

INCLUSIÓN DE *HIBISCUS SABDARIFFA* EN ALIMENTOS EXPERIMENTALES PARA *MACROBRACHIUM TENELLUM*: EFECTOS EN LA PIGMENTACIÓN, CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA.

INCLUSION OF *HIBISCUS SABDARIFFA* IN EXPERIMENTAL FOOD *MACROBRACHIUM TENELLUM*: EFFECTS ON PIGMENTATION, GROWTH AND SURVIVAL

Martín A. Aréchiga P.^{1 2}, Alberto D. Moreno L.^{1 2}, Gloria L. Gil R.^{1 2}, Cynthia E. Montoya M.^{1 2}, Olimpia Chong C.^{1 2}, Manuel A. Vargas C.^{1 2} y Fernando Vega V.²
palomera_29@hotmail.com / d.450@hotmail.com / gloriagil2005@hotmail.com / cynthiamm4@hotmail.com / olimpiachcarrillo@gmail.com / maalvace@hotmail.com / fernandovega.villasante@gmail.com

Recibido: noviembre 25, 2014 / Aceptado: marzo 20, 2015 / Publicado: marzo 25, 2015

RESUMEN. En la naturaleza, los pigmentos tienen la principal función de colorear; sin embargo, también tienen efectos sobre el estado de salud y desarrollo de los organismos. Los compuestos sintéticos dirigidos a incrementar la coloración en organismos con importancia comercial, representan entre el 15 al 20% del costo de la dieta. Por lo anterior, la investigación sobre pigmentos de origen natural (más baratos y menos tóxicos) se ha incrementado sustancialmente en los últimos años. Las antocianinas pueden ser utilizadas como una alternativa para la pigmentación de organismos. En este estudio se utilizaron los cálices de *Hibiscus sabdariffa*, planta popular que acumula antocianinas que proporciona su característico color rojo. Langostinos *Macrobrachium tenellum* fueron alimentados con dietas que incluían cálices de *H. sabdariffa* (jamaica) bajo los siguientes tratamientos: i) pigmento extraído con agua, ii) pigmento extraído con etanol acidificado [0.1 M HCl (v/v)], y iii) harina de cálices. El efecto pigmentante de las dietas experimentales se comparó con langostinos sometidos a una dieta control sin pigmentos añadidos y con langostinos extraídos del medio silvestre. Los langostinos alimentados con la dieta de inclusión de polvo de jamaica mostraron la mayor expresión de eritróforos (color rojo) en el exoesqueleto del pleon (abdomen) y ganancia en longitud y peso, después de 60 días. Estos resultados sugieren que *H. sabdariffa* puede ser utilizado como complemento alimenticio natural, puesto que tiene un efecto positivo en los parámetros de crecimiento y pigmentación.

PALABRAS CLAVE: Pigmentación, langostino, antocianinas, jamaica.

ABSTRACT. In nature, the pigments have the primary function of coloring; however, they also have effects on the health and development of organisms. Synthetic compounds directed to increase the coloration of commercially important organisms, represent between 15 to 20% of the cost of the diet. Therefore, research on naturally occurring pigments (cheaper and less toxic) has increased substantially in recent years. Anthocyanins can be used as an alternative for induce organisms pigmentation. In this study it were used *Hibiscus sabdariffa* calyx, which accumulate anthocyanin and give its characteristic red colour. *Macrobrachium tenellum* prawns were fed diets including *H. sabdariffa* calyx (jamaica) under the following

¹ Carrera de Biología. Centro Universitario de la Costa. Universidad de Guadalajara. Av. Universidad No. 203, Del. Ixtapa, Puerto Vallarta, 48280, Jalisco, México. <http://www.cuc.udg.mx/>

² Laboratorio de Acuicultura Experimental. Centro de Investigaciones Costeras. Universidad de Guadalajara. Av. Universidad No. 203, Del. Ixtapa, Puerto Vallarta, 48280, Jalisco, México. <http://laboratorioacuiculturaexperimental.blogspot.mx/>

treatments: i) pigment extracted with water, ii) pigment extracted with acidified ethanol [0.1 M HCl (v / v)], and iii) flour chalyx. The pigmentation effect of the experimental diets was compared with prawns subjected to a control diet without pigments added and wild prawns. The prawns fed the diet with jamaica powder showed the greatest expression of erythrophores (red) in the exoskeleton of the pleon (abdomen) and the better growth after 60 days. These results suggest that *H. sabdariffa* can be used as natural food supplement, since it has a positive effect on growth parameters and pigmentation.

KEYWORDS: pigmentation, prawn, anthocyanins, jamaica.

Introducción

Los sistemas acuiculturales han tomado relevancia en los últimos veinte años debido a que se presentan como una opción viable en la generación de beneficios bioecológicos, nutrimentales y socioeconómicos para las personas, comunidades y empresas que los desarrollan [1].

Algunas especies de crustáceos son producidas a través de técnicas acuiculturales, principalmente para consumo humano [2]. Los camarones peneidos marinos son los más comercializados, mientras que, en menor medida, lo son los camarones de agua dulce o salobre pertenecientes al género *Macrobrachium* [2-4]. La captura comercial de langostinos en México en 2008 ocupó el lugar 39 de la producción pesquera nacional con 3047 toneladas. De entre las cuatro especies con importancia económica que se encuentran en México (*M. carcinus*, *M. tenellum*, *M. acanthurus* y *M. americanum*), *M. tenellum* ha sido considerado el mejor candidato para el cultivo [1].

Si bien la opción primera a la cual dirigir la pesca y acuicultura de langostinos es la obtención de proteína para el consumo humano, existen otras alternativas que permitirían otorgar a este recurso natural un mayor valor agregado y por ende su manejo sustentable, como es el mercado de organismos acuáticos de ornato. La acuarofilia es un negocio que va creciendo, algunos estudios estiman que maneja de 4 a 15 billones de dólares [5]; sin embargo, otros estiman que el monto se restringe a 200-330 millones de dólares [6]. Aunque contradictorias estas informaciones, demuestran que esta actividad es de importante valor económico. Del género *Macrobrachium* solo se comercializa *Macrobrachium lanchesteri* en este ámbito. Se considera que *M. tenellum* podría ser un buen candidato como especie ornamental ya que presenta, en vida silvestre, unas características manchas naranjas en las articulaciones de los pereiópodos, que lo hacen muy llamativo [1]. Sin embargo, se ha observado que la coloración disminuye o desaparece cuando se usan exclusivamente alimentos balanceados, dirigidos a promover el crecimiento pero no la pigmentación [7]. Es conocido que el color juega un papel muy importante para el consumidor, pues es el primer contacto con el producto; se ha comprobado que cuando el color de un alimento cambia (sin alterar su forma o sabor), se obtiene un rechazo por parte de los consumidores [8]. Por lo anterior se considera importante incluir una fuente de pigmentos en la dieta de los organismos, para que mantengan o incrementen esta cualidad visual que les da el color en su cuerpo.

Los pigmentos en los organismos tienen la primaria función de colorear, pero además cumplen una función como antioxidantes, promueven la respuesta inmune, la reproducción, el crecimiento, la maduración, y la fotoprotección [9]. Así mismo mejoran la tolerancia en entornos con altos niveles de amoníaco y bajos niveles de oxígeno [10]. En este contexto, se han llevado a cabo diversos estudios sobre inclusión de pigmentos a dietas en organismos acuáticos, pero de estos muy pocos con fines ornamentales en peces. Algunos se han utilizado como aditivo alimenticio para la pigmentación positiva con flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) y paprika en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) frente al colorante sintético carofil rosa [11]; pigmentación con licopeno en el gupi (*Poecilia reticulata*) [12], pigmentación con extractos de chile rojo (*C. annuum*) en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) [13],

pigmentación con astaxantina, betacaroteno y cantaxantina en *Penaeus japonicus* [14], pigmentación de cempasúchil (*Tagetes erecta*) y jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en el langostino *Macrobrachium rosenbergii* [15].

Los productos sintéticos han sido la fuente de pigmentos más utilizada en la acuicultura mundial, por ser productos estandarizados, con una alta concentración de carotenoides y de fácil manejo [16]. Sin embargo, estos ofrecen ese único aporte a la dieta a un precio extremadamente alto, representando entre el 15 al 20% del costo del alimento [16]. Hay compuestos tales como las antocianinas que pueden ser utilizados como una alternativa para la pigmentación de organismos. El cáliz de *Hibiscus sabdariffa* (flor de Jamaica) acumula antocianina que proporciona su característico color rojo. Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles que se encuentran en las vacuolas de las células vegetales y que otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores y frutos [17]. El objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto de pigmentación, crecimiento y supervivencia mediante la inclusión de pigmentos obtenidos por diferentes métodos de extracción de *H. sabdariffa*, en alimentos experimentales para *M. tenellum*.

Materiales y métodos

Sitio y unidades experimentales. Los cultivos se llevaron a cabo dentro de las instalaciones del Centro Universitario de la Costa de la Universidad de Guadalajara (CUCOSTA), situado 20°42'19'' N y 105°13'16'' O, a una altitud de 10 metros sobre el nivel medio del mar en Puerto Vallarta, Jalisco, México. Las unidades experimentales consistieron en acuarios de cristal de 40 L de capacidad los cuales se llenaron hasta su 75 % de su capacidad cada uno. Para el mantenimiento de la calidad del agua y oxigenación se utilizaron filtros de cascada (Elite ®). La temperatura se mantuvo constante con la ayuda de calentadores con termostato (Sunny ®) a una temperatura de 27.25°C ± 1.45°C. El agua de cultivo fue obtenida del sistema municipal, previamente reposada (7 días) para eliminar el exceso de cloro. Se llevaron a cabo recambios de agua (20%) dos veces por semana.

Organismos. Las postlarvas de *M. tenellum* fueron recolectadas en el cauce de un arroyo ubicado en el CUCOSTA. Los organismos fueron sometidos a una aclimatación de 30 días previos a la experimentación. El peso y talla promedios iniciales de los organismos fueron 0.1 (±D.E) g y 20 mm (±D.E) respectivamente.

Cálices de *H. sabdariffa*. Los cálices deshidratados de *H. sabdariffa* fueron adquiridos en el mercado local, de la marca Golden Hills ®. El contenido nutrimental de los cálices, por cada 100 g, fue de 6.85 g proteína, 57.36 g de carbohidratos, 15.17 g de fibra dietética 15.17 y 4.42 mg de sodio. Los cálices fueron molidos (en un molino de café de cuchillas, marca alemana Krup, 5 veces de 10 segundos cada vez) para formar harina, misma que fue tamizada a través de un colador plástico convencional de cocina de malla media bola para eliminar las partículas más grandes. Este producto final fue utilizado para todos los tratamientos experimentales. Los pigmentos de la harina fueron obtenidos a través de su extracción alcohólica con etanol y ácido clorhídrico (ETOH-HCl) [0.1 M HCl (v/v)], agregando 10 g del polvo por 100 ml de la mezcla de etanol acidificado (EEA). La mezcla resultante se conservó en refrigeración (6°C) durante 24 h. Una segunda extracción fue realizada con agua destilada (EAD) utilizando el mismo peso y volumen y las mismas condiciones. Después de 24 h, ambas soluciones fueron filtradas con filtro Whatman no.1 para retirar las partículas en suspensión.

Alimentos experimentales. Los organismos fueron alimentados con alimento balanceado de iniciación para tilapia (AIT) (Purina ®) con un 53% de proteína, 12% de humedad, 15% de grasa, 2.5% de fibra cruda, 12% de cenizas y 5.5% de extracto libre de nitrógeno. Se establecieron los siguientes tratamientos

de inclusión de harina del cáliz de *H. sabdariffa* al alimento previamente mencionado: (i)

Alimentos experimentales. En todos los casos el AIT se molió y se mezcló con la fuente de pigmentos y se repeletizó (se agregó grenetina al 3% para asegurar la cohesión de las partículas de alimento. La pasta resultante se secó en un horno de convección a 40°C durante 36 h): (i) Alimento con pigmentos obtenidos con extracto alcohólico: 100 g de AIT + 100 ml de EEA (ii) Alimento con pigmentos obtenidos con extracción acuosa: 100 g de AIT + 100 ml de EAD, (iii) Alimento con harina (AH): 100 g de AIT + 10 g de cáliz deshidratados y pulverizados (para la conformación de la pasta se usaron 100 ml de agua destilada), (iv) Alimento control: 100 g de AIT + 100 ml de agua destilada.

Diseño experimental

Las unidades experimentales fueron distribuidas al azar colocándose 10 langostinos en etapa postlarval en cada una (por triplicado). Se llevó a cabo una alimentación diaria ajustada al 10% del peso corporal de los organismos de acuerdo con trabajos realizados en langostinos [18], la ración no se modificó durante la experimentación. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado y tuvieron una duración de 60 días. Se realizó una biometría inicial y una final del 100% de la población en estudio. En cada biometría se registró el peso individual (g) y se tomaron fotografías digitales. Las fotografías fueron analizadas con el programa Adobe Photoshop CS5 Extended ® en zonas específicas del cuerpo de los organismos (Cefalotórax, pleon y telson) (Figura 1) y de cromatóforos presentes en el pleon.

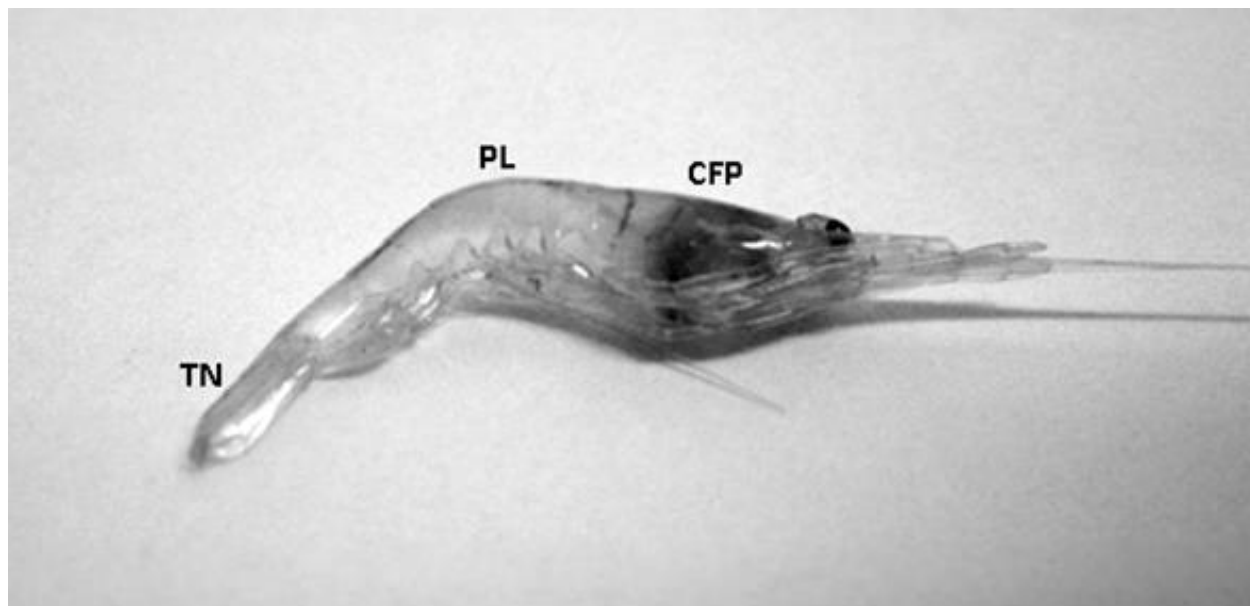


Figura 1. Regiones anatómicas utilizadas para el estudio de pigmentación de *M. tenellum*. CFP: cefalón perión (cefalotórax). PL: pleón (abdomen). TN: telson (o región postabdominal).

El análisis de imágenes fue realizado con el modelo RGB, en el cual cada rayo de luz (de objetos que emiten o reflejan luz) representa luz roja (R), verde (G) y azul (B). El color blanco está dado por el

máximo valor de cada rayo de luz (rojo = 255, verde = 255, y azul = 255), y el negro está formado por la ausencia de luz (rojo = 0, verde = 0, y azul = 0). Los valores obtenidos por este análisis fueron transferidos posteriormente al modelo de color matiz-saturación-brillantez (HSB por sus siglas en inglés) para obtener datos más precisos sobre los posibles cambios en la coloración. El modelo HSB es una representación matemática del color, de una forma similar a como el ojo humano percibe el color [19]. El modelo HSB fracciona el color en tres componentes: matiz (color puro y cuantificado en grados de un círculo de color donde rojo = 0 o 360°, amarillo = 60°, verde = 120° y azul = 240°), porcentaje de saturación (pureza de color y medido en porcentaje) y la brillantez (cuantificada también en porcentaje, de negro (0) a blanco (100) [20]. Para evaluar el desarrollo de los cromatóforos, se utilizó el índice de cromatóforos (CI) [21], por una escala de 1 (el pigmento máximo concentrado) al 5 (el pigmento máximo dispersado) (véase [Figura 2](#)). Además se cuantificó en número de cromatóforos por campo microscópico.

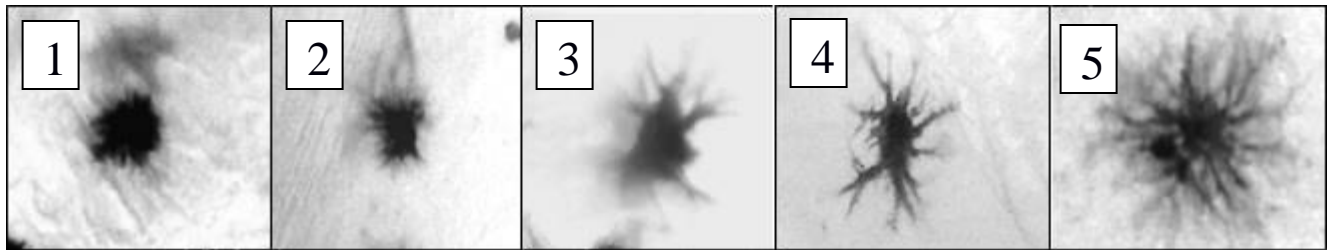


Figura 2 . Índice de cromatóforos (CI) de los cromatóforos de *M. tenellum*. Las imágenes no corresponden a un solo tratamiento.

Análisis estadístico. Los valores de matiz, saturación y brillantez del cefalotórax, pleon y telson en cada uno de los tratamientos (i). Extracto ETOH-HCl, ii). Extracto acuoso y iii). Harina de cálices), y el análisis de supervivencia y parámetros de crecimiento (mudas, ganancia en longitud, ganancia en peso, % de incremento en longitud, % de incremento en peso y la Tasa de Crecimiento Específica= Definida como el porcentaje en incremento en peso por día) se compararon entre sí, para cada caso, con análisis de varianza de una vía, previas pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov; $\alpha= 0.05$) y homocedasticidad (Bartlett; $\alpha= 0.05$), todo ello a través del software estadístico SigmaStat V3.1 (2004). Para los datos en porcentaje se les aplicó la transformación del arcoseno a su raíz cuadrada. Las diferencias significativas entre los tratamientos fueron determinadas mediante comparaciones múltiples de Tukey ($\alpha= 0.05$).

Resultados y discusión

El análisis de supervivencia y parámetros de crecimiento (mudas, ganancia en longitud, ganancia en peso, % de incremento en longitud, % de incremento en peso y la Tasa de Crecimiento Específica= Definida como el porcentaje en incremento en peso por día) se muestran en la [tabla 1](#). No se reportaron diferencias estadísticas ($P>0.05$) entre tratamientos, respecto a supervivencia, mudas, longitud final e inicial, y peso inicial. En el resto de los parámetros, que corresponden al peso final, ganancia en peso, ganancia en longitud, % de incremento en longitud, % de incremento en peso y la Tasa de Crecimiento Específica se reportan diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P<0.05$).

Tabla 1. Análisis de supervivencia y parámetros de crecimiento

Parámetros de crecimiento		Tratamientos			
		Control	Extracto EOH-HCl, EEA	Extracto Acuoso, EAD	Harina de cálices, AH
Mudas *		7±1	5.66±4.16	10.66±2.51	10.33±4.72
Supervivencia *		93.33±5.77	93.33±5.77	90±10	86.66±5.77
Longitud (mm)	<i>Inicial</i> *	19.76±0.23	19.93±0.51	19.36±0.55	19.33±0.49
	<i>Final</i>	26.92±0.43	27.2±0.57	26.77±0.89	27.91±0.89
Peso (g)	<i>Inicial</i> *	0.12±0.00	0.13±0.00	0.13±0.01	0.11±0.00
	<i>Final</i>	0.19±0.20 ^b	0.20±0.00 ^a	0.17±0.02 ^b	0.19±0.00 ^{ab}
Ganancia en longitud		7.16±0.20 ^b	7.26±0.07 ^b	7.40±0.35 ^b	8.57±0.28 ^a
Ganancia en peso		0.06±0.00 ^b	0.07±0.00 ^{ab}	0.03±0.00 ^c	0.07±0.00 ^a
% de incremento en longitud		36.23±0.60 ^c	36.46±0.68 ^{bc}	38.23±0.94 ^b	44.36±0.45 ^a
% de incremento en peso		53.02±0.94 ^b	54.41±0.99 ^b	25.86±0.84 ^d	66.88±0.37 ^a
¹ TCE(% dia-1)		0.70±0.01 ^b	0.72±0.01 ^b	0.38±0.01 ^d	0.85±0.00 ^a

*No existen diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$)

¹Tasa de Crecimiento Especifica= Definida como el porcentaje en incremento en peso por día

Los superíndices diferentes muestran las diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($p<0.05$)

Los resultados del conteo de cromatóforos por campo en la región pleon (abdomen) de *M. tenellum* sometidos a diferentes métodos de inclusión de extractos del cáliz de *H. sabdariffa* se presentan en la figura 3. El tratamiento con agua destilada presentó mayor número de cromatóforos, el cual fue ligeramente menor en el tratamiento AH, aunque este último no presentó diferencias significativas frente al tratamiento control; así mismo el tratamiento control compartió similitud estadística con los organismos silvestres y el tratamiento de EEA, siendo este último, el que presentó menor número de cromatóforos por campo ($P<0.05$).

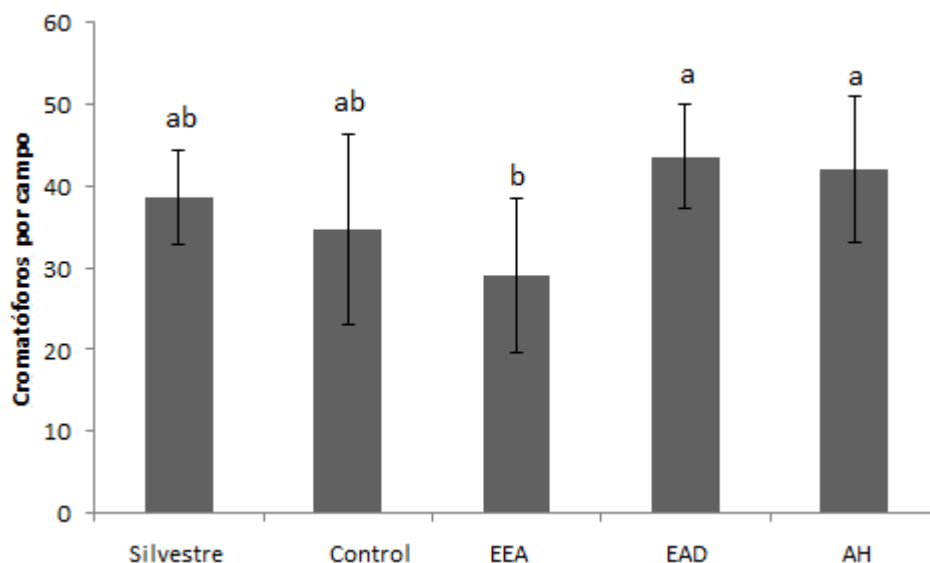


Figura 3. Conteo de cromatóforos por campo en la región pleon (abdomen) de langostinos *Macrobrachium tenellum* sometidos a diferentes tratamientos de inclusión de cáliz de *Hibiscus sabdariffa* y de langostinos extraídos de su medio silvestre. Las líneas verticales en cada barra representan la desviación estándar para cada tratamiento. Los superíndices diferentes muestran las diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$).

El análisis de coloración HSB del soma de cromatóforos en la región pleon (abdomen) de *M. tenellum* sometidos a diferentes tratamientos de inclusión de cáliz de *H. sabdariffa* se muestran en la [figura 4](#). El tratamiento AH fue el que tuvo una menor cantidad estadísticamente significativa de matiz ($P < 0.05$) en grados (del modelo HSB), siendo este, el más rojo frente a los demás tratamientos. El tratamiento correspondiente a los organismos silvestres mostraron una coloración cercana a los colores marrones, el tratamiento control, EEA y EAD que comparten similitud estadística ($P > 0.05$) exhiben valores en grados cercanos a los colores amarillos, es decir, presencia de xantóforos [22]. Para el caso del análisis de la saturación, el tratamiento AH se muestra como el más saturado (más rojo) ($P < 0.05$), en el caso de la brillantez éste se exhibe con los valores más pequeños respecto a los demás tratamientos ($P < 0.05$).

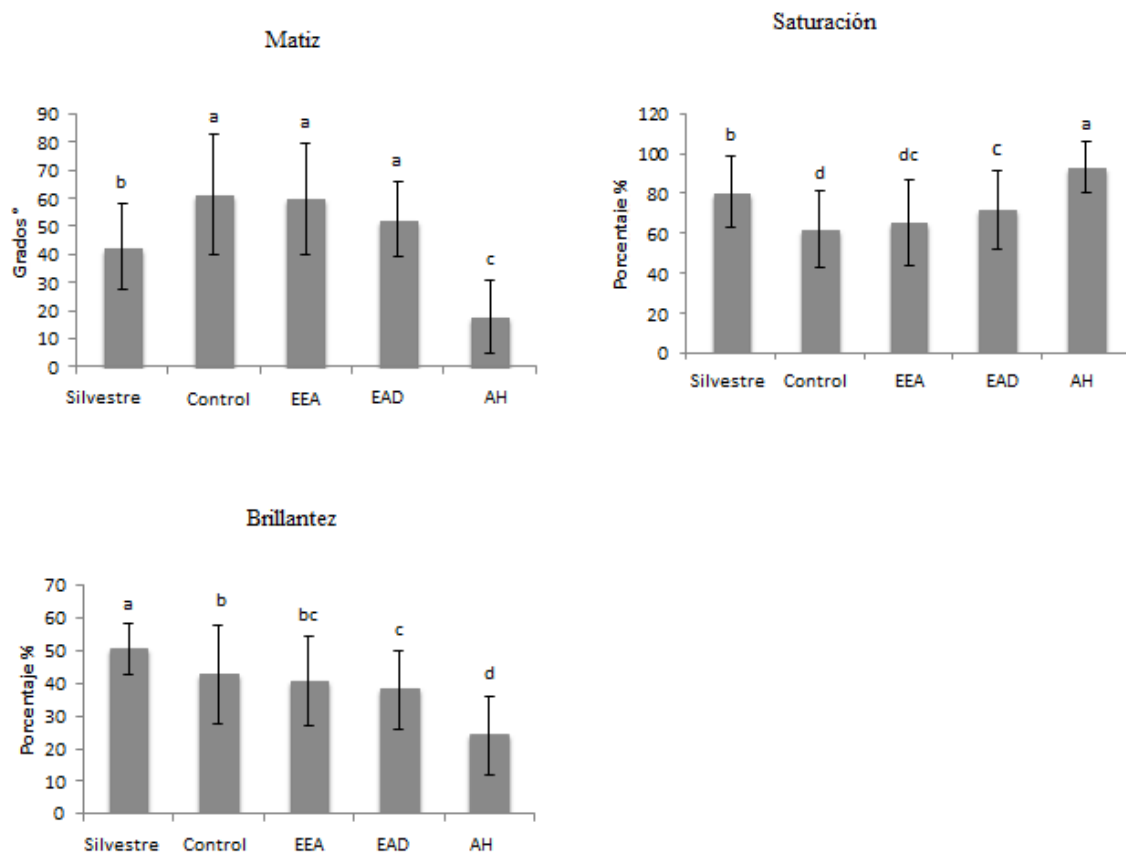


Figura 4. Análisis de coloración HSB (Matiz, Saturación y Brillantez) del soma de cromatóforos en la región pleon (abdomen) de langostinos *Macrobrachium tenellum* sometidos a diferentes tratamientos de inclusión de cáliz de *Hibiscus sabdariffa* y de langostinos silvestres. Las líneas verticales en cada barra representan la desviación estándar para cada tratamiento. Los superíndices diferentes muestran las diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$).

El desarrollo de los cromatóforos, determinado con base en un índice por una escala de 1 (el pigmento máximo concentrado) al 5 (el pigmento máximo dispersado), se muestra en la [figura 5](#). Los langostinos de los tratamientos EAD y AH mostraron un desarrollo de cromatóforos igual a los langostinos extraídos de su medio silvestre, mientras que los tratamientos control (AIT) y EEA presentaron un mayor número de cromatóforos ($P < 0.05$).

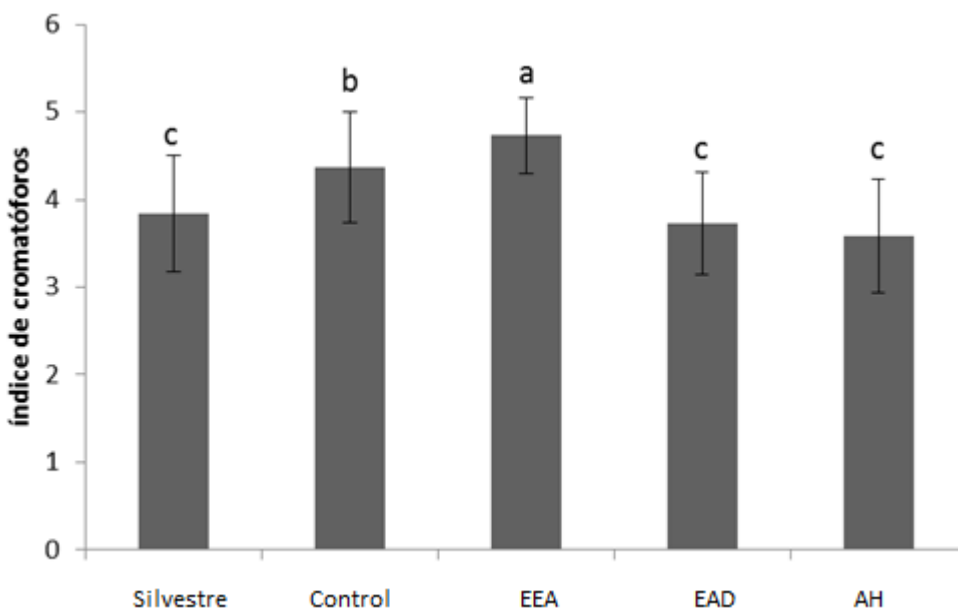


Figura 5. Índice de cromatóforos de la región pleon (por una escala de 1: el pigmento máximo concentrado; al 5: el pigmento máximo dispersado) de langostinos *Macrobrachium tenellum* silvestres y langostinos sometidos a diferentes tratamientos de inclusión de cáliz de *Hibiscus sabdariffa*. Los superíndices diferentes muestran las diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$).

El análisis de coloración HSB de langostinos crudos de *M. tenellum* sometidos a diferentes tratamientos de inclusión de cáliz de *H. sabdariffa* se muestra en la [figura 6](#). En el caso del Matiz, en la región cefalotórax, no se presentaron diferencias significativas del tratamiento AH y EEA frente al control (AIT), pero el tratamiento EAD presentó una mayor cantidad de grados con una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) frente al control. En la Saturación se presentó diferencia en casi todos los tratamientos y tejidos con respecto al control (AIT), que mostró un menor porcentaje de saturación ($P < 0.05$), a excepción del tratamiento AH para el abdomen y el tratamiento EEA para el telson y urópodos. En Brillantez no se observaron diferencias entre los tratamientos ($P > 0.05$).

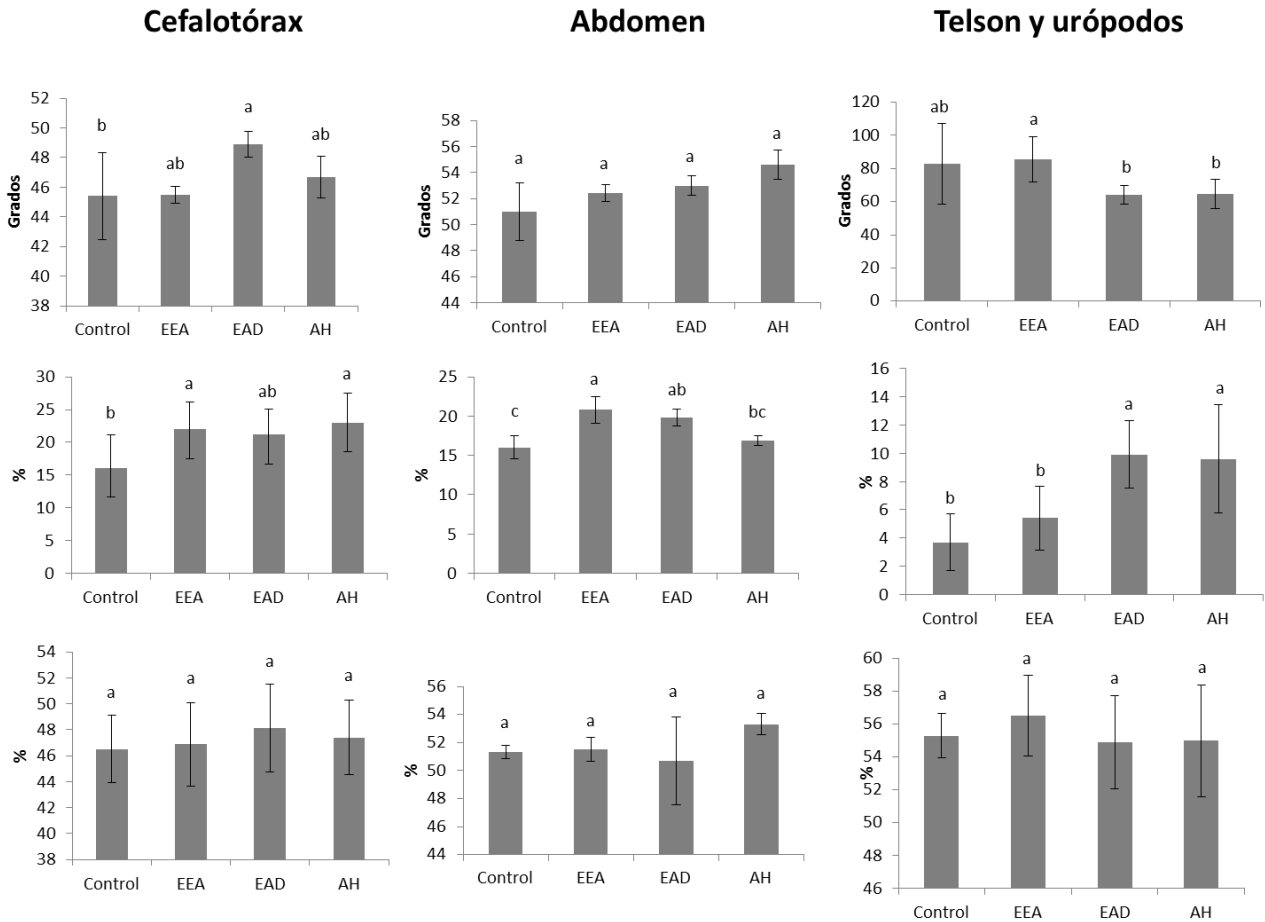


Figura 6. Análisis de coloración HSB (Matiz, Saturación y Brillantez) de las regiones cefalotórax, región pleon (abdomen), región telson y urópodos de langostinos crudos de *Macrobrachium tenellum* sometidos a diferentes tratamientos de inclusión de cáliz de *H. sabdariffa*. Las líneas verticales en cada barra representan la desviación estándar para cada tratamiento. Los superíndices diferentes muestran las diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$).

El análisis de coloración HSB de langostinos cocidos de *M. tenellum* sometidos a diferentes tratamientos de inclusión de cáliz de *H. sabdariffa* se presenta en la [figura 7](#). En la región cefalotórax solo se presentaron diferencias estadísticamente significativas en saturación, para el caso de cefalotórax y abdomen, siendo el control (AIT) el que presentó un mayor porcentaje, en comparación con los demás tratamientos ($P < 0.05$).

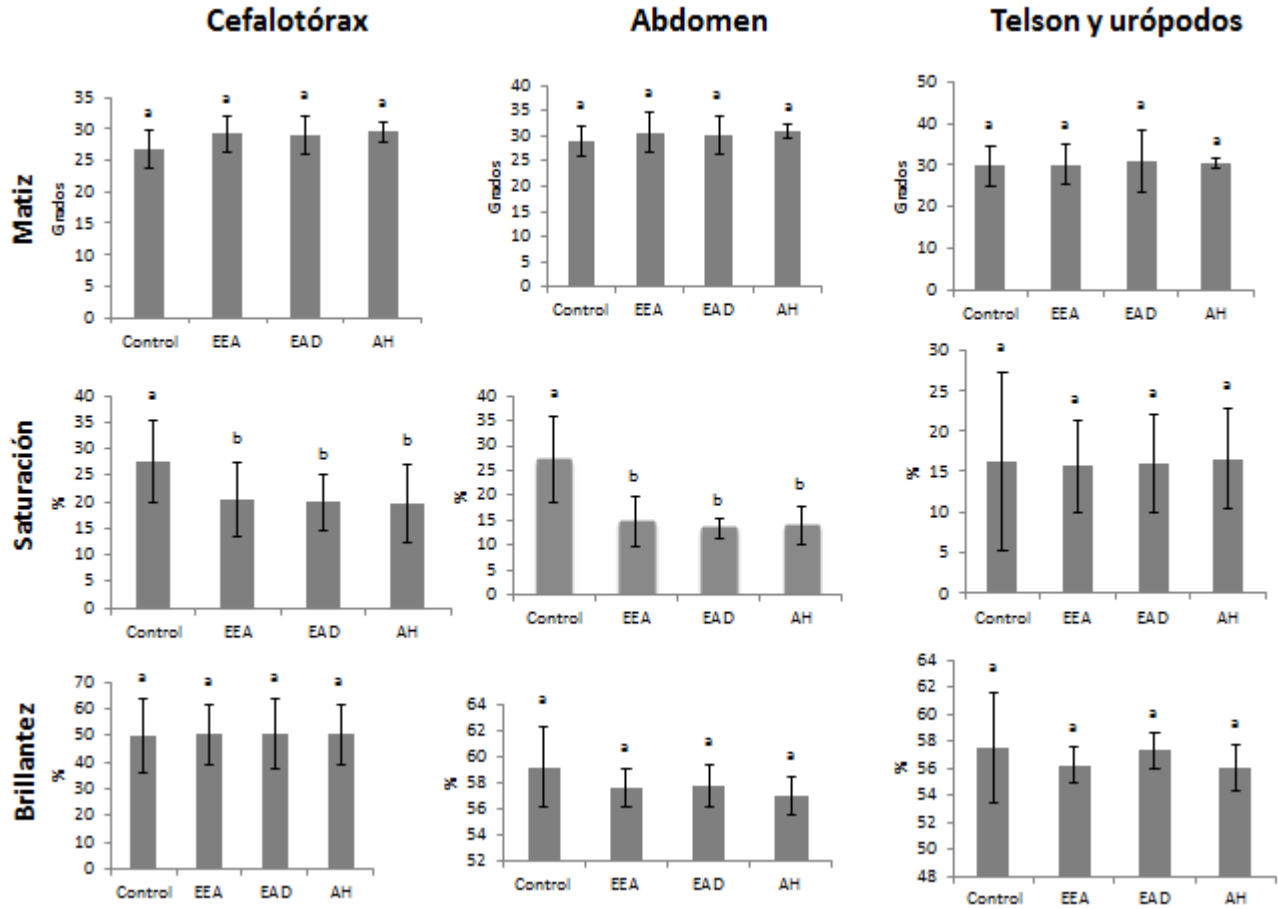


Figura 7. Análisis de coloración HSB de las región cefalotórax, región pleon (abdomen), región telson y urópodos de langostinos cocidos de *Macrobrachium tenellum* sometidos a diferentes tratamientos de inclusión de cáliz de *Hibiscus sabdariffa*. Las líneas verticales en cada barra representan la desviación estándar para cada tratamiento. Los superíndices diferentes muestran las diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$).

Los resultados del conteo de cromatóforos por campo en la región pleon (abdomen) de *M. tenellum* sometidos a diferentes tratamientos de inclusión de cáliz de *H. sabdariffa* no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$). La única diferencia registrada fue con el tratamiento EEA, pero resultando con un conteo menor de cromatóforos comparado con el resto de los tratamientos y los organismos silvestres (Figura 1). Éstos resultados no coinciden con los reportados por Pérez-Escalante *et al.* (2012) [22], donde observaron que *Carassius auratus* es estimulado para producir más cromatóforos cuando la dieta contiene antocianina, idea que comparte con Paripatanont *et al.* (1999) citado en Pérez-Escalante *et al.* (2012)[22], que sugieren que la producción de células es más alta debido al alto contenido de antocianinas provenientes de *H. sabdariffa*.

El índice de cromatóforos de estos langostinos coinciden con los cromatóforos descritos por Bauer (1981)[23], donde el tipo de cromatóforos es rojo-amarillo y la dispersión relativa de los pigmentos sobre los cromatosomas es: rojo bajo para el centro o soma y amarillo alto para las ramificaciones citoplasmáticas. Si bien el EEA demostró un menor conteo de cromatóforos totales, su índice de

cromatóforos indica que a pesar de esto la dispersión del pigmento dentro de esta célula fue mayor que los tratamientos restantes.

Se han llevado a cabo diversos estudios sobre inclusión de pigmentos a dietas en organismos acuáticos; por ejemplo, los resultados de pigmentación reportados por Ingle de la Mora (1996)[11], demuestran una pigmentación positiva con extractos de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) y paprika la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) frente al colorante sintético carofil rosa. De igual manera, Arredondo-Figueroa y Pedroza Islas (2003)[13], reportaron una pigmentación positiva con carotenoides extraídos del chile rojo (*C. annuum*) en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Los presentes resultados de pigmentación a nivel macroscópico, en langostinos crudos y cocidos de *M. tenellum* con extractos de *H. sabdariffa* no dieron diferencias significativas frente a sus controles correspondientes. A pesar de esto, el estudio microscópico en el soma de cromatóforos presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) frente al tratamiento AIT. Asimismo, el AH fue el que presentó una menor cantidad que fue estadísticamente significativa ($P < 0.05$) de matiz en grados, al igual que diferencias significativas ($P < 0.05$) en saturación y brillantez, esto indica la presencia de eritróforos por sus valores cercanos al rojo: 0° , 100 %, 90 % [24]. Estos resultados concuerdan con Pérez-Escalante *et al.* (2012)[22], que reportan la presencia de melanóforos en *Carassius auratus* al incluir a las dietas antocianinas de *H. sabdariffa*. Aparentemente, la presencia de cromatóforos pigmentados por la coloración típica del cáliz de *H. sabdariffa* se relaciona con la inclusión de las antocianinas.

Cabe mencionar que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) de supervivencia (%); sin embargo, en la evaluación de parámetros de crecimiento, de manera general, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) en todos los parámetros de crecimiento, a excepción de mudas (%). La inclusión con el tratamiento AH resultó ser el único diferente en ganancia en peso, % de incremento en longitud, % de incremento en peso y tasa de crecimiento específica, siendo al parecer este tratamiento el más eficaz, el que promueve más el crecimiento en *M. tenellum*, esto puede deberse a tres razones: i) los cálices de *H. sabdariffa* presentan en su composición vitaminas tales como tiamina, niacina y principalmente vitamina C, además, se ha identificado una apreciable cantidad de compuestos bioactivos, como es el caso de las antocianinas; ii) las antocianinas y carotenoides, ejercen su principal acción biológica a través de mecanismos de antioxidación y secuestro de radicales libres [25], iii) aún y cuando se han reportado concentraciones de proteína muy diversas en los cálices de *H. sabdariffa* [26-28], en el caso del tratamiento AH, el aporte extra de proteína incluida directamente en el control, en teoría, pudiera ejercer un efecto promotor de crecimiento comparado con el resto de los tratamientos. Sin embargo, dada la alta concentración de proteína ya existente en el AIT (53%) lo más probable es que el aporte extra fuera dirigido no a la formación de tejido sino al metabolismo energético [25].

Se ha reportado que algunos compuestos pigmentantes ejercen un efecto positivo en el crecimiento de organismos cultivados. Pérez-Escalante *et al.* (2012)[22], observaron que la supervivencia y los parámetros biométricos en *Carassius auratus* fueron mayores en peces alimentados con la inclusión de antocianinas extraídas de *H. sabdariffa*; estos resultados coinciden con el presente estudio en los parámetros biométricos. Asimismo, coinciden con los resultados de Campuzano-Espinoza (2011)[15], que reportó parámetros biométricos superiores al incluir antocianinas de *H. sabdariffa* en postlarvas de *M. rosenbergii*.

No se sabe con certeza el mecanismo molecular por el cual las antocianinas ofrecen la capacidad antioxidante a los organismos. Campuzano-Espinoza (2011)[15], sugiere que posiblemente las

antocianinas forman complejos con moléculas como los azúcares, lo que les da estabilidad y solubilidad. Por otro lado, Wang *et al.* (1997) [29], sugieren que los diferentes patrones de hidroxilación y glicosilación en antocianinas parecieran modular sus propiedades antioxidantes. Por lo tanto, además de sus características de colores, las antocianinas poseen potentes propiedades antioxidantes, esto aparentemente ofreció ventajas en los langostinos, promoviendo un mayor crecimiento respecto al tratamiento control.

Conclusiones

Se considera factible la inclusión de *H. sabdariffa* en dietas para postlarvas de langostino *M. tenellum*, principalmente bajo la forma de harina (AH), debido a que presentó los mejores resultados en la evaluación de crecimiento.

No se presentó efecto directo en la coloración de las regiones anatómicas estudiadas en langostinos; sin embargo, se observó una coloración roja más intensa en el tratamiento AH para la evaluación de la pigmentación del soma de los cromatóforos de la región pleon (abdomen).

Referencias

1. Espinosa-Chaurand L. D, Vargas-Ceballos M. A, Guzmán-Arroyo M., Nolasco-Soria H., Carrillo-Farnés O., Chong-Carrillo O., Vega-Villasante F. (2011). Biología y cultivo de *Macrobrachium tenellum*: Estado del arte. *Hidrobiológica* **21** (2): 99-117.
2. Román-Contreras, R. (1979). Contribución al conocimiento de la biología y ecología de *Macrobrachium tenellum* (Smith) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología* **6** (2): 137-160.
3. Arroyo-Rentería, G. Tesis de Licenciatura en Biología Pesquera (2001). *Contribución al conocimiento de las especies de Macrobrachium y Atya con especial referencia a los langostinos en el cauce del río baluarte (1991)*. Universidad Autónoma de Sinaloa, México.
4. Luna M., Graziani C., Villarroel E., Lemus, M., Lodeiros C., Salazar G. (2007). Evaluación de tres dietas con diferente contenido proteico en el cultivo de postlarvas del langostino de río *Macrobrachium rosenbergii*. *Zootecnia Tropical* **25** (2): 111-121 .
5. Hoff, F. (2001). Future of marine Ornamental Fish Culture. *Marine Ornamentals Species: Collection, Culture and Conservation*. Cato Jamens C. and Brown C. L. (Eds). First edition. 389-395. Iowa State Press. Orlando, Florida
6. Wabnitz, C., Taylor, M., Green, E., Razak, T. (2003). *From Ocean to Aquarium: The global trade in marine ornamental species*. 17 editions 64. UNEP-WCMC Biodiversity Series. United Kingdom.
7. Sommers T.R., Potts W.T., Morrisy N.M. (1991). Utilization of microalgal astaxanthin by rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **94**(1): 79-88.
8. Dergal Badul, S. (1994). *Química de los alimentos*. 3ª Edición. 379-385. Alhambra Mexicana. México.
9. Howell B. K. & A. D. Matthews, (1991). The carotenoids of wild and blue disease affected farmed tiger shrimp (*Penaeus monodon*, Fabricus). *Comparative Biochemistry and Physiology* **98** (3): 375- 379.
10. Meyers S. P. (1994). Developments in world aquaculture, feed formulations, and role of carotenoids. *Pure and Applied Chemistry* **66**(5): 1069-1076.
11. De la Mora, I. G. Tesis de Maestría (1996). *Efectos de pigmentación en el músculo de trucha arcoiris (Oncorhynchus mykiss) mediante el uso de extractos pigmentantes de flor de cempasúchil (Tagetes erecta) y paprika (Capsicum annuum) incorporados en el alimento balanceado*. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León.
12. Vega-Villasante F., Rodríguez-Olivares K. P., Zuñiga-Medina L. M., Rojas-Sahagún C. C., Espinosa-Chaurand, L. D., Rodríguez-Aguilar, J. L. (2011). Infestación por el "piojo ancla" Lernaecy prinacea (Crustacea:Copepoda) en el gupi *Poecilia reticulata* (Atheriniformes: Poeciliidae): mortalidad y efectos sobre la pigmentación. *Avances Sobre Investigaciones Marinas y Acuícolas del Pacífico Tropical Mexicano* **2**(1): 161-172.
13. Arredondo Figueroa, J. L., Pedroza Islas R., Ponce Palafox J. T., Vernon Carter E. J. (2003). Pigmentation of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, (1931) with sterified and saponified carotenoids from red chilli (*Capsicum annum*) in comparison to astaxanthin. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* **2** (2): 101-108.
14. Yamada S., Tanaka Y., Sameshima M., Ito Y (1990). Pigmentation of prawn (*Penaeus japonicus*) with carotenoids: I.

- Effect of dietary astaxanthin, β -carotene and canthaxanthin on pigmentation. *Aquaculture* **8**(1): 323-330.
15. Campuzano Espinoza, Martha Patricia. Tesis de Maestría. (2011). *Efecto de la inclusión de pigmentos de cempasúchil y jamaica en dietas para crecimiento de langostino Macrobrachium rosenbergii*. Instituto Tecnológico de Boca del Río, Veracruz, México.
 16. Sinnott, R. (1989). Keep them in the pink to stay competitive. *Fish Farmer* **12** (5): 23-26.
 17. Wagner G. J. (1982). Cellular and Subcellular Location in Plant Metabolism. *Recent advances in Phytochemistry volume 16*. Creazy L, Hrazdina G. (Eds) First edition. 1-45. Plenum Press. New York.
 18. Ponce-Palafox J. T., Arredondo-Figueroa J. L., Vernon-Carter E. J. (2006). Carotenoides de plantas incluidos en dietas para el cultivo del camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*). *Revista mexicana de ingeniería química* **5**: 157-165.
 19. Georgieva L. & Dimitrova T. (17 June 2005). RGB and HSV color models in color identification of digital trauma images, international conference on computer systems and technologies. *Technical University Press, Varna, Bulgaria. International Conference on Computer Systems and Technologies - CompSysTech' 2005*[online] Vol. 12 < <http://ecet.ecs.ru.acad.bg/cst05/Docs/cp/sV/V.12.pdf> > Consultado el 28 agosto 2014.
 20. Yasir I. & J.G. Quin. (2009). Effect of Light Intensity on Color Performance of False Clownfish, *Amphiprion ocellaris* Cuvier. *Journal of the World Aquaculture Society* **40** (3): 337-350.
 21. Hogben L. & D. Slome. (1931). The pigmentary effector system. VI. The dual character of endocrine coordination in amphibian colour change. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character* **108** (755): 10-53.
 22. Pérez-Escalante V., Aguirre-Guzmán G., Vanegas-Espinoza P. E., Del Villar-Martínez, A. A. (2012). Effect of Anthocyanin's Extract from Flour of Roselle Calyx (*Hibiscus sabdariffa*) on Growth and Pigmentation of Goldfish (*Carassius auratus*). *Thai Journal Veterinary Medicine* **42**(1): 107-111.
 23. Bauer R. T. (1981). Color Patterns of the Shrimps *Heptacarpus pictus* and *H. paludicola* (Caridea: Hippolytidae). *Marine Biology* **64**: 141-152.
 24. Gallego R & J. Sanz, (2005). Guía de coloraciones. Madrid: editorial H. Blume. ISBN 84-89840-31-8.
 25. Sáyago-Ayerdi, S. G & I. Goñi, (2010). *Hibiscus sabdariffa* L: Fuente de fibra antioxidante. *Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición* **60** (1): 79-84.
 26. Morton J. F. (1987). Roselle, *Hibiscus sabdariffa*. *Fruits of Warm Climates*. Morton, J.F. (Ed), First editions. 281-286. Florida Flair Books. Miami, USA.
 27. Sáyago-Ayerdi SG., Arranz S., Serrano J., Goñi I. (2007). Dietary Fiber Content and Associated Antioxidant Compounds in Roselle Flower (*Hibiscus sabdariffa* L) Beverage. *Journal Agriculture Food Chemical* **55** (1): 7886-7890.
 28. Babalola S. O., Babalola A. O., Aworh O. C. (2001). Compositional attributes of the calyces of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) *Journal Food Tech African* **6** (4) 133-134.
 29. Wang H., Cao G. H., Prior R. L. (1997). Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins. *Journal Agriculture Food Chemical* **45** (2): 304-309.