones comienzan la vida como individuos "normales". Ya que cuando son juveniles, la brillante coloración naranja se ve oscurecida por melanóforos superpuestos. El momento del inicio del cambio de color es variable; puede comenzar a partir de los tres meses de edad, pero también puede suceder a una edad mucho mayor, hasta los 4 años (Henning *et al.*, 2013). Al comenzar esta metamorfosis los peces comienzan a aclarar su coloración, eventualmente se vuelven completamente dorados. Algunos individuos experimentan una metamorfosis adicional y se vuelven blancos; unos pocos proceden directamente de negro a blanco (Dickman, Schliwa y Barlow, 1988; Lin *et al.*, 2010; Henning *et al.*, 2013).

La metamorfosis del color es un proceso de dos pasos: primero los melanóforos mueren; después los restos celulares son eliminados por células similares a los macrófagos (cromatófagos). Posterior a la degradación de los melanóforos, los xantóforos se vuelven fácilmente visibles, dando como resultado una coloración dorada a roja (Dickman, Schliwa y Barlow, 1988).

Los melanóforos del rey midas se pierden sin un patrón regular. Sin embargo, las áreas oscuras en los labios y las manchas oscuras distinguibles a los costados del pez persisten por más tiempo. En la naturaleza, la zona dorsal es previsiblemente la última área en perder melanina, debido al efecto estimulante de la luz exterior (Barlow, 1976; Dickman, Schliwa y Barlow, 1988; Henning *et al.*, 2013).

Se desconoce el desencadenante de la muerte de los melanóforos. Dickman, Schliwa y Barlow (1988) plantean la hipótesis "neural trófica"; se considera que la muerte de los melanóforos está mediada por un efecto de potasio alto en las terminaciones nerviosas que los controlan. Por lo tanto, los juveniles que son genotípicamente "dorados" pueden no estimular sus melanóforos de manera tan efectiva como los que son genotípicamente "normales". La actividad neural reducida podría desencadenar la muerte de las células pigmentarias a través de un mecanismo aún no especificado. A su vez, esto estimularía la producción de melanófagos y la consiguiente metamorfosis del color.

Por otra parte, Henning *et al.*, (2013) reporta la identificación de diferentes genes asociados con el mantenimiento, muerte y regulación de los melanóforos. Lin *et al.* (2010) mencionan que la metamorfosis de color puede estar influenciada tanto por los genes como por el medio ambiente (turbidez del agua, profundidad) e interacciones sociales (dominancia-competencia).

La metamorfosis del color tiene profundas consecuencias sociales para estos cíclidos. Los peces fenotípicamente dorados dominan a los peces fenotípicamente negros y blancos. Además, el color influye en la elección de pareja; ya que la coloración dorada en machos reduce el ataque por parte de otros machos, y favorece la elección por parte de las hembras (Barlow, 1986).

Lin *et al.* (2010) evaluaron la adición de fuentes de carotenoides en dietas destinadas a *A. citrinellus*, e identificaron los carotenoides presentes en el integumento del cíclido Rey Midas. De mayor a menor concentración los carotenoides que reportaron fueron: tunaxantina, cantaxantina, canari-xantófila, astaxantina, zeaxantina, luteína, unk. Keto-carotenoide, Beta-caroteno.

#### 2.4.1.1 Comportamiento alimenticio en vida libre.

Las observaciones subacuáticas en vida libre sobre *A. citrinellus* revelaron que esta especie se alimenta de diversas maneras (Barlow, 1976):

- Tamizando grava o arena cuando se alimentan en las áreas abiertas, o tamizando los detritos tomados de grietas entre las rocas; buscando pequeños caracoles y larvas de insectos.
- Mordiendo hebras de algas del género *Chara*
- En las zonas rocosas, y donde abundan los troncos grandes, raspa del sustrato el Aufwuchs; también llamado "Periphyton", que es una mezcla compleja de algas, cianobacterias, microorganismos heterotróficos y detritos que se adhiere a las superficies sumergidas en la mayoría de los ecosistemas acuáticos.
- En aguas abiertas ataca a los insectos en la superficie del agua y también atrapa los huevos que caen de las atherinas en desove (*Melaniris sardina*).
- Los adultos devorará a otros peces jóvenes, incluso de su propia especie, si los padres no se encuentran.
- Los peces muy jóvenes que todavía están protegidos por sus padres se alimentan del plancton que las suaves corrientes del lago. También se alimentan de Aufwuchs en las rocas, a la vez capturando allí pequeños animales, como los copépodos.

Estudios del contenido intestinal de los cíclidos de Midas del lago Masaya, Nicaragua, describieron una dieta que consiste predominantemente en Aufwuchs y otras algas, seguidas de insectos, caracoles y pocos peces. *A. citrinellus* cambia sus hábitos alimenticios conforme a su etapa de vida, denominándolo como "consumidor altamente omnívoro y oportunista". Comienza la vida como un alevín depredador; cambia a una forma de vida omnívora, que consume cantidades apreciables de algas; a medida que se aproxima a un tamaño adulto, adquiere hábitos piscívoros (Barlow, 1976).

## 2.5 Justificación

Actualmente la industria de los peces de ornato tiene un crecimiento acelerado, gracias al tipo de vida de los consumidores; lo que lo vuelve un nicho de desarrollo comercial importante para México. La mayor parte de la producción de peces de ornato en México, se desarrolla en unidades de producción de tipo extensivo y semi-intensivo, en donde para reducir costos de alimentación utilizan alimentos comerciales destinados a otras especies acuícolas como la tilapia. Estos alimentos carecen de carotenoides en su composición por lo que afectan en el desarrollo óptimo de los peces de ornato, particularmente en su pigmentación.

Los carotenoides industriales que se utilizan actualmente para complementar las dietas representan un costo elevado para los productores. Por lo que actualmente, se evalúa el efecto de diferentes fuentes de pigmentos naturales al adicionarlos en las dietas de los peces ornamentales, reduciendo el costo de la pigmentación.

Los cíclidos son especies comúnmente encontradas en acuarios por sus colores vistosos. El cíclido Rey Midas (*A. citrinellus*) presenta una metamorfosis de color que lo hace particularmente atractivo entre los acuaristas. Sin embargo los mecanismos desencadenantes de dicho cambio no se han logrado descifrar.

Por ello se propone evaluar si la adición de fuentes naturales de pigmento en la dieta mejora la deposición de carotenoides en los tejidos. Y esto a su vez favorece la metamorfosis de color; observando un cambio visible en la coloración de la piel.

Se propone utilizar fuentes de pigmentos vegetales y animales, ya que en vida libre su alimentación es a base de plantas e insectos, de los cuales obtiene los carotenoides que le proporcionan su color característico.

Como fuentes de carotenoides vegetales se propone el uso de: paprika, achiote y espirulina, por su fácil acceso. Como fuentes alternativas de pigmento se propone el uso de jamaica, por ser una fuente importante de antocianinas, y un ingrediente de bajo costo, ya que México es un importante productor; y finalmente grana cochinilla como fuente de ácido carmínico, al ser considerada una plaga en cultivos

de nopal, su uso como fuente de pigmento en acuicultura propondría una opción de uso al retirarla de los cultivos.

## 2.6 Hipótesis

La adición de paprika (*Capsicum annum*), achiote (*Bixa orellana*), alga espirulina (*Spirulina platensis*), jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y grana cochinilla (*Dactylopius spp.*) como fuentes de pigmento en la dieta de juveniles del cíclido Rey Midas (*Amphilophus citrinellus*), favorecerán en diferentes grados el cambio de pigmentación cutánea y la deposición de carotenoides en la piel y músculo de estos peces.

## 2.7 Objetivo general

Evaluar la pigmentación cutánea y la deposición de carotenoides en la piel y músculo de ejemplares juveniles de Rey Midas (*Amphilophus citrinellus*) al adicionar diferentes fuentes de pigmentos naturales en su dieta.

### 2.7.1 Objetivos específicos

- Determinar el aporte nutricional de las fuentes de pigmento naturales (jamaica, alga espirulina, paprika, achiote y grana cochinilla).
- Determinar el aporte nutricional de las dietas adicionadas con fuentes de pigmentos naturales.
- Determinar la concentración de antocianinas en los cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y en la dieta que la incluye.

- Determinar la concentración de ácido carmínico en la grana cochinilla (*Dactylopius spp.*) y en la dieta que la incluye.
- Determinar la concentración de carotenoides totales en cada una de las fuentes naturales de pigmento (achiote, paprika, alga espirulina, jamaica y grana cochinilla) y en el alimento comercial.
- Evaluar el crecimiento de los ejemplares y la ganancia de peso realizando biometrías (longitud total, altura máxima, pesaje) al inicio y término del experimento.
- Evaluar la pigmentación cutánea (por colorimetría) de los peces al iniciar y terminar el experimento.
- Determinar la concentración de carotenoides totales en la piel y músculo de los diferentes grupos de peces al terminar la etapa de alimentación.
- Determinar el porcentaje de proteína del músculo de los peces al terminar el experimento.

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1 Ubicación de la fase experimental

El desarrollo experimental se realizó en el domicilio particular ubicado en: Niño Artillero número 44, colonia La Conchita, Chalco, Estado de México. Donde se acondicionó una habitación con las siguientes características:

- Construcción: concreto
- Superficie: 40 m<sup>2</sup> (8m x 5 m)
- Iluminación natural: ventanales
- Suministro de agua: agua potable/agua entubada

### 3.2 Sujetos de estudio

Se emplearon 30 juveniles del cíclido Rey Midas (*Amphilophus citrinellus*) de 2 meses de edad; con una longitud total promedio de  $9.1 \pm 0.34$  cm, y un peso promedio de  $12.13 \pm 1.5$  g. Los cuales fueron proporcionados por la granja de peces de ornato "Cuautlita1", ubicada en la localidad de Cuautlita, municipio de Tetecala, Morelos.

### 3.3 Diseño experimental

Se establecieron 6 grupos experimentales, cada uno conformado por 5 ejemplares alojados de forma individual, por lo que cada uno de los organismos se consideró una unidad experimental. La asignación de los ejemplares a los diferentes grupos experimentales fue de forma aleatoria.

El alimento comercial que se utilizó como base para la elaboración de las dietas fue Silver Cup El Pedregal "Tilapia (25-5)" extruido flotante de 3.5 mm. Las dietas proporcionadas a los grupos experimentales se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Composición de las dietas por grupo experimental

Grupo experimental	Dieta proporcionada
1 - Control	100% Alimento comercial
2 - Achiote	90% Alimento comercial + 10% achiote
3 - Espirulina	90% Alimento comercial + 10% espirulina
4 - Grana	90% Alimento comercial + 10% grana cochinilla
5 - Jamaica	90% Alimento comercial + 10% jamaica
6 - Paprika	90% Alimento comercial + 10% paprika

### 3.4 Alojamiento de los organismos

Se colocaron de forma individual en acuarios de vidrio de 20 L. Los acuarios fueron colocados sobre mesas de plástico, distribuidos como se observa en la Figura 9.

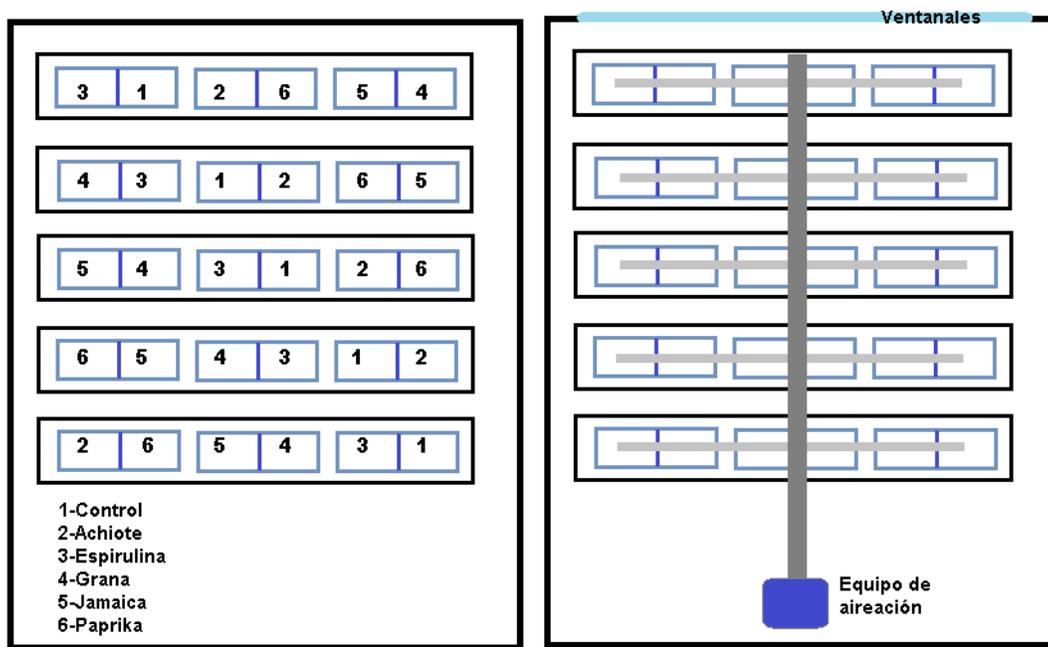


Figura 9. Distribución de acuarios durante la fase de alimentación

Cada acuario contaba con un calentador sumergible con termostato Thermo-jet 75w de Grupo Acuario Lomas® para mantener una temperatura constante de 26°C. La cual se verificaba con un termómetro flotante Aqua-Kril®. Para el sistema de aireación se empleó el equipo "Air Blower GF-180", el cual proporcionaba oxígeno a cada acuario por medio de una piedra difusora. Diariamente se eliminaron los restos de materia orgánica por sifoneo, reemplazando el 5% del volumen del acuario. El tipo de iluminación empleada fue natural, a través de ventanales.

Durante el tiempo de experimentación se monitorearon una vez por semana los valores de pH, nitritos (NO<sub>2</sub>), nitratos (NO<sub>3</sub>), amonio (NH<sub>3</sub>), dureza general (KH), dureza específica (GH), fosfatos (PO<sub>4</sub>) con el Kit Nutrafin Test®, para verificar que todos se encontraban en rangos óptimos para acuarios de agua dulce, de acuerdo

a los valores reportados por García *et al.* (2011) y el fabricante del Kit Nutrafin Test®. Los rangos en las variables fisicoquímicas del agua para acuarios de agua dulce se reportan en las Tabla 7, así como los valores promedios que se mantuvieron en los acuarios.

Tabla 7. Variables fisicoquímicas del agua para peces dulceacuícolas y valores promedios mantenidos en los acuarios durante la fase experimental.  
Fuentes:(García Hernández *et al.*, 2011; SAGARPA, 2012)

Parámetro	Dulceacuícolas	Fase experimental
Temperatura	Tropicales: 28-30°C Templados: 22-24°C	26°C
Amonio (NH <sub>3</sub> – NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	0.1- 1 mg/L	0.6 mg/L
Nitritos (NO <sub>2</sub> )	<1 mg/L (0.8 mg/L)	-
Nitratos (NO <sub>3</sub> )	<20 mg/L	10-20 mg/L
Potencial de iones de hidrógeno (pH)	6 – 9	8 - 8.2
Dureza general (GH)	1– 150 mg/L	120-140 mg/L
Dureza específica (KH)	1 – 150 mg/L	110-130 mg/L
Fosfatos	0-1 mg/L	0.5 mg/L

### 3.5 Alimentación

Una vez instalados en el sitio de experimentación, los ejemplares de *Amphilophus citrinellus* se alimentaron durante una semana con alimento comercial Silver Cup El Pedregal "Tilapia (25-5)" extruido flotante de 3.5 mm, alimento que les era proporcionado en la granja, con el fin de facilitar su adaptación.

Una vez que se asignaron los tratamientos, los organismos se alimentaron con las dietas correspondiente (Tabla 6) durante 8 semanas, en relación al 3% de su peso vivo al día, dividido en 3 raciones (6:00, 12:00, 18:00 horas).

### 3.6 Obtención de las fuentes de pigmento

En el mercado local se adquirió un kilo de cálices secos de jamaica variedad china y un kilo de semilla de achiote seca. Ambos se trituraron con un procesador de alimentos hasta obtener una harina que se tamizó a 0.5 mm.

En cadenas de supermercados se adquirieron: paprika molida de la marca Pragná® y alga espirulina en polvo de la marca PlantaVit®.

La grana cochinilla fue donada por el biólogo Alfredo Villarroel perteneciente al comité Estatal de Sanidad Vegetal de la Ciudad de México. La grana fue colectada de forma manual en una plantación orgánica de nopal, localizada en la alcaldía Milpa Alta, Ciudad de México. Para su procesamiento, la grana cochinilla se secó en una estufa Thermo Scientific™ Lindberg/Blue a 50°C durante 24 horas, posteriormente se molió en un procesador de alimentos hasta obtener una harina que se tamizó a 0.5 mm.

### 3.7 Preparación de dietas

El alimento comercial utilizado fue proporcionado por la granja "Cuatlita 1". Se utilizaron 3 kilos de alimento comercial Silver Cup El Pegregal "Tilapia (25-5)" extruido flotante de 3.5 mm. Dicho alimento se trituró con un procesador de alimentos hasta obtener una harina que se tamizó a 0.5 mm.

Para cada una de las dietas se pesaron 450 gramos de la harina obtenida del alimento comercial y se incorporaron 50 g de la fuente de pigmento correspondientes. Obteniendo 500 g de cada dieta experimental con un 10% de inclusión de la fuente de pigmento, a excepción de la dieta control, la cual se conformó en un 100% de harina obtenida del alimento comercial.

Una vez incorporados homogéneamente los pigmentos y la harina, se agregó agua potable a cada mezcla para conseguir una masa suave, la cual se extendió sobre charolas formando una capa de un grosor de 3 mm; posteriormente se colocaron en

una estufa Thermo Scientific™ Lindberg/Blue a 50°C por 12 horas para secarlas. Ya secas las dietas se trituraron manualmente para obtener partículas de 3 mm y se almacenaron en recipientes herméticos hasta el momento de su uso.

### 3.8 Biometrías y pesaje

Los juveniles de rey midas se midieron y pesaron una vez pasada la semana de adaptación, las mediciones se repitieron al finalizar las ocho semanas de alimentación. Para realizar las mediciones se retiraba un pez del acuario y se colocaba sobre un paño mojado, una vez terminadas las mediciones se regresaba al pez al acuario.

De cada individuo se obtuvieron longitud total, altura máxima y peso, con un vernier digital marca Mitutoyo® y una báscula digital marca "Digital Pocket Scale" (Figura 10).

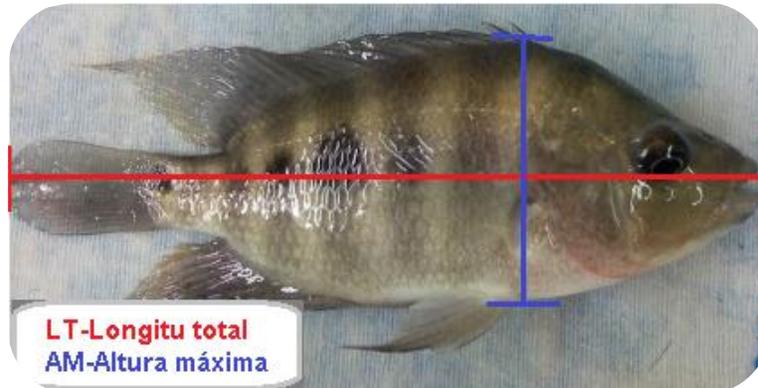


Figura 10. Biometrías a los juveniles de *A. citrinellus*

### 3.9 Evaluación de la pigmentación cutánea de los cíclidos

La pigmentación cutánea se midió en todos los ejemplares al mismo tiempo que se realizaron las biometrías, después de la semana de adaptación y al finalizar las 8

semanas de alimentación. El color se midió en ambos lados de los ejemplares en 3 puntos: el opérculo, el área central del dorso y el pedúnculo (Figura 11).

Las mediciones se realizaron con un medidor de colorimetría CR-400 Konica Minolta®, de acuerdo con el sistema de color de la Comisión Internacional de Iluminación (CIE):  $L^*$ =Claridad, donde 0=oscurο y 100=blanco,  $a^*$ =rojo-verde, donde los valores positivos=rojo y los valores negativos=verde, y  $b^*$ =amarillento-azul, donde los valores positivos=amarillo y los valores negativos=azul (CIE, 2019). Se utilizó como referencia un mosaico blanco estándar con valores de reflectancia de  $L^*$ =99.68,  $a = -0.12$  y  $b = -0.02$ .

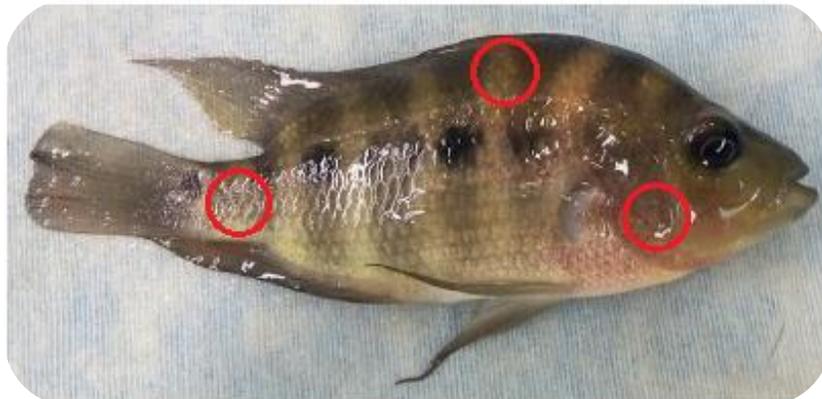


Figura 11. Puntos para evaluación de coloración en juveniles de *A. citrinellus*

### 3.10 Eutanasia

Al terminar las 8 semanas de alimentación, se tomó de forma aleatoria a dos ejemplares de cada uno de los grupos experimentales y se sometieron a eutanasia; utilizando aceite de clavo, siguiendo el protocolo utilizado por Ferreira, Olsson y Valentim (2018).

Se preparó un acuario adicionado con 50 mg aceite de clavo por litro de agua y se introdujeron los peces seleccionados. Se observó la pérdida del equilibrio, seguido

de la pérdida de respuesta a estímulos dolorosos (pellizco suave en la aleta caudal con unas pinzas), y finalmente el cese del movimiento opercular. Los animales se consideraron muertos tras no presentar movimientos operculares por 2 minutos.

Una vez muertos los ejemplares se desescamaron y posteriormente se separaron la piel y el músculo, colocándolos en recipientes previamente etiquetados para su posterior procesamiento en el laboratorio.

### 3.11 Análisis de laboratorio

Las muestras se procesaron en los laboratorios de Bromatología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica (DNAB) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

#### 3.11.1 Análisis Químico Proximal

Las muestras del alimento comercial, los pigmentos y las dietas empleadas en los grupos experimentales se sometieron a un Análisis Químico Proximal (AQP), siguiendo los procedimientos descritos por la Association of Official Analytical Chemists, AOAC (AOAC, 2015). Se realizaron las siguientes determinaciones: porcentaje de humedad (934.01), proteína cruda (2001.11), extracto etéreo (920.39), fibra cruda (962.09) y cenizas (942.05). La determinación de carbohidratos se realizó al final por diferencia, restando al 100% los porcentajes de humedad, proteína, lípidos, fibra y cenizas.

Adicionalmente al terminar las 8 semanas de alimentación, se realizaron las determinaciones de humedad (934.01) y proteína cruda (2001.11) en el músculo de 2 peces de cada uno de los grupos experimentales.

### 3.11.2 Determinación de carotenoides totales.

La determinación de carotenoides totales se realizó en muestras de piel y músculo, así como en muestras de cada uno de los pigmentos y de cada una de las dietas experimentales, siguiendo la técnica descrita por Büyükçapar (2007).

Para la extracción de carotenoides, las muestras de pigmentos y las dietas se molieron con un procesador de alimentos y tamizaron a 0.5 mm, la piel y músculo obtenido se picaron manualmente. Posteriormente se colocaron muestras de 1 g en tubos cónicos Falcon™ para centrifuga. Ya en los tubos, se añadieron a las muestras 10 ml de acetona seca y 2 g de sulfato de sodio anhidro. La muestra se presionó contra las paredes del tubo con un agitador de vidrio. Se cubrieron los tubos con papel aluminio y se dejaron a 0°C durante 3 días.

Posteriormente las muestras se centrifugaron a 5000 rpm durante 5 minutos, se separó el sobrenadante (extracto) colocándolo en tubos limpios para su lectura. La absorción de los extractos se midió en un espectrofotómetro UV-Visible Perkin-Elmer; para la piel y el filete de pescado se utilizó una longitud de onda ( $\lambda$ ) de 476 nm y para los pigmentos y las dietas una  $\lambda$  de 450 nm (Whitaker, 2001).

La concentración total de carotenoides se calculó como  $\mu\text{g}$  por peso húmedo de tejido con la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración total de carotenoides} \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Absorbancia}}{\left( \frac{\epsilon}{10000} \right) * \text{Muestra (g)}}$$

Donde:  $\epsilon$ =Coeficiente de extinción molar

Considerando para la piel y músculo de pescado  $\epsilon(1\%, 1 \text{ cm})=1900$  a 476 nm, y para los pigmentos y las dietas,  $\epsilon(1\%, 1 \text{ cm})=2500$  a 450 nm.

### 3.11.3 Extracción y cuantificación de antocianinas totales

La extracción cuantificación de antocianinas totales se realizó a muestras de harina de jamaica, así como a la dieta que la incluye.

Para la extracción se utilizó la técnica descrita por Zhao (2008). A 8 gramos de muestra se adicionaron 100 mL de etanol acidificado con ácido clorhídrico al 0.1%; la suspensión se mantuvo en suspensión orbital por 120 minutos a 60°C. Los extractos de etanol se centrifugaron a 9000 rpm y 20°C durante 10 min. Los sobrenadantes se evaporaron hasta sequedad a 40°C con un evaporador rotatorio. El sólido restante se aforó a 100 mL con etanol acidificado.

El contenido total de antocianinas (TAC) se determinó de acuerdo con el método de pH diferencial aprobado por la AOAC (2005). Se realizaron diluciones pareadas de las muestras, utilizando una parte de la muestra y cuatro de un buffer (pH 1.0 y pH 4.5). La absorbancia se determinó utilizando un espectrofotómetro UV-Visible Perkin-Elmer, a 520 y 700 nm, para ambos pH.

Se calculó la concentración de antocianinas totales (CAT), expresada como equivalentes de cianidin-3-glucósido, de la siguiente manera:

$$A = (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}1.0} - (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}4.5}$$

$$CAT \text{ (mg/L)} = \frac{A * MW * DF * 10^3}{\epsilon * L}$$

Donde:

- A= absorbancia
- MW (peso molecular) = 449.2 g/mol de cianidin-3-glucoside (cyd-3-glu).
- DF = Factor de dilución establecido
- L (longitud de la celda)=1 cm
- $\epsilon$ =26900 coeficiente de extinción molar en  $L * \text{mol}^{-1} * \text{cm}^{-1}$ , de cyd-3-glu
- $10^3$ =Factor de conversión de gramos a mg

Una vez obtenido el contenido total de antocianinas en mg/L se realizó la conversión de unidades a mg de antocianinas por g de muestra (mg/g), conociendo la cantidad de muestra utilizada y las diluciones realizadas.

### 3.11.4 Determinación de porcentaje de ácido carmínico

Se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Marmion (1984), a muestras de harina de grana de cochinilla y la dieta que la incluye.

Se disolvió 0.1 g de muestra en 30 mL de HCl 2 N en ebullición. Se dejó enfriar, se filtró con papel filtro Whatman #1 posteriormente se diluyó en 1 L de agua destilada. Se determinó la absorbancia con el espectrofotómetro UV-Visible Perkin-Elmer, utilizando una longitud de onda de 494 nm, como blanco se emplea HCl a 0.06 N. El porcentaje de ácido carmínico en la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$\%AC = \frac{A * 100}{a * b * c} = \frac{A * 100}{13.9 * 1 * 0.1}$$

Donde:

- A=Absorbancia
- a=Absortividad en L/g \*cm
- b=Longitud de la celda en cm
- c=Concentración en g/L

### 3.12 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron con ayuda de la M. en C. María Guadalupe Sánchez González, profesora del Departamento de Genética y Bioestadística de la FMVZ-UNAM. Los resultados obtenidos en la cuantificación de carotenoides se analizaron con una prueba de Kruskal-Wallis. El resto de los resultados obtenidos se analizaron utilizando un diseño de un factor con mediciones repetidas (MANOVA). En ambos casos se empleó una significancia ( $\alpha$ ) del 5%, utilizando los programas SPSS® versión 23 y JMP® versión 10.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Análisis Químico Proximal

En la Tabla 8 se presentan los porcentajes en base húmeda de: humedad, extracto etéreo, proteína cruda, fibra cruda y cenizas obtenidos de los diferentes pigmentos y las dietas proporcionadas a los grupos experimentales.

Tabla 8. Análisis químico proximal de alimento comercial, fuentes de pigmentos y dietas adicionadas con pigmentos al 10% de inclusión. Porcentajes en base húmeda.

Muestra	Humedad %	Proteína cruda %	Extracto etéreo %	Fibra cruda %	Carbohidratos %	Cenizas %
Alimento "Tilapia (25-5)"	8.55	32.48	6.29	1.16	42.55	8.97
Achiote	7.50	11.10	9.97	7.40	59.06	4.98
Espirulina	5.48	65.19	6.52	0.27	12.57	9.97
Grana	3.90	31.48	17.20	2.43	32.92	12.07
Jamaica	7.87	6.00	3.26	9.57	65.27	8.03
Paprika	13.02	13.30	9.97	12.75	36.90	14.05
Dieta control	6.97	32.59	7.13	1.12	42.57	9.62
Dieta con achiote	6.33	31.43	7.38	3.88	42.16	8.83
Dieta con espirulina	10.13	33.54	6.75	2.72	37.62	9.25
Dieta con grana	8.21	32.42	7.29	3.08	39.86	9.13
Dieta con jamaica	8.05	31.59	6.41	1.97	43.18	8.80
Dieta con paprika	11.18	30.51	7.03	3.50	39.13	8.65

En la Tabla 9 se presentan los porcentajes de materia seca y proteína en materia seca obtenidos en el músculo de los peces por grupo experimental. No hay diferencia significativa en el porcentaje de proteína entre grupos.

Tabla 9. Porcentaje de humedad y proteína cruda de músculo de peces por grupo, en materia seca

Grupo	% Materia seca	% Proteína MS
Achiote	24.09	72.99 <sup>a</sup>
Control	24.11	75.17 <sup>a</sup>
Espirulina	24.24	75.40 <sup>a</sup>
Grana	23.37	74.72 <sup>a</sup>
Jamaica	23.02	79.46 <sup>a</sup>
Paprika	24.03	72.00 <sup>a</sup>

#### 4.2 Cuantificación de antocianinas totales

En la Tabla 10 se presentan los valores de antocianinas encontrados tanto en los cálices de jamaica molidos, como en la dieta en la que fueron incluidos.

Tabla 10. Contenido de antocianinas (mg/g) en cálices deshidratados de jamaica y en la dieta que los incluye, media  $\pm$  desviación estándar ( $\bar{x} \pm s$ )

Muestra	Contenido de antocianinas (mg/g) ( $\bar{x} \pm s$ )
Cálices secos de jamaica	15.75 $\pm$ 0.25
Dieta con inclusión de jamaica	1.65 $\pm$ 0.04

#### 4.3 Determinación de ácido carmínico

En la tabla 11 se presentan los porcentajes de ácido carmínico encontrados tanto en la grana cochinilla seca y molida, como en la dieta en la que fue incluida.

Tabla 11. Porcentaje de ácido carmínico en la grana cochinilla deshidratada y en la dieta que la incluye, media  $\pm$  desviación estándar ( $\bar{x} \pm s$ )

Muestra	Ácido carmínico % ( $\bar{x} \pm s$ )
Grana cochinilla seca	6.13 $\pm$ 0.07
Dieta con inclusión de grana cochinilla	0.64 $\pm$ 0.02

En la semana 2 de alimentación, debido a fallas eléctricas, murieron 5 peces pertenecientes a los grupos de achiote, espirulina, grana, jamaica y control. Por lo que los valores reportados para peso, longitud total, altura máxima y pigmentación cutánea, pertenecen únicamente a 4 peces por grupo experimental (n=4), excepto el de paprika, que conservo 5 individuos (n=5).

#### 4.4 Peso

Los ejemplares del grupo experimental que consumían la dieta con achiote fueron los que tuvieron un mayor aumento de peso, los que consumían la dieta con espirulina registraron el menor aumento de peso, como se representa en la siguiente gráfica de barras (Figura 12).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el peso al día 60 entre los diferentes tratamientos ( $P=0.3244$ ), ni en la interacción tiempo y tratamiento (0.2824); únicamente se observa un cambio significativo a través del tiempo ( $p=0.0001$ ) (Tabla 12, Figura 13).

Los valores obtenidos en esta variable por grupos experimentales se encuentran en el anexo 1

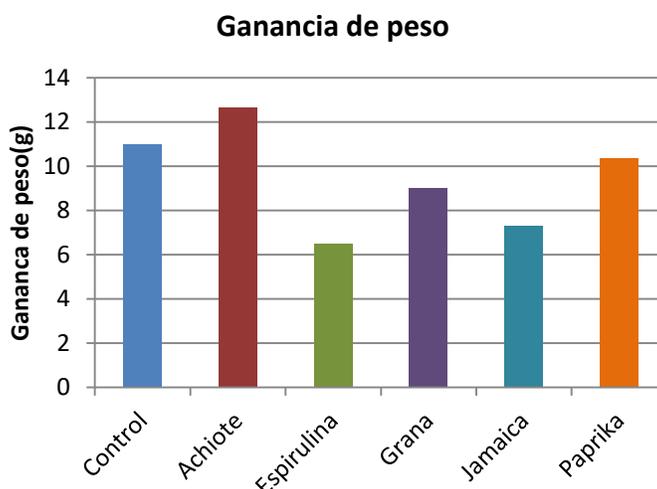


Figura 12. Ganancia de peso promedio por grupo experimental

Tabla 12. Peso promedio $\pm$ DE (g), a 0 y 60 días

Día 0	Día 60
12.13 $\pm$ 1.47	21.66 $\pm$ 4.19

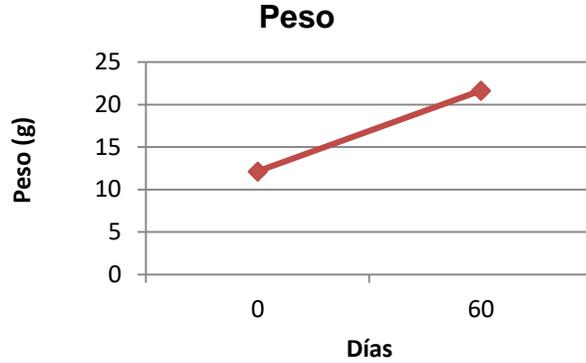


Figura 13. Cambio de la variable peso en el tiempo

#### 4.5 Longitud Total

Los ejemplares del grupo experimental que consumían la dieta con achiote fueron los que tuvieron un mayor crecimiento en la variable longitud total, los que consumían la dieta con espirulina registraron el menor crecimiento, como se representa en la siguiente gráfica de barras (Figura 14).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la longitud total al día 60 entre los diferentes tratamientos ( $P=0.2246$ ), ni en la interacción tiempo y tratamiento ( $P=0.3105$ ); únicamente se observa un cambio significativo a través del tiempo ( $P=0.0001$ ) (Tabla 13, Figura 15).

Los valores obtenidos en esta variable por grupos experimentales se encuentran en el anexo 2.

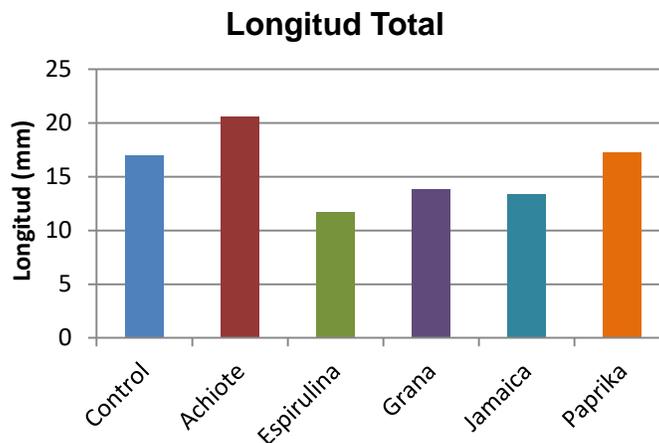


Figura 14. Crecimiento de longitud total promedio por grupo experimental

Tabla 13. Longitud total promedio±DE (mm), a 0 y 60 días

Día 0	Día 60
91.05±3.40	106.74±6.53

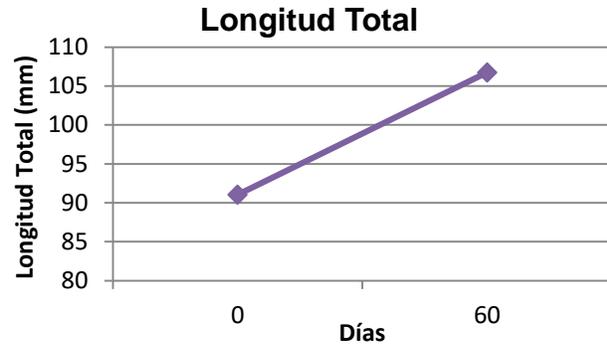


Figura 15. Cambio de la variable longitud total en el tiempo

#### 4.6 Altura Máxima

Los ejemplares del grupo experimental que consumían la dieta con achiote fueron los que tuvieron un mayor crecimiento en la variable altura máxima, los que consumían la dieta con jamaica registraron el menor crecimiento, como se representa en la siguiente gráfica de barras (Figura 16).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la altura máxima al día 60 entre los diferentes tratamientos ( $P=0.1817$ ), ni en la interacción tiempo y tratamiento ( $P=0.551$ ); únicamente se observa un cambio significativo a través del tiempo ( $P=0.0001$ ) (Tabla 14, Figura 17).

Los valores obtenidos en esta variable por grupos experimentales se encuentran en el anexo 3.

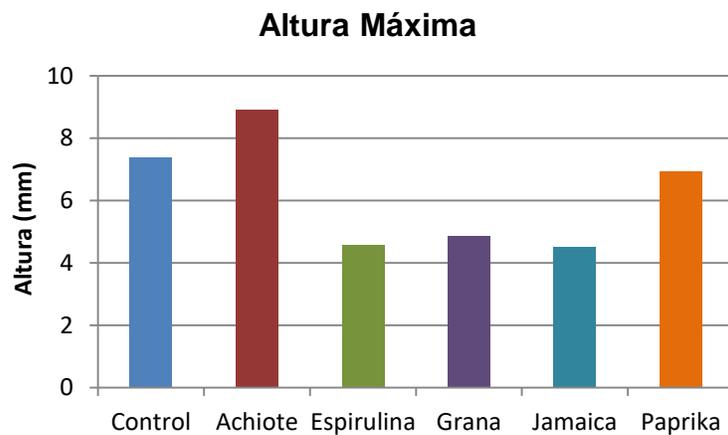


Figura 16. Altura máxima promedio por grupo experimental

Tabla 14. Altura máxima promedio $\pm$ DE (mm), a 0 y 60 días

Día 0	Día 60
28.94 $\pm$ 1.31	35.16 $\pm$ 2.45

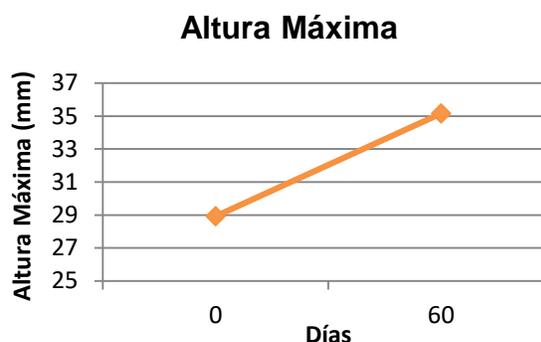


Figura 17. Cambio de la variable altura máxima en el tiempo

#### 4.7 Pigmentación cutánea

Se evaluó la diferencia de color ( $\Delta$ ) para cada una de las ondas: L (blanco-negro), a (rojo-verde) y b (amarillo-azul), en los 3 puntos de evaluación (opérculo, dorso y pedúnculo), a cada lado del pez (derecho e izquierdo), por grupo experimental. Entendiendo  $\Delta$  como la pérdida (-) o ganancia (+) de luz (L), coloración roja (a), coloración amarilla (b).

No se encontraron diferencias significativas entre grupos de tratamiento, en el cambio de las ondas L, a, b, en los tres puntos evaluados, en cada lado del pez (Tabla 15).

Los valores completos obtenidos en esta variable por grupos experimentales se encuentran en el anexo 4.

Tabla 15. Significancia entre grupos en  $\Delta$  (L,a,b)

ANOVA de un factor		Prob $\alpha$		Prob $\alpha$
	Derecho		Izquierdo	
Opérculo	$\Delta$ L	0.974	$\Delta$ L	0.999
	$\Delta$ a	0.643	$\Delta$ a	0.642
	$\Delta$ b	0.357	$\Delta$ b	0.481
Dorso	$\Delta$ L	0.578	$\Delta$ L	0.382
	$\Delta$ a	0.581	$\Delta$ a	0.053
	$\Delta$ b	0.074	$\Delta$ b	0.175
Pedúnculo	$\Delta$ L	0.939	$\Delta$ L	0.281
	$\Delta$ a	0.276	$\Delta$ a	0.563
	$\Delta$ b	0.168	$\Delta$ b	0.102

Se analizaron los valores de cambio de color ( $\Delta E$ ) en los tres puntos de evaluación, en cada lado del pez, entre los grupos experimentales.  $\Delta E$  indica el tamaño de la diferencia de color, pero no en qué sentido son diferentes los colores.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0.05$ ) entre los grupos experimentales en el cambio de color ( $\Delta E$ ), en los tres puntos evaluados, en cada lado del pez (Tabla 16).

Los valores completos obtenidos en esta variable por grupos experimentales se encuentran en el anexo 4.

Tabla 16. Significancia entre grupos en  $\Delta E$

ANOVA de un factor	Derecho	Izquierdo
	Prob $\alpha$	Prob $\alpha$
Opérculo	0.926	0.740
Dorso	0.447	0.874
Pedúnculo	0.872	0.595

#### 4.8 Cuantificación de carotenoides totales

En la Tabla 17 se presentan los valores de carotenoides totales encontrados en las fuentes de pigmento molidas y en el alimento comercial de tilapia. La espirulina es el ingrediente que contiene la mayor concentración de carotenoides, seguido por el achiote. El alimento comercial de tilapia contiene una concentración muy baja de carotenoides totales.

Tabla 17. Concentración de carotenoides totales ( $\mu\text{g/g}$ ) en alimento comercial y fuentes naturales de pigmento, media  $\pm$  desviación estándar ( $\bar{x} \pm s$ )

Muestra	Carotenoides totales ( $\mu\text{g/g}$ ) ( $\bar{x} \pm s$ )
Alimento "Tilapia (25-5)"	0.389 $\pm$ 0.09
Achiote	8.127 $\pm$ 0.017
Espirulina	18.307 $\pm$ 0.767
Grana	0.76 $\pm$ 0.035
Jamaica	1.408 $\pm$ 0.031
Paprika	7.799 $\pm$ 0.006

Los ejemplares del grupo experimental que consumían la dieta con achiote fueron los que tuvieron una mayor concentración de carotenoides en músculo, los que consumían la dieta control registraron la menor concentración de carotenoides en músculo (Figura 18).

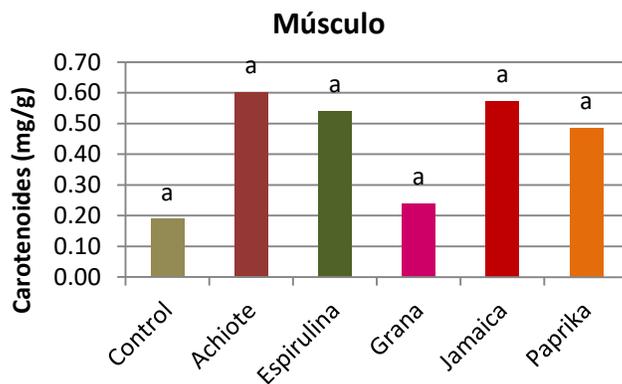


Figura 18. Promedio (mm) de la concentración de carotenoides totales en músculo por grupos.

Los ejemplares del grupo experimental que consumían la dieta con espirulina fueron los que tuvieron una mayor concentración de carotenoides en piel, los que consumían la dieta control registraron la menor concentración de carotenoides en piel (Figura 19).

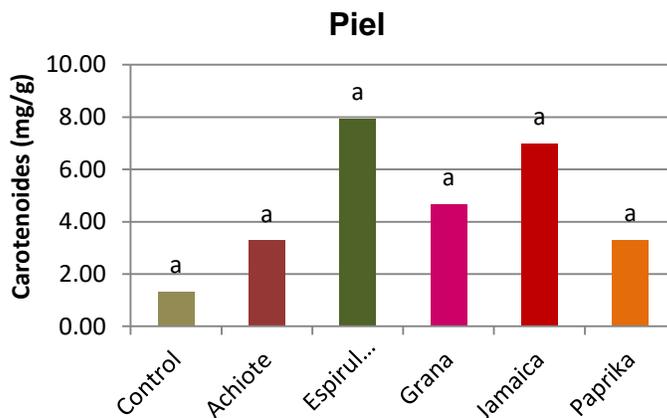


Figura 19. Promedio (mm) de la concentración de carotenoides totales en piel por grupos.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la cuantificación total de carotenoides entre los diferentes tratamientos en músculo ( $P= 0.485$ ), ni en piel ( $P=0.08$ ).

## 5. DISCUSIÓN

El análisis químico proximal (AQP) es el método más común para evaluar los ingredientes que se incluirán en un alimento, o bien evaluar un alimento ya terminado; evaluando la pérdida de nutrientes durante la fabricación, transporte y almacenamiento (control de calidad). Con fin de conocer, a grandes rasgos, el valor nutricional de una formulación particular. Para esto el AQP reporta la composición del alimento, basado en las propiedades químicas comunes de los nutrientes (proteína, lípidos, carbohidratos, fibra, cenizas) y el agua (Halver y Hardy, 2002).

El alimento El Pedregal "Tilapia 25-5", cumple con el AQP reportado en su etiqueta (Tabla 18), excepto por el valor de cenizas que es superior (etiqueta 5% máximo, AQP 8.97%). Lo que indica que la digestibilidad del alimento podría ser más baja de lo esperado; ya que se ha establecido, de acuerdo a la relación proteína-cenizas, que a mayor contenido de ceniza, menor será la digestibilidad del producto y viceversa (Gutierrez Olvera y Cossio Carpintero, 2014).

Se observó que, al adicionar las fuentes de pigmento, el porcentaje de cenizas no varía de forma significativa (Tabla 8).

Tabla 18. Análisis garantizado reportado en etiquetas de ingredientes utilizados

	El pedregal "Tilapia 25-5"	Super-Foods "Espirulina"	Pragná "Paprika"
Humedad	12 % (máx)	-	-
Proteína	25 % (min)	65 %	14 %
Grasa	5 % (min)	5 %	13 %
Fibra	6 % (máx)	20%	20%
Cenizas	5% (máx)	-	-
Carbohidratos	-	17%	35 %

La variación en el porcentaje de humedad entre las dietas preparadas se asocia al método empleado para su secado; ya que, al extender las mezclas, previo al secado en estufa, no se obtuvo un grosor completamente uniforme. Sin embargo, se buscó alcanzar un porcentaje de humedad menor al 13% para evitar la proliferación de hongos y bacterias (Olvera Novoa, Martínez Palacios y Real de León, 1993).

Para los peces, como para otros animales, no se tiene un verdadero requerimiento de proteínas, pero se sabe que requieren de una mezcla equilibrada de aminoácidos esenciales y no esenciales. Por ello, en numerosas investigaciones se han utilizado diversas dietas semipurificadas y purificadas para estimar las necesidades de proteínas de los peces (Halver y Hardy, 2002).

Los requerimientos de proteínas descritos para varias especies de peces, se han estimado a partir de curvas de dosis-respuesta, proponiendo la cantidad mínima de proteína en la dieta que resultó en un crecimiento máximo. Por lo que algunos de estos valores requeridos se han sobreestimado debido a una consideración inadecuada de factores dietéticos como: la concentración de energía de la dieta, el perfil de aminoácidos de la proteína de la dieta y la digestibilidad de la proteína de la dieta (Halver y Hardy, 2002).

El porcentaje de proteína en alimentos para peces de ornato sugerido por SAGARPA (2012) es de 35-45 % PC. Por otra parte, Halver y Hardy (2002) estiman el requerimiento de proteína para cíclidos como la Tilapia azul (*Oreochromis aureus*) en 34%, si la fuente de dicha proteína es caseína o albúmina de huevo; para Tilapia Mozambique (*Oreochromis mossambicus*) en 40% siendo carne de pescado la fuente; y para Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) en 30% teniendo como fuente a la caseína.

Con base en lo anterior, se puede considerar que el porcentaje de proteína aportado por el alimento "Tilapia 25-5" (35.5% PC MS) no es el adecuado para cíclidos de consumo, y aportaría el porcentaje mínimo establecido para peces de ornato. Al adicionar las fuentes de pigmento el porcentaje de proteína varía, siendo dieta con espirulina la que mayor porcentaje alcanzó (37.32%PC MS), y la dieta con achiote

la de menor (33.55%PC MS), quedando solo la primera dentro del rango establecido por SAGARPA (2012) para peces de ornato.

Debemos considerar también, las fuentes de proteína, ya que los porcentajes antes mencionados se determinaron utilizando fuentes proteicas altamente digestibles y con buenos perfiles de aminoácidos. La dieta en vida libre del cíclido Rey Midas está compuesta en gran parte por algas, cianobacterias, insectos y peces (Barlow, 1976); por lo que en cautiverio requiere una dieta cuyas fuentes de proteína tengan altos porcentajes de digestibilidad y un adecuado balance de aminoácidos.

Los principales ingredientes del alimento "Tilapia 25-5" son: harina de pollo, harina de sangre, pasta de soya, trigo y sus subproductos, aceite de pescado, lecitina de soya, premix vitaminas; podemos considerar que el perfil de aminoácidos y la digestibilidad de la proteína que este alimento proporciona, se encuentran por debajo de los requerimientos del cíclido Rey Midas.

Los lípidos, son el nutriente principal para proporcionar energía en las dietas de peces, tiene un importante efecto ahorrador de proteínas en la mayoría de las especies acuícolas. Debido a las interacciones metabólicas entre proteínas, lípidos y carbohidratos, la definición de los requerimientos exactos de lípidos en la dieta para los peces no es particularmente significativa. Sin embargo, se sabe que en general, los lípidos en un rango de 10 a 20% del peso seco de la dieta son suficientes para permitir que las proteínas se utilicen eficazmente para el crecimiento de los peces sin depositar un exceso de lípidos en los tejidos de los peces (Halver y Hardy, 2002).

El alimento "Tilapia 25-5" tiene 6.88% lípidos en MS, estando por debajo del rango antes mencionado. Por ello, podemos pensar que, parte de las proteínas de la dieta podrían destinarse a producir energía, dejando a un lado el resto de sus funciones (estructural, enzimática, hormonal, de transporte, etc.), y afectando el desarrollo de los peces.

Al adicionar los diferentes pigmentos a la dieta, el porcentaje de lípidos se modifica, sin embargo, no es significativo (Tabla 8), quedando de igual forma, debajo del

rango propuesto por Halver y Hardy (2002) [dieta con achiote: 7.88%EE MS, espirulina: 7.51%EE MS, grana:7.9%EE MS, jamaica: 6.97%EE MS, paprika 7.9%EE MS].

Los valores de humedad y proteína obtenidos en el AQP de la semilla de achiote (Tabla 8) corresponde a los reportados por Valério *et al.*, (2015) [6.75%H, 11.5%PC, 2.23%EE, 28.48%FC]. Los valores de extracto etéreo y fibra son mayor y menor a los reportados, respectivamente. Estas variaciones pueden deberse a la etapa en que fueron cosechadas, el proceso de secado, así como el tipo de semilla que se utilizó (con cascarilla o limpia).

Los porcentajes obtenidos en el AQP de la espirulina corresponden a los reportados en su etiqueta (Tabla 18), a excepción de la fibra, lo que podemos asociar al método que se utilizó para realizar la determinación.

Los valores de proteína (32.27%) y cenizas (12%) reportados por Gómez (2006), para grana cochinilla son similares a los obtenidos en el AQP realizado en este trabajo. Por otro lado, los valores de lípidos (1.59%), fibra (9.38%) y carbohidratos (20%); son diferentes a los obtenidos (Tabla 8). Esta variación la asociamos a la especie utilizada, ya que la grana que reporta Gómez es llamada "grana fina" (*Dactylopius coccus*) y la empleada en esta investigación es la grana plaga o común (*Dactylopius spp.*), cuya característica es producir una gruesa capa cerosa como protección; lo que puede elevar los valores de lípidos y carbohidratos, reduciendo por consecuencia el de fibra.

Los valores obtenidos en el AQP realizado a los cálices secos de jamaica (Tabla 8), son similares a los reportados por Pérez (2013) [10.64% H, 0.293% EE, 9.44% PC, 10.02% FC, 72%CHO's, 7.36% C].

Los valores obtenidos en el AQP realizado a la paprika (Tabla 8), corresponden a los valores del análisis garantizado reportados en la etiqueta del producto (tabla 18)

A diferencia de lo reportado por (Lee, Pham y Lee, 2010), no se encontraron diferencias significativas en el contenido de proteína a nivel muscular (Tabla 9), en los peces que consumieron dietas adicionadas con carotenoides.

Las antocianinas (jamaica) se eligieron como pigmentos dietéticos, en parte, por sus propiedades antioxidantes conocidas (Longo, Vasapollo y Rescio, 2005; Galicia-Flores et al., 2008). Actualmente se sabe muy poco sobre las propiedades de pigmentación de la piel de estos compuestos. Por estas razones es de suma importancia conocer la concentración de antocianinas en la jamaica a utilizar (fuente); al igual que la cantidad que contiene el alimento una vez elaborado, para determinar si hay una pérdida del pigmento por el procesamiento.

El contenido de antocianinas determinado en los cálices deshidratados de jamaica (Tabla 10), es superior al reportado para la variedad de jamaica "China" por Ramírez-Cortés *et al.* (2011) [1006.05 mg/100g cálices secos de jamaica]; es aún mayor a la reportada por Salinas-Moreno *et al.* (2012) [746.2 mg/100g cálices secos de jamaica], sin embargo, es muy similar a la variedad Sudán reportada por este mismo autor [1,488 mg/100g cálices secos de jamaica].

Al haber adquirido los cálices en un mercado no tenemos la certeza de que la jamaica pertenezca a una variedad en particular; ya que, en este tipo de comercios, llaman a todos los cálices oscuros variedad "china" y a todos los claros "nacional". Por esta razón sería conveniente conseguir los cálices directamente de un productor particular, que conozca la variedad que cultiva; para tener control sobre las variaciones del ingrediente y los nutrientes que aporta.

Es poco lo que sabe sobre las funciones del ácido carmínico dentro de la grana cochinilla. Se sugiere su uso como medio de "defensa", al alejar a los depredadores por su color rojo intenso. Por otro lado, se ha planteado la participación del ácido carmínico en el sistema inmunitario de la cochinilla del nopal; ya que se ha visto que cuando la hemolinfa, que contiene ácido carmínico, se pone en contacto con componentes de paredes celulares pertenecientes a bacterias y hongos, se activa la respuesta inmunitaria de los artrópodos, para esto ocurre la formación de un

coágulo, donde las proteínas son “secuestradas”, desapareciendo además el color rojo de la fase soluble (De La Cruz Hernández-Hernández et al., 2005). Por otra parte, en la industria alimentaria, cosmética, textil y farmacéutica; el ácido carmínico es considerado de los mejores pigmentos, por su color y estabilidad (IMBAREX, 2019).

Al saber tan poco sobre los posibles efectos del carmín, al proporcionarlos a otros organismos; es importante conocer la concentración de este pigmento tanto en la grana cochinilla como en el medio de entrega que se utilizará, en este caso la dieta.

El porcentaje de ácido carmínico determinado en la grana común o silvestre utilizada en esta investigación (Tabla 11) fue similar a lo reportado por Gómez (2006) [máximo un 7% del peso seco de la grana cochinilla]; y mantuvo su concentración al adicionar la grana como fuente de pigmento a la dieta.

A pesar de que los peces que consumieron alimento con achiote tuvieron un mejor desarrollo en las variables peso, longitud total y altura máxima que los que consumieron otras dietas, siendo los grupos alimentados con dietas adicionadas con espirulina y jamaica los que tuvieron el menor desarrollo (Figuras 12, 14, 16), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos para estas tres variables.

Este comportamiento lo podemos asociar a la cantidad de lípidos presente en la dieta (discutido anteriormente); ya que, al existir un mayor aporte de ácidos grasos en la dieta, las proteínas no serán destinadas a producir energía, si no que se utilizarán de forma eficaz en la creación de nuevos tejidos, mejorando el crecimiento de los ejemplares. A pesar de que la dieta que contiene grana cochinilla presenta altos niveles de extracto etéreo cuantificables, los peces de dicho grupo, no demuestra un desarrollo tan eficiente como grupo de dieta con achiote, ya que gran parte de estos lípidos cuantificados provienen de la cera que produce la cochinilla como protección, y esta no puede ser utilizada por los peces como fuente de energía.

Se evaluó la pigmentación cutánea con el propósito de determinar si al aumentar la concentración de carotenoides en tejidos del cíclido Rey Midas (*Amphilophus citrinellus*), se lograba estimular la muerte y degradación de la capa superficial de melanóforos, característica que le da a los juveniles de esta especie su apariencia "barrada"; lo cual se vería reflejado en la coloración de la piel, volviéndose más luminosa/clara ( $\Delta L+$ ), más rojiza ( $\Delta a+$ ) y más amarillenta ( $\Delta b+$ ), en diferentes grados, al consumir dietas adicionadas con fuentes de pigmentos naturales.

Sin embargo, los valores obtenidos no indican ningún cambio estadísticamente significativo entre los grupos (Tabla 15). Por lo que se interpreta que, a pesar de aumentar la concentración de carotenoides en los tejidos de los cíclidos jóvenes, la capa de melanóforos que impiden la visualización del característico color "dorado" de esta especie, se mantiene.

Las variaciones que se presentaron en estas mediciones pueden estar asociadas a diferentes factores, como son:

- Evaluación de una zona diferente al día 0 y al día 60. Dado que no se tenía marcada exactamente el área donde se realizó la primera medición, al hacer la segunda medición se pudo realizar en un área diferente. Dado que la metamorfosis de color en estos peces no sigue un patrón regular, podemos evaluar una zona donde la capa de los melanóforos este íntegra, o bien una zona donde no haya muchos melanóforos, pero la melanina se encuentre condensada (Henning *et al.*, 2013).
- Error durante la medición. La capa de moco que recubre a los peces pudo causar interferencia al reflejar una parte del haz de luz, los bordes irregulares en el cuerpo del pez también pueden causar alteraciones, el objetivo del colorímetro utilizado era muy grande para los juveniles por lo que una parte de la luz no tocara la superficie del pez (CIE (International Commission on Illumination), 2019).
- Cambios fisiológicos de color en el pez. Debido al estrés causado por el manejo que recibieron los ejemplares durante las mediciones, los

cromatóforos pueden generar cambios de tono o patrones de coloración en el pez (Fujii, 2000).

También se debe considerar que en un par de las mediciones realizadas ( $\Delta a$  y  $\Delta b$  en el dorso) el nivel de significancia no estuvo tan alejado del nivel deseado. Lo que podría indicar que, si se aumenta la cantidad de individuos en el estudio y se busca reducir los factores de variación antes mencionados, los cambios en las ondas (cambio en la coloración) podrían apreciarse estadísticamente.

La cuantificación de carotenoides totales mostró que el alimento "Tilapia 25-5" tiene una concentración de carotenoides muy baja (Tabla 17), por lo que al usarlo como alimento para peces de ornato, estos no podrán expresar los colores característicos de su especie en su totalidad. Teniendo en la producción peces con colores opacos, siendo poco atractivos para los acuaristas, y por ello alcanzando un valor muy bajo en el mercado.

Las fuentes naturales de carotenoides: paprika, achiote y espirulina, fueron los ingredientes con mayor concentración de carotenoides totales (Tabla 17). Por su parte la jamaica y grana cochinilla demostraron tener una cantidad baja de carotenoides totales, se debe considerar que el pigmento principal en estos ingredientes no son los carotenoides, sin embargo, tienen una concentración de carotenoides totales mayor a la contenida en el alimento "Tilapia 25-5".

La concentración total de carotenoides en músculo y piel (Figuras 18, 19) se vio afectada por las fuentes de pigmento adicionadas a la dieta, sin embargo, estos cambios no fueron estadísticamente significativos; se puede asociar al tamaño de muestra ( $n=2$ ) destinado a esta medición.

Podemos observar que en los peces alimentados con la dieta control, la concentración de carotenoides totales en músculo ( $0.19 \mu\text{g/g}$  tejido húmedo) fue menos del 15% de la concentración presente en piel ( $1.31 \mu\text{g/g}$  tejido húmedo). Porcentajes similares o menores se observan en los tejidos de peces pertenecientes a los otros grupos, achiote 18.3%, espirulina 6.79%, grana 5.1%, jamaica 8.18%, paprika 14.5%. Se puede concluir que a diferencia de peces como el salmón que

depositan la mayor cantidad de carotenoides en músculo (Rajasingh *et al.*, 2006), los peces de ornato depositan la mayoría de carotenoides en piel.

También se debe considerar que la cantidad de carotenoides depositados en piel o músculo varía de acuerdo a la fuente presente en la dieta; como se puede apreciar en las figuras 18 y 19. En el caso de músculo la dieta que logró mayor concentración de carotenoides fue la que contenía achiote, seguida de la de jamaica y la de espirulina. Mientras que, en piel, la dieta que causó una mayor concentración de carotenoides en totales fue la adicionada con espirulina, seguida de la de jamaica y la de grana.

Como otros autores han reportado en diferentes especies, adicionar espirulina a la dieta de organismos acuáticos aumenta la concentración de carotenoides en los tejidos (Ako, Tamaru y Yamamoto, 2000; Gouveia *et al.*, 2003; Somanath y Jasmin, 2013).

El achiote demostró tener una disposición mayor a depositar carotenoides en músculo que el resto de las fuentes de pigmento, sin embargo, la cantidad depositada en piel fue mayor que la de músculo.

La concentración de carotenoides provenientes de la paprika no sobresale en ninguno de los dos tejidos comparada con las concentraciones alcanzadas por otras fuentes de pigmento.

Tanto en piel como en músculo la jamaica aumentó la concentración de carotenoides. Sin embargo, al contener una baja cantidad de ellos originalmente, se puede suponer que en el cuerpo de los peces, las antocianinas suplen a los carotenoides en su función como antioxidante en los tejidos (Galicia-Flores *et al.*, 2008). Lo que permitiría a los carotenoides seguirse almacenando como fuente de pigmento en los cromatóforos y músculo, aumentando así su concentración en los tejidos.

La dieta adicionada con grana cochinilla, apenas superó la concentración total de carotenoides lograda por la dieta control a nivel muscular. Sin embargo en piel

supero las concentraciones alcanzadas por la dieta control y las adicionadas con paprika y achiote; a pesar de tener una concentración de carotenoides totales baja como ingrediente. Debido a que se desconocen las propiedades que el ácido carmínico pueda tener en los organismos al consumirlo, se pueden suponer algunas posibles explicaciones para este resultado como que:

- El ácido carmínico podría favorecer el metabolismo y almacenamiento de carotenoides en los cromatóforos.
- La cera de la grana cochinilla podrían transformarse en algún pigmento (carotenoide), que sea capaz de almacenarse en los cromatóforos.

Sin embargo, se requiere realizar más investigación en torno a este pigmento y sus posibles aplicaciones biológicas. Se sugiere usarlo como fuente de pigmento en otras especies de peces, en los que el cambio de coloración pueda ser apreciado de forma sencilla. O bien realizar estudios histológicos o con HPLC para determinar qué tipo de carotenoides almacenaron los cromatóforos de los peces que consumen grana cochinilla, o si el ácido carmínico se almacena directamente en los cromatóforos.

## 6. CONCLUSIÓN

El cíclido Rey Midas (*Amphilophus citrinellus*), sí presenta una acumulación de carotenoides en sus tejidos, principalmente en piel, dependiendo de la disponibilidad y la fuente de estos en la dieta. Se requiere aumentar el número de ejemplares en estudio para determinar cuál de las fuentes de pigmento utilizadas en esta investigación produce una mayor concentración de carotenoides en la piel de estos cíclidos.

Por otra parte, no se tienen datos suficientes para suponer que el aumento en la concentración de carotenoides en los tejidos, pueda iniciar o acelerar el proceso de metamorfosis de color en este cíclido. Durante la fase de alimentación era visible un cambio en el color de la piel, más al evaluar los resultados de colorimetría con modelos estadísticos, la adición de pigmentos no parece favorecer el cambio de color en el cíclido Rey Midas.

Sin embargo, factores como errores de medición (calibración del equipo, estabilidad durante la medición, irregularidades de la piel, etc.) y un número reducido de muestra (grupos: n=4), pudieron afectar los resultados. Se sugiere realizar otro estudio, y adicional a reducir los factores de error, observar por medio de histología el desarrollo, mantenimiento o muerte de los melanóforos.

Se demostró que el alimento para tilapia, comúnmente utilizado en granjas de peces ornamentales, no cubre los requerimientos nutricionales de los peces de ornato; lo que repercutirá en el desarrollo de los organismos y su posterior comercialización.

El adicionar fuentes de pigmento a la dieta base, modificó las proporciones de sus nutrientes, lo que parecía favorecer el crecimiento de los cíclidos. Sin embargo, este cambio no es estadísticamente significativo.

Dietas que incluían jamaica y grana cochinillas mostraron favorecer la concentración de carotenoides en los tejidos, sin embargo se desconoce si el efecto es causado

por las fuentes de pigmento (antocianinas y carmín) y sus propiedades como colorantes; o bien, si es por alguna de sus características particulares (por ejemplo, como antioxidantes).

## 7. REFERENCIAS

1. Ahi, E. P. *et al.* (2020) “Comparative transcriptomics reveals candidate carotenoid color genes in an East African cichlid fish”, *BMC genomics*, 21(1), p. 54.
2. Ako, H., Tamaru, C. S. y Yamamoto, M. (2000) “Achieving Natural Coloration in Fish Under Culture”, *UJNR Technical Report No. 28*, pp. 1–4.
3. AOAC (2005) *Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines. Official Method 2005.02*. Official Methods of Analysis.
4. AOAC (2015) *Association of Official Analytical Chemists*. 15a ed, *Official Methods of Analysis*. 15a ed.
5. Barlow, G. W. (1976) “The Midas Cichlid In Nicaragua”, *Investigations of the Ichthyofauna of Nicaraguan Lakes*, 23, pp. 332–358.
6. Barlow, G. W. (1986) “Mate choice in the monogamous and polychromatic Midas cichlid, *Cichlasoma citrinellum*”, *Journal of Fish Biology*, 29, pp. 123–133.
7. Baron, M. *et al.* (2008) “The effect of dietary pigments on the coloration and behaviour of flame-red dwarf gourami, *Colisa lalia*”, *Animal Behaviour*, 75(3), pp. 1041–1051.
8. Bjerkeng, B., Hatlen, B. y Jobling, M. (2000) “Astaxanthin and its metabolites idoxanthin and crustaxanthin in flesh, skin, and gonads of sexually immature and maturing Arctic charr (*Salvelinus alpinus* (L.))”, *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*, 125(3), pp. 395–404.
9. Büyükçapar, H. M., Yanar, M. y Yanar, Y. (2007) “Pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with carotenoids from marigold flower (*Tagetes erecta*)

- and red pepper (*Capsicum annum*)”, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 31(1), pp. 7–12.
10. de Carvalho, C. C. C. R. y Caramujo, M. J. (2017) “Carotenoids in aquatic ecosystems and aquaculture: A colorful business with implications for human health”, *Frontiers in Marine Science*, 4(APR).
  11. CIE (International Commission on Illumination) (2019) “ISO/CIE 11664-4:2019 Colorimetry — Part 4: CIE 1976 L\*A\*B\* Colour Space”, p. 8.
  12. Clotfelter, E. D., Ardia, D. R. y McGraw, K. J. (2007) “Red fish, blue fish: Trade-offs between pigmentation and immunity in *Betta splendens*”, *Behavioral Ecology*, 18(6), pp. 1139–1145.
  13. CONAPESCA (2017) “Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2017”, *SAGARPA*, 52(1), pp. 1–300.
  14. Dickman, M. C., Schliwa, M. y Barlow, G. W. (1988) “Melanophore death and disappearance produces color metamorphosis in the polychromatic Midas cichlid (*Cichlasoma citrinellum*)”, *Cell and Tissue Research*, 253(1), pp. 9–14.
  15. Diler, I. y Dilek, K. (2002) “Significance of pigmentation and use in aquaculture”, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2, pp. 97–99.
  16. Dornelas, C. S. M. *et al.* (2015) “Desenvolvimento na maturação de frutos e sementes de Urucum (*Bixa orellana* L.)”, *Scientia Plena*, 11(1), pp. 1–8.
  17. Evans, M. R. y Norris, K. (1996) “The importance of carotenoids in signaling during aggressive interactions between male firemouth cichlids (*Cichlasoma meeki*)”, *Behavioral Ecology*, 7(1), pp. 1–6.
  18. FAO (2014) *El estado mundial de la pesca y la acuicultura, 2014*.
  19. Ferreira, J. M., Olsson, I. A. S. y Valentim, A. M. (2018) “Adult zebrafish euthanasia: efficacy of anaesthesia overdose versus rapid cooling”, *PeerJ*, pp. 1–18.
  20. Fox, D. L. (1979) *Biochromy*. Berkeley: Univ. of California Press.
  21. Fujii, R. (1993) “Cytophysiology of Fish Chromatophores”, *International Review of Cytology*, 143(C), pp. 191–216.
  22. Fujii, R. (2000) “The regulation of motile activity in fish chromatophores”, *Pigment Cell Research*, 13(5), pp. 300–319.

23. Galicia-Flores, L. A. *et al.* (2008) “Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada”, *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 14(2), pp. 121–129.
24. Galicia León, M. E. (2014) *Estudio de la compatibilidad de colorantes derivados del ácido carmínico en resina poliéster cristal y poliuretano*, *Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas*. Instituto Politécnico Nacional.
25. Gallego, R. y Gallego, M. R. (2006) “Oleorresinas de capsicum en la industria alimentaria”, *Revista Lasallista de Investigación*, 3(2), pp. 43–47.
26. Garcia-Chavarria, M. y Lara-Flores, M. (2013) “The use of carotenoid in aquaculture”, *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology*, 8(2), pp. 38–49.
27. García Hernández, A. *et al.* (2011) “Metodología diagnóstica en peces”, en Herrera Jardón, S. G. y Jiménez Yedra, A. (eds.) *Metodología diagnóstica Veterinaria*. México: UNAM-FMVZ, p. 380.
28. Garzón, M. A. G. *et al.* (2013) “Aplicación de la páprika extraída por fluidos supercríticos y microencapsulada por spray-drying en un producto embutido. Una alternativa como colorante natural”, *Revista Lasallista de Investigación*, 9(2), pp. 87–101.
29. Goda, M. *et al.* (2011) “Integumental reddish-violet coloration owing to novel dichromatic chromatophores in the teleost fish, *Pseudochromis diadema*”, *Pigment Cell and Melanoma Research*, 24(4), pp. 614–617.
30. Goda, M. y Fujii, R. (1995) “Blue Chromatophores in Two Species of Callionymid Fish”, *Zoological Science*, 12(6), pp. 811–813.
31. Gomes, E. *et al.* (2002) “Utilization of natural and synthetic sources of carotenoids in the skin pigmentation of gilthead seabream (*Sparus aurata*)”, *European Food Research and Technology*, 214(4), pp. 287–293.
32. Gómez, B. (2006) *Extracción y acetilación de los componentes de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa)*, *Tesis - Licenciatura*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
33. Gouveia, L. *et al.* (2003) “Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass”, *Aquaculture Nutrition*, 9(2), pp. 123–129.

34. Grether, G. F., Kolluru, G. R. y Nersissian, K. (2004) "Individual colour patches as multicomponent signals", *Biol. Rev.*, pp. 583–610.
35. Growth Lab at the Harvard University (2019) *Atlas of the Economic Complexity, Harvard University*. Disponible en: <http://atlas.cid.harvard.edu/>.
36. Gupta, S. K. *et al.* (2007) "Use of natural carotenoids for pigmentation in fishes", *Natural Product Radiance*, 6(1), pp. 46–49.
37. Gutierrez Olvera, C. y Cossio Carpintero, K. (2014) *Manual de nutrición y alimentación de perros y gatos*. México: FMVZ - UNAM.
38. Halver, J. E. y Hardy, R. W. (2002) *Fish nutrition*. 3a ed, *Fish Nutrition*. 3a ed. California, USA: Academic Press - Elsevier Science.
39. Henning, F. *et al.* (2013) "Transcriptomics of morphological color change in polychromatic Midas cichlids", *BMC Genomics*, 14(1).
40. Huarachi-Olivera, R. *et al.* (2015) "Adaptabilidad de *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* (Cyanophyta) en fotobiorreactor tubular cónico bajo condiciones ambientales", *IDESIA (Chile)*, 33(1), pp. 103–112.
41. Hudon, J. (1994) "Showiness, carotenoids and captivity: a comment on Hill (1992).", *The Auk*, 111(1), pp. 218–221.
42. IMBAREX (2019) *Natural colors and ingredients, IMBAREX*. Disponible en: <https://www.imbarex.com/es/>.
43. INAPESCA (2018) "Acuicultura-Peces de ornato Acuicultura comercial", *Gobierno de México*.
44. Kimler, V. A. y Taylor, J. D. (2002) "Morphological studies on the mechanisms of pigmentary organelle transport in fish xanthophores and melanophores", *Microscopy Research and Technique*, 58(6), pp. 470–480.
45. Kopec, R. E. *et al.* (2012) "Analysis Methods of Carotenoids", en *Analysis of Antioxidant-Rich Phytochemicals*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 105–148.
46. Kreit, E. *et al.* (2013) "Biological versus electronic adaptive coloration: How can one inform the other?", *Journal of the Royal Society Interface*, 10, pp. 1–13.
47. De La Cruz Hernández-Hernández, F. *et al.* (2005) "La cochinilla fina del nopal, colorante mexicano para el mundo", *Ciencia*, pp. 78–87.
48. Lee, C. R., Pham, M. A. y Lee, S. M. (2010) "Effects of dietary paprika and lipid

- levels on growth and skin pigmentation of pale chub (*Zacco platypus*)”, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(6), pp. 724–732. doi: 10.5713/ajas.2010.90462.
49. Lee, J., Durst, R. W. y Wrolstad, R. E. (2005) “Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study”, *Journal of AOAC International*, 88(5), pp. 1269–1278.
  50. Lin, S. M. *et al.* (2010) “Testing the Carotenoid Trade-Off Hypothesis in the Polychromatic Midas Cichlid, *Amphilophus citrinellus*”, *Physiological and Biochemical Zoology*, 83(2), pp. 333–342.
  51. Livengood, E. . J. y Chapman, F. . A. (2007) “The Ornamental Fish Trade: An Introduction with Perspectives for Responsible Aquarium Fish Ownership”, *IFAS Extension*, pp. 1–8.
  52. Longo, L., Vasapollo, G. y Rescio, L. (2005) “Identification of anthocyanins in *Rhamnus alaternus* L. berries”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), pp. 1723–1727.
  53. Luchini, L. y Panné, S. H. (2008) “Panorama actual del comercio internacional de peces ornamentales”, *Dirección de Acuicultura Subsecretaría de Pesca y Acuicultura- SAGPyA*, pp. 1–27.
  54. Mantovani, N. C. *et al.* (2013) “Avaliação de genótipos de urucum (*Bixa orellana* L.) por meio da caracterização morfológica de frutos, produtividade de sementes e teor de bixina”, *Ciencia Florestal*, 23(2), pp. 355–363.
  55. Marmion, D. M. (1984) *Handbook of U.S. Colorants for Foods, drugs and cosmetics*. 2a ed. John Wiley & Sons.
  56. Martinez Pateiro, H. (2017) *Diagnóstico técnico productivo de implementación de innovaciones tecnológicas en productores de pez de ornato en el estado de Morelos, México*. Universidad Nacional Autónoma de México.
  57. McKaye, K. R. *et al.* (2002) “Behavioral , Morphological and Genetic Evidence of Divergence of the Midas Cichlid Species Complex in Two Nicaraguan Crater Lakes”, *Cuadernos de Investigación de la U.C.L*, 12, pp. 19–47.
  58. Meyers, S. P. (2000) “Papel del Carotenoide Astaxantina en la Nutrición de

- Especies Acuáticas”, *Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, (Burton 1989), pp. 473–491.
59. Nilsson, H. (2000) “Melanosome and erythroosome positioning regulates cAMP-induced movement in chromatophores from spotted triplefin, *Grahamina capito*”, *Journal of Experimental Zoology*, 287(3), pp. 191–198.
60. Obika, Ma. y Meyer-Rochow, V. B. (1990) “Dermal and Epidermal Chromatophores of the Antarctic Teleost *Trematomus bernacchii*”, *Pigment Cell Research*, 3(1), pp. 33–37.
61. Oldfield, R. G. (2011) “Aggression and welfare in a common aquarium Fish, the Midas Cichlid”, *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 14(4), pp. 340–360.
62. Olvera Novoa, M. A., Martínez Palacios, C. A. y Real de León, E. (1993) *Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos*, FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/3/AB489S/AB489S00.htm>.
63. Otsuki, Y. *et al.* (2020) “Identification of kit-ligand a as the Gene Responsible for the Medaka Pigment Cell Mutant few melanophore”, *G3 (Bethesda, Md.)*, 10(1), pp. 311–319.
64. Papa, F., Mabel, M. y Domingos, A. A. (2015) “Influence of natural and synthetic carotenoids on the color of egg yolk”, *Scientia Agricola*, 73(3), pp. 234–242.
65. Parente, I. P. *et al.* (2018) “Cassava bagasse and annatto colorific (*Bixa orellana* L.) in diets for slow-growing broilers from 30 to 90 days of age”, *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., Salvador*, 19(1519 9940), pp. 58–68.
66. Pérez, V. (2013) *Evaluación de la capacidad pigmentaria de harina de jamaica (Hibiscus sabdariffa) en peces de ornato (Carassius auratus)*, Tesis - Doctorado en ciencias. Instituto Politécnico Nacional.
67. Ponce Granillo, C. V., Monroy Dosta, M. del C. y Castro Mejía, J. (2019) “Use of *Tagetes erecta*, *Capsicum annum* and probiotic *Rhodococcus* sp. for growth and coloration increase in *Pterophyllum scalare*”, *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 7(2), pp. 52–55.
68. Quintana López, A. *et al.* (2018) “Carotenoides . ¿Qué son y para qué se usan?”, *Ciencia*, 69(4), pp. 50–55.
69. Rajasingh, H. *et al.* (2006) “Carotenoid dynamics in Atlantic salmon”, *BMC*

- Biology*, 4(10), pp. 1–15.
70. Ramírez-Cortés, B. *et al.* (2011) “Cambios en tamaño y características químicas de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) durante su maduración”, *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 17(2 SPL), pp. 19–31.
71. Ramírez, C. M., Mendoza, R. A. y Aguilera, C. G. (2010) *Estado actual y perspectivas de la producción y comercialización de peces de ornato de agua dulce en México*. México: Universidad Autónoma de Nuevo León.
72. Ramírez, L. y Olvera, R. (2006) “Uso tradicional y actual de *Spirulina* sp. (*Arthrospira* sp.)”, *Interciencia*, 31(9), pp. 657–663.
73. Rangel Estrada, S. E., Ramírez Rojas, S. y Osuna Canizalez, F. de J. (2013) *Manejo de picudo de nopal, cochinilla y mancha negra en Morelos*. México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
74. Romero Maza, L. D. los Á. *et al.* (2017) “Producción de pigmentos procedentes de *Arthrospira maxima* cultivada en fotobiorreactores”, *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(1), pp. 108–114.
75. SAGARPA (2012) “Carta Nacional Acuícola”, *Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación - Diaro Oficial*, pp. 33–112.
76. Salinas-Moreno, Y. *et al.* (2012) “Color en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y su relación con características fisicoquímicas de sus extractos acuosos”, *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 18(3), pp. 395–407.
77. Sánchez Juan, R. (2013) “La química del color en los alimentos”, *Química Viva*, 12(3), pp. 234–246.
78. Scabini, V. *et al.* (2011) “Reproductive performance of gilthead seabream (*Sparus aurata* L., 1758) fed two combined levels of carotenoids from paprika oleoresin and essential fatty acids”, *Aquaculture Nutrition*, 17(3), pp. 304–312.
79. SIAP-SENASICA (2017) *Atlas Agroalimentario 2017*, SAGARPA.
80. Simoes, A. (2019) *The Observatory of Economic Complexity, MIT - Media Lab Macro Connections*. Disponible en: <https://oec.world/es/resources/about/>.
81. Somanath, B. y Jasmin, K. J. (2013) “Hibiscus Petals and Spirulina Supplemented Diet Induced Carotenoid Changes in Freshwater Gold Fish *Carassius Auratus*”, *International Journal of Pure and Applied Zoology*, 1(4), pp.

352–362.

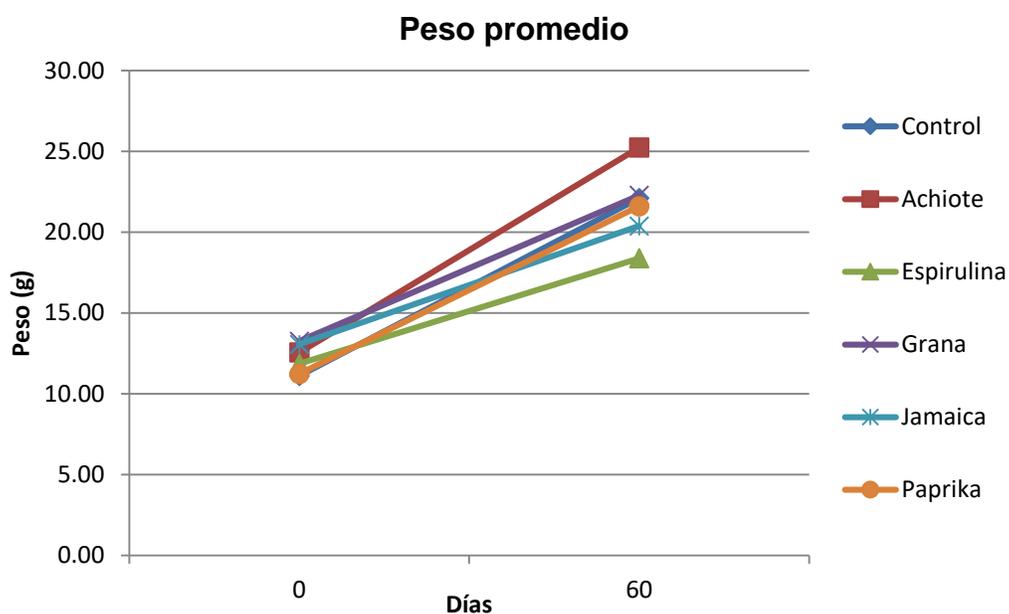
82. Valério, M. A. *et al.* (2015) “Annatto seed residue (*Bixa orellana* L.): Nutritional quality”, *Food Science and Technology*, 35(2), pp. 326–330.
83. Wang, Y. J., Chien, Y. H. y Pan, C. H. (2006) “Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*”, *Aquaculture*, 261(2), pp. 641–648.
84. Whitaker, J. (2001) “Detection and Measurement of Carotenoids by UV / VIS Spectrophotometry”, en *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. California, USA: John Wiley & Sons, Inc, p. 1203.
85. Yilmaz, S., Ergün, S. y Soytaş, N. (2013) “Enhancement of growth performance and pigmentation in red *Oreochromis mossambicus* associated with dietary intake of astaxanthin, paprika, or capsicum”, *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, 65(1).
86. Zhao, X. *et al.* (2008) “Composition and thermal stability of anthocyanins from Chinese purple corn (*Zea mays* L.)”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), pp. 10761–10766.

## Anexo 1. Peso

Peso promedio  $\pm$  D.E (g) de los ejemplares por grupos.

Grupo	0 días	60 días
Control	11.11 $\pm$ 1.46 <sup>a</sup>	22.10 $\pm$ 5.26 <sup>a</sup>
Achiote	12.55 $\pm$ 1.72 <sup>a</sup>	25.23 $\pm$ 1.26 <sup>a</sup>
Espirulina	11.85 $\pm$ 1.81 <sup>a</sup>	18.38 $\pm$ 3.21 <sup>a</sup>
Grana	13.25 $\pm$ 0.81 <sup>a</sup>	22.28 $\pm$ 5.42 <sup>a</sup>
Jamaica	13.05 $\pm$ 0.61 <sup>a</sup>	20.38 $\pm$ 3.29 <sup>a</sup>
Paprika	11.22 $\pm$ 1.19 <sup>a</sup>	21.60 $\pm$ 4.46 <sup>a</sup>

ANOVA de un factor	P=
Entre tratamientos	0.3244
En el tiempo	0.0001
Tiempo*Tratamientos	0.2824



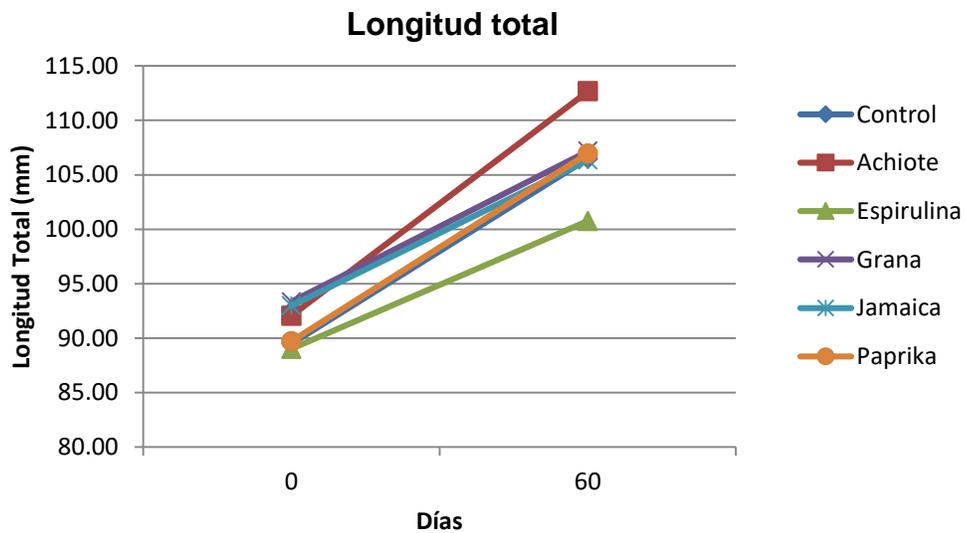
Peso promedio (g) de los ejemplares por grupos a los 0 y 60 días .

## Anexo 2. Longitud total

Longitud total promedio  $\pm$  D.E (mm) de los ejemplares por grupos

Grupo	0 días	60 días
Control	89.50 $\pm$ 4.95 <sup>a</sup>	106.48 $\pm$ 8.13 <sup>a</sup>
Achiote	92.05 $\pm$ 2.75 <sup>a</sup>	112.66 $\pm$ 2.67 <sup>a</sup>
Espirulina	89.01 $\pm$ 4.26 <sup>a</sup>	100.76 $\pm$ 5.94 <sup>a</sup>
Grana	93.34 $\pm$ 2.02 <sup>a</sup>	107.17 $\pm$ 8.47 <sup>a</sup>
Jamaica	92.98 $\pm$ 1.51 <sup>a</sup>	106.36 $\pm$ 5.37 <sup>a</sup>
Paprika	89.72 $\pm$ 2.84 <sup>a</sup>	106.96 $\pm$ 5.27 <sup>a</sup>

ANOVA de un factor	P=
Entre tratamientos	0.2246
En el tiempo	0.0001
Tiempo*Tratamientos	0.3105



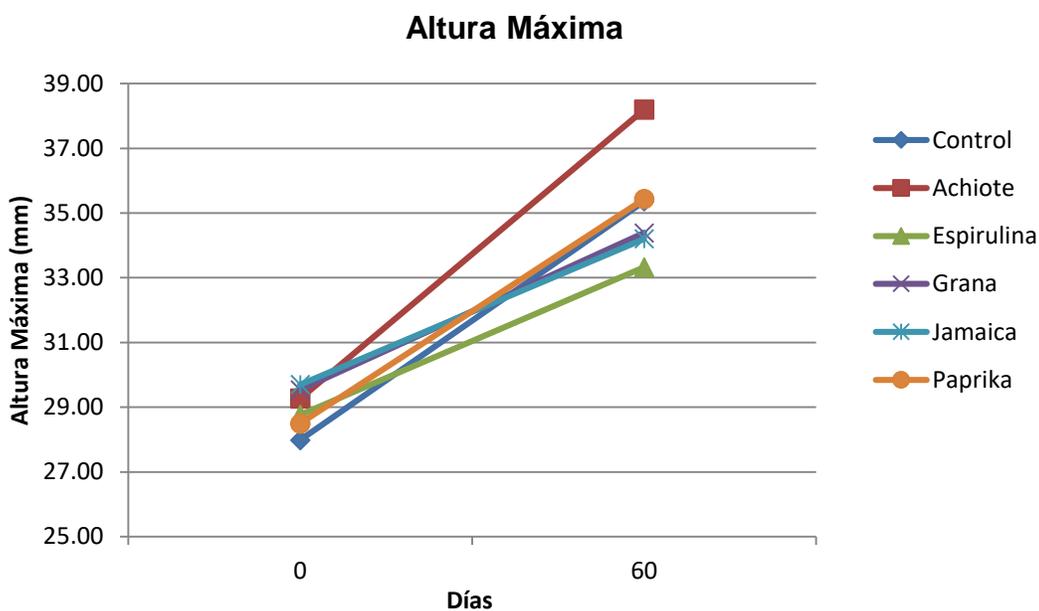
Longitud total promedio (mm) de los ejemplares por grupos a los 0 y 60 días

### Anexo 3. Altura máxima

Altura máxima promedio  $\pm$  D.E (mm) de los ejemplares por grupos

Grupo	0 días	60 días
Control	27.98 $\pm$ 1.37 <sup>a</sup>	35.36 $\pm$ 1.91 <sup>a</sup>
Achiote	29.26 $\pm$ 1.57 <sup>a</sup>	38.20 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>
Espirulina	28.76 $\pm$ 1.78 <sup>a</sup>	33.32 $\pm$ 1.97 <sup>a</sup>
Grana	29.53 $\pm$ 0.57 <sup>a</sup>	34.39 $\pm$ 3.10 <sup>a</sup>
Jamaica	29.70 $\pm$ 0.69 <sup>a</sup>	34.20 $\pm$ 1.36 <sup>a</sup>
Paprika	28.49 $\pm$ 1.35 <sup>a</sup>	35.43 $\pm$ 2.75 <sup>a</sup>

ANOVA de un factor	P=
Entre tratamientos	0.1817
En el tiempo	0.0001
Tiempo*Tratamientos	0.0551



Altura máxima promedio (mm) de los ejemplares por grupos a los 0 y 60 días.

### Anexo 4. Pigmentación cutánea

Cambio en la coloración cutánea ( $\Delta L$ ,  $\Delta a$ ,  $\Delta b$ ) en los tres sitios de evaluación (opérculo, dorso y pedúnculo), por grupos experimentales y lado del pez

	Lado	$\Delta$	Control	Achiote	Espirulina	Grana	Jamaica	Paprika
Opérculo	Derecho	L	0.7475±6.78 <sup>a</sup>	4.60±6.50 <sup>a</sup>	4.97±5.15 <sup>a</sup>	3.07±15.12 <sup>a</sup>	1.45±3.85 <sup>a</sup>	3.14±7.92 <sup>a</sup>
		a	3.8675±2.91 <sup>a</sup>	3.05±8.84 <sup>a</sup>	0.80±4.29 <sup>a</sup>	0.20±1.69 <sup>a</sup>	2.35±8.32 <sup>a</sup>	-1.78±2.68 <sup>a</sup>
		b	-2.46±1.19 <sup>a</sup>	0.03±4.29 <sup>a</sup>	3.52±12.27 <sup>a</sup>	-4.15±4.19 <sup>a</sup>	-4.09±4.48 <sup>a</sup>	-5.74±2.13 <sup>a</sup>
	Izquierdo	L	3.82±10.81 <sup>a</sup>	6.91±16.29 <sup>a</sup>	5.30±8.68 <sup>a</sup>	3.74±9.45 <sup>a</sup>	4.72±10.24 <sup>a</sup>	4.84±10.67 <sup>a</sup>
		a	-1.62±2.19 <sup>a</sup>	-0.15±6.03 <sup>a</sup>	-1.29±6.88 <sup>a</sup>	-0.94±5.00 <sup>a</sup>	-1.57±-5.16 <sup>a</sup>	-5.16±2.37 <sup>a</sup>
		b	-4.31±2.25 <sup>a</sup>	-2.26±5.13 <sup>a</sup>	-0.97±7.51 <sup>a</sup>	-4.88±3.44 <sup>a</sup>	-4.96±2.82 <sup>a</sup>	-6.61±3.24 <sup>a</sup>
Dorso	Derecho	L	5.34±6.95 <sup>a</sup>	-1.54±6.22 <sup>a</sup>	2.43±6.09 <sup>a</sup>	3.16±11.44 <sup>a</sup>	8.48±5.46 <sup>a</sup>	3.08±7.44 <sup>a</sup>
		a	2.66±4.01 <sup>a</sup>	-0.52±2.18 <sup>a</sup>	1.43±1.96 <sup>a</sup>	-0.14±6.49 <sup>a</sup>	2.68±4.38 <sup>a</sup>	-1.10±2.61 <sup>a</sup>
		b	1.75±4.53 <sup>a</sup>	-1.45±5.25 <sup>a</sup>	2.22±7.34 <sup>a</sup>	-6.42±3.52 <sup>a</sup>	-4.30±3.78 <sup>a</sup>	-3.99±0.64 <sup>a</sup>
	Izquierdo	L	6.94±6.89 <sup>a</sup>	-1.73±7.74 <sup>a</sup>	-1.35±6.74 <sup>a</sup>	1.91±10.65 <sup>a</sup>	5.56±8.35 <sup>a</sup>	-2.09±4.65 <sup>a</sup>
		a	3.74±1.82 <sup>a</sup>	1.14±2.90 <sup>a</sup>	1.48±3.26 <sup>a</sup>	-0.14±4.71 <sup>a</sup>	2.13±2.21 <sup>a</sup>	-2.87±1.86 <sup>a</sup>
		b	2.93±2.89 <sup>a</sup>	-0.72±7.45 <sup>a</sup>	1.27±7.29 <sup>a</sup>	-5.82±2.90 <sup>a</sup>	-3.26±3.46 <sup>a</sup>	-4.54±1.57 <sup>a</sup>
Pedúnculo	Derecho	L	6.43±9.13 <sup>a</sup>	6.46±11.58 <sup>a</sup>	2.61±10.13 <sup>a</sup>	2.49±9.23 <sup>a</sup>	8.24±6.56 <sup>a</sup>	1.92±15.98 <sup>a</sup>
		a	2.11±1.52 <sup>a</sup>	3.26±1.26 <sup>a</sup>	1.19±2.60 <sup>a</sup>	-0.0025±2.58 <sup>a</sup>	2.32±1.96 <sup>a</sup>	1.00±1.61 <sup>a</sup>
		b	-3.05±2.43 <sup>a</sup>	-1.69±5.92 <sup>a</sup>	-1.25±6.70 <sup>a</sup>	-7.80±3.79 <sup>a</sup>	-5.27±3.65 <sup>a</sup>	-7.21±1.86 <sup>a</sup>
	Izquierdo	L	11.11±4.72 <sup>a</sup>	9.26±9.99 <sup>a</sup>	0.42±7.44 <sup>a</sup>	1.58±10.03 <sup>a</sup>	2.63±7.47 <sup>a</sup>	2.52±5.29 <sup>a</sup>
		a	1.76±1.38 <sup>a</sup>	1.51±1.77 <sup>a</sup>	0.22±2.23 <sup>a</sup>	0.19±2.95 <sup>a</sup>	2.13±1.34 <sup>a</sup>	0.38±1.69 <sup>a</sup>
		b	-0.89±1.35 <sup>a</sup>	-0.49±5.45 <sup>a</sup>	-0.60±7.36 <sup>a</sup>	-8.47±3.83 <sup>a</sup>	-4.47±4.32 <sup>a</sup>	-5.40±2.17 <sup>a</sup>

## Anexo 4. Pigmentación cutánea

Cambio de color ( $\Delta E$ ) por grupos experimentales y lado del pez

	Lado	Control	Achiote	Espirulina	Grana	Jamaica	Paprika
Opérculo	Derecho	7.76±2.04 <sup>a</sup>	10.06±6.68 <sup>a</sup>	11.42±8.47 <sup>a</sup>	12.30±9.11 <sup>a</sup>	9.30±4.60 <sup>a</sup>	9.01±5.53 <sup>a</sup>
	Izquierdo	10.14±6.10 <sup>a</sup>	16.03±7.49 <sup>a</sup>	11.79±5.90 <sup>a</sup>	10.64±5.17 <sup>a</sup>	10.13±7.26 <sup>a</sup>	13.16±5.54 <sup>a</sup>
Dorso	Derecho	8.98±5.37 <sup>a</sup>	7.54±1.23 <sup>a</sup>	9.14±0.72 <sup>a</sup>	12.49±6.76 <sup>a</sup>	11.76±2.93 <sup>a</sup>	7.81±4.43 <sup>a</sup>
	Izquierdo	9.37±6.03 <sup>a</sup>	9.43±3.42 <sup>a</sup>	8.29±5.01 <sup>a</sup>	11.07±5.53 <sup>a</sup>	9.34±5.62 <sup>a</sup>	7.03±2.71 <sup>a</sup>
Pedúnculo	Derecho	10.23±5.07 <sup>a</sup>	12.66±5.53 <sup>a</sup>	9.56±6.75 <sup>a</sup>	10.58±6.80 <sup>a</sup>	10.94±5.95 <sup>a</sup>	14.53±8.29 <sup>a</sup>
	Izquierdo	11.45±4.59 <sup>a</sup>	12.50±6.49 <sup>a</sup>	8.30±4.83 <sup>a</sup>	11.67±6.44 <sup>a</sup>	9.04±3.03 <sup>a</sup>	7.70±2.45 <sup>a</sup>

