

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE ACHIOTE (*Bixa orellana*) Y DE ZANAHORIA (*Daucus carota*) INCORPORADOS EN LA DIETA, SOBRE LA COLORACIÓN EXTERNA EN GUPPYS (*Poecilia reticulata*)

EVALUATION OF ANNATTO (*Bixa orellana*) AND CARROT (*Daucus carota*) EXTRACTS INCORPORATED IN THE DIET ON THE GUPPIES (*Poecilia reticulata*) EXTERNAL COLOUR

Marco A. Imués-Figueroa¹, Alvaro J. Burgos-Arcos², Diana M. Beltrán-Tumal³,
Luis A. Benavides-Mora³, Danny Y. Casanova-Díaz³

RESUMEN

La coloración externa es una de las características más importantes para determinar el valor de los peces ornamentales, además, la utilización de pigmentantes naturales adicionados a la dieta puede ser una estrategia para cambiar o intensificar el color. Con el fin de verificar esta hipótesis, en el presente trabajo se pretendió evaluar los cambios de la coloración externa en la especie *Poecilia reticulata*, variedad salvaje de cola redonda, utilizando dos pigmentos naturales obtenidos del achiote (*Bixa orellana*) y la zanahoria (*Daucus carota*), adicionados al alimento. Se utilizaron 144 peces con peso promedio de 1,2 g, distribuidos en 12 unidades experimentales, cada una constituida por un acuario de 15 galones y 12 animales, las cuales se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos que recibieron alimento con los siguientes tratamientos: (T1: sin pigmento, T2: con pigmento de achiote, T3: con pigmento de zanahoria, T4: con pigmentos de achiote y zanahoria), en un diseño completamente al azar. La evaluación del color fue realizado por un panel conformado por 12 personas previamente seleccionadas y entrenadas, utilizando la carta Munsell para los colores verde, rojo y azul. Los resultados permitieron establecer que los colores más frecuentes en esta especie son el naranja (28,32%) y el azul (23,04%), con forma irregular (45,05%) y ubicación en el cuerpo (54,54%), los que les permitieron clasificarlos como “Muy atractivos” en mayor proporción (54,5%). Aunque el análisis individual del color en la prueba de Kruskal-Wallis ($p > 0,05$), y el brillo y la saturación en una prueba de signos no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, un estudio multivariado, utilizando el análisis discriminante, demostró que existe un efecto significativo del uso de los pigmentantes de manera similar al achiote y la zanahoria. También se pudo establecer que hay permanencia del color en evaluación realizada 15 días después de retirar los pigmentantes. No hubo efecto de estos aditivos sobre el crecimiento y la mortalidad; tampoco se observó variación significativa en las características físico-químicas del agua de cultivo.

Palabras claves: *Poecilia reticulata*, pigmentantes, peces ornamentales, *Bixa orellana*, *Daucus carota*.

¹Zootecnista, Especialista en Computación, Especialista en Estadística, Máster en Acuicultura, Profesor Asociado, Departamento de Recursos Hidrobiológicos, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.

²Zootecnista, Máster en Biotecnología e Ingeniería Genética, PhD (C), Profesor Asociado, Departamento de Recursos Hidrobiológicos, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.

³Ingenieros en Producción Acuícola, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. E-mail: maimuez@yahoo.com.

ABSTRACT

The external color is one of the most important characteristics to determine the value of ornamental fish; besides, the use of natural pigments added to the diet may be a strategy to change or intensify the color. To test this hypothesis, this study intended to assess changes in the external coloration in the species *Poecilia reticulata*, wild variety of round tail, by using two natural pigments derived from the annatto (*Bixa orellana*) and carrot (*Daucus carota*), which were added to the food. For the study, 144 fish with an average weight of 1.2 g were used, and they were divided into 12 experimental units, each consisted of a 15-gallon aquarium and 12 animals. They were randomly distributed in four groups that were fed with the following treatments: (T1: no pigment, T2: annatto pigment, T3: carrot pigment, T4: annatto and carrot pigments). The evaluation of the color was conducted by a panel of 12 people previously selected and trained, by using the Munsell chart for the green, red and blue colors. The results indicated that the most common colors in this species are orange (28.32%) and blue (23.04%), irregular shaped (45.05%) and location in the body (54.54%), which allowed them to classify them as “very attractive” to a greater proportion (54.5%). Although the individual analysis of color in the Kruskal-Wallis test ($p>0.05$), as well as in the brightness and saturation in a sign test, did not show significant differences between treatments, a study using multivariate discriminant analysis showed that there is a significant effect of the use of pigments, similar to annatto and carrot. Also it was established that there is a permanence of color in the assessment carried out 15 days after the removal of pigments. There was no effect of these additives on growth and mortality, and no significant variation was observed in the physic and chemical characteristics of the cultivation water.

Keywords: *Poecilia reticulata*, pigments, ornamental fish, *Bixa orellana*, *Daucus carota*.

INTRODUCCIÓN

La producción y la comercialización de peces ornamentales es un subsector de la acuicultura que ha alcanzado gran desarrollo, como respuesta al crecimiento comercial del sector y a la utilidad que se ha dado a la acuarofilia, incluyendo la recreación y la terapéutica. El valor anual del comercio al por mayor de peces ornamentales en el mundo (incluidos los productos básicos), se estimó en el 2001 en un billón de dólares (Olivier, 2001) y para el 2005 incrementó en un 50% con respecto al 2001 (FAO, 2007).

El tamaño, la forma y el color son las características que determinan el valor del pez en el mercado, por lo tanto una estrategia de producción es la de cambiar o incrementar su coloración utilizando pigmentos naturales en las dietas. Los altos costos debidos a la suplementación de las dietas con carotenoides, ha impulsado a investigar aspectos que aborden fuentes alternativas de pigmentos aplicables en acuicultura.

El guppy (*Poecilia reticulata*), un pequeño ciprinido de la familia *Poeciliidae*, representa una de las especies de peces ornamentales más apreciada por sus características morfológicas, reproducción, tamaño y fácil manejo, las cuales hacen que no se requiera grandes extensiones de terreno para su cultivo y porque su costo de producción es relativamente

bajo con respecto a otros peces.

La calidad de los guppies, tanto en espectáculos y exposiciones como en la comercialización, está determinada por las características de forma y color en hembras y machos. Los estándares de color son difíciles de definir para casos no científicos como exposiciones y juzgamiento por lo que comúnmente se definen por el color general o por el patrón de color. Las características de color son complejas y varían de una línea genética a otra, sin embargo, la intensidad del color y los patrones definen la calidad de estos peces, por lo cual su cría y producción de alta calidad se basa en la selección por la calidad del color y la alimentación (Zion *et al.*, 2008), que no han sido estudiados a profundidad, sin que hayan referencias al respecto.

Los mecanismos responsables de la manifestación de los colores en los peces, son similares a los encontrados para los organismos terrestres. La coloración de la piel se genera debido a la absorción, dispersión y reflexión de la luz de determinadas longitudes de onda; las sustancias coloreadas absorben la luz, mientras que otras estructuras con índices de refracción muy diferentes a los del medio que las rodea (generalmente el citosol) dispersan o reflejan la luz. Los colores corporales

del pez dependen de la presencia de células especiales en la piel, denominadas cromatóforos, los cuales contienen pigmentos coloreados, orgánulos que dispersan o reflejan la luz, procesos que están regulados por reflejos nerviosos y neuroendocrinos (Hernández, 2009). La astaxantina es el carotenoide más común encontrado en los organismos marinos, siendo abundante en los crustáceos y en los peces; otros carotenos importantes que han sido encontrados en los peces son la luteína, zeaxantina y cantaxantina. La relación entre los carotenos de la dieta y la pigmentación también se ha estudiado en peces como la dorada japonesa y el lenguado; en la primera, los principales carotenos encontrados en la piel son diésteres de astaxantinas, tunaxantina y β -carotenos; en el lenguado, la pigmentación es mayor en el grupo de peces cuya dieta contiene β -carotenos y ésteres de luteína (Fernando y Pangh, 1990).

Como en la mayoría de los peces ornamentales, los machos tienen colores más atractivos en las aletas, por lo cual, la mayoría de criadores concentran el mejoramiento en la intensidad del color, el patrón del color y la iridiscencia del tegumento de los machos, así como su forma y tamaño de las aletas (Monvises *et al.*, 2009). Estudios para dilucidar la estructura y función de los cromatóforos, así como los mecanismos que subyacen a la coloración del tegumento en animales, tienen que ver con los cromatóforos, incluyendo los melanóforos, xantóforos, eritróforos, cianóforos, leucóforos e iridióforos, debidos a células relacionadas con el color, derivadas de la cresta neural durante el desarrollo embrionario; en vertebrados menores, estas células juegan un papel clave en el color del tegumento y los patrones (Amiri and Shaheen, 2012).

El achiote (*Bixa orellana*), una planta dicotiledónea, de la familia *Bixacea*, es un arbusto de rápido crecimiento, que alcanza de cuatro a seis metros de altura, con flores muy vistosas y de coloración blanca o rosada según sea la variedad, el fruto es una cápsula de color pardo rojizo o amarillo verdoso que contiene de 30 a 45 semillas cubiertas por una delgada capa que, por su contenido de bixina, es de color rojo o anaranjado y constituye la sustancia tintórea propiamente (Devia y Saldarriaga, 2003), además de orellina, aceite volátil y aceite graso, aunque su principal componente, un ácido carotenoico, insoluble en agua y ligeramente soluble en cloroformo, aceites vegetales y acetato de etilo (Córdova, 1987).

Ha sido utilizado en forma de harina como fuente de Xantofilas en la pigmentación del pollo de engorde en la fase de acabado, así como materia tintórea para colorear telas de amarillo, anaranjado y rojo, como también para dar color a barnices, aceites, grasas animales y alimentos. Los colores del achiote resisten mucho tiempo a la acción del jabón y los ácidos pero cambian rápidamente al contacto del aire (Benavides y Reina, 1986).

La zanahoria (*Daucus carota*) es una planta bianual, cuyo tubérculo es rico en beta caroteno el cual le da coloración naranja brillante que la hace atractiva, con cualidades nutritivas importantes, especialmente por su elevado contenido en betacaroteno (precursor de la vitamina A), pues cada molécula de caroteno que se consume es convertida en dos moléculas de vitamina A; en general se caracteriza por un elevado contenido en agua y bajo contenido en lípidos y proteínas (El mundo de las plantas, 2008).

Tal como asegura Guzmán (2002), el color es una parte del espectro lumínico a partir de energía vibratoria que afecta de diferente forma al ser humano, dependiendo de su longitud de onda, produciendo diferentes sensaciones de las que normalmente no es consciente. El color es un atributo percibido a partir de los objetos cuando hay luz, constituida por ondas electromagnéticas que se propagan a unos 300.000 km/s. Las principales propiedades del color son el tono, la saturación, el valor y el brillo; el tono (hue), matiz o croma es el atributo que diferencia el color y por la cual se designan los colores verde, violeta, anaranjado; la saturación (saturation) es la intensidad cromática o pureza de un color; el valor (value) o luminosidad es la claridad u oscuridad de un color y está determinado por la cantidad de luz que un color tiene; el brillo (brightness) es la cantidad de luz emitida por una fuente lumínica o reflejada por una superficie.

El sistema de notación Munsell (1905) para el color es esencialmente un concepto científico para describir y analizar el color en función de tres atributos denominados tono o color, valor y croma. Estos atributos se organizan en escalas ordenando la igualdad visual en pasos. Los colores cromáticos en el sistema se dividen en cinco principales colores o tonos de rojo, amarillo, azul y púrpura, y éstos a su vez se subdividen en colores intermedios como el amarillo – rojo, verde – amarillo, etc., siendo éstas las combinaciones de los cinco colores principales.

Además se tiene una subdivisión más fina de cada uno de estos 10 colores y se divide en 10 pasos cada uno (1 rojo a 10 rojo, etc) los que aumenta el rango de color a 100; de ahí la notación de que cualquier tonalidad de color indica su relación con los cinco principales y cinco matices intermedios. Está representado con una letra mayúscula (R por red, etc.), precedido por su número correspondiente.

La notación de valor indica el grado de claridad u oscuridad de un color en relación con una escala de grises neutros, que se extiende de un negro teóricamente puro que se simboliza como 0/ a un blanco puro, teóricamente simbolizado como 10/. Un color gris o un color cromático que aparece visualmente en la mitad de la luminosidad entre el blanco y negro puro tiene un valor de notación 5/. Los colores más claros son indicados por números que van por encima de cinco, mientras que los colores más oscuros son indicados por números por debajo de cinco.

La notación de croma de color indica la fuerza (saturación) o el grado de partida de un color particular, de un gris neutral del mismo valor. La escala se

extiende desde croma 0/ para un gris neutro a 10, 12, 14 o más, dependiendo de la saturación de ese color en particular.

La notación completa de Munsell para cualquier cromática está descrito como valor de croma o simbólicamente AT/C. La notación para un gris neutro está escrito NV/ y grises de la cromaticidad ligera NV/(H,C), utilizando sólo los símbolos de la apariencia ligeramente amarillento está escrito N 8/(Y, 0,4).

En el presente estudio exploratorio se pretendió evaluar el extracto de achiote (*Bixa orellana*) y de la zanahoria (*Daucus carota*) como pigmentantes naturales, al ser incorporados en la dieta, sobre la coloración externa de guppies (*Poecilia reticulata*), para lo cual se determinó la presencia de manchas con diversidad de colores, en brillo y saturación, al suministrar cada uno de los pigmentantes, se midió el comportamiento del peso durante el periodo de estudio, se calculó la mortalidad en cada uno de los tratamientos y se determinó la permanencia de la pigmentación obtenida después de suspender el suministro del pigmentante.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en los Laboratorios de Acuicultura de la Universidad de Nariño, Colombia, ubicado a una altitud de 2510 msnm, temperatura media de 14°C, precipitación anual de 1.180 mm, humedad relativa de 75,6%, con coordenadas 0,1° 09' 16" Latitud Norte, 77° 08' 25" Longitud Este, evaluando 144 guppies (*Poecilia reticulata*) tipo salvaje, de cola redonda, con un peso promedio de 1,2 g, distribuidos en 12 acuarios de 15 galones de capacidad, dotados de todos los equipos y elementos necesarios para el control de la temperatura, suministro de oxígeno y recirculación del agua; se efectuó la limpieza de los acuarios mediante sifoneo y recambio del 10% del volumen total del agua cada semana, según técnicas estandarizadas en estos laboratorios, para mantener la calidad adecuada del agua. Los parámetros físicos y químicos del agua fueron monitoreados diariamente, utilizando equipos digitales.

Según los ensayos preliminares realizados por los autores, en los Laboratorios de Acuicultura de la Universidad de Nariño, las semillas de *Bixa orellana* contienen el 1,082% de pigmentante. Para la extracción de esta sustancia, se extrajeron las semillas

de la cápsula que las contiene y se puso la cantidad requerida (95 g de semilla para obtener 5,0 g de pigmentante) en etanol hasta cubrir el volumen y se dejó durante 24 horas, al cabo de este tiempo se separó el líquido utilizando un colador fino y se lavaron las semillas con etanol, hasta extraer la mayor cantidad posible de pigmentante.

Para extraer el pigmentante de la zanahoria, se procedió de manera similar que para el achiote, utilizando el tubérculo rallado. En los preensayos se pudo determinar que es posible obtener 1,104% de pigmentante, por lo cual, por cada 5,0 g requeridos se procesaron 90,5 g de zanahoria.

Las soluciones extraídas fueron deshidratadas en mufla, durante 36 horas a 20°C, para luego adicionar al alimento, en proporción del 1%, utilizando una solución de almidón al 5%, en agua destilada, aplicando la técnica de micromezclas, estandarizada en estos laboratorios. Se suministró un alimento concentrado comercial, con 30% de proteína, el cual fue molido para ser suministrado en una ración diaria del 5% de la biomasa, distribuida en tres comidas.

Se evaluaron cuatro tratamientos, distribuidos de la siguiente manera:

Tratamiento T1: alimento concentrado sin pigmentantes (Testigo).

Tratamiento T2: alimento concentrado mas pigmentante de achiote al 1%.

Tratamiento T3: alimento concentrado mas pigmentante de zanahoria al 1%.

Tratamiento T4: alimento concentrado mas 0,5% de pigmentante de achiote y 0,5% de pigmento de zanahoria.

Los muestreos semanales del peso fueron realizados sobre el 50% de los animales, con el fin de calcular la biomasa y hacer el ajuste de la ración de alimentación, así como para hacer el seguimiento del crecimiento.

Para la evaluación del color, se utilizó la carta de colores de Munsell (1905), correspondiente a verde, rojo y azul, para lo cual se conformó un panel de 12 personas, quienes fueron sometidas a una clasificación, según su capacidad visual, mediante una prueba de ordenación correcta de los colores en diferentes paletas de la carta de Munsell; de allí se seleccionó seis panelista con la mayor puntuación, quienes realizaron la evaluación del color en los animales, comparando con la carta patrón, para lo cual se utilizaron acuarios miniatura en donde se ubicaron los peces en forma individual, en cuya observación debieron registrar cuantificando en la escala correspondiente el número de la paleta, el brillo y la saturación, así como la forma y ubicación de manchas y la apariencia general del color. La evaluación se efectuó en dos etapas, la primera al terminar el suministro de los pigmentantes, tendiente a valorar el efecto de los mismos, y la segunda dos semanas después de terminar el suministro con el objetivo de determinar la fijación del color en el tiempo.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con submuestreo, conformado por cuatro tratamientos (dietas experimentales) y tres réplicas. Cada unidad experimental estuvo representada por un acuario con 12 peces, distribuidas aleatoriamente, representado por el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \varepsilon_j + \eta_k$$

Donde:

Y_{ijk} = Variable respuesta.

μ = media poblacional.

τ_i = efecto del i -ésimo tratamiento.

ε_j = error experimental asociado a la j -ésima unidad experimental sometida al i -ésimo tratamiento.

η_k = Error de muestreo asociado a la k -ésima muestra.

El efecto sobre la pigmentación se describió mediante proporciones utilizando tablas de contingencia y gráficos estadísticos; la comparación entre tratamientos para el brillo y la saturación del color se hizo mediante una prueba de Kruskal-Wallis y permanencia del color a través de una prueba de signos. Se realizó un análisis de varianza para determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos, en la variable peso, para lo cual los datos fueron transformados mediante el modelo de la tasa de crecimiento simple (SGR); para comparar la estabilidad de los parámetros de calidad del agua entre el día y la noche, se utilizó una prueba T de Student; en cuanto a la variable mortalidad se comparó mediante una prueba de Brand-Snedecor.

En esta investigación se evaluaron las variables: distribución del color, distribución de las formas, distribución de la apariencia, brillo y saturación de los colores, permanencia del pigmento, peso corporal y mortalidad; además se realizó el control de variables de calidad del agua (temperatura, oxígeno disuelto y pH).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Distribución del color

La evaluación realizada por los jurados que conformaron el panel indica la presencia de un total de nueve colores diferentes (rosado, naranja, negro, amarillo, café, azul, violeta, verde y rojo), distribuidos en las diferentes partes del cuerpo (cabeza, tronco, aletas, cola, pedúnculo y opérculo), los cuales presentan diversas formas (óvalo, círculo, ocelo,

franja, bordeado, irregular), brillo y saturación; estos colores se presentan sobre un manto gris, considerado el color natural de esta especie.

Analizados todos los animales en su conjunto, es posible observar mayor frecuencia de los colores naranja (28,32%) y azul (23,04%), que en su mayoría se ubican en la cabeza (54,54%) y en menor proporción en la cola (18,87%), cuya distribución se puede observar en la Figura 1.

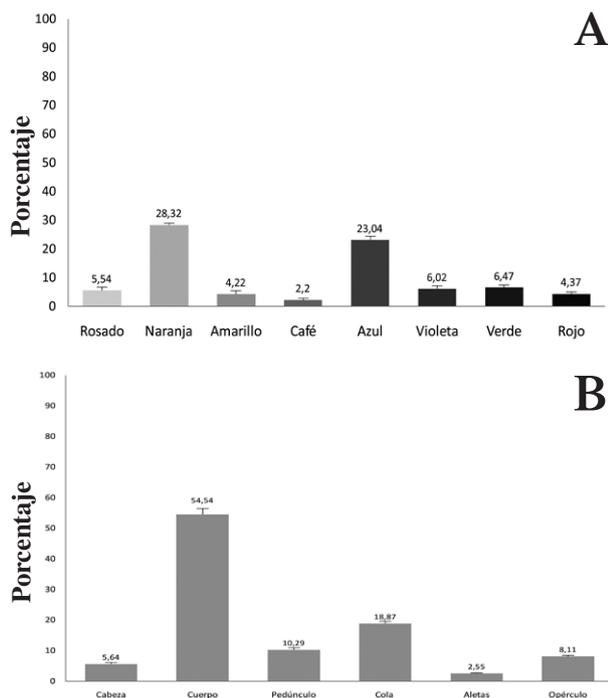


Figura 1. Distribución del color en peces *Poecilia reticulata* con pigmentantes en el alimento, agrupados según el color (A) y según la ubicación (B). Media±SEM.

Una descripción con mayor detalle, indica que el 49,07% del color azul se encuentra ubicado en la cabeza de los peces, el 23,6% en los opérculos y el 18,58% en el pedúnculo; por su parte, el color naranja se presentó en la cabeza en el 72,26% de los casos y en la cola en el 26,28%.

En general, es posible observar una tendencia de todos los colores a distribuirse en el cuerpo, en contraste con las aletas, donde únicamente se encuentran los colores verde y amarillo, en proporción muy baja (2,55%); además, se advierte una variabilidad baja (SEM 0,52 a 3,95).

Distribución de las formas

Como ya se ha dicho, predominan los colores naranja y azul, con la particularidad de que estos dos colores son los únicos que presentan todas las formas; sin embargo, la forma más común, en relación con el color, es la irregular (45,05%) y las demás formas (ovalada, circular, ocelo, franja y bordeado) se distribuyen en una proporción baja y similar (5,60 a 19,44%), todos con baja variabilidad (Figura 2).

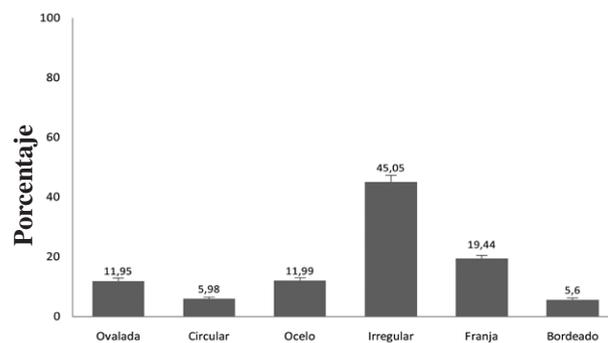


Figura 2. Proporción de formas en la que se presentan los colores en *Poecilia reticulata* al suministrar pigmentantes naturales en el alimento (Media±SEM).

La forma más frecuente, en relación con las partes del cuerpo, es la irregular (43,34% en promedio) (Figura 3A) y, aunque esta frecuencia es alta en todas las partes del cuerpo, el mayor porcentaje está en los opérculos (71,79%) y el menor en las aletas (25%). Por otra parte, el cuerpo tiene mayor diversidad de formas (49,39%) (Figura 3B), siendo la forma circular la más frecuente (83,75%) en esta parte del cuerpo. Es muy particular que la forma circular sólo se encuentra en la cabeza, el cuerpo y los opérculos, así como la forma de ocelo únicamente se presentan en el cuerpo, el pedúnculo y la cola.

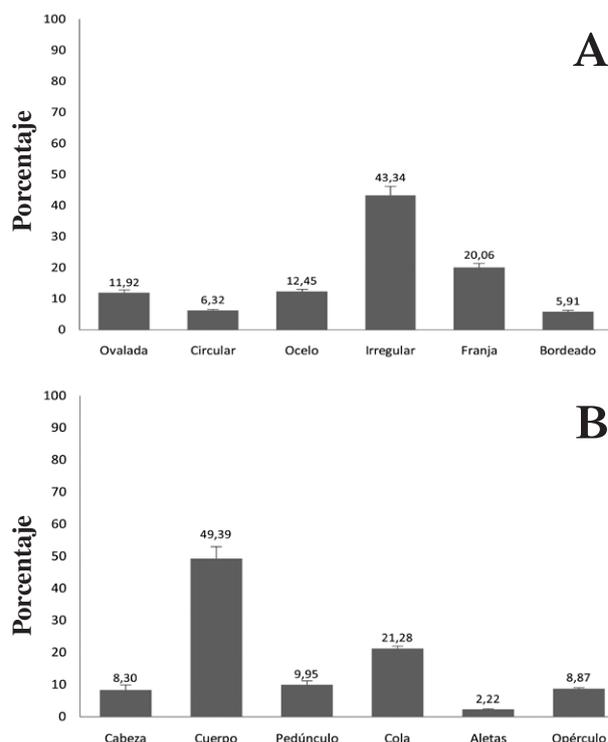


Figura 3. Distribución de formas (A) de la pigmentación en las diferentes partes del cuerpo (B) en *Poecilia reticulata*, con diferentes pigmentos (Media±SEM).

Como se deduce de las variables anteriormente evaluadas, aún cuando se tienen dos colores predominantes y mayor proporción de algunas formas en el cuerpo, éstas son irregulares, por lo que no se encuentra un patrón definido de colores, acorde con lo expuesto por Fernando y Pangh (1990), quienes manifiestan que en variedades salvajes los patrones de color son polimórficos en cuerpo y aletas, mientras que en hembras este patrón no existe, aunque se ha demostrado en otras variedades que el color está controlado por genes autosómicos ligados al sexo, además de ser epistáticos (Pang *et al.*, 1986).

Distribución de la apariencia

Entre los colores con calificación de “Muy atractivo” sobresalen el naranja (35,93%) y el azul (27,85%), con una tendencia similar en las otras categorías, siendo los menos atractivos el café y el azul, con el 25% de calificaciones para cada uno de ellos. De manera general es posible observar que los que obtuvieron mayor calificación en cuanto a los colores más atractivos son el naranja (36,8%) y el azul (27,6%), como se observa en la Figura 4A.

En cuanto a las categorías de mayor frecuencia se observó que “Muy atractivo” ocupó el primer lugar, con el 54,5% de los casos, seguida de cerca por la categoría “Atractivo” con el 37,1% (Figura 4B).

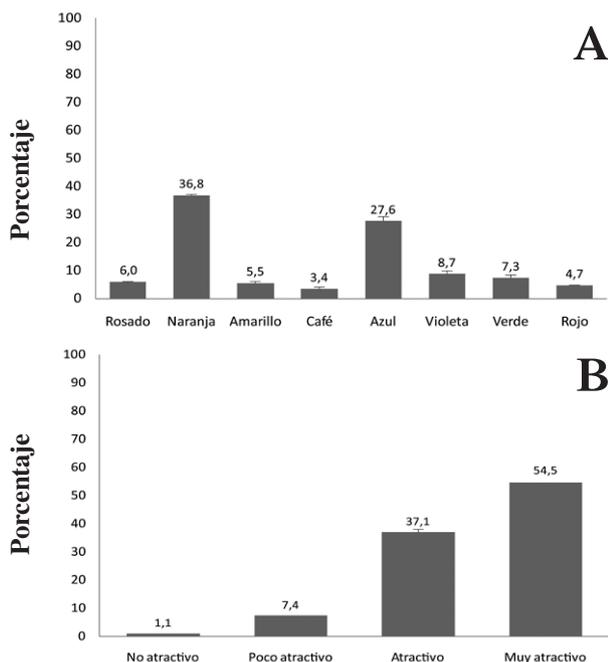


Figura 4. Distribución de los colores (A) por su apariencia (B) en *Poecilia reticulata* diferentes pigmentos (Media±SEM).

Siendo los integrantes del panel personas con baja preparación como jurados de exposiciones de este tipo de animales, pero con alta sensibilidad, es factible asegurar que el atractivo está relacionado con los colores naranja y azul, en sus diferentes tonos, formas y ubicación.

Como una particularidad se observó que el color naranja prevalece en el tratamiento T2 y presenta la mejor apariencia, ya que ha sido clasificado como el más atractivo, al igual que el color azul.

Por otra parte, el color café no estuvo presente en el tratamiento T3, a diferencia de los demás, al igual que una mayor frecuencia del color amarillo, con mayor colorido en las aletas y presencia de negro y verde, mientras que en el T4 el amarillo sólo se encontró en el cuerpo y el rojo sólo en la cabeza y cuerpo.

De esto se deduce que el achiote tiende a acentuar e incrementar la presencia del color naranja y la zanahoria mejora el color amarillo, procurando mayor brillo al azul por parte de los dos pigmentantes.

Brillo y saturación de los colores

Como se ha visto en la relación descriptiva de colores y formas, se advierte algunas diferencias en cuanto a la presentación de los colores y su ubicación en las diferentes partes del cuerpo, que parece no tener relación individual con los tratamientos aplicados a cada grupo, sino posiblemente a la diferenciación de los melanocitos, que pueden depender de expresión génica.

Con el fin de determinar si existe efecto de los pigmentantes en la coloración externa de los animales, se realizó una prueba de Kruskal-Wallis con los puntajes de brillo y de saturación emitidos por el panel de evaluación, indicando que las diferencias entre las medianas de los tratamientos no son significativas ($P>0,05$), por lo tanto las aparentes diferencias observadas en la Figura 5 constituyen una apreciación poco objetiva y son tomadas como una diversidad natural.

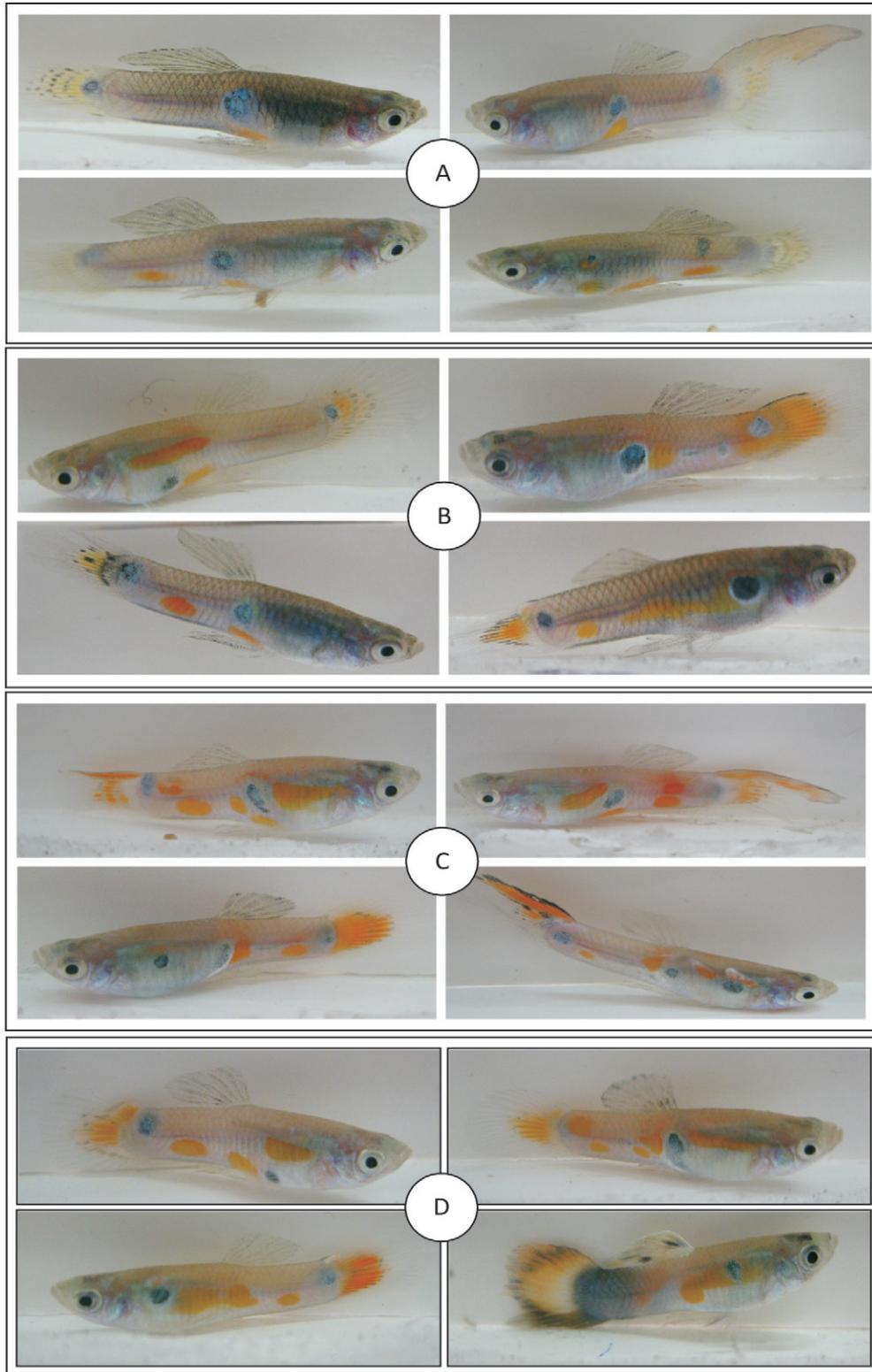


Figura 5. Apariencia externa de guppys sin pigmentantes (A) en el alimento, con pigmento de achiote (B), zanahoria (C) y una combinación de los dos (D).

Mediante un análisis discriminante se pretendió establecer diferencias multivariadas entre los grupos, para lo cual se adoptaron las Funciones discriminantes 1 y 2, con varianzas 0,8728 y 0,2754 respectivamente, que equivalen al 64,94% de la variación, para

la primera, y de 20,49% para la segunda, asumiendo un total 85,43%, y correlaciones canónicas de 0,6827 y 0,4647 (Tabla 1), lo cual indica que las dos tienen el mayor poder de discriminación.

Tabla 1. Resumen del Análisis discriminante para la evaluación del color externo en *Poecilia reticulata*.

Función	Varianza	Porcentaje	Correlación Canónica	Wilks lambda	Chi cuadrado	p-valor	Clasificados (%)
1	0,872827	64,94	0,68268	0,3501	79,7629	0,0027	80,92
2	0,275432	20,49	0,46471	0,6556	32,0767	0,3640	
3	0,195754	14,56	0,40461	0,8362	13,5871	0,4809	

Se ha desechado la Función 3 por cuanto su aporte no es significativo en la discriminación y no presenta una tendencia clara. Del análisis de los coeficientes se ha visto que la Función 1 tiende a describir la combinación de colores y la Función 2 hace mayor énfasis en la forma, al tener las variables relacionadas con esta característica el mayor peso; además, la única función con significancia en el valor de lambda de Wilks es la número 1, como se indica en la Tabla 1, sugiriendo que existen diferencias significativas cuando se realiza una discriminación conjunta de las diferentes variables del color, ya que la clasificación de grupos se realizó correctamente en el 80,92% de los casos, razón por la cual la interpretación se hace en torno a ésta, aún cuando se utiliza la Función 2 para efectos descriptivos.

En la Figura 6 se representan los individuos distribuidos en el plano según las Funciones discriminantes 1 y 2, observando que el Tratamiento T1 ubica los datos de manera dispersa a medida que los valores de la Función 1 aumentan, sin embargo se localizan separados de los demás grupos; los tratamientos T2, T3 y T4 ubican a sus individuos en valores bajos de esta Función, pero su posición es confusa sin que sea posible discriminar por separado ya que su diferenciación no es significativa. Esto indica que los pigmentantes tienen efecto sobre la coloración externa de los *P. reticulata*, aunque no existen diferencias significativas entre el achiote y la zanahoria, o su combinación.

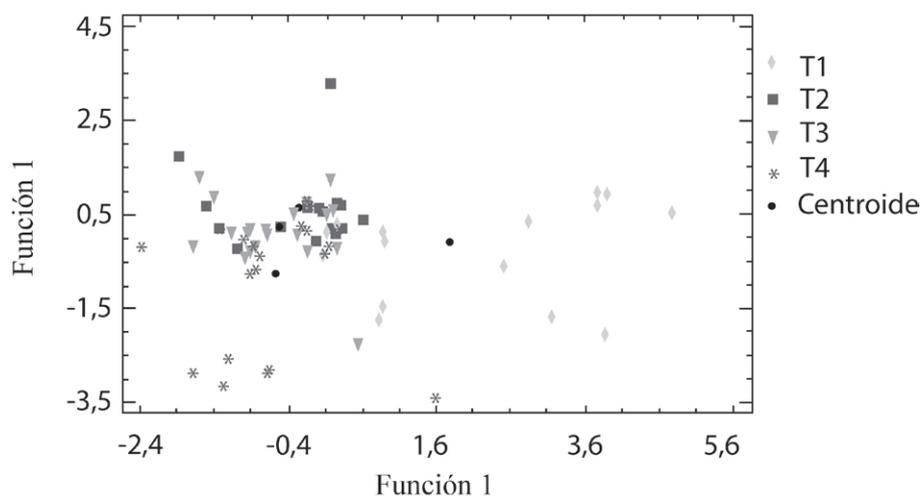


Figura 6. Representación de las funciones discriminantes.

Permanencia del color

Si bien se ha demostrado un efecto del suministro de pigmentantes de achiote y zanahoria sobre la coloración externa de los guppys, es necesario determinar si tales colores permanecen durante un período después de dejar de suministrar los pigmentantes.

A fin de determinar la permanencia del color en los peces se aplicó una prueba de signos según la metodología descrita por Siegel y Castellan

(2007), cuyos resultados se muestran en la Tabla 2. Allí se puede observar que, en todos los casos, χ^2 calculado es mayor que χ^2 tabulado, concluyendo que no existen diferencias significativas entre los puntajes obtenidos al terminar el experimento, tanto para brillo como para saturación, al ser comparados con los puntajes emitidos por los evaluadores dos semanas después de retirar los pigmentantes.

Tabla 2. Prueba de signos para evaluar la permanencia del color en guppys (*Poecilia reticulata*).

Color	Característica	x	N	n - 1	χ^2 calculado	χ^2 tabulado
Rosado	Brillo	5	9	8	0,00163836	15,51
	Saturación	4	9	8	0,017501395	15,51
Naranja	Brillo	3	7	6	0,059765625	12,59
	Saturación	1	11	10	0,016220044	18,31
Amarillo	Brillo	3	8	7	0,038058036	14,07
	Saturación	5	9	8	0,013106864	15,51
Café	Brillo	3	4	3	0,145833333	7,81
	Saturación	3	4	3	0,145833333	7,81
Azul	Brillo	8	12	11	0,001495176	19,68
	Saturación	3	12	11	0,004696906	19,68
Violeta	Brillo	3	7	6	0,059765625	12,59
	Saturación	7	12	11	0,001913703	19,68
Verde	Brillo	4	11	10	0,006373039	18,31
	Saturación	3	11	10	0,008163404	18,31
Rojo	Brillo	5	10	9	0,008258154	16,92
	Saturación	7	9	8	0,006661551	15,51
Rosado	Brillo	5	9	8	0,00163836	15,51
	Saturación	4	9	8	0,017501395	15,51
Naranja	Brillo	3	7	6	0,059765625	12,59
	Saturación	1	11	10	0,016220044	18,31
Amarillo	Brillo	3	8	7	0,038058036	14,07
	Saturación	5	9	8	0,013106864	15,51
Café	Brillo	3	4	3	0,145833333	7,81
	Saturación	3	4	3	0,145833333	7,81
Azul	Brillo	8	12	11	0,001495176	19,68
	Saturación	3	12	11	0,004696906	19,68
Violeta	Brillo	3	7	6	0,059765625	12,59
	Saturación	7	12	11	0,001913703	19,68
Verde	Brillo	4	11	10	0,006373039	18,31
	Saturación	3	11	10	0,008163404	18,31
Rojo	Brillo	5	10	9	0,008258154	16,92
	Saturación	7	9	8	0,006661551	15,51

Esto indica la eficacia del extracto de achiote y de zanahoria para mejorar la coloración externa de los guppys y que ésta permanece a través de un tiempo

de este tipo de animales para ornamentación, cuyo atractivo y durabilidad se muestra en la Figura 7.

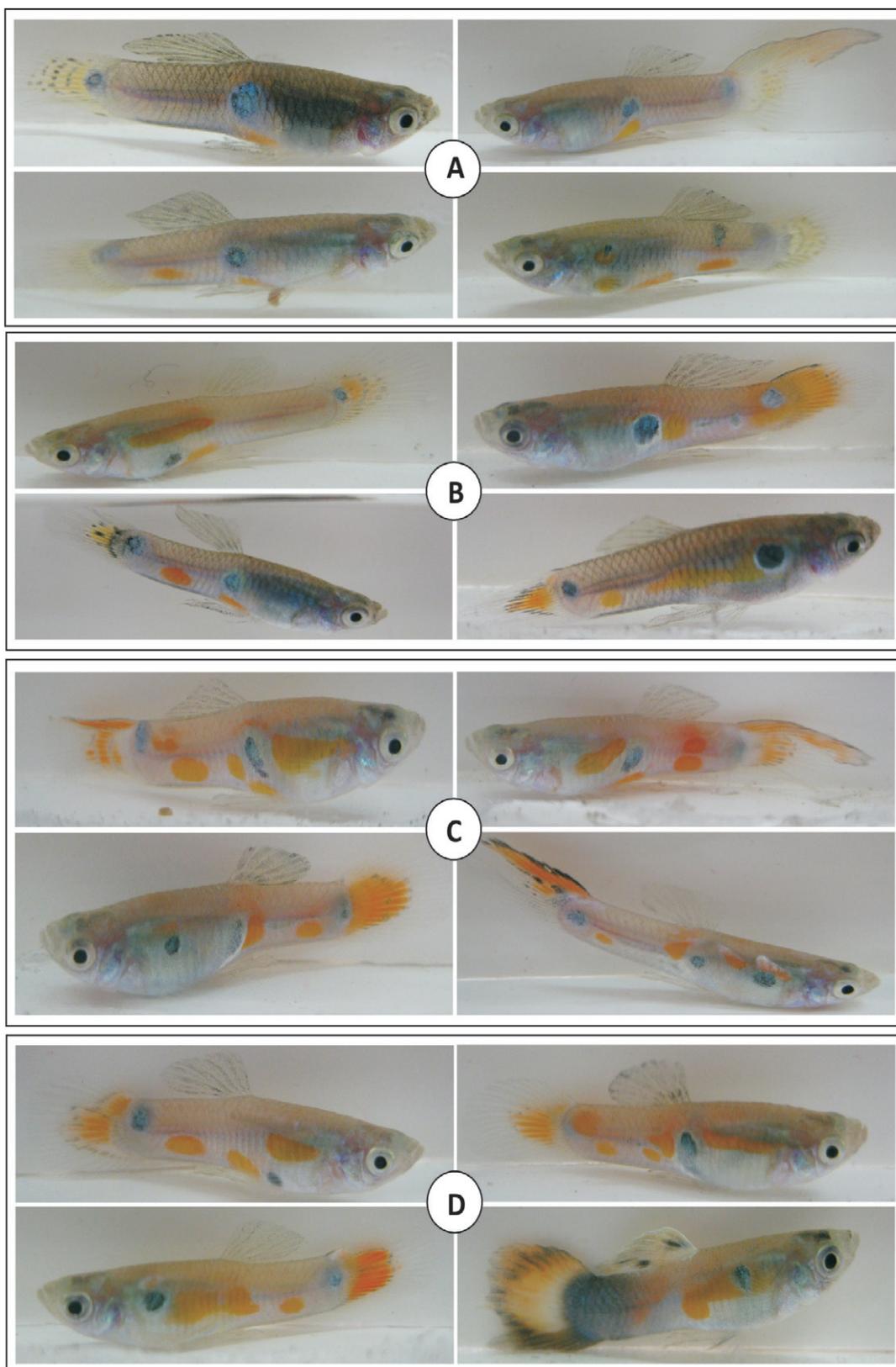


Figura 7. Apariencia externa de los guppys (*Poecilia reticulata*), dos semanas después de suspendido el suministro de pigmentantes (A: sin pigmentantes; B: achiote; C: zanahoria; D: achiote + zanahoria).

A este respecto Shahidi *et al.* (1998), afirman que el mantenimiento de la pigmentación de la piel es de gran importancia en peces, desde el punto de vista comercial y el precio del producto en el mercado. La pigmentación del músculo y de la piel es provista frecuentemente por carotenoides en las dietas de los peces, incluyendo diferentes tipos de fuentes como la astaxantina y cantaxantina sintéticas, aumentando los costos de producción (Kalinowski *et al.*, 2005), por lo cual el presente experimento se torna importante, al utilizar materias primas de bajo costo.

Los promedios del peso de los animales (T1 = $0,292 \pm 0,014$ g, T2 = $0,342 \pm 0,101$ g, T3 = $0,308 \pm 0,014$ g, T4 = $0,292 \pm 0,038$ g), obtenidos al finalizar el periodo de evaluación permitieron demostrar, en el análisis de varianza, que no existen diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos en cuanto al incremento de peso, utilizando como medida la tasa de crecimiento simple (SGR), como consecuencia de que las diferencias tampoco fueron significativas en el peso inicial, sugiriendo que los pigmentantes utilizados no tienen efecto sobre el crecimiento de esta especie de peces. Es importante resaltar una mayor variabilidad en el tratamiento T2 (coeficiente de variación de 29,57%), debido a que se encontraron hembras en periodo de gestación alcanzando mayor peso sin que sea significativo.

La prueba de Brand-Snedecor, utilizada para el análisis de la mortalidad, permitió demostrar que no existen diferencias significativas entre las proporciones de los tratamientos, sugiriendo que la mortalidad no fue causada por los pigmentantes.

CONCLUSIONES

Si bien las diferentes variables relacionadas con la coloración externa de los guppys salvajes de cola redonda no muestran un patrón definido, se nota una mayor frecuencia de los colores naranja y azul, así como la forma irregular, causantes de mayor proporción de las calificaciones “Muy atractivo” y “Atractivo”.

Los colores menos frecuentes son el rojo y el amarillo, calificados como los menos atractivos. La zona de mayor frecuencia de colores es el cuerpo o tronco y la cola y la de menor diversidad son las aletas.

En cuanto a las variables relacionadas con el oxígeno disuelto y la temperatura del agua, una prueba T de Student para dos muestras con varianzas diferentes, sirvió para demostrar que las diferencias entre las medias de estos parámetros en la mañana y la tarde no son significativas, sugiriendo que se logró un manejo adecuado y un control eficiente del sistema, para mantenerlo dentro de los parámetros recomendados por Maya y Marañón (1998), alrededor de 3,0 mg/L de oxígeno disuelto y temperatura del agua entre 24 y 28°C.

En el caso del pH del agua, la prueba T de Student para dos muestras con varianzas diferentes, indicó la existencia de diferencias significativas entre las medias de la mañana (7,5) y la tarde (7,45), posiblemente debido a que las medidas fueron tomadas después de la primera y la última alimentación, en las cuales los niveles de materia orgánica pudieron aumentar el CO₂ del agua, generando incremento o disminución del pH, además que durante el día los metabolitos y el amoníaco se incrementan causando una disminución del pH, sin embargo, los valores están dentro del parámetro recomendado por Fernández *et al.* (2006), quienes mencionan un pH de 7,2 a 7,5 siendo aceptable para el desarrollo de los guppys, ya que Maya y Marañón (2001) aseguran que este vivíparo suele habitar aguas con pH levemente alcalino, entre 7 (neutro) y 8,5.

Por lo anteriormente expuesto se puede decir que las condiciones brindadas a los animales en las unidades experimentales se mantuvieron en los rangos óptimos para la sobrevivencia de los mismos.

Para la evaluación multivariada mediante análisis discriminante, permitió determinar que el uso de pigmentantes de achiote y zanahoria en la dieta alimenticia para guppys, resulta efectiva en el mejoramiento de la coloración externa.

La utilización de pigmentantes de achiote y zanahoria adicionados a la dieta de guppys no influye sobre el crecimiento ni es causa de mortalidad.

Los parámetros físico-químicos de calidad del agua se mantuvieron con baja variabilidad y dentro de los parámetros recomendados por diversos autores para la especie.

RECOMENDACIONES

Evaluar diferentes dosis de inclusión de pigmentantes de achiote y zanahoria, utilizando otros métodos de extracción y de adición al alimento, con el fin de evaluar el brillo y saturación de los colores que proporcionan las dos fuentes.

Desarrollar investigaciones sobre el efecto de pigmentantes en la coloración externa de otras especies de peces ornamentales, tendientes a desarrollar paquetes tecnológicos.

Evaluar los pigmentantes contenidos en la *Artemia* salina y los copépodos y su influencia en el cambio de la coloración externa de peces ornamentales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amiri, M.H. and H.M. Shaheen. 2012. Chromatophores and color revelation in the blue variant of the Siamese fighting fish (*Betta splendens*). *Micron*. (43): 159–169.

Benavides, L. y J. Reina. 1986. Utilización de la harina de achiote (*Bixa orellana*) como fuente de pigmentación en el acabado de pollos de engorde. Pupiales, Colombia: Universidad de Nariño. 76 p.

Córdoba, J. A. 1987. El achiote: cultivo, beneficio y posibilidades de exportación. *Esso agrícola*. 34 (1): 3-7.

Devia, J. y L. Saldarriaga. 2003. Planta piloto para obtener colorante de la semilla del achiote (*Bixa orellana*). *Revista Universidad Eafit*. 39 (131): 9-22.

El mundo de las plantas. 2008. Propiedades de las zanahorias. Disponible en internet: URL: <http://www.botanical-online.com/zanahorias.htm>

FAO. 2007. Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Service (FIIES): Fisheries Commodities Production and Trade 1976–2005. Rome, Italy.

Fernández, E.; N. Navarrete y J. Fernández. 2006. Crecimiento, abundancia y biomasa de *Poecilia reticulata* en el lago urbano del parque Tezozomoc de la ciudad de México. *Revista Chapingo (México), Ciencias Forestales y del Ambiente*. 12 (2): 155-159.

Fernando, A.A. and V.P.E. Pangh. 1990. Colour pattern inheritance in three domesticated varieties of guppy, *Poecilia reticulata*. *Aquaculture*. 1–4 (85): 320.

Guzmán, A. 2002. Teoría del color. Universidad de Galileo. Disponible en internet, URL: <http://www.scribd.com/doc/16336735/Teoria-Del-Color>

Hernández, A. 2009. Efectos de la dieta sobre la pigmentación en peces. Disponible en internet: URL: <http://webpages.ull.es/users/tgomez/guefam/FAMPigmentacionpeces.htm>

Kalinowski, C.T.; L.E. Robaina; H. Fernández-Palacios; D. Schuchardt and M.S. Izquierdo. 2005. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. *Aquaculture*. (244): 223– 231.

Maya, E. y S. Marañón. 1998. Efecto del pH sobre la proporción de sexos, el crecimiento y la sobrevivencia del guppy *Poecilia reticulata* Peters, 1859. *Revista Hidrobiológica*. 8 (2): 125-132.

Maya, E. y S. Marañón. 2001. Efecto de la temperatura sobre la proporción sexual de *Poecilia reticulata* Peters, 1859. Revista Hidrobiológica. 11 (2): 157-162.

Monvises, A.; B. Nuangsaeng; N. Sriwattanothai and B. Panijpan. 2009. The Siamese fighting fish: well-known generally but little-known scientifically. Science Asia. (35): 8-16.

Munsell, A. H. 1905. Una notación del color. Boston: G. H. Ellis Co.

Olivier, K. 2001. The ornamental fish market. Roma: FAO, FAO/Globefish Research Programme. p. 6799.

Phang, V.P.E.; A.A. Fernando and O.K. Chow. 1986. Inheritance of body and tail coloration in two domesticated varieties of the guppy, *Poecilia reticulata*. Aquaculture. 1-4 (5715): 372.

Shahidi, F.; A. Metusalach and J.A. Brown. 1998. Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. (38): 1-67.

Siegel, S. and J. Castellan. 2007. Estadística no paramétrica. 4ª ed. México: Trillas. 437 p.

Zion, B.; V. Alchanatis; V. Ostrovsky; A. Barki and I. Karplus. 2008. Classification of guppies (*Poecilia reticulata*) gender by computer vision. Aquacultural Engineering. (38): 97-104.