

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR
DE ENSENADA**



**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS
CON ORIENTACIÓN EN ACUICULTURA**

**CRECIMIENTO, SOBREVIVENCIA, CONSUMO DE OXÍGENO, EXCRECIÓN
NITROGENADA Y ACUMULACIÓN DE ASTAXANTINA EN EL TEJIDO DEL
CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei* MANTENIDO A DIFERENTES
SALINIDADES Y ALIMENTADO CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE
ASTAXANTINA EN LA DIETA.**

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

JUAN PABLO GONZÁLEZ HERMOSO

Ensenada, Baja California, México, septiembre del 2006.

RESUMEN de la tesis que presenta **JUAN PABLO GONZÁLEZ HERMOSO** presentada como requisito parcial para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS** con orientación en **ACUICULTURA**. Ensenada, Baja California, México. Junio del 2006.

CRECIMIENTO, SOBREVIVENCIA, CONSUMO DE OXÍGENO EXCRECIÓN NITROGENADA Y ASIMILACIÓN DE ASTAXANTINA EN TEJIDO DEL CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei* MANTENIDO A DIFERENTES SALINIDADES Y ALIMENTADO CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ASTAXANTINA EN LA DIETA.

Resumen aprobado por:

Dra. Ana Denisse Re Araujo
Director de tesis

Se llevo a cabo un estudio para medir las tasas metabólicas del camarón azul *L. vannamei* en condiciones controladas. Un grupo de 540 juveniles de camarón blanco (*L. vannamei*) de un peso promedio de 2 ± 0.5 g fueron expuestos a tres diferentes salinidades (10, 25 y 40‰) y se alimentaron con una dieta comercial Rangen modificada al adicionar tres niveles de astaxantina (0, 40 80 y 150mg kg⁻¹) en el alimento. Para cada combinación de salinidad y alimento (3 x 4) se utilizaron tres repeticiones de 15 organismos cada una, los cuales fueron colocados en (36) estanques de fibra de vidrio de 40L mantenidos a una temperatura constante de 2 ± 1 °C.

Los camarones se alimentaron dos veces al día con el 5% de su peso húmedo durante un periodo de seis semanas. Una vez por semana se realizaron biometrías de los organismos en experimentación; donde se observo que los organismos que presentaron un mayor incremento en peso fueron aquellos que se encontraban a una salinidad de 25‰ y en específico aquellos camarones alimentados con la dieta que adicionada con 150 mg kg⁻¹ de astaxantina en el alimento. De igual forma en la salinidad de 25‰ se presento la mayor tasa de sobrevivencia (96.2%). Al final de este periodo en un sistema respirométrico se determino el consumo de oxígeno de los camarones mantenidos experimentalmente y en la salinidad de 25‰ se observaron los valores más bajos con respecto a las salinidades de 10 y 40‰, así como los valores mas bajos en la excreción de NH₄ se presentaron en la misma salinidad.

Se determino la cantidad de astaxantina contenida en los tejidos del camarón blanco en las diferentes combinaciones experimentales. Se tomaron muestras de tejido de músculo, exoesqueleto y hepatopáncreas ya que son los tejidos en donde se deposita mas del 85% de la astaxantina, Los resultados muestran que las concentraciones mas altas de astaxantina se

presentaron en el hepatopáncreas, concentraciones intermedias en exoesqueleto y las concentraciones mas bajas en músculo. Encontrándose una correlación directa con la asimilación y la concentración de astaxantina en el alimento así como en relación a los tejidos evaluados.

Palabras clave: Consumo de oxígeno, Excreción de amonio, Astaxantina, camarón blanco.

ABSTRACT of the thesis presented by **JUAN PABLO GONZÁLEZ HERMOSO** as a requirement to obtain the **MASTER OF SCIENCE** degree with orientation in **AQUACULTURE**. Ensenada, Baja California, Mexico. June 2006.

GROWTH, SURVIVAL, OXYGEN CONSUMPTION, NITROGEN EXCRETION AND ASSIMILATION OF ASTAXANTHIN OF *Litopenaeus vannamei* ACCLIMATED AT DIFFERENT SALINITIES AND AT THREE DIFFERENT CONCENTRATION OF ASTAXANTHIN.

Abstract approved by:

Dra. Ana Denisse Re Araujo.
Thesis director

A juveniles group of 540 of white shrimp (*L. vannamei*) of weight average of 2 ± 0.5 g which were exposed to three different salinities hyperosmotic, isosmotic and hypo osmotic (10, 25 and 40‰) respectively. During the experiments they fed with Rangen a commercial diet (40% protein) reformulated by Mixit Win 3 program added with three astaxanthin levels (basal, 40, 80 and 150mg kg⁻¹). For each combination of salinity and food three aquaria were used to reply of 15 organisms each; which were placed in tanks of fibber of fiberglass of 40L maintained to a constant temperature of 28 ± 1 °C.

The shrimps were fed twice a day to 5% of their wet weight during a period of six weeks. Once a week they were carried out biometrics of the organisms in experimentation where one observes that the organisms that presented a bigger increment in weight those that were to a salinity of 25‰ were and in specific those shrimps fed in the diet that added with 150mg kg⁻¹ in relation of survival salinity of 25‰ present the biggest rate (96.2%). At the end of this period was determined the oxygen consumption on all experimental combinations; where the shrimps maintained to a isosmotic salinity of 25‰ showed the lowest values in comparison of the salinities of 10 and 40‰, beside the low values of ammonium excretion were presented in the same salinity

Samples of muscle tissue, exoskeleton and hepatopancreas were taken. The results show that the highest concentrations in astaxanthin from the different dietary levels were presented in the hepatopáncreas. The concentration in the hepatopancreas, exoskeleton and in the muscle they increased in direct relationship with the astaxanthin dietary concentration levels.

Key words: Oxygen consumption, Nitrogen excretion, Astaxanthin, white shrimp.

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

Humberto Gonzáles Vega y Araceli Hermoso Covarrubias por todo su cariño y apoyo incondicional en este y en todo los proyectos que he realizado, gracias.

A MIS HEMANOS:

Claudia y Jorge Humberto por ser parte importante de mi vida y por siempre poder contar con su apoyo cando lo he necesitado son una parte importante en mi vida.

A LOS QUE YA NO ESTAN:

Abuelito Moy, Abuelita candida, Tía Marycruz, estuvieron connmigo cuando inicio todo esto y siempre creyeron en mi, solo recibí buenos consejos de ustedes, se me fueron que dios me los cuide allá arriba.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ana Denisse Re Araujo, por sus consejos y por su orientación y apoyo durante la realización de este trabajo.

A los miembros de mi comité: Dr. Fernando Díaz Herrera y Dr. Mikhail Shlyagin, por sus valiosas observaciones y aportes dados para la realización de este estudio.

Al personal de Acuicultura y Biotecnología Marina por darme su apoyo y ayuda para poder resolver todos los problemas que se fueron presentando durante este trabajo.

Mi mas sincero agradecimiento a William Capa Por apoyarme durante la fase experimental de este trabajo sin su ayuda y amistad no se hubiera logrado.

A todos mis compañeros de Generación tanto de Acuicultura como de Biotecnología Marina, por la buena amistad y camaradería que logre tener con cada uno de ellos.

Al CICESE, a sus investigadores y personal administrativo por formarme y permitir seguirme formando académicamente, además de otorgarme la beca interna para culminar este trabajo.

AL Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACyT, por la beca otorgada durante mi estancia en una institución como esta.

CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPOTESIS	6
III. OBJETIVOS	7
IV. MATERIAL Y METODOS	8
IV.1 Obtención y mantenimiento de los organismos.	8
IV.2 Aclimatación de los organismos a las salinidades experimentales	9
IV.3 Reformulación de la Dieta.	10
IV.4 Selección y separación de los organismos a cada salinidad y a las dietas experimentales.	11
IV.5 Consumo de Oxígeno y Excreción Nitrogenada de <i>Litopenaeus vannamei</i> en salinidades fijas y alimentados con las diferentes concentraciones de astaxantina.	11
IV.6 Relación atómica O:N	14
IV.7 Determinación de la concentración de astaxantina en los tejidos.	14
IV.8 Análisis estadísticos	16
V RESULTADOS	17
V.1 Efecto combinado de la salinidad y el contenido de astaxantina en el alimento en la tasa de crecimiento.	17
V. 2 Efecto combinado de la salinidad y el contenido de astaxantina en la dieta en la tasa de sobrevivencia.	18
V.3 Consumo de oxígeno en <i>L. vannamei</i> en las diferentes salinidades y contenido de astaxantina en la dieta.	18

CONTENIDO (continuación)

	Página
V.4 Excreción de amonio en <i>L. vannamei</i> en las diferentes salinidades y contenido de astaxantina en la dieta.	21
V.5 Relación Oxígeno : Nitrógeno (O:N)	24
V. 6 Acumulación de Astaxantina en músculo en los diferentes tratamientos.	24
V. 7 Acumulación de Astaxantina en exoesqueleto en los diferentes tratamientos.	27
V. 8 Acumulación de Astaxantina en el hepatopáncreas en los diferentes tratamientos.	39
VI. DISCUSION	33
VI. 1 Crecimiento.	33
VI. 2 Sobrevivencia	36
VI. 3 Consumo de oxígeno.	37
VI. 4 Excreción nitrogenada.	39
VI. 5 Razón Oxígeno: Nitrógeno (O:N).	41
VI. 6 Acumulación de astaxantina en los tejidos de <i>L. vannamei</i> .	42
VII. CONCLUSIONES	47
VIII. LITERATURA CITADA	49

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Distribución geográfica del camarón blanco <i>L. vannamei</i> .	2
2	Estanques de mantenimiento de 2m ³	8
3	Estanques de 40L.	9
4	Sistema respirométrico con 14 cámaras de 250ml como el descrito por Díaz Herrera <i>et al</i> (1989).	12
5	[Medición del consumo de oxígeno de rutina	13
6	Medición de amonio método azul de indofenol	13
7	Extracción de pigmento con acetona grado HPLC 99%.	15
8	Consumo de oxígeno (mg O ₂ h ⁻¹ g ⁻¹ p. h.) de <i>L. vannamei</i> aclimatados 10%o y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	19
9	Consumo de oxígeno (mg O ₂ h ⁻¹ g ⁻¹ p. h.) de <i>L. vannamei</i> aclimatados 25%o y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	20
10	Consumo de oxígeno (mg O ₂ h ⁻¹ g ⁻¹ p. h.) de <i>L. vannamei</i> aclimatados 40%o y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	20
11	Excreción de amonio (mg NH ₄ h ⁻¹ g ⁻¹ p. h.) en <i>L. vannamei</i> aclimatados a 10%o y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	22
12	Excreción de amonio (mg NH ₄ h ⁻¹ g ⁻¹ p. h.) en <i>L. vannamei</i> aclimatados a 25%o y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	22
13	Excreción de amonio (mg NH ₄ h ⁻¹ g ⁻¹ p. h.) en <i>L. vannamei</i> aclimatados a 40%o y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	23

LISTA DE FIGURAS (continuación)

Figura		Página
14	Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en músculo de <i>L. vannamei</i> aclimatados a 10‰ y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	25
15	n de astaxantina (mg kg^{-1}) en músculo de <i>L. vannamei</i> aclimatados a 25‰ y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	26
16	Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en músculo de <i>L. vannamei</i> aclimatados a 40‰ y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	26
17	Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en exoesqueleto de <i>L. vannamei</i> aclimatados a 10‰ y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	27
18	Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en exoesqueleto de <i>L. vannamei</i> aclimatados a 25‰ y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	28
19	Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en exoesqueleto de <i>L. vannamei</i> aclimatados a 40‰ y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	29
20	Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en hepatopáncreas de <i>L. vannamei</i> aclimatados a 10‰ y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	30
21	Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en hepatopáncreas de <i>L. vannamei</i> aclimatados a 25‰ y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	30
22	Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en hepatopáncreas de <i>L. vannamei</i> aclimatados a 40‰ y alimentados con los tratamientos A, B, C y D.	31

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
I	Composición de la dieta reformulada con la adición de astaxantina y otros componentes.	10
II	Análisis bromatológico de las diferentes dietas.	11
III	Crecimiento del camarón blanco <i>L. vannamei</i> expuesto a diferentes combinaciones de salinidad y contenido de astaxantina en la dieta.	17
IV	Tasa de sobrevivencia del camarón blanco <i>L. vannamei</i> expuesto a diferentes combinaciones de salinidad y contenido de astaxantina en la dieta.	18
V	Relación O:N en Juveniles de <i>L. vannamei</i> expuesto a diferentes combinaciones de salinidad y contenido de astaxantina en la dieta.	24
VI	Acumulación de astaxantina en músculo, exoesqueleto y hepatopáncreas en cada una de las salinidades a las que fueron expuestos en interacción con cada una de las dietas suministradas	32

I. INTRODUCCIÓN

La camaronicultura es la actividad que mas crecimiento ha tenido en los últimos 20 años en las zonas tropicales y subtropicales costeras del mundo (Páez, 2002). Entre las causas que acompañan a este acelerado crecimiento se encuentran: (a) la alta demanda del mercado, especialmente en países como Japón, Estados Unidos y Europa; (b) el progreso biotecnológico tal como la producción de postlarvas mas resistentes a las enfermedades y la implementación de nuevas tecnologías para optimizar el cultivo de camarón (c) la disminución de la captura de las poblaciones silvestres de camarón, muchas de las cuales ya se encuentra sobreexplotadas (FAO, 1999).

La producción de camarón cultivado en México para el 2004, fue de más de 58,361 ton. (FAO, 2005) Las especies que representan casi en su totalidad estas producciones son el camarón azul *Litopenaeus stylirostris* y el camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (SEMARNAP, 2002). Esta última es la especie mas cultivada de camarones peneidos en el hemisferio este y comprende el 30% de la producción de camarones peneidos en el mundo (Pérez-Farfante y Kensley, 1997).

El camarón blanco *L. vannamei*, se distribuye a través de la costa del Pacífico desde el golfo de California en Yavaros Sonora México, hasta el norte de Perú en Caleta La Cruz (Figura 1). Su distribución batimétrica comprende desde los 0.5 hasta los 72 metros. Esta especie entra en los sistemas lagunares-estuarinos para completar su desarrollo larval (Michel, 2002), estos sistemas son ambientes en donde los factores extrínsecos como la temperatura y la salinidad cambian de manera cíclica y estacional afectando los procesos fisiológicos de los organismos que habitan en ellos (Rosas *et al.*, 1997).



Figura. 1 Distribución geográfica del camarón blanco *L. vannamei*.

La salinidad es un factor que puede modificar diversas respuestas funcionales en los camarones, tales como la tasa metabólica (Pequeux, 1995; Ponce Palafox *et al.*, 1997; Lemos, *et al.*, 2003), el crecimiento y la sobrevivencia (Brito. *et al.*, 2000), así como la presión osmótica de la hemolinfa que permite conocer la capacidad osmorreguladora de una especie (Valdez, 2002; Re Araujo, 2004) por lo cual se desencadenan respuestas de adaptación a través de diferentes mecanismos de regulación, este proceso se realiza en la hemolinfa y el intercambio de iones se obtiene a través del tejido branquial y el tracto digestivo principalmente (Chen y Lin, 1994)..

La cuantificación del consumo de oxígeno es esencial en la determinación de la energía que se requiere para el desarrollo de larvas y juveniles de invertebrados (Lemos *et*

al., 2003), es un método válido para evaluar el requerimiento energético que se presenta como respuesta a los efectos de los parámetros ambientales tales como la temperatura, la salinidad, fotoperíodo y la presión parcial de oxígeno en el medio (Kinne, 1970; Brown *et al.*, 1990; Villarreal y Rivera, 1993; Villarreal y Ocampo, 1993).

De acuerdo a la clasificación de Kinne (1967) se presentan cuatro diferentes patrones de consumo de oxígeno ante cambios en la salinidad: I) El consumo de oxígeno se mantiene constante, II) El consumo de oxígeno aumenta en salinidades subnormales y disminuye en salinidades supranormales, III) El consumo de oxígeno aumenta en condiciones subnormales y supranormales y IV) el consumo de oxígeno disminuye en salinidades subnormales y supranormales.

Se ha encontrado que cuando existen cambios bruscos de salinidad se presenta un incremento en el consumo de oxígeno en *P. japonicus* (Dalla Via 1986). La disminución de la salinidad trae como consecuencia un ligero aumento en el consumo de oxígeno en *P. monodon* y *Palaemon serratus*, *L. vannamei* y *L. stylirostris* (Salvato *et al.*, 2001, Valdez, 2002; Re *et al.*, 2004). Otro tipo de comportamiento tipo I (Kinne, 1967) se puede presentar cuando la salinidad varía pero la temperatura es de 28°C, el consumo de oxígeno se mantiene constante, esto ha sido observado en *L. stylirostris* por Re *et al.*, (2004) y por Spanopoulos-Hernández *et al.*, (2005).

Con respecto a la excreción de amonio en los organismos acuáticos, esta disminuye o aumenta dependiendo de las combinaciones de temperatura y salinidad a las que son expuestos los organismos, esto debido al catabolismo de los aminoácidos involucrados en la regulación osmótica (Bishop *et al.*, 1980) el amonio es utilizado como ión de

intercambio en la regulación del Na^+ en la hemolinfa de los crustáceos en bajas salinidades (Mangum *et al.*, 1976; Pressley *et al.*, 1981).

El amonio se considera la forma más eficiente desde el punto de vista energético, para excretar el nitrógeno (Armstrong, 1979; Gerhardt, 1980; Regnault, 1987). Los decápodos excretan el nitrógeno a través de las glándulas antenales y los epitelios branquiales principalmente como amonio, sumando más del 85% del nitrógeno total (Regnault, 1987). Dicha excreción está ligada al catabolismo de aminoácidos y a ciertas aminas, una degradación semi-completa de ácidos nucleicos y a la desaminación de ciertos nucleótidos (Armstrong, 1979).

La relación atómica O:N es un índice cualitativo que nos permite determinar el tipo de sustrato metabólico que está siendo utilizado por los organismos acuáticos como fuente de energía ante las variaciones de parámetros ambientales tales como, la salinidad y la temperatura. (Mazaud y Conover, 1988, Sierra y Díaz, 1999, Medina-Romo, 2005; Medina-Zendejas, 2006)

En la última década se observó un incremento sustancial en el número de trabajos publicados relacionados con la nutrición de los camarones los que se han enfocado en conocer los requerimientos de los principales nutrientes en diferentes especies y en las fases del proceso de producción. En particular, en los últimos diez años, se ha estudiado el uso de la astaxantina, como pigmento o como nutriente en diferentes especies de peneidos (Chien y Jeng, 1992; Arango, 1993; Arango *et al.*, 1994).

Los antioxidantes y vitaminas juegan un papel muy importante en la inactivación de los radicales libres producidos por las actividades celulares normales y por varios agentes

estresores (Chew, 1995). Las propiedades antioxidantes de la astaxantina tienen como propósito el incremento en la sobrevivencia durante el cultivo de *P. monodon* (Chien *et al.*, 2003). Además han sido asociados al aumento en la resistencia al estrés salino en postlarvas de camarones peneidos cuando se aumenta el porcentaje de astaxantina en la dieta (Darachai *et al.*, 1998; Merchie *et al.*, 1998; Chien *et al.*, 2003).

Los crustáceos no pueden sintetizar la astaxantina, pero pueden oxidar el β -caroteno y así obtenerla, por lo cual dependen de un suministro adecuado de este pigmento a través de la dieta. Sin embargo el suministro de β -caroteno será en cantidades muy altas debido a que metabolizarlo en el organismo requiere de un proceso complejo (Latscha 1989 y 1991).

Las moléculas de los carotenoides tienen funciones muy importantes tales como la fotoprotección, la actividad antioxidante, reserva de oxígeno en la célula y la estimulación del sistema inmune. (Rodríguez *et al.*, 1998).

Se conocen diferentes funciones fisiológicas para la astaxantina ya que incrementa la tolerancia al estrés, mejorando la respuesta inmune y estabilizando la pared celular. También puede ser una reserva intracelular de oxígeno y puede funcionar como protector intracelular al inactivar los radicales libres. En *L. vannamei*, aproximadamente el 65% de los carotenoides depositados en el cuerpo corresponden a astaxantina, el 5% a 7,8 dihidroastaxantina y el 30% es una mezcla de varios carotenoides (Menasveta, 1993).

Los niveles de acumulación de los carotenoides en los tejidos (músculo, hepatopáncreas, exoesqueleto) de los organismos varían en relación al tipo y porcentaje de pigmento adicionado al alimento y al apetito de los organismos (Bilaus *et al.*, 1972). En los

tejidos de los crustáceos en los cuales se muestra una mayor acumulación de carotenoides, se encuentra el exoesqueleto en especies como *Pandalus borealis* y *Penaeus japonicus* se observa que la astaxantina llegó a representar el 90% del pigmento acumulado (Tsukuda, 1972; Katayama *et al.*, 1973); en músculo la concentración es menor, llegando a ser de 4 a 8 veces menor que la que se presenta en el exoesqueleto (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2003). El hepatopáncreas es un órgano principalmente de reserva energética el cual juega el papel más importante en la absorción de carotenoides provenientes del alimento, ya que desde este órgano el pigmento es dirigido hacia otros tejidos como exoesqueleto, músculo y al proceso de vitelogénesis (Castillo *et al.*, 1982).

II. HIPOTESIS

Tras someter a los juveniles camarón blanco *Litopenaeus vannamei* a la combinación de tres salinidades y a la adición de tres concentraciones de astaxantina en la dieta, estos modificarán sus respuestas metabólicas a cada una de estas combinaciones permitiendo determinar cual de estas mejora el crecimiento, la sobrevivencia, así como la concentración de astaxantina adecuada que el organismo puede retener y asimilar.

III. OBJETIVOS

Medir la tasa de sobrevivencia y crecimiento de *Litopenaeus vannamei* al ser expuesto a las salinidades de 10, 25 y 40‰ y alimentados con una dieta adicionada con tres concentraciones de astaxantina.

Cuantificar la tasa de consumo de oxígeno en *Litopenaeus vannamei* expuestos a las salinidades de 10, 25 y 40‰ y alimentados con la dieta adicionada con tres concentraciones de astaxantina.

Determinar la tasa de excreción de amonio en *Litopenaeus vannamei* expuestos a las salinidades de 10, 25 y 40‰ y alimentados con una dieta con tres concentraciones de astaxantina.

Estimar mediante la relación atómica O:N el tipo de sustrato energético que utiliza *Litopenaeus vannamei* al ser expuesto a diferentes combinaciones de salinidad y alimentados con una dieta con diferentes concentraciones de astaxantina.

Determinar la acumulación de astaxantina en el exoesqueleto, músculo y hepatopáncreas de *L. vannamei* expuesto a diferentes salinidades y alimentados con una dieta suplementada con tres concentraciones de astaxantina.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

IV.1 Obtención y mantenimiento de los organismos.

Se utilizaron 10,000 postlarvas PL₁₀ de camarón blanco *L. vannamei* obtenidas del laboratorio de producción **AQUALarva** Ubicado en Mazatlán Sinaloa, México. Los organismos fueron transportados al Laboratorio de Ecofisiología del Departamento de Biotecnología Marina del CICESE, y se colocaron en tres estanques 2m³ con un flujo continuo de agua de mar, con un recambio del 100% diario, los organismos fueron mantenidos a una temperatura de $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$, con una salinidad de 35‰ con aireación constante (Figura 2). Los organismos se alimentaron a saciedad con una dieta para camarón comercial marca Rangen, dos veces al día durante un periodo de 45 días, tiempo suficiente para que alcanzaran un peso promedio de 2.0 g de peso húmedo.

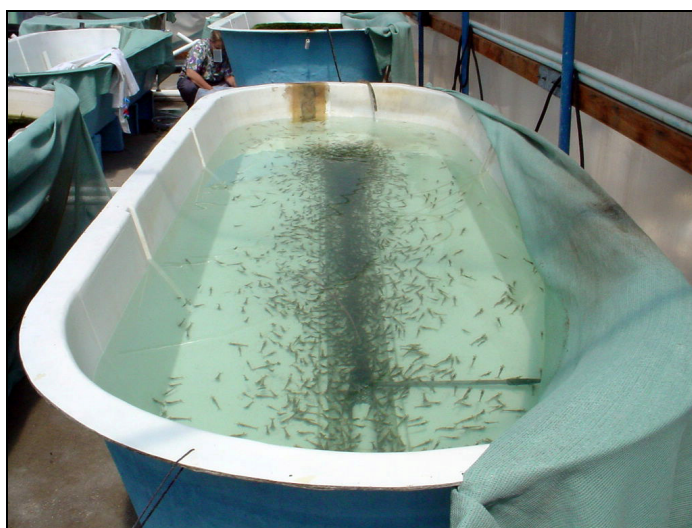


Figura. 2. Estanques de mantenimiento de 2m³.

IV.2 Aclimatación de los organismos a las salinidades experimentales

540 camarones se colocaron en 36 estanques de fibra de vidrio de 40 L (Figura 3), para aclimatarse a 10, 26 y 40‰, durante un periodo de 7 días sugerido por Van Wyk *et al.*, (1999) para reducir el estrés osmorregulatorio y a una temperatura de 28 ± 1 °C. Para obtener las salinidades inferiores a 35‰ se realizaron diluciones mediante el uso de agua dulce con una tasa de disminución de 5‰ por día y para incrementar la salinidad a 40‰ se utilizó sal marina. Durante este periodo se realizaron monitoreos diarios de la salinidad con un salinómetro YSI 30 modelo Yellow Spring Instruments Co. La temperatura de los estanques se mantuvo a 28 ± 1 °C, que es la temperatura preferida de esta especie (Valdez, 2002) con calentadores sumergibles de 1000 watts conectados a reguladores provistos de sensores térmicos marca Medusa. El recambio de agua durante el periodo de aclimatación fue de un 100% diario con aireación constante, el fotoperíodo se mantuvo en las condiciones que se presentaron en el ambiente de 14h luz:/10h oscuridad.

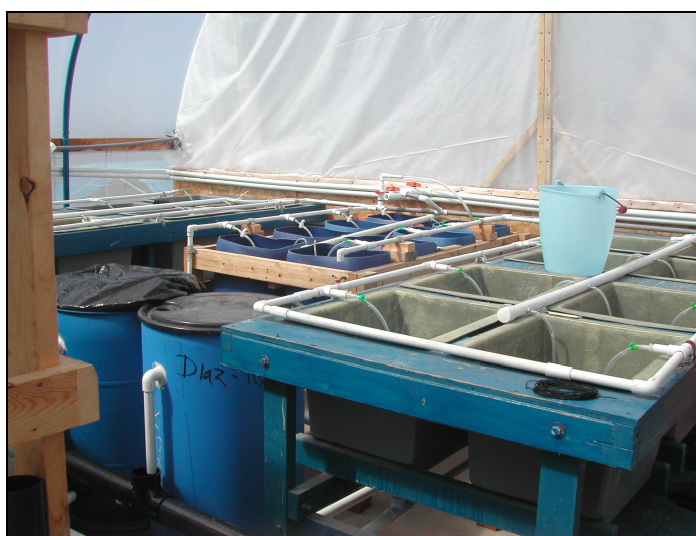


Figura. 3. Estanques de 40L.

Durante esta etapa los camarones fueron alimentados al 5% de su peso húmedo con una dieta que se reformulo adicionándole diferentes porcentajes de astaxantina.

IV.3 Reformulación de la Dieta.

La dieta basal fue una formula comercial (Rangen®) que se eligió por su valor nutricional para la alimentación de los organismos, tuvo un porcentaje de 40% de proteína a la cual se reformulo añadiéndole diferentes porcentajes de astaxantina Nutrabiot (carophyll pink 8%) de la marca Roche, así como aceite de pescado y gluten de trigo (Tabla I). Los niveles fueron: como control (0%) se utilizó la dieta libre de astaxantina la cual se define con la letra A, el nivel de 40 mg kg⁻¹, con la letra B, 80 mg kg⁻¹ por la letra C y 150 mg kg⁻¹ con la letra D. Todos los tratamientos tuvieron tres repeticiones. La reformulación de las dietas se realizó de acuerdo a las características del programa de balanceo MIXIT-WIN3.

Tabla I. Composición de la dieta reformulada con la adición de astaxantina y otros componentes.

Combinación de ingredientes para dos Kg. De alimento				
Ingredientes	mg de Astaxantina /kg de alimento			
	0 mg (A)	40 mg (B)	80 mg (C)	150 mg (D)
Rangen	1710g	1710g	1700g	1682g
Astaxantina	0	8.28	19.2	36
Aceite de pescado	100	100	100	100
Gluten de trigo	180.8	180	180	180

Además, a cada una de las dietas reformuladas y al alimento original se les realizó un análisis bromatológico utilizando las técnicas propuestas por la AOAC (1) para determinar los porcentajes de proteína, lípidos y carbohidratos contenidos en estas (Tabla II).

Tabla II. Análisis bromatológico de las diferentes dietas.

Análisis	MUESTRAS % Base húmeda				
	Original	Control	Dieta B	Dieta C	Dieta D
Materia Seca	93.80	90.04	90.76	93.09	89.70
Humedad	6.20	9.96	9.24	6.91	10.30
Ceniza	12.10	10.57	10.65	10.91	10.33
Proteína cruda	43.41	42.38	42.75	43.91	42.22
Extracto etéreo	7.33	10.40	10.41	10.83	10.53
Fibra ácido detergente	4.91	4.41	4.03	5.28	4.53
Extracto libre de nitrógeno	26.05	22.28	22.92	22.16	22.09

IV.4 Selección y separación de los organismos a cada salinidad y a las dietas experimentales.

Se colocaron 15 organismos de 2 ± 0.5 g. en cada uno de los 36 estanques de 40L para cada una de las salinidades de 10, 26, 40‰ y las dietas experimentales control A (0 mg kg⁻¹), B (40 mg kg⁻¹), C (80 mg kg⁻¹) y D (150 mg kg⁻¹) y cada combinación se evaluó por triplicado durante un periodo de 45 días.

IV.5 Consumo de Oxígeno y Excreción Nitrogenada de *Litopenaeus vannamei* en salinidades fijas y alimentados con las diferentes concentraciones de astaxantina.

Para medir el consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada de *L. vannamei* se utilizó un sistema respirométrico semiabierto como el descrito por Díaz *et al.*, (1989) (Figura. 4). Después de 6 semanas del periodo experimental, los organismos de cada uno de los regímenes de salinidad y de los diferentes tratamientos de astaxantina, se mantuvieron sin alimentar por 24 hrs. De cada combinación experimental se seleccionaron 3 organismos en estadio de intermuda de acuerdo al procedimiento descrito para *L. stylirostris* por Huner y Colvin (1979).

Los juveniles de camarón blanco se colocaron en forma individual 24 horas antes de iniciar las mediciones en las 12 cámaras respirométricas de 250ml. Durante esta fase se colocaron dos cámaras respirométricas control para medir el consumo de oxígeno y la excreción de amonio producida por los microorganismos ya existentes en el agua y hacer las correcciones necesarias. Antes de cerrar el flujo del sistema se tomaron dos muestras de agua de cada cámara, para medir la concentración inicial de oxígeno disuelto con un oxímetro YSI-50B provisto de un sensor polarográfico (Figura 5) y la segunda para determinar la concentración de amonio con el método azul de indofenol (Figura 6) Rodier (1981). Las cámaras permanecieron cerradas por un periodo de una hora, tiempo suficiente para que la concentración de oxígeno en las cámaras no disminuyera por debajo del 30% y no provocara un estrés en el organismo (Stern *et al.*, 1984). Antes de restablecer el flujo de las cámaras se tomaron nuevamente dos muestras de agua de las cámaras para medir la concentración final del oxígeno disuelto y la cantidad de amonio producido. Se realizaron dos repeticiones para cada condición experimental.

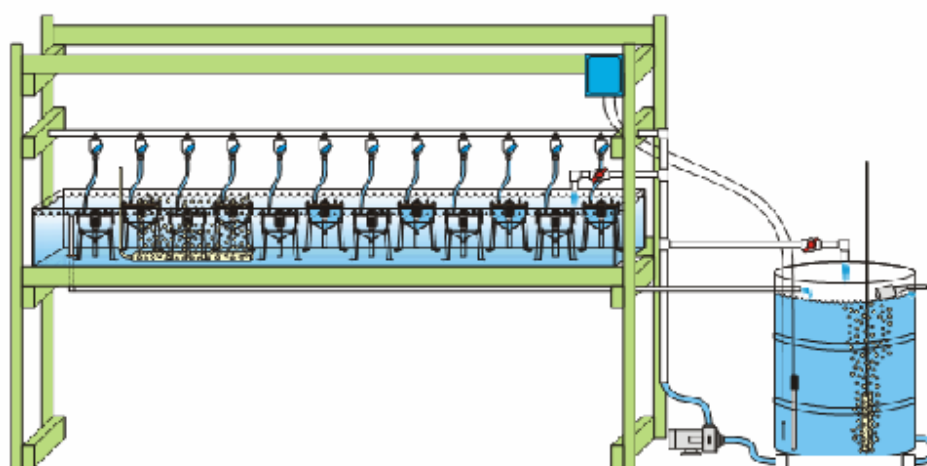


Figura. 4 Sistema respirométrico con 14 cámaras de 250ml como el descrito por Díaz *et al* (1989).



Figura. 5. Medición del consumo de oxígeno de rutina.



Figura. 6.- Medición de amonio método azul de indofenol.

Al finalizar el experimento se determino el peso húmedo de los organismos con una balanza Ohaus Explorer EOG120. Los resultados que se obtuvieron del consumo de

oxígeno y la excreción de amonio de los camarones expuestos a las diferentes salinidades y alimentados con diferentes concentraciones de astaxantina en la dieta, se expresaron en $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p.h.}$ y $\text{mg NH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p.h.}$

IV.6 Relación atómica O:N

Con los datos obtenidos de las mediciones del consumo de oxígeno y de la excreción de amonio de los camarones expuestos a las diferentes salinidades y alimentados con diferentes concentraciones de astaxantina en la dieta, se calculó la relación atómica O:N, que permitió determinar cual fue el sustrato metabólico empleado por los organismos para cubrir sus requerimientos energéticos, ante las variaciones de salinidad a las que fueron sometidos (Mayzaud y Conover, 1988). Para tal caso se consideraron valores de 7-9.3 que indican una oxidación proteica, valores superiores a 9.3 indican un catabolismo de lípidos y carbohidratos (Conover y Corner, 1968; Bayne, 1973) y valores mayores a 24 muestran el uso de carbohidratos como sustrato metabólico (Barber y Blake 1985; Mayzaud y Conover, 1988).

IV.7 Determinación de la concentración de astaxantina en los tejidos.

Para evaluar la concentración de astaxantina asimilada por los camarones, se eligieron tres organismos de cada una de las combinaciones de salinidad a las que fueron expuestos y alimentados con cada una de las dietas adicionada con astaxantina. Los organismos fueron pesados (peso total) y posteriormente disectados para separar las muestras de músculo,

exoesqueleto y hepatopáncreas. Las muestras de cada tejido fueron pesadas por separado y colocadas en tubos de ensayo a los que se les agregaron 5ml de acetona grado HPLC al 99%. Los tubos sellados con papel parafilm permanecieron así por un periodo de 24 horas en oscuridad para evitar la oxidación de la astaxantina. Una vez transcurrido el periodo de extracción, se maceraron las muestras de cada tejido para extraer el pigmento que no se había disuelto en la acetona (Figura 7).

Para determinar la concentración del extracto de astaxantina, se tomaron muestras de cada uno de los tubos previa centrifugación a 8,000 rpm durante 15 minutos, y se leyeron en un espectrofotómetro marca ELYPTICA modelo ELY2000 a una longitud de onda de 480nm como lo describe Britto, (1995).



Figura. 7 Extracción de pigmento con acetona grado HPLC 99%.

IV.8 Análisis Estadístico.

Con los datos obtenidos durante el periodo experimental se realizaron pruebas de normalidad y homocedasticidad e independencia con una significancia del 95%, Los datos de crecimiento, sobrevivencia, consumo de oxígeno, Excreción nitrogenada y acumulación de astaxantina en tejidos de los camarones provenientes de cada una de las condiciones experimentales de salinidad y concentración de astaxantina en la dieta. Se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías respecto a la salinidad y a la concentración de astaxantina en el alimento con respecto a las diferentes respuestas que se cuantificaron (Tukey 1977).

Los datos de consumo de oxígeno y excreción nitrogenada de los juveniles de *L. vannamei* provenientes de cada condición experimental de salinidad y concentración de astaxantina en la dieta fueron procesados mediante el análisis exploratorio de datos (Tukey, 1977) y se presentaron en cajas en paralelo. Para los análisis estadísticos se utilizaron los programas Estadística versión 6.0 y Sigma Plot versión 9 y Sigma Stat ver. 3.1

V RESULTADOS

V.1 Efecto combinado de la salinidad y el contenido de astaxantina en el alimento en la tasa de crecimiento.

El crecimiento medido en los organismos expuestos en las tres salinidades experimentales mostró que en la salinidad de 25‰ los organismos tuvieron un mayor crecimiento promedio ($5,71 \pm 0.4$ g) que en las salinidades de 10 y 40‰ (4.97 ± 0.48 y 5.08 ± 0.27 g respectivamente). El crecimiento mostrado en la salinidad de 25‰ fue significativamente mayor que el mostrado en la salinidad de 10‰.

El análisis de Varianza de dos vías para el crecimiento de *L. vannamei* en relación a la concentración de astaxantina en la dieta suministrada y la salinidad no mostró una tendencia a aumentar conforme el contenido de astaxantina aumentaba, ya que el efecto de la salinidad enmascaro las diferencias originadas por el pigmento ($p < 0.05$) (Tabla III).

Tabla III. Crecimiento del camarón blanco *L. vannamei* expuesto a diferentes combinaciones de salinidad y contenido de astaxantina en la dieta.

DIETAS	CRECIMIENTO		
	SALINIDAD		
	10‰	25‰	40‰
0mg kg ⁻¹ (A)	5.09 ^{ab}	5.31 ^{ab}	4.89 ^a
40mg kg ⁻¹ (B)	4.99 ^a	5.73 ^b	5.04 ^{ab}
80mg kg ⁻¹ (C)	4.81 ^a	5.73 ^b	5.20 ^{ab}
150mg kg ⁻¹ (D)	5.01 ^a	6.07 ^b	5.18 ^{ab}
promedio	4.97 ^a	5.71 ^b	5.08 ^{ab}

Las letras representan las diferencias entre los tratamientos ($p < 0.05$).

V. 2 Efecto combinado de la salinidad y el contenido de astaxantina en la dieta en la tasa de sobrevivencia.

Los juveniles de *L. vannamei* expuestos a las salinidades de 25‰ y 40‰ tuvieron una tasa de sobrevivencia de 95.14 y 93.14% (respectivamente) mientras que los expuestos a la salinidad de 10‰ mostraron una tasa de sobrevivencia del 82.23% que fue significativamente menor ($p < 0.05$) a los organismos expuestos a las otras dos salinidades experimentales.

No se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la sobrevivencia para los juveniles de camarón blanco respecto a las dietas suministradas a para ninguna de las salinidades a las que fueron expuestos (Tabla IV).

Tabla IV. Tasa de sobrevivencia (%) del camarón blanco *L. vannamei* expuesto a diferentes combinaciones de salinidad y contenido de astaxantina en la dieta.

DIETAS	SALINIDAD		
	10‰	25‰	40‰
0mg kg ⁻¹	79,52a	95,55b	97,77b
40mg kg ⁻¹	84,17a	93,47b	89,41b
80mg kg ⁻¹	84,72a	97,77b	87,45b
150mg kg ⁻¹	80,41a	97,77b	97,91b
promedio	82.23a	96.14b	93.14b

Las letras diferentes representan las diferencias entre los tratamientos ($p < 0.05$).

V.3 Consumo de oxígeno en *L. vannamei* en las diferentes salinidades y contenido de astaxantina en la dieta.

El consumo de oxígeno en los juveniles de *L. vannamei* mantenido a una salinidad de 10 ‰ presento un valor de 0.552 ± 0.05 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ p. h. en los organismos alimentados

con la dieta (A) no mostrando diferencias significativas ($p < 0.05$) con los juveniles alimentados con las dietas (B y C). Contrario a esto, el consumo de $0.499 \pm 0.037 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ p. h. mostrado por los organismos alimentados con la dieta (D) fue significativamente menor ($p < 0.05$) que aquellos alimentados con la dieta (A) (Figura 8).

Para los juveniles de *L. vannamei* expuestos a una salinidad de 25‰ a el valor mas alto en el consumo de oxigeno fue de $0.510 \pm 0.034 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ p. h en los organismos alimentados con la dieta (A) y se presentó una tendencia similar a los organismos expuestos a la salinidad de 10‰, mostrándose una disminución significativa ($p < 0.05$) en el consumo de oxígeno $0.465 \pm 0.037 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ p. h. de los camarones alimentados con la dieta (D) (Figura 9).

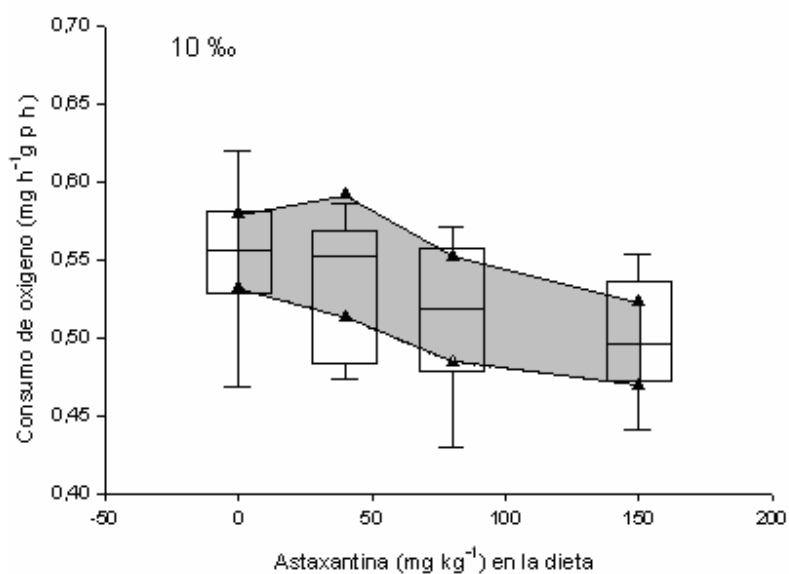


Figura.8. Consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ p. h.) de *L. vannamei* acimatados 10‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

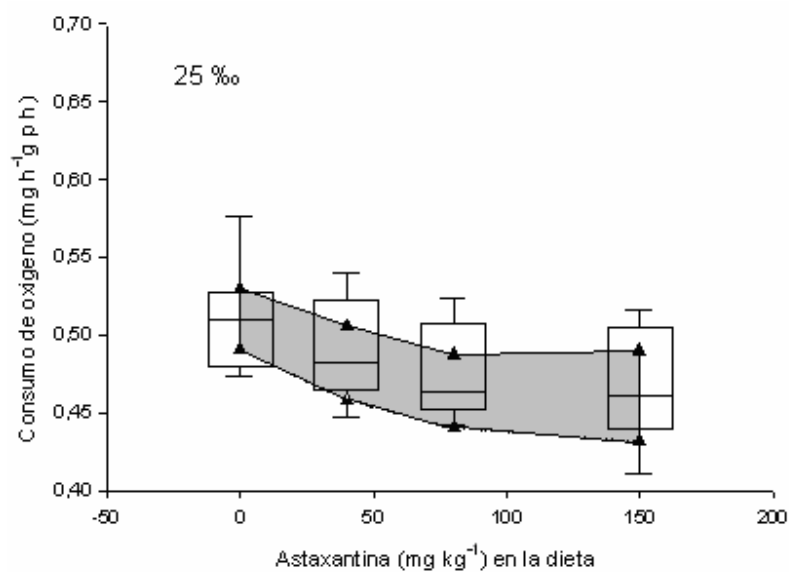


Figura. 9. Consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p h.}$) de *L. vannamei* aclimatados 25‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

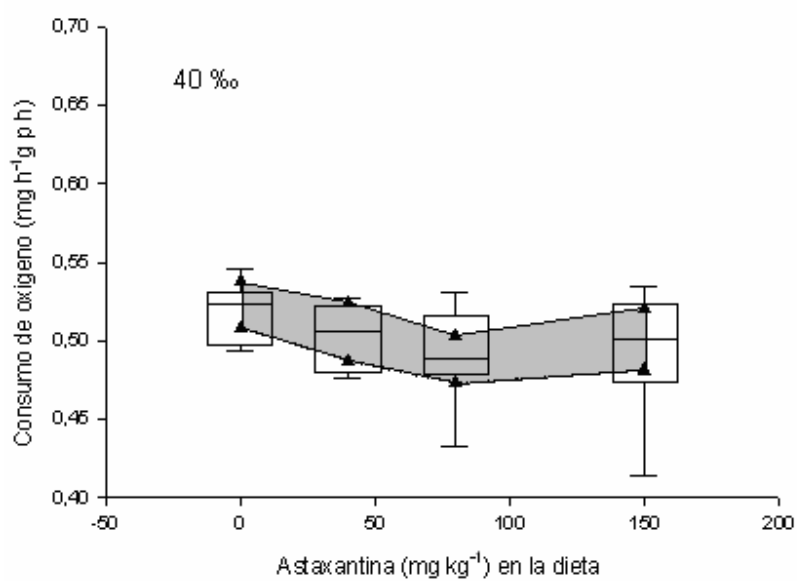


Figura. 10. Consumo de oxígeno ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p h.}$) de *L. vannamei* aclimatados 40‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

En la salinidad de 40‰ al igual que en los caso anteriores el mayor consumo de oxígeno en los juveniles de *L. vannamei* se presentó aquellos alimentados con la dieta (A) con un valor de $0.516 \pm 0.019 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$, sin embargo en este caso no se mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las dietas a los que fue expuesto *L. vannamei* (figura 10).

V.4 Excreción de amonio en *L. vannamei* en las diferentes salinidades y contenido de astaxantina en la dieta.

La excreción nitrogenada de los juveniles de *L. vannamei* expuestos a una salinidad de 10 ‰ mostró un valor de $0.0625 \text{ mg NH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p. h.}$ observándose un a ligera tendencia a disminuir conforme el contenido de astaxantina en las dietas suministradas aumentó teniendo como valor mas bajo una excreción de $0.0532 \text{ mg NH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p. h.}$ en los camarones alimentados con la dieta (C), sin embargo no existieron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las dietas (Figura 11).

Los organismos expuestos a la salinidad de 25‰ mostraron como una excreción de amonio de $0.0475 \text{ mg NH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p. h.}$ en aquellos juveniles de *L. vannamei* alimentados con la dieta (A) no mostrando diferencias significativas ($p < 0.05$) con los que fueron alimentados con las dietas (B y D), por otra parte, los organismos alimentados con la dieta (C) presentaron una excreción de $0.0411 \text{ mg NH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p. h.}$ que fue significativamente menor a la mostrada por los organismos alimentados con la dieta (A) (Figura 12).

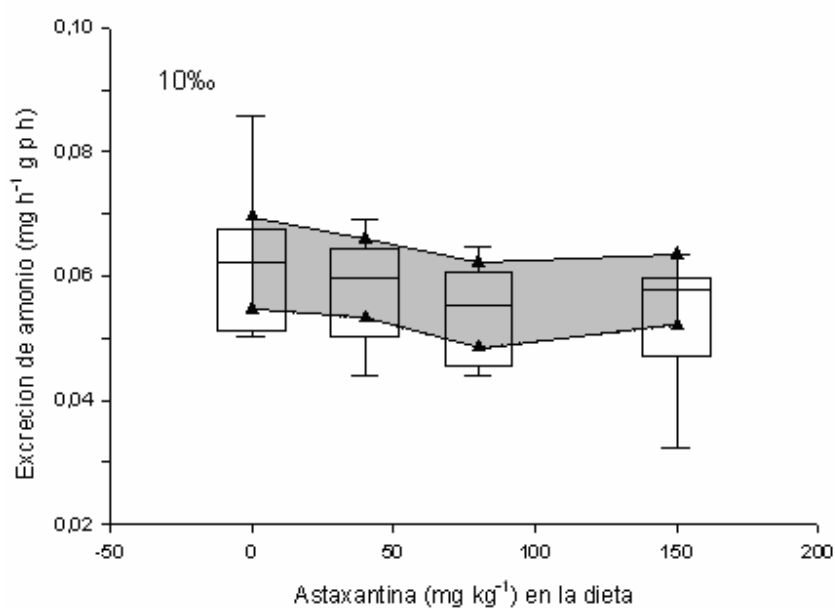


Figura. 11. Excreción de amonio (mg NH₄ h⁻¹ g⁻¹ p. h.) en *L. vannamei* aclimatados a 10‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

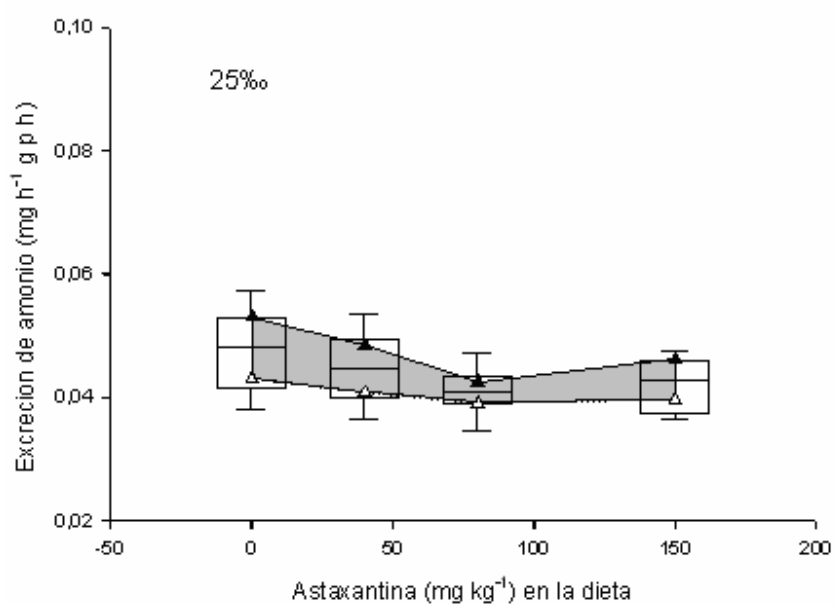


Figura. 12. Excreción de amonio (mg NH₄ h⁻¹ g⁻¹ p. h.) en *L. vannamei* aclimatados a 25‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

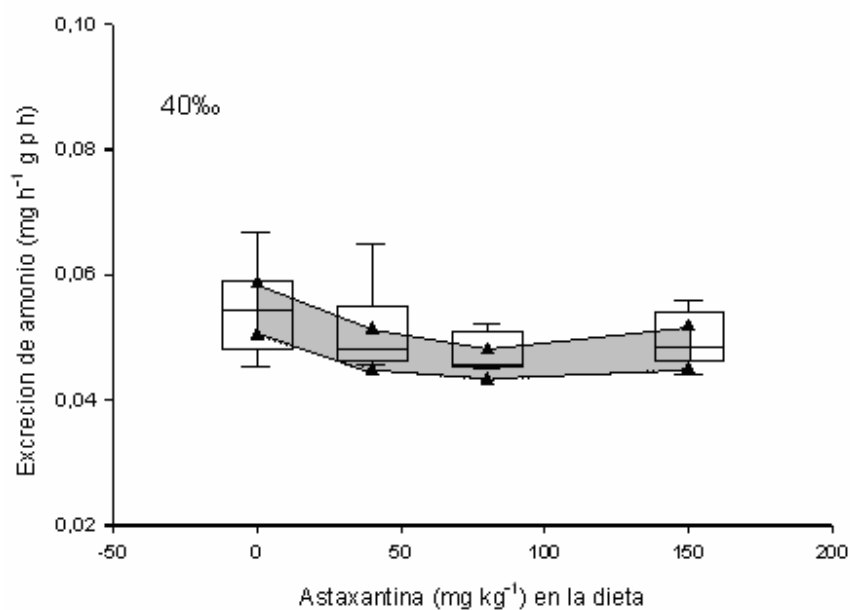


Figura. 13. Excreción de amonio ($\text{mg NH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p. h.}$) en *L. vannamei* aclimatados a 40‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

En la salinidad de 40‰ se muestra un patrón de comportamiento similar al de la salinidad de 25‰ donde el valor más alto se presentó en los organismos que fueron alimentados con la dieta (A), mostrando una excreción de $0,0545 \text{ mg NH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p. h.}$ mientras que el valor más bajo se observó en la dieta (C) $0,0474 \text{ mg NH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ p. h.}$ siendo significativamente menor ($p < 0,05$) que la excreción de los organismos de la dieta (A) como se observa en la Figura 13.

V.5 Relación Oxígeno: Nitrógeno (N:O)

De las salinidades de experimentales las que fueron expuestos los juveniles de *L. vannamei*, donde se presentaron los valores mas altos fue en la salinidad de 25‰ seguido por los valores mostrados en la salinidad de 40‰ y los valores mas bajos fueron encontrados en la salinidad de 10‰. De las dietas suministradas, donde se registro la relación O:N mas alta fue con la dieta C para las tres salinidades (Tabla V).

Tabla V. Relación O:N en Juveniles de *L. vannamei* expuesto a diferentes combinaciones de salinidad y contenido de astaxantina en la dieta.

TRATAMIENTOS	10‰	25‰	40‰
0mg kg ⁻¹ (A)	9,92a	12,08b	10,6a
40mg kg ⁻¹ (B)	10,29a	12,33b	11,05a
80mg kg ⁻¹ (C)	10,60a	13,03b	11,63ab
150mg kg ⁻¹ (D)	10,55a	12,40a	11,06a
promedio	10,34a	12,46b	11,10a

Las letras representan que existen diferencias entre los tratamientos ($p < 0.05$).

V. 6 Acumulación de Astaxantina en músculo en los diferentes tratamientos.

Al cuantificar el porcentaje de astaxantina en el músculo de *L. vannamei* expuestos a una salinidad de 10‰ se observo que los valores mas bajos se presentaron en los organismos alimentados con las dietas A y B (3.61 y 4.95 mg kg⁻¹) y fueron significativamente menores ($p < 0.05$) a las acumulaciones presentadas por los organismos alimentados con las dietas C y D (11.93 y 11.31 mg kg⁻¹) (Figura 14).

En los camarones expuestos a una salinidad de 25‰ alimentados con la dieta A presentaron una acumulación de astaxantina en el músculo (2.74 mg kg⁻¹) significativamente menor ($p < 0.05$) a los camarones alimentados con las dietas B, C y D (6.41, 5.46 y 5.99 mg kg⁻¹) (Figura 15).

En el músculo de los organismos que estuvieron expuestos a la salinidad de 40‰ se observó que el valor mostrado por aquellos que fueron alimentados con la dieta A (2.79 mg kg^{-1}) tuvieron una acumulación significativamente menor ($p < 0.05$) al resto de los tratamientos, de igual forma aquellos camarones alimentados con la dieta D mostró valores (8.43 mg kg^{-1}) significativamente mayores ($p < 0.05$) al resto de las dietas (Figura 16).

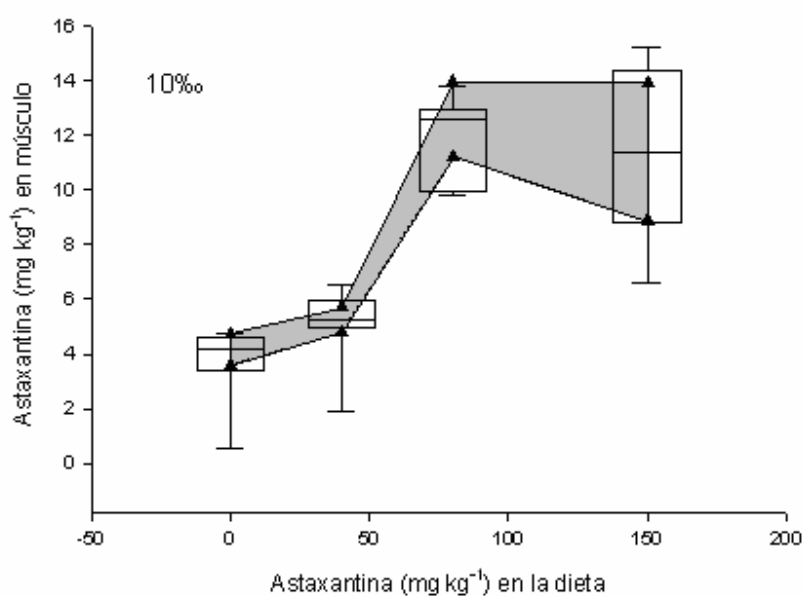


Figura. 14 Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en músculo de *L. vannamei* aclimatados a 10‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

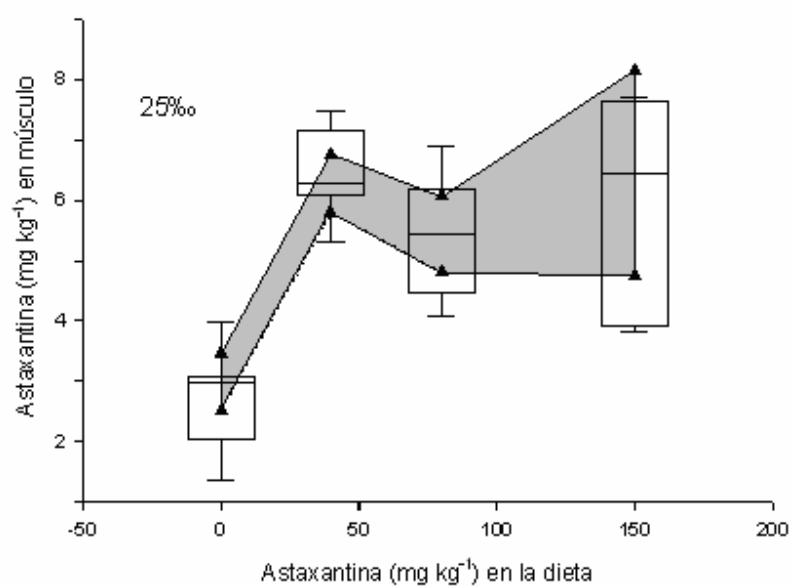


Figura. 15 Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en músculo de *L. vannamei* aclimatados a 25‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

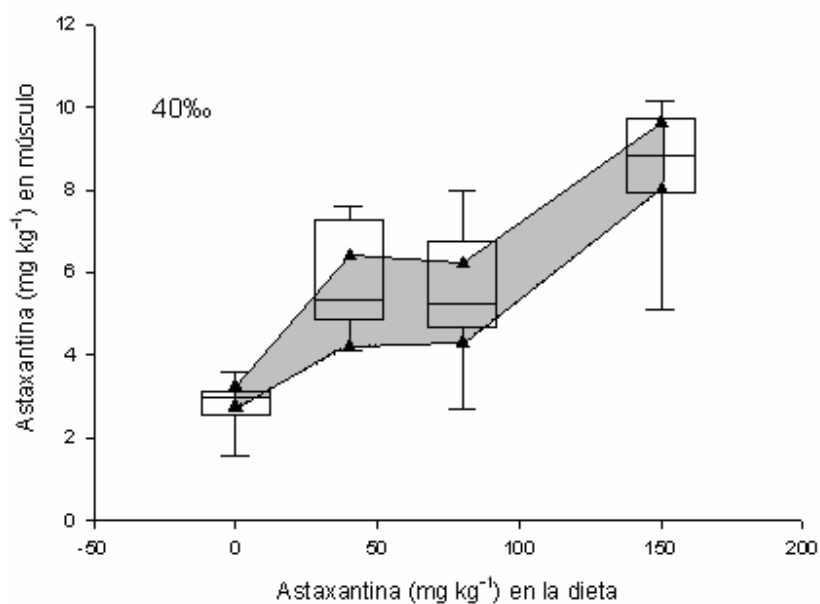


Figura. 16 Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en músculo de *L. vannamei* aclimatados a 40‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

V. 7 Acumulación de Astaxantina en exoesqueleto en los diferentes tratamientos.

En los camarones provenientes de la salinidad de 10‰ aquellos alimentados con la dieta A (28.5mg kg^{-1}) tuvieron una acumulación significativamente menor ($p<0.05$) al resto de los tratamientos, mientras que el valor mas alto se presento en los camarones alimentados con la dieta C (123.9mg kg^{-1}) el cual fue significativamente mayor ($p<0.05$) a las demás dietas (figura 17).

Para los camarones expuestos a la salinidad de 25‰ el valor mas bajo de acumulación en exoesqueleto se presento en los organismos alimentados con la dieta A (24.0g kg^{-1}) y fue significativamente menor ($p<0.05$) a el resto de las dietas que les fueron suministradas (Figura 18).

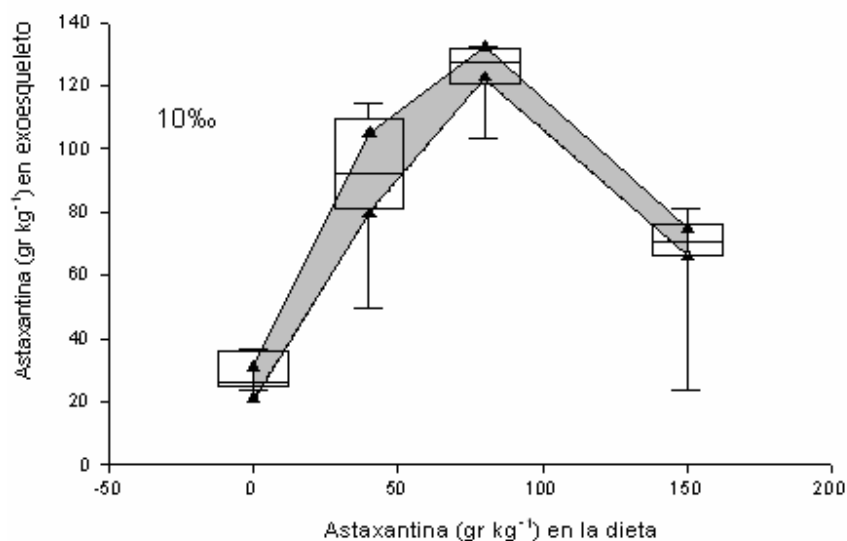


Figura. 17 Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en exoesqueleto de *L. vannamei* aclimatados a 10‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

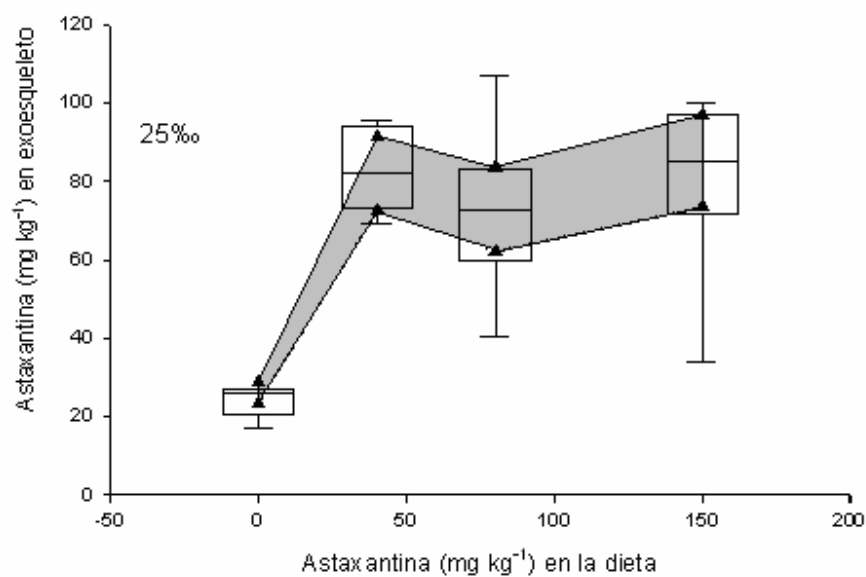


Figura. 18 Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en exoesqueleto de *L. vannamei* aclimatados a 25‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

Los camarones aclimatados a la salinidad de 40‰ mostraron una relación positiva entre el contenido de astaxantina en los tratamientos y la acumulación de esta en el exoesqueleto ya que la dieta A (37.27mg kg^{-1}) presentó los valores más bajos de acumulación, mientras que los valores más altos se observaron en la dieta D (109.93mg kg^{-1}) presentándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre todas las dietas excepto entre las dietas A y B (Figura 19).

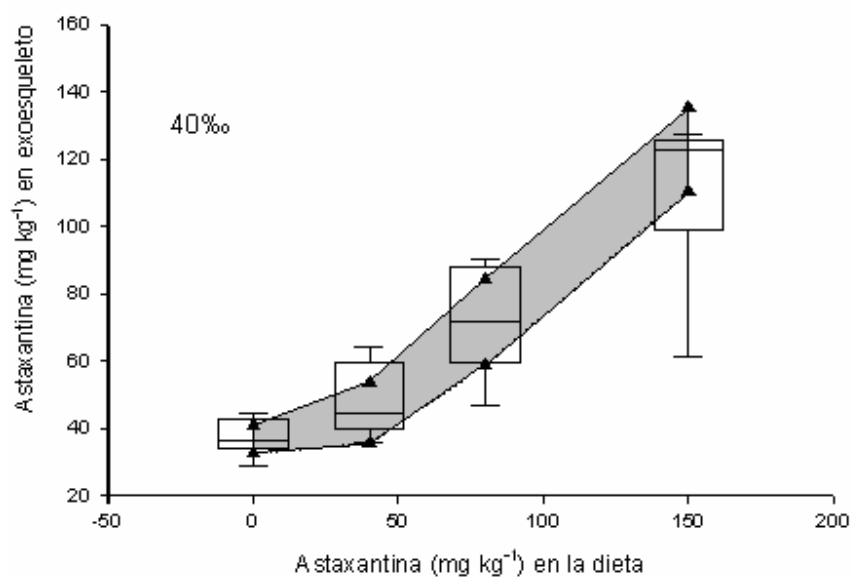


Figura. 19 Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en exoesqueleto de *L. vannamei* aclimatados a 40‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

V. 8 Acumulación de Astaxantina en el hepatopáncreas en los diferentes tratamientos.

La acumulación de astaxantina en hepatopáncreas en los camarones expuestos a una salinidad de 10‰ tubo una relación directa con el contenido de astaxantina en las dietas suministradas, observándose la menor acumulación en la dieta A (15.32mg kg^{-1}) y el valor mas alto en la dieta D (873.36mg kg^{-1}) existiendo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre todas las dietas (figura 20).

La acumulación de astaxantina los juveniles de *L. vannamei* expuestos a una salinidad de 25‰ y alimentados con la dieta A (13.24mg kg^{-1}) fue significativamente menor ($p < 0.05$) al resto de las dietas, para la dieta D (400.71mg kg^{-1}) hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre todas las dietas a excepción de las dietas B y C (figura 21).

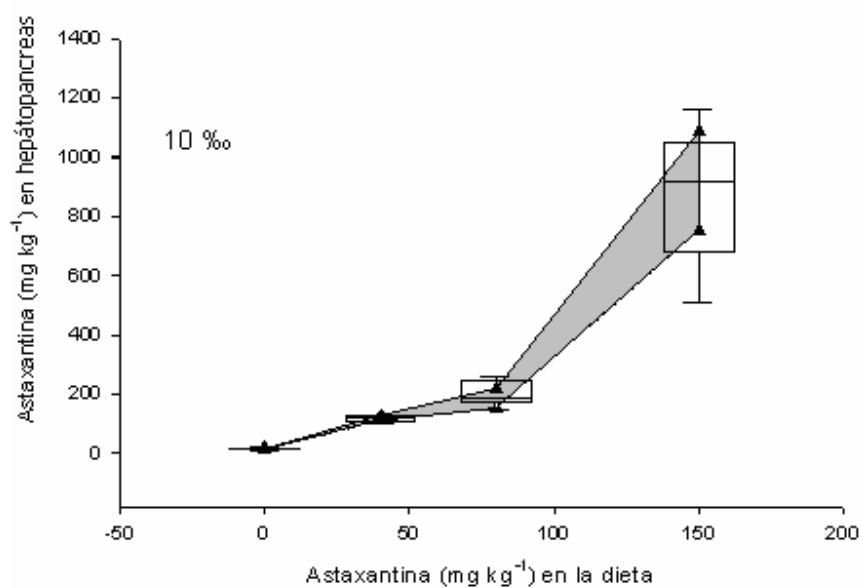


Figura. 20 Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en hepatopáncreas de *L. vannamei* acimatados a 10‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

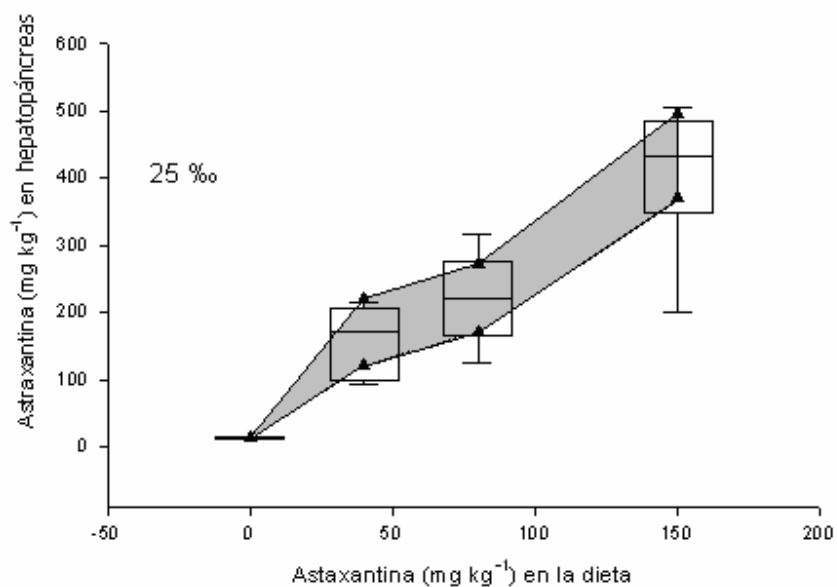


Figura. 21 Acumulación de astaxantina (mg kg^{-1}) en hepatopáncreas de *L. vannamei* acimatados a 25‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

En la salinidad de 40‰ el valor mas bajo en la acumulación de astaxantina en el hepatopáncreas se observo en aquellos organismos alimentados con la dieta A (26.68mg kg⁻¹) y el mas alto se obtuvo en la dieta D (113.37mg kg⁻¹) se observaron diferencias significativas (p<0.05) entre todas las dietas excepto entre las dietas C y D (figura 22).

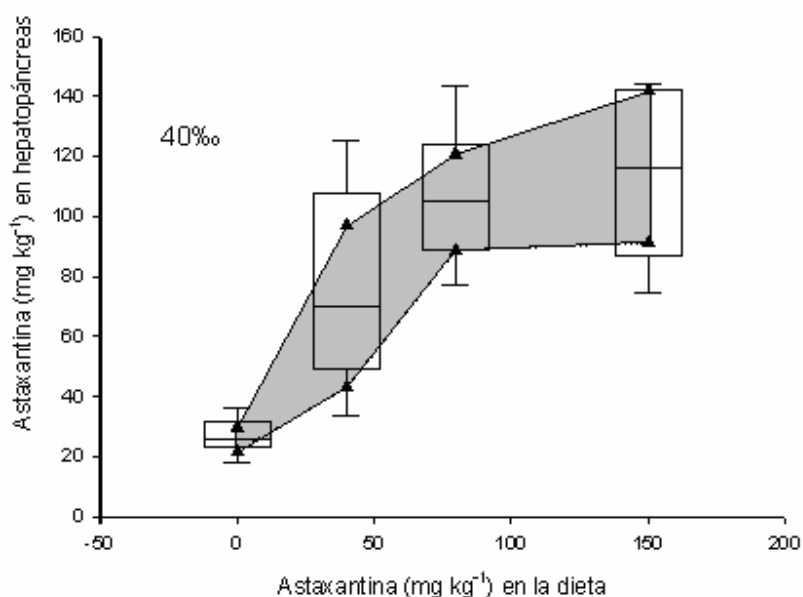


Figura. 22 Acumulación de astaxantina (mg kg⁻¹) en hepatopáncreas de *L. vannamei* aclimatados a 40‰ y alimentados con las dietas A, B, C y D.

Al comparar los resultados de las tres salinidades experimentales se observan que existen diferencias significativas (p<0.05) en la acumulación de los juveniles de *L. vannamei* en los tres tejidos analizados. A demás se observaron diferencias significativas (p<0.05) en la acumulación de astaxantina entre los tres tejidos analizados ya que los valores mas bajos se presentaron en músculo, los valores intermedios en exoesqueleto y los mas altos se observaron en hepatopáncreas (Tabla VI).

TABLA VI. Acumulación de astaxantina en las diferentes combinaciones de los tratamientos y la salinidad en músculo, exoesqueleto y hepatopáncreas de *L.vannamei*.

	A	B	C	D
Concentración	0mg kg⁻¹	40mg kg⁻¹	80mg kg⁻¹	150mg k⁻¹
Músculo				
10‰	3.61±1.51a	4.95±1.55a	11.93±1.58c	11.31±3.23c
25‰	2.74±0.87a	6.41±0.75b	5.46±0.97b	5.99±1.68b
40‰	2.79±0.65a	5.75±1.33b	5.42±1.73b	8.43±1.72c
Exoesqueleto				
10‰	28.85±5.49a	89.94±22.37c	123.40±10.45d	69.62±19.92b
25‰	24.02±3.94a	82.71±10.35c	72.66±21.62c	78.6±23.11c
40‰	37.27±5.61a	48.29±11.01a	71.35±16.23c	109.93±24.68d
Hepatopáncreas				
10‰	15.32±3.07a	117.02±9.17c	200.28±40.58d	873.36±229.41f
25‰	13.29±1.21a	159.14±50.50d	221.12±67.57d	400.71±110.86e
40‰	26.68±6.29a	75.97±34.81b	107.24±24.32c	113.37±27.17c

Las letras minúsculas representan que existen diferencias entre los tratamientos (p<0.05).

VI. DISCUSION

VI. 1 Crecimiento.

Algunos autores han encontrado que el mejor crecimiento en peneidos (*F. indicus*, *P. monodon*, y *P. semisulcatus*, Raj y Raj, 1982); *L. stylirostris* (Re *et al.*, 2004; Díaz *et al.*, 2005) esta relacionado al punto isosmótico o cercano a este. En este estudio al final de los 45 días del periodo experimental se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre el crecimiento de los juveniles de *L. vannamei* en las salinidades de 10, 25 y 40‰ a las que fueron sometidos, observándose un mayor aumento en peso en aquellos organismos mantenidos en la salinidad de 25‰, ya que el máximo crecimiento de un organismo se asocia al punto isosmótico (Díaz *et al.*, 2001). El incremento en el crecimiento se ha relaciona también con el ahorro energético que se obtiene en el bajo costo metabólico dirigido a la osmorregulación; y al no invertir en los procesos activos para mantener el equilibrio del medio interno con el externo (Panikkar, 1968). En las condiciones experimentales de 25‰ y 28 °C y en cultivos controlados los procesos fisiológicos de los organismos se optimizan provocando que el gasto energético se reduzca lo que representa un ahorro de energía que puede ser destinada a crecimiento.

L. vannamei mostró una relación positiva entre el crecimiento y el porcentaje de astaxantina adicionada en el alimento en la salinidad de 25‰ teniendo un intervalo de 7.34% entre los organismos alimentados con el tratamiento A y los organismos alimentados con el tratamiento D. Esto concuerda con lo obtenido por Yamada *et al.*, (1990) en *P. japonicus* donde en una dieta sin adición de astaxantina observaron un crecimiento del 45.5% en un periodo de 30 días mientras que en los organismos alimentados con una dieta

suplementada con 200mg de astaxantina/kg de alimento tuvieron un crecimiento de 51.0% en el mismo periodo de tiempo mostrando una diferencia en el crecimiento entre tratamientos del 5.5%. Al extender el experimento a 60 días el crecimiento se incremento un 25% adicional, lo que nos indica que existe un efecto en el crecimiento del camarón a causa de los niveles de astaxantina en el alimento suministrado el cual puede incrementarse conforme el periodo experimental se alargue (Yamada *et al.*, 1990).

El crecimiento mostrado por los camarones en la salinidad de 10‰ presento los valores mas bajos de las tres salinidades experimentales (4.97g) pero solo existieron diferencias significativas ($p < 0.05$) con la salinidad de 25‰ y no entre las dietas suministradas, otros autores como Saoud *et al.*, (2003) obtuvieron en *L. vannamei* un crecimiento favorable de 1.34g a 3.19g en un periodo de 30 días a una salinidad de 4‰ al igual que Boonyaratpalin *et al.*, (2001) quienes reportaron buenos resultados al trabajar en una salinidad de 13‰ ya que obtuvieron una talla de 8.06g en juveniles de *Penaeus monodon* en un periodo de 60 días. Las diferencia en el crecimiento obtenido por Boonyaratpalin *et al.*, (2001) con respecto al del presente trabajo y el realizado por Saoud *et al.*, (2003) puede asociarse a la diferencia en el periodo experimental utilizado por cada uno de los autores y a que cuando *L. vannamei* es expuesto a salinidades inferiores a 12‰ la osmolaridad de su hemolinfa disminuye a tal grado que le presenta un gasto de energía que ya no es destinada a crecimiento (Gong *et al.*, 2004). Sin embargo, el resultado obtenido nos indica que aun el crecimiento mas bajo obtenido de las tres salinidades experimentales del presente trabajo puede ser considerado favorable.

Los juveniles de *L. vannamei* expuestos a la salinidad de 40‰ mostraron un crecimiento menor al obtenido en la salinidad de 25‰ y mayor a la salinidad de 10‰ sin llegar a presentar diferencias significativas.

El contenido de astaxantina en los tratamientos no afectó de manera significativa el crecimiento de esta especie, resultados similares han sido reportados por Yamada *et al.*, (1990) al exponer a juveniles de *Peneaus japonicus* a una salinidad de 35‰ y alimentarlos con una dieta con diferentes inclusiones de astaxantina (0, 50, 100, 200 y 400 mg kg⁻¹) sin diferencias significativas (p<0.05) en el crecimiento en un periodo de cuatro semanas. En la misma salinidad para *P. japonicus* Petit *et al.*, (1998) no encontraron diferencias significativas (p<0.05) en el crecimiento al comparar dos dietas (0 y 60mg kg⁻¹ astaxantina), por su parte Chien *et al.*, (2003) encontró el mismo resultado al exponer a postlarvas de *P. monodon* a dos dietas con adiciones de astaxantina (0 y 80mg kg⁻¹) durante un periodo de 60 días en una salinidad de 35‰. Por ultimo *L. vannamei* en un estudio realizado por Arredondo-Figueroa *et al.*, (2003) utilizando una dieta control y una dieta con una inclusión de 100mg kg⁻¹ de astaxantina en una salinidad de 35‰ no encontraron diferencias significativas (P<0.05) en el crecimiento.

L. vannamei puede desarrollarse satisfactoriamente a salinidades en un rango 5-40‰ (Wang, 2000), pero existe un efecto en la sobrevivencia y el crecimiento, este efecto es minimizado por el uso de la astaxantina (Menasveta, 1993). Sin embargo al no presentarse diferencias significativas (p<0.05) entre las dietas suministradas se puede asociar a que los niveles de inclusión de pigmentos con los que cuenta el alimento comercial posiblemente cubran los requerimientos de *L. vannamei* para contrarrestar el efecto causado por la

salinidad. Algunos peneidos al ser expuestos a salinidades inferiores a 10‰ muestran una disminución en el crecimiento (Brito *et al.*, 2000), tal es el caso de lo obtenido por Medina-Zendejas (2006) al someter a juveniles de *L. vannamei* a una salinidad de 3‰ observo un coeficiente de crecimiento diario significativamente mayor ($p < 0.05$) en aquellos organismos alimentados con una dieta adicionada con 80 mg kg^{-1} en comparación con los que fueron alimentados con una dieta sin adición, o con 40 mg kg^{-1} y 150 mg kg^{-1} .

VI. 2 Sobrevivencia.

La sobrevivencia obtenida en los juveniles de *L. vannamei* presento diferencias significativas con respecto a las salinidades experimentales ya que los valores mostrados por los camarones expuestos a la salinidad de 25‰ y 40‰ fueron significativamente mayores ($p < 0.05$) a la sobrevivencia obtenidas en la salinidad de 10‰. Resultados similares han sido observados por Brito *et al.*, (2000) en juveniles de *Farfantepenaeus brasiliensis* expuestos a salinidades de < 10, 15, 25 y 35‰, para los cuales observaron una sobrevivencia del 93.8% pero al disminuir la salinidad a 10‰ o menos, observo una disminución en la sobrevivencia.

Con respecto al contenido de astaxantina en el los tratamientos (A, B, C y D) suministrados a los juveniles de *L. vannamei* no se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en ninguno de los tratamientos. Yamada *et al.*, (1990) no encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en juveniles de *P. japonicus* al alimentarlos con una dieta adicionada con diferentes niveles de astaxantina (0, 50, 100, 200 y 400 mg kg^{-1}). Otros resultados similares han sido presentados por Boonyaratpalin *et al.*, (2001) en *P. monodon*

al alimentarlos con dietas adicionadas con astaxantina (0 y 60mg kg⁻¹). Van Wyk *et al.*, (1999) menciona que la capacidad osmoreguladora de *L. vannamei* aumenta cuando los periodos de aclimatación a una salinidad se alargan, ellos mencionan que una tasa de reducción de 6‰ h⁻¹ presenta un alto porcentaje de sobrevivencia.

Para este estudio se realizo una tasa de reducción en la salinidad aun menor a la que menciona estos autores, por lo cual los juveniles de *L. vannamei* pudieron adaptarse adecuadamente a cada una de las salinidades a las que fueron sometidos. De acuerdo con Bordner *et al.*, (1986) los niveles de astaxantina pueden no causar diferencias en la sobrevivencia pero si en el crecimiento, cuando *L. vannamei* se encuentra en un ambiente adecuado, lo que concuerda con los resultados obtenido en el presente trabajo.

Merchie *et al.*, (1998) y Darachai *et al.*, (1998) mencionan que la adición de astaxantina en el alimento mejora la resistencia a un estrés salino y por ende en la sobrevivencia. Dhert *et al.*, (1992) encontraron este tipo de respuestas en *P. monodon* al igual que Chien *et al.*, (2003) en la misma especie. Sin embargo estos trabajos fueron realizados en postlarvas las cuales presentan comportamientos diferentes ante un estrés salino que los juveniles de camarón Chien *et al.*, (2003).

VI. 3 Consumo de oxígeno

El consumo de oxígeno en el camarón blanco *L. vannamei* se vio afectado tanto por la salinidad como por el contenido de astaxantina en el alimento. Villarreal y Rivera (1993) mostraron que la salinidad tuvo un efecto marginal en la tasa metabólica de postlarvas de *F.*

californiensis, de igual forma Villarreal *et al.*, (1994) obtuvieron la misma respuesta. en postlarvas de *L. vannamei*

En este trabajo el consumo de oxígeno de los juveniles de *L. vannamei* mantenidos en la salinidad de 25‰ mostró el valor mas bajo, dicho resultado es predecible debido al hecho de que se encontraban en su punto isosmótico (Díaz *et al.*, 2001). Cuando los organismos se encuentran en un medio isosmótico no se observan consumos elevados de oxígeno, las tasas metabólicas disminuyen; debido a un bajo gasto energético (Panikkar, 1969).

Los juveniles de *L. vannamei* presentaron un mayor consumo de oxígeno al ser expuestos a salinidades bajas (10‰) ya que una disminución en la salinidad resulta en un progresivo incremento en el consumo de oxígeno, este mismo patrón de comportamiento se encontró en *P. monodon* (Ting, 1970), *P. indicus* (Kutty *et al.*, 1971) y *P. japonicus* (Chen y Lai, 1993; Chen y Chen, 1997) debido a que al estar expuestos a bajas salinidades la osmolaridad de su hemolinfa disminuye lo que conlleva a un mayor gasto energético (Cliford 1985 y Boyd 1989) .

Un consumo intermedio en los juveniles de *L. vannamei* se presento en salinidades altas (40‰). Dichos resultados se asemejan a los presentados por Rosas *et al.*, (2001) y Valdez, (2002) realizados en *L. vannamei* ya que la tendencia encontrada en el metabolismo de rutina de estos organismos fue una mayor demanda energética en las salinidades mas altas. Difiriendo de lo observado en juveniles de *L. stylirostris* (Re *et al.*, 2004) ya que la mayor demanda de oxígeno se presento en salinidades bajas (20‰) y los valores intermedios se presentaron en la salinidad (30‰).

De acuerdo a la clasificación de Kinne (1967) la tasa de consumo de oxígeno en este estudio fue de Tipo 3 puesto que el consumo de oxígeno aumento tanto en bajas como en altas salinidades.

EL consumo de oxígeno disminuyó conforme el contenido de astaxantina en la dieta fue mayor, llegando a presentar diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los camarones alimentados con la dieta A respecto a los alimentados con la dieta C; esto se observó en las salinidades de 10 y 25‰ mientras que en la salinidad de 40‰ no se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Resultados similares fueron obtenidos por Medina-Zendejas, (2006) cuando en una salinidad de 3‰ tras alimentar a juveniles de *L. vannamei* con una dieta adicionada con astaxantina a niveles de 0, 40, 80 y 150 mg kg⁻¹ obtuvo una disminución en el consumo de oxígeno en aquellos organismos alimentados con una dieta adicionada con 80 mg kg⁻¹.

VI. 4 Excreción nitrogenada.

El efecto de la salinidad sobre la excreción nitrogenada fue claramente observado en *L. vannamei* al ser sometido a las tres diferentes salinidades experimentales. La mayor parte del amonio excretado por los crustáceos se debe al catabolismo de aminoácidos de las reservas corporales (catabolismo endógeno) así como de las dietas (catabolismo exógeno).

Se observó que las mayores concentraciones de amonio producidas por *L. vannamei* se presentaron en la salinidad de 10‰, mientras que en los organismos mantenidos en condiciones isosmóticas (25‰) se presentaron las concentraciones más bajas de amonio y

las concentraciones intermedias se registraron en la salinidad mas elevada (40‰). Un comportamiento similar ha sido reportado para *P. chinensis* *P. japoniscus* al ser expuestos a salinidades entre 15 y 30‰ (Chen y Lai, 1993; Chen y Nan, 1993), entre 18 y 34‰ para *P. japonicus* (Chen y Chen, 1997), *P. monodon* entre 10 y 30‰ (Chen *et al.*, 1994) y en juveniles de *L. vannamei* en un intervalo de 10 a 40‰ (Jiang *et al.*, 2000). Los datos de este último trabajo sirvieron para elaborar un modelo que describe un 91% de la relación entre la tasa de excreción de amonio y la salinidad. Se ha demostrado por Mangum *et al.*, (1976) y Pressley *et al.*, (1981) que existe un incremento en la captación activa de Na^+ seguida por la transferencia de los organismos a un medio diluido, esto fue relacionado con el incremento en la tasa de excreción de amonio. La absorción de sodio es requerida para compensar su perdida debida a la operación de la bomba $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$. Este mecanismos que ha sido descrito para *Callinectes sapidus* (Mangum, 1976), *Penaeus japonicus* (Spaargarent *et al.*, 1982; Chen y Lai, 1993), (Chen y Nan, 1993) en cinco especies de peneidos, en *L. vannamei* (Jiang *et al.*, 2000 y Valdez, 2002) y *L. stylirostris* (Re *et al.*, 2004) los cuales describen el mismo comportamiento al ser sometidos a bajas salinidades.

Los juveniles de *L. vannamei* presentaron una disminución en la excreción de amonio conforme el contenido de astaxantina en la dieta aumentaba siendo significativamente menor ($p < 0.05$) en aquellos alimentados con la dieta adicionada con 80mg kg^{-1} de astaxantina respecto a los que fueron alimentados con una dieta control, Resultados similares fueron obtenidos por Medina-Zendejas, (2006) en *L. vannamei* tras someterlos a una salinidad de 3‰, obtuvo una disminución en la excreción en los camarones alimentados con una dieta adicionada con astaxantina a un nivel de 80mg kg^{-1} . Yu (1994)

menciona que cuando hay una excreción de amonio existe una subsecuente generación de radicales libres los cuales pueden ser inactivados por la astaxantina (Torrissen, 1990 y Shimidzu *et al.*, 1996)

VI. 5 Razón Oxígeno: Nitrógeno (O:N).

Los cambios en la razón O:N reflejan el tipo de sustrato metabólico oxidado en función de diversos factores como lo son el estadio de desarrollo, el estado fisiológico, el tipo de dieta. Además este índice es útil al estimar la relación metabólica entre los organismos y en el alimento consumido, ya que refleja los diferentes niveles de proteína que contiene el alimento en la relación energía-proteína de la dieta en los organismos (Mayzaud y Conover, 1988).

En lo camarones pendedos se ha demostrado que el componente de reserva mas importante son las proteínas, ya que tanto lípidos como carbohidratos son utilizados por el organismo como sustrato metabólico cuando se encuentra en condiciones ambientales favorables (Rosas *et al.*, 1997).

La razón O:N estimada en los juveniles de *L. vannamei* en las tres salinidades experimentales mostró que en los tres casos hicieron uso de lípidos y carbohidratos como sustrato metabólico. La razón, para el caso de los organismos que se mantuvieron en la salinidad de 10‰, presento los valores mas bajos, los valores intermedios en la salinidad de 40‰ y los valores altos en la salinidad de 25‰ y fue solo en esta salinidad donde se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto a las salinidades de 10 y 40‰. En relación a los diferentes tratamientos utilizados los valores mas altos en la razón O:N se encontraron en la dieta C (80 mg kg^{-1}). Sin embargo el contenido de astaxantina no mostró

una diferencia significativa ($P < 0.05$) en los juveniles de *L. vannamei*. Resultados similares fueron encontrados por Medina-Zendejas, (2006) en juveniles de *L. vannamei* al someterlos a una salinidad de 3‰ y alimentarlos con cuatro concentraciones de astaxantina en el alimento encontró que los valores más altos se observaron en los organismos alimentados con una dieta adicionada con 80 mg Kg^{-1} , a pesar de las diferencias entre las salinidades. El uso de lípidos y carbohidratos en las tres salinidades indicó una ventaja energética para los camarones utilizados en este estudio puesto que la degradación de proteínas requiere de un mayor gasto energético que el requerido por lípidos y carbohidratos (Hochachka, 1991).

VI. 6 Acumulación de astaxantina en los tejidos de *L. vannamei*.

Se observó en los juveniles de *L. vannamei* un aumento en la acumulación de astaxantina en músculo, exoesqueleto y hepatopáncreas al comparar las dietas adicionadas con astaxantina (dietas B, C y D) con la dieta control (dieta A). Valores similares fueron obtenidos por Arredondo-Figueroa *et al.*, (2003) quien reportó para esta misma especie diferencias significativas ($p < 0.05$) en la acumulación de astaxantina en músculo de 8.6 mg kg^{-1} a 16 mg kg^{-1} y en hepatopáncreas de 41.8 mg kg^{-1} a 100 mg kg^{-1} al ser alimentados con una dieta control y una dieta adicionada con 100 mg kg^{-1} de astaxantina. Chien y Jeng (1992) encontraron para juveniles de *Penaeus japonicus* un aumento en la concentración de astaxantina en exoesqueleto, músculo y cabeza al comparar cuatro dietas adicionadas con 0, 5, 10 y 20 mg kg^{-1} de astaxantina. Yamada *et al.*, (1990) y Chien y Jeng (1992) en todos los casos examinaron el efecto de dietas adicionadas con diferentes carotenoides β -caroteno, astaxantina y canthaxantina para el primer trabajo y β -caroteno, astaxantina y algas

(*Dunaliella salina*) en la pigmentación de *P. japonicus*, mostrando un aumento significativo entre las dietas adicionadas con los diferentes pigmentos y las dietas control. Kumlu *et al.*, (1998) en larvas de *Penaeus indicus* y Boonyaratpalin *et al.*, (2001) en *P. monodon* encontró este mismo comportamiento en el primer experimento al ser alimentado con nematodos enriquecidos con astaxantina y en el segundo con una dieta artificial adicionada con 50mg kg⁻¹. En los crustáceos la pigmentación se debe a la presencia de la astaxantina en el caparazón y la epidermis. Estos dos tejidos en asociación con el hepatopáncreas es donde se deposita entre el 58 y 90% de toda la astaxantina del cuerpo (Latscha, 1991). El músculo es donde se presentan los valores más bajos de astaxantina puesto que solo en la epidermis es donde se acumula y específicamente en los cromatóforos, el segundo puesto en acumulación lo ocupa el exoesqueleto ya que requiere de la astaxantina como fotoprotector. El papel más importante en la acumulación de astaxantina lo ocupa el hepatopáncreas ya que este órgano es el que se encarga de la absorción de la astaxantina proveniente del alimento y desde el se distribuye a los demás tejidos del cuerpo (Britton y Goodwin, 1982; Goodwin, 1984).

La relativa proporción de pigmento en los diferentes órganos y tejidos fluctúa de acuerdo a la especie y a numerosos parámetros fisiológicos y ecológicos (Britton y Goodwin, 1982; Pan *et al.*, 2001). En la salinidad de 10‰ la acumulación del pigmento se disparó en más del doble en las dietas C y D; Arredondo-Figueroa *et al.*, (2003) presentaron resultados similares para esta misma especie al encontrar diferencias significativas ($p < 0.05$) en la dieta control y una dieta adicionada con 100mg kg⁻¹ por lo que podríamos sugerir que niveles de inclusión de 80 a 150 mg kg⁻¹ presentan mejoras en la

acumulación del pigmento al ser expuesto a un ambiente hiposmótico. En un ambiente isosmótico de 25‰ solo mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la dieta A y las dietas B, C y D y los niveles de inclusión de astaxantina en el alimento no tuvieron ningún efecto acumulativo como fue en los expuestos a la salinidad de 10‰ (Tabla VI).

Para los camarones que estuvieron expuestos a la salinidad de 40‰ se presentaron diferencias significativas en la acumulación de astaxantina en músculo en las cuatro dietas suministradas, solo las dietas B y C no mostraron diferencias entre ellas, en este caso solo se ve el efecto ascendente asociado a la concentración. Los resultados obtenidos en las tres salinidades tienden a sugerir que la saturación de astaxantina en el músculo tiene lugar dependiendo de la dieta suministrada y del. Vernon-Carter *et al.*, (1996), Yamada (1990) y Arredondo-Figueroa *et al.* (2003) reportaron una conducta similar no solo en músculo sino también en exoesqueleto.

El exoesqueleto es un tejido donde se observa una buena acumulación de carotenoides y de estos pigmentos la astaxantina llega a representar hasta el 90% debido a que la mayoría de los carotenoides esterificados se acumulan en los cromatóforos que se encuentran en dicho tejido (Britton y Goodwin, 1982, Goodwin, 1984). En el presente estudio se registraron valores muy superiores a los observados en músculo. En la salinidad de 10‰ se observó que existe una relación directa entre la adición de astaxantina en el alimento y la acumulación de esta en el exoesqueleto del camarón blanco hasta llegar a la dieta C pues en los organismos alimentados con la dieta D se observó una disminución significativa en el contenido de astaxantina en este tejido. Para el caso de la salinidad de 25‰ solo se observaron diferencias entre la dieta A y las dietas B, C y D, no encontrándose

diferencias entre ninguna de las dietas B, C y D por lo que una adición de mas de 40mg kg^{-1} no presentan cambios en la acumulación cuando son expuestos a esta salinidad. Vernon-Carter *et al.*, (1996) y Yamada (1990) reportan que la saturación de astaxantina en los diferentes tejidos es seguida por una disminución en la concentración de este pigmento tal como se observó en la salinidad de 10‰ . Por ultimo los camarones expuestos a la salinidad de 40‰ presentaron una relación directa entre el contenido de astaxantina en la dieta suministrada y la acumulación de esta en el exoesqueleto, Arredondo-Figueroa *et al.*, (2003) reportaron valores muy semejantes a los encontrados en este trabajo tanto en las dietas control como el las dietas con una inclusión de astaxantina superior a 100mg kg^{-1} no observándose un punto de saturación, el cual posiblemente se encuentra en el rango de los 100 y 150mg kg^{-1} .

El hepatopáncreas no solo juega un papel importante en la absorción de carotenoides del alimento de los animales también muestra cambios marcados durante el ciclo de muda y la maduraron gonádica (Goodwin, 1984). Los carotenoides cruzan la paredes del intestino hacia los fluidos del cuerpo para ser distribuidos a otros tejidos y órganos generalmente ha exoesqueleto (Britton y Goodwin, 1982). El hepatopáncreas de los camarones alimentados con una dieta adicionada con astaxantina fueron notablemente mas altos que aquellos que fueron alimentados sin ella en las tres salinidades experimentales, resultados similares ha sido reportados en reproductores de *Penaeus japonius* (Avala *et al.*, 1993) *P. monodon* (Pangantihon-Kuhlmann *et al.*, 1998) ellos mencionan que cambios en la concentración de astaxantina en el hepatopáncreas se presentan durante el ciclo de muda y la vitelogénesis.

Los camarones expuestos a una salinidad de 10‰ mostraron una relación directa entre el contenido de astaxantina en el alimento y la acumulación de esta en el hepatopáncreas observándose una notable diferencia entre los organismos alimentados con la dieta A en comparación con las dietas B, C y D. Los camarones que fueron alimentados con la dieta D en esta salinidad, mostró los valores mas altos en las tres salinidades experimentales con un valor mayores a 800mg kg^{-1} . Valores similares ya se han sido mencionados por Latscha (1989). Para la salinidad de 25‰ se encontraron diferencias significativas en los organismos en todas las dietas suministradas no presentándose diferencias significativas entre las dietas B y C en los camarones que estuvieron expuestos a dicha salinidad. En la salinidad de 40‰ se observo una relación directa entre el contenido de astaxantina en la dieta y la acumulación de este pigmento en el hepatopáncreas no existiendo diferencias significativas entre las dietas C y D. Esto puede atribuirse a que se ha legado a la saturación de astaxantina en el hepatopáncreas al estar en una salinidad elevada. Como se mencionó anteriormente Vernon-Carter *et al.*, (1996) y Yamada (1990) reportaron que la saturación de astaxantina puede presentarse en diferentes tejidos, aun que ellos no analizaron muestras de tejido de hepatopáncreas de los camarones. Estos resultados indica que la salinidad representa un factor determinante en la acumulación de astaxantina en el hepatopáncreas.

VII. CONCLUSIONES

El crecimiento de *L. vannamei* se vio afectado cuando estuvo expuesto a una salinidad de 10‰ y no mostró diferencias significativas en ninguna de las dietas que le fueron suministradas en ninguna de las salinidades a las que fue expuesto.

Los juveniles de *L. vannamei* presentaron una menor sobrevivencia cuando fueron expuestos a una salinidad de 10‰ y esa no se vio afectada por el contenido de astaxantina de las diferentes dietas experimentales.

Los consumos de oxígeno registrados en los juveniles de *L. vannamei* fueron menores cuando se encontraron en condiciones isosmóticas y fueron alimentados con una dieta adicionada con 80 y 150mg kg⁻¹ de astaxantina.

Los juveniles de *L. vannamei* presentaron los valores mas bajos en la excreción nitrogenada cuando fueron expuestos a un medio isosmótico (25‰) y alimentados con una dieta adicionada con 80mg kg⁻¹ de astaxantina.

Los valores de la razón O:N para las tres salinidades experimentales fueron mayores de 9, mostrando que los juveniles de *L. vannamei* utilizaron como sustrato metabólico lípidos y carbohidratos.

En los tres tejidos analizados de *L. vannamei* se observo una acumulación de astaxantina, presentándose los valores mas altos en hepatopáncreas, valores intermedios en exoesqueleto y los más bajos en músculo.

Tanto la salinidad como la adición de astaxantina en el alimento fueron factores que modificaron la acumulación en los tres diferentes tejidos presentándose en la salinidad de

10‰ las mayores concentraciones en los tres tejidos, teniendo como óptimo en la adición de astaxantina en el alimento para músculo 80mg kg^{-1} , para exoesqueleto 80mg kg^{-1} y para hepatopáncreas 150mg kg^{-1} de astaxantina.

VIII. LITERATURA CITADA

- Arango, G. J. I. 1993. Evaluación comercial del uso de Astaxantina en alimento para camarones (*Litopenaeus vannamei*). Primer Seminario Internacional Roche de Acuicultura. Proyecto Carophyll pink en camarones. Propellets-Promarisco-Acuanova-Ecuaroche. San Antonio, 18 de Octubre de 1996, Provincia de Guayas, Guayaquil, Ecuador. 155-162 p.
- Arango, G. J. I., O. Mora y A. Zúñiga. 1994. Evaluación del uso de Astaxantina Carophyll Pink 8% en la alimentación de camarones, *Litopenaeus vannamei*. Primer seminario internacional Roche de Acuicultura. Proyecto Carophyll Pink en camarones. Alimetsa-Camaronera Deli-Roche. 18 de Octubre de 1996, Guayaquil, Ecuador. 163-169 p.
- Armstrong, D. A. 1979. Nitrogen toxicity to crustacea and aspects of its dynamics in culture systems. Proceedings of the Second Biennial Crustacean –Health Workshop. 14 of May 1982, Texas A & M University 329-360 p.
- Arredondo-Figueroa, J. L., R. Pedroza-Islas, J. T. Ponce-Palafox y E. J. Vernon-Carter. 2003. Pigmentation of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) with esterified and saponified carotenoids from red chilli (*Capsicum annuum*) in comparison to astaxanthin. Rev. Méx. De Ing. Quím. 2: 101-108 p.
- Avala, V. R., A. Kanazawa, y S. Teshima. 1993. Effect of dietary vitamin A, E, C on the ovarian development of *Penaeus japonicus*. Nppo Suisan Gakkaishi. 59: 1235-1241p.
- Barber, B. J. y N. J. Blake. 1985. Sustrate catabolism related to reproduction in the bay scallop *Argopecten irradians concentricus*, as determined by O/N and RQ Physiological indexes. Mar. Biol. 87:13-18 p.
- Bayne, B. 1973. Aspects of the metabolism of *Mytilus edulis* during starvation. Neth, J. Sea Res. 7: 399-410 p.
- Bilaus, C., E. Nicoara, C. Bodea. y I. Petrescu. 1972. St. Cerc. Biochem. 15: 5-8 p.

- Bird, J. N. y G. P. Savage. 1990. Carotenoid pigmentation in aquaculture. Proc. Nutr. Soc. 15 (2): 45-56 p.
- Bishop, J.M., J. G. Gosselink, y J. H. Stone. 1980. Oxygen consumption and hemolymph osmolarity of brown shrimp *Penaeus aztecus*. Fish. Bull., 78: 741-757 p.
- Boonyaratpalin, M., S. Thongrod, K. Supamattaya y L.E. Schlipalius. 2001. Effect of β -carotene source, *Dunaliella salina*, and astaxanthin pigmentation, growth, survival and health of *Penaeus monodon*. Aquac. Research. 32 (1): 182-190 p.
- Bordner, C.E., L.R. D`abramo, D.E. Conklin y N.A. Baun. 1986. Development and evaluation of diet for crustacean aquaculture. J. World Aquac. Soc. 17: 44-51 p.
- Boyd, C.E. 1989. Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming. Fisheries and Allied Aquacultures Departmental Series No. 2 Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Auburn, AL, USA. 375 pp.
- Brito, R., M. E. Chimal y C. Rosas. 2000. Effect of salinity in survival, growth, and osmotic capacity of early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis*. Jour. Experim. Marine Biol. and Ecol. 244, 253-263 p.
- Britton, A. y T. W. Goodwin. 1982. Carotenoids, chemistry and biochemistry. IUPAC-Pergamon, Oxford, USA. 211-224 p.
- Britton, G. 1995. UV/Visible spectroscopy. En: Britton, G., S. Liaaen-Jensen y H. Pfander (eds.). Carotenoids., Vol 1B. Birkhauser, Basel. 13-62 p.
- Brown, A.C. y A. Mc Lachlan. 1990. Ecology of sandy shores. Elsevier, Amsterdam. 328 pp.
- Castillo, R., G. Negre-Sadargues y R. Lenel. 1982. General survey of the carotenoids in crustacean. En: Britton y. Goodwin, T. W. (eds.). Carotenoids, chemistry and biochemistry. Oxford: Pergamos Press. 198-210 p.

- Chen, J. C. y C. Y. Lin. 1994. Responses of osmotic and chloride concentrations of *Penaeus chinensis* Osbeck subadults acclimated to different salinity and temperature levels. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. Ser. 110:85-94 p.
- Chen, J.C. y S.H. Lai. 1993. Effect of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile *Penaeus japonicus* Bate. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 165: 161-170 p.
- Chen, J.C. y F.H. Nan. 1993. Changes of oxygen consumption and ammonia-N excretion by *Penaeus chinensis* Osbeck at different temperature and salinity levels. J. Crust. Biol. 13: 706-712 p.
- Chen, J.C., C.T. Chen. y S.Y. Cheng. 1994. Nitrogen excretion and changes of hemocyanin, protein and free amino acid levels in the hemolymph of *Penaeus monodon* exposed to different concentrations of ambient ammonia-N at different salinity levels. Mar. Ecol. Prog. Ser. 110: 85-94 p.
- Chen, J.C. y K.W. Chen. 1997. Oxygen uptake and ammonia-N excretion of juvenile *Penaeus japonicus* during depuration following one-day exposure to different concentrations of saponin at different salinity levels. Department of aquaculture, National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan. Aquac. 156: 77-83 p.
- Chew, B.P. 1995. Antioxidant vitamins affect food animal immunity and health. J. Nutr. 125: 1804S-1808S p.
- Chien, Y. H. y S. C. Jeng. 1992. Pigmentation of Kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate, by various pigment source and feeding regimes. Aquac. 102: 333-346 p.

- Chien, Y. H., C. H. Pam y B. Hunter. 2003. The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin. *Aquac.* 216: 177-191 p.
- Clifford, H.C. 1985. Semi-intensive shrimp farming. En: Chamberlain, G.W., M.G. Haby, y R.J. Miguel. (eds.). *Texas Shrimp Manual*. Texas Agricultural Extension Service, Corpus Christi TX, USA. 13-40 p.
- Conover, R. J. y E. D. S. Corner. 1968. Respiration and nitrogen excretion by some marine zooplankton in relation to their life cycles. *J. Biol. Ass.* 48: 49-75 p.
- Dalla Via, L. 1986. Salinity response of the juvenile penaeid shrimp *Penaeus japonicus* I. Oxygen consumption an estimating of productivity. *Aquac.* 55: 297-306 p.
- Darachai, J., S. Piyatiratitivoracul, P. Kittakoop, C. Nitithamyong y P. Menasveta. 1998. Effects of astaxanthin on larval growth and survival of the gigant tiger prawn, *Penaeus monodon*. En: Flegel, T.W. (Ed.). *Advances in Shrimp Biotechnology*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. Banrkok, 117-121 p.
- Dhert, P.H., P. Lavens y P. Sorgeloos. 1992. A simple test for the quality of culture fry of marine fish. *Meded. Fac. Landbouwwet., Univ. Gent* 57: 2135-2141 p.
- Díaz, F., S. Espina, c. Rosas, A. Sanches, C. Venegas, E. Dias-Iglesias 1989. ritmo respiratorio y amplitud metabólica del camarón café *Penaeus aztecus* con ablación de los pedúnculos oculares. *Rev. Inv. Mar.* 10: 27-39 p.
- Díaz, F., C. Farfán, E. Sierra y A. D. Re. 2001. Effects of temperature and salinity fluctuation on the ammonium excretion and osmoregulation of juveniles of *Litopenaeus vannamei*. *Boone. Mar. Fresh. Behav. Physiol.* 1-12 p.

- Díaz, F., A. D. Re, U. E. Sierra, I E. Díaz. 2005. Effects of temperature and salinity fluctuation on the oxygen consumption, ammonium excretion and osmoregulation of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson). J. of Shellf. Res. 23(3): 903-910 p.
- FAO. (1999). Papers present at the Bangkok FAO technical consultation on policies for sustainable shrimp culture. Bangkok, Thailand, 8-11 December 1997. FAO Fisheries Report No. 572, Supplement, Rome. 266 pp.
- FAO. 2005. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Departamento de pesca de la FAO. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Roma, Italia. 234 pp.
- Gerhardt, H. V. 1980. Nitrogen excretion by the juvenile prawn *Penaeus indicus* Milne Edwards at various temperatures. S. Afr. J. Sci. 76: 39-40 p.
- Goodwin, T. W. 1984. The biochemistry of the carotenoids. Vol. Animals. 2a. Ed. Chapman and Italy. New York, USA. 224 pp.
- Gong, H., D.H. Jiang, D.V Lightner, C. Collins y D.Brock. 2004. A dietary modification approach to improve the osmoregulatory capacity of *Litopenaeus vannamei* cultured in the Arizona desert. Arizona Mariculture Associates, LLC, Dateland, AZ, USA. Aquac. Nut. 10: 227-236 p.
- Hochcachka, P. W. 1991. Design of energy metabolism. En: Prosser, C. L. ed.. Compilation. Animal Physiology. 4ta. Edicion. Wiley-Liss, NewYork, USA. 325-351 p.

- Huner, J. V. y L. B. Colvin. 1979. Observations on the molt cycles of two species of juvenile shrimp *Penaeus stylirostris* (Decapoda:Crustacea). Proc. Nat. Shell. Assoc. 69: 77-84 p.
- Jiang, D.H., L.A. Lawrence, W.H. Neill y H. Gong. 2000. Effect of temperature and salinity on nitrogenous excretion by *Litopenaeus vannamei* Juveniles. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 253: 193-209 p.
- Katayama, T., T. Katama y C. O. Chichester 1972. The biosynthesis of astaxanthin. VI. The carotenoid in the prawn, *Penaeus japonicus* Bate (Part II). Int. J. of Biochem. 3: 363-366 p.
- Kinne, O. 1967. Physiology of estuarine organisms with special reference to salinity and temperature. En Lauff, G.H. (ed.). Estuaries. Washington, D.C.: AAAS Publ. No 53: 525-540 p.
- Kinne, O. 1970. Temperature: Animals, invertebrates. En Kinne, O. (ed.). Marine Ecology Vol 1 Part II. Wiley-Interscience New York, USA. 407-616 p.
- Kumlu, M., D. J. Fletcher y C. M Fisher. 1998. Larval pigmentation, survival and growth of *Penaeus indicus* fed the nematode *Panagrellus redivivus* enriched with astaxanthin and various lipids. Aquac. Nut. 4: 193-200 p.
- Kutty, M.N., G. Murungapoopathy y T.S. Krishnan. 1971. Influence of salinity and temperature on the oxygen consumption in young juveniles of the Indian prawn *Penaeus indicus*. Mar. Biol. 11: 125-131 p.

- Latscha, T. 1989. The role of Astaxanthin in shrimp pigmentation. *Advances in tropical aquaculture. Acuacop. IFREMER. Actes de Colleeue.* 9: 319-325 p.
- Latscha, T. 1991. Carotenoid in acuatic animal nutrition. En: D. M. Akiyama ay R. K. H. Tan (Eds.). *Proceeding of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop.* American soybean Association. 68-79 p.
- Lemos, D., V.R.L. Jorge y V.N. Phan. 2003. Simultaneous measurements of oxygen consumption and ammonia-N excretion in embryos and larvae of marine invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* 136A: 321-328 p.
- Liao, I.C.y Y.H. Chien. 1994. Culture of kuruma prawn (*Penaeus japonicus*) in Asia. *World Aquac.* 25: 18-33 p.
- Magnum, C.P., S.V. Silverthorn, J.L. Harris, D.W. Towle y A.R. Krall. 1976. The relationship between blood ph, ammonia excretion and adaptation to low salinity in the blue crab *Callinectes sapidus*. *J. Exp. Zool.* 195: 129-136 p.
- Mayzaud, P. y E.R.Conover. 1988. O:N atomic ration as a tool to describe zooplankton metabolism. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 45: 289-302 p.
- Medina-Romo, E. Z. 2005. Respuesta fisiológica del adúlón amarillo *Haliotis corrugata* a diferentes combinaciones de temperatura y salinidad. Tesis de maestría. CICESE. 52 pp.
- Medina-Zendejas, R. 2006. Metabolismo respiratorio, excreción nitrogenada, relación O:N, capacidad osmoreguladora, crecimiento, frecuencia de muda y sobrevivencia en

- juveniles de *Litopenaeus vannamei* mantenidos a baja salinidad y alimentado con diferentes dosis de astaxantina. Tesis maestría. CICESE. 59 pp.
- Menasveta, P. 1993. Biological benefits of carotenoids: astaxanthin. Feed production tomorrow. II: Animal nutrition victam international. Bangkok, Thailand, 17-19p.
- Merchie, G., E. Kontara, Lavens, P., R. Robles, K. Kurmali y P. Zorruelos. 1998. Effect of vitamin C and astaxanthin on stress and disease resistance of postlarval tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricus). Aquac. Res. 29: 579-585 p.
- Michel, E.H. 2002. Taxonomía, Biología y Zoogeografía de los Peneidos de importancia comercial del Pacifico mexicano. Unidad Academ. Maza., Ins. Cien. Mar y Limno., U. N. A. M. México. 15-34 p.
- Paez-Osuna. F., 2002. La interacción Camaronicultura medio ambiente. Unidad Academ. Maza., Ins. Cien. Mar y Limno., U. N. A. M. México. 544 pp.
- Pan, C. H., Y. H. Chien y J. H. Cheng. 2001. Effect of light regiment, algae in the water, and dietary astaxanthin on pigmentation, growth, and survival of black tiger prawn *Penaeus monodon* post-larvae. Zool. Stud. 40: 371-382 p.
- Pangantihon-Kuhlmann, M. P., O. Millamena y Y. Chern. 1998. Effect of dietary astaxanthin and vitamin A on the reproductive performance of *Penaeus monodon* bloodstock. Aquac. Living Resour. 6: 403-409 p.
- Panikkar, N. K. 1968. Osmotic behaviour of shrimps and prawns in relation to their biology and culture. FAO Fish. Rep., 57: 527-538 p.
- Pèqueux, A. 1995. Osmotic regulation in crustaceans. J. Crust Biol. 15: 1-60 p.

- Pérez-Farfante, I. P. y B. Kensley. 1997. Penaeid and sergestoid shrimps and prawns of the World: keys and diagnosis. *Memories du Musèum National D'Histoire Naturelle*, Paris. 287 pp.
- Petit, H., S. Sance, G. Negre-Sadargues, R. Castillo y J. Trilles. 1997. The effects of dietary astaxanthin on growth and moulting cycle of postlarval stages of the prawn *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Comp. Biochem. Physiol.* 117: 539-554 p.
- Ponce Palafox, J., C.A. Martinez-Palacios y L.G. Ross. 1997. The effect of salinity and temperature on the growth and survival rates of juveniles white shrimp *Penaeus vannamei* Boone 1931. *Aquac.* 17: 10-378 p.
- Pressley, A.T., J.S. Graves y A.R. Krall. 1981. Amiloride sensitive ammonium and sodium ion transport in the blue crab. *Am. J. Physiol.* 241: 370-378 p.
- Raj, R.P. y P.J.S. Raj. 1982. Effect of salinity on growth and survival of three species of penaeid prawns. *Symposium on Coastal Aquaculture*, November. 9th 1983, Cochin, India, 1: 236-243 p.
- Re, A. D., F. Díaz, E. Sierra y S. Gómez. 2004. Consumo de oxígeno, excreción de amonio y capacidad osmorreguladora en *Litopenaeus stylirostris* (Simpson) expuesto a diferentes combinaciones de temperatura salinidad. *Cien. Mar.* 30(3): 443-453p.
- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and fresh-water crustacea. *Biol. Rev.* 62: 1-24 p.
- Rodríguez, R., B. Ruiz y S. Sánchez. 1998. Los carotenoides en la salud. *Inst de Inves. Bioméd. (BEB)*. 17(3): 115-121 p.

- Rosas, C., A. Sánchez, E. Díaz, L.A. Soto, R. Gaxiol y, R. Brito. 1997. Effect of dietary protein level on apparent health increment in post-prandial nitrogen excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duodarum*, *P. notialis* postlarvae. J. World Aquac. Soc. 27: 92-102 p.
- Rosas, C., G. Cuzon, G. Gaxiola, L. Prior, J. Rossignol, F. Contreras, A. Sanches, y A.V. Wormhoudt. 2001. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. J. Exp. Biol. Ecol. 259 (1): 22-67 p.
- Salvato, B., V Cuomo, P. Dimuro y M. Beltramini. 2001. Effects of environmental parameters on the oxygen consumption of four marine invertebrates: A comparative factorial study. Mar. Biol. 138: 659- 668 p.
- Saoud, I.P., D.A. Davis, D.B. Rouse. 2003. Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei*. Aquac. 217: 373-383 p.
- SEMARNAP. 2002. Anuario estadístico de pesca 2002. Secretaria del Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca. México, D. F. 224 p.
- Shimitzu, N., M. Goto y W. Miki. 1996. Carotenoid as single oxygen quencher in marine organism. Fish. Sci. 62: 134-137 p.
- Sierra, U. E. y H. F. Díaz 1999. Dynamic bioenergetics of postlarvae and juveniles of *Macrobrachium rosenbergii* caused by unilateral eyestalk ablation. J. Aquac. Trop. 14: 113-119 p.

- Spaargaren, D.H., P. Richard, y H.J. Ceccaldi. 1982. Excretion of nitrogenous products by *Penaeus japonicus* in relation to environmental osmotic conditions. *Com. Biochem. Physiol* 72A: 673-678 p.
- Spanopoulos-Hernández, M., C.A Martínez-Palacios, R.C. Venegas-Pérez, C. Rosas y C.L. Ross. 2005. The combined effect of salinity and temperature on the oxygen consumption of juvenile shrimps *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1874). *Aquac.* 244: 341-348 p.
- Stern, S., A. Borut y D. Cohen. 1984. The effect of salinity and ion composition on oxygen consumption and nitrogen excretion of *Macrobrachium rosenbergii*. *Comp. Biochem. Physiol.* 79A: 271-274 p.
- Ting, Y.Y. 1970. Study on the oxygen consumption of grass shrimp, *Penaeus monodon* and sand shrimp *Merpenaeus monoceros*. *Bull. Taiwan Fish Inst.* 16: 111-118 p.
- Torrissen, O.J. 1990. Biological activities of carotenoids in fishes. The current status of fish nutrients in aquaculture . En: Takeda, M., T. Watanabe. (Eds.). *Proceeding of the third International symposium on feeding and nutrition in fish.* Tokyo University of fisheries, 14th October 1991, Tokyo, Japan. 387-399 p.
- Tsukuda, N. 1972. Studies on the discoloration of fishes. *Bull. Japan Sea Reg. Fish. Res. Lab.* 11: 109-115 p.
- Tukey, J. W. 1977. *Exploratory data analysis*, Massachusetts: Addition-Wesley. 688 pp.
- Valdez, S. G. 2002. Determinación de la preferencia térmica y fisiología energética de juveniles de *Litopenaeus vannamei* aclimatados a diferentes salinidades. Tesis de

- maestría. División de Oceanología. Departamento de Acuicultura. CICESE México. 63 p.
- Van Wyk, P., M. Davis-Hodkins, C.R. Laramore, K. Main, J. Mountain y J. Scarpa. 1999. Farming shrimp in recirculating fresh water production systems: a practical manual. FDACS Contact #4520. Florida Department of Agriculture Consumer Services. Tallahassee, FL, USA. 325 pp.
- Vernon-Carter, E.J., J.T. Ponce-Palafox y R. Pedroza Islas. 1996. Pigmentation of pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) using Aztec marigold (*Tagetes erecta*) extracts as carotenoids source. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 46: 243-246 p.
- Villarreal, H. y Ocampo, L., 1993. Effect to size and temperature on the oxygen consumption of the brown shrimp *Penaeus californiensis* postlarvae. Comp. Biochem. Physiol. 106A: 97-101p.
- Villarreal, H. y J.A. Rivera. 1993. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus californiensis* postlarvae. Comp. Biochem. Physiol. 106A: 103-107 p.
- Villarreal, H., P. Hinojosa y J. Naranjo. 1994. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus vannamei* poslarvae. Comp Biochem. Physiol. 108A: 331-336 p.
- Wang, G.J. 2000. Biology and rearing technology of *Litopenaeus vannamei*. Chinese Journal of Fishery Science and Technology 85: 17-20 p.

- Yamada, S., Y. Tanaka, M. Sameshima, y Y. Ito. 1990. Pigmentation of prawn *Penaeus japonicus* with carotenoids. Effect of dietary astaxanthin, beta-carotene, and canthaxantin on pigmentation. *Aquac.* 87: 323-330 p.
- Yu, B.P. 1994. Cellular defense against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Rev.* 74: 139-162 p.