UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA INCLUSIÓN DIETARIA DE UN EXTRACTO DE LA RAIZ DE PIONILLA (*Lasianthaea podocephala*) SOBRE EL CONSUMO DE ALIMENTO, RESPUESTA PRODUCTIVA Y CONDICIÓN NUTRICIONAL DEL CAMARÓN BLANCO DEL PACÍFICO *Litopenaeus vannamei*

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA
CON OPCIÓN EN
ACUACULTURA

PRESENTA:

ENRIQUE ISRAEL NOREÑA RIVERA

Hermosillo, Sonora **Agosto de 2012**

Repositorio Institucional UNISON

"El saber de mis hijos hará mi grandeza"

Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMATO DE APROBACIÓN

Los miembros del Comité de Tesis designado para revisar la Tesis de Enrique Israel Noreña Rivera la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito para obtener el Título de Licenciado en Biología con Opción en Acuacultura.

Dr. Marcel Martínez Porchas

Director de Tesis

Dr. Luis Rafael Martínez Córdova

Sinodal Secretario

M.C. Lorena Bringas Alvarado

Sinodal

Dr. José Antonio López Elías

Suplente

DEDICATORIA

Dedico esta tesis en especial a:

- Mis padres, Mercedes Rivera y Enrique Noreña; mis tutores, Anselmo García y Danitza Sugich; por la educación que me impartieron desde niño hasta la adultez, su amor, paciencia, tolerancia, enseñanza de valores y por hacerme creer que independientemente de ser parte de mi familia, siempre podre contar con ustedes.
- Jesús Francisco Salazar Plascencia (DEP, 1988-2006); un gran amigo y compañero, con el cual en un principio hubiera entrado junto conmigo a la carrera de Biología en la especialidad de acuacultura, pero por razones de una terrible enfermedad no fue así. Contigo pase grandes momentos de amistad en el área Químico-Biólogo de la preparatoria del Instituto Vanguardia, yo siempre jure que cuando terminara mis estudios en la carrera te los dedicaría, y eso nunca lo olvide; de esta manera te cumplo mi juramento y estoy seguro que no te decepcione debido a que logre terminar esta tesis. Mi hermano, donde quiera que estés, te sigo llevando dentro de mí.
- Oscar Rivera Vega (DEP, 1922-2010); mi abuelo, que también fuiste para mí un gran amigo. Tú tenías un gran don que hoy en día es escaso, el saber escuchar, tu siempre escuchabas mis problemas y después me dabas consejos, eras una persona muy generosa y amable que siempre evitaba meterse en problemas. A ti que fuiste un gran abuelo, comparto la felicidad del terminar esta tesis y juro que siempre te recordare; un gran abrazo viejo en donde quiera que estés.

AGRADECIMIENTOS

Muchas Gracias a:

- Universidad de Sonora por mi formación académica en la carrera de Biología con especialidad en Acuacultura.
- Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS) por ser parte importante en mi formación como Biólogo.
- Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA) de la Universidad de Sonora, por permitirme usar un molino eléctrico del laboratorio de molinos para la molienda del alimento pelletizado.
- Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), por dejarme realizar en sus laboratorios parte de este estudio como fue la obtención del aperitivo y el permitirme usar parte de su equipo como fue la estufa y mesa de trabajo para el corte del tubérculo de la planta y el lavado.
- Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) y al maestro Fernando Mendoza, por su participación al haberme ayudado en la cuantificación de metabolitos para la condición nutricional.
- Maricultura del Pacífico S. A. de C. V., por el proveernos las postlarvas utilizadas en esta investigación.
- Dr. Marcel Martínez Porchas, por su tiempo disponible, su ayuda, su paciencia y consejos para que la realización de esta investigación fuera un éxito; investigador al que hoy en día puedo considerar como un amigo.
- Dr. Luis Rafael Martínez Córdova, por su gran ayuda principalmente en darme los conocimientos básicos del cultivo de camarón que aprendí en sus clases de la licenciatura como Introducción a la Acuacultura e Hidrobiología y Cultivo de crustáceos, así como también darme herramientas básicas para una buena redacción del escrito de tesis.
- Dr. José Antonio López Elías, por siempre mostrarme su disponibilidad para ayudarme en esta investigación y siempre enseñarme en sus clases de licenciatura la importancia acerca de lo aprendido teóricamente en clase llevarlo a la práctica.

- M.C. Lorena Bringas Alvarado, por ser la primera maestra que me dejo conocer en su clase de Nutrición Acuícola una granja comercial de camarón, así como también su ayuda fundamental en la preparación de las dietas.
- M.C. María Elena Lugo Sánchez, por su ayuda en la determinación de aminoácidos libres en la muestra de pionilla.
- Dr. Alfredo Campaña Torres (DEP), por ser el primero en enseñarme las técnicas de campo en un estanque de camarón como una parte de práctica de laboratorio de la clase Introducción a la Acuacultura e Hidrobiología, técnicas que van desde un lanzamiento de atarraya hasta un conteo de zooplancton y fitoplancton, y también por su gran sentido del humor que hacía más amena la práctica.
- Técnico Lauro por la ayuda en la elaboración técnica del bioensayo, como fue la creación de tubería para el oxígeno y mantenimiento técnico en general, aspecto de suma importancia para la realización de esta investigación.
- Mis compañeras de la especialidad de acuacultura de la licenciatura en Biología, Angélica y Perla, por sus consejos los cuales a veces tomaba de mala manera y me desesperaba pero sé que lo hacían por mi bien, amigas de las cuales me dejaron visto que puedo contar con ellas en todo momento.
- Mis mejores amigos, casi hermanos; Felipe, Pedro, Manuel, Luis Carlos, Luis Alfredo y Juan Pablo, por sus consejos que nunca me rindiera en terminar mi tesis y cumplir un gran objetivo como es la obtención de mi título profesional.
- A todos ustedes que hoy en día puedo decir que fueron, son y seguirán siendo una gran parte dentro de mí para mi formación profesional y las metas que tome en un futuro, muchas gracias.

CONTENIDO

FORMATO DE APROBACIÓN	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
CONTENIDO	v
LISTA DE TABLAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMEN	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	4
II.1. Parámetros de Producción, Calidad del Agua y Condición Nutricional	4
II.2. Estudios sobre Ingredientes y Dietas para Camarón	5
II.3. Requerimientos Nutricionales en el Camarón	6
II.3.1. Proteínas	6
II.3.2. Lípidos	7
II.3.3. Carbohidratos	7
II.3.4. Vitaminas	8
II.3.5. Minerales	8
II.4. Quimiorrecepción en Crustáceos	9
II.5. Uso de Atrayentes en la Acuacultura	10
II.6. Uso de Compuestos Químicos como Atrayentes en la Acuacultura	10
II.7. Uso de Productos de Origen Vegetal con Diferentes Finalidades en la Acuacultura	11
II.8. Posición Actual de *Lasianthaea podocephala* en la Acuacultura	13
III. JUSTIFICACIÓN	14
IV. HIPÓTESIS	15

V. OBJETIVOS 16
V.1. Objetivo General 16
V.2. Objetivos Específicos 16
VI. METODOLOGÍA 17
VI.1. Obtención del Extracto 17
VI.2. Determinación de Aminoácidos Libres en el Extracto 19
VI.3. Dietas Experimentales 20
VI.4. Organismos Experimentales 24
VI.5. Sistema Experimental 24
VI.6. Bioensayo de Crecimiento 25
VI.7. Calidad del Agua 28
VI.8. Parámetros de Producción del Camarón 29
VI.9. Condición Nutricional del Camarón 30
VI.10. Análisis Estadístico 35
VII. RESULTADOS 36
VII.1. Aminoácidos Libres 36
VII.2. Calidad del Agua 37
VII.3. Parámetros de Producción 38
VII.4. Condición Nutricional 39
VIII. DISCUSIÓN 41
VIII.1. Aminoácidos Libres 41
VIII.2. Calidad del Agua 41
VIII.3. Parámetros de Producción 42
VIII.4. Condición Nutricional 44
IX. CONCLUSIONES 48
X. RECOMENDACIONES 48
XI. LITERATURA CITADA 49

LISTA DE TABLAS

Tabla I	Gradiente para pionilla en la determinación de aminoácidos con un flujo de 0.2 mL/min. Técnica modificada de Vázquez-Ortiz et al. (1997).	20
Tabla II	Tratamientos utilizados durante el bioensayo.	21
Tabla III	Niveles de respuesta utilizados para conocer el consumo aparente de alimento en el camarón.	27
Tabla IV	Tiempo de incubación, longitud de onda y color de reacción para cada metabolito.	33
Tabla V	Aminoácidos libres (mg g^{-1}) en la muestra de pionilla.	36
Tabla VI	Promedio ± ds de los parámetros de calidad del agua en los tratamientos con distintas concentraciones de pionilla. Letras diferentes en una misma fila implican diferencias significativas (a = menor, b = mayor, ab = igual con respecto a los tratamientos).	37
Tabla VII	Promedio ± ds de los parámetros de producción y consumo de alimento del camarón *Litopenaeus vannamei* alimentado con dietas de diferentes concentraciones de pionilla. Letras diferentes en una misma fila implican diferencias significativas (a = menor, b = mayor, ab = igual con respecto a los tratamientos).	38
Tabla VIII	Promedio ± ds de la concentración de metabolitos en tejido muscular del camarón *Litopenaeus vannamei* alimentado con dietas de diferentes concentraciones de pionilla. Letras diferentes en una misma fila implican diferencias significativas (a = menor, b = mayor, ab = igual con respecto a los tratamientos).	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Tubérculo de la raíz de pionilla (*Lasianthaea podocephala*) utilizado como una inclusión en la dieta del camarón.	17
Figura 2	Molino eléctrico utilizado para la molienda fina del tubérculo de pionilla.	18
Figura 3	Molino eléctrico utilizado para la molienda del alimento comercial pelletizado que sirvió como base para la elaboración de las dietas experimentales.	21
Figura 4	Proceso de batido de los ingredientes en la preparación de las dietas experimentales.	22
Figura 5	Elaboración del pellet a través del molino pelletizador.	23
Figura 6	Presentación de los distintos tamaños de pellet utilizados para la alimentación en las distintas etapas de crecimiento del camarón.	23
Figura 7	Acuarios de plástico utilizados para el sistema experimental del presente estudio.	24
Figura 8	Comederos fabricados con malla metálica e hilo de nylon utilizados para la alimentación del camarón.	26
Figura 9	Camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) consumiendo alimento sobre el comedero.	26
Figura 10	Sonda multiparámetros YSI 6600 para monitorear temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y pH.	28
Figura 11	Espectrofotómetro Hach DR 2000 para medir las concentraciones de NH_4, NO_2, NO_3 y PO_4.	29
Figura 12	Camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) congelado para evitar la alteración de metabolitos debido al estrés por manejo.	30
Figura 13	Espectrofotómetro con lector de microplaca utilizado para la cuantificación de metabolitos en tejido de camarón.	31
Figura 14	Color obtenido de la reacción de la muestra con la solución reactivo correspondiente a cada Kit, cada letra corresponde a un	32

metabolito. A = Lactato, B = Glucosa, C = Colesterol y D = Proteína.

Figura 15 Crecimiento semanal de los camarones *Litopenaeus vannamei* en los 3 tratamientos. C = tratamiento control, T1 = tratamiento con menor concentración de pionilla y T2 = tratamiento con mayor concentración de pionilla. 39

RESUMEN

Se evaluó el efecto de un extracto de *Lasianthaea podocephala* sobre el consumo de alimento, respuesta productiva y condición nutricional de *Litopenaeus vannamei*, bajo condiciones de laboratorio. Se evaluaron tres tratamientos por triplicado consistentes en dos niveles de inclusión del extracto en el alimento y el control. Los tratamientos fueron, C: alimento comercial, T1: alimento comercial + 0.2 % del extracto y T2: alimento comercial + 1 % del extracto. Se utilizaron acuarios de 60 L a una densidad de 25 camarones por acuario. Se suministraron dos raciones diarias de las respectivas dietas, en base al consumo aparente. Los parámetros de calidad del agua fueron estadísticamente similares entre tratamientos; solo el pH en C (6.9) y T1 (6.69) al igual que los niveles de PO_4 en C (1.24 mg L^{-1}), T1 (0.36 mg L^{-1}) y T2 (0.55 mg L^{-1}) presentaron diferencias significativas. Los parámetros de producción no presentaron diferencias significativas entre tratamientos, con excepción de una mayor supervivencia y biomasa en T2 (46%, 17.80 g) y C (28%, 10.66 g). El consumo de alimento tendió a ser mayor en T1 (39.88 g) y T2 (42.17 g) en comparación con la dieta control (36.8 g), aunque sin diferencias significativas. En relación a la condición nutricional, el nivel de proteína en C (77.39 mg g^{-1}) fue mayor que T1 (61.5 mg g^{-1}). El lactato fue similar entre tratamientos. El mayor nivel de glucosa se presentó en T2 (4.8 mg g^{-1}) con respecto a T1 (3.39 mg g^{-1}). El tratamiento T2 presentó mayor nivel de colesterol (12.14 mg g^{-1}) que T1 (4.32 mg g^{-1}) y C (0.9 mg g^{-1}). Se puede concluir que bajo las condiciones en que se realizó el estudio y con las dosis evaluadas, el extracto de pionilla incluido a la dieta del camarón blanco, no tiene efectos negativos sobre la calidad del agua, pero tiene un efecto positivo sobre ciertos parámetros de producción como la supervivencia y la biomasa, y sobre ciertos indicadores nutricionales como el colesterol.

I. INTRODUCCIÓN

La acuacultura se ha convertido en una de las industrias con mayor crecimiento a nivel mundial, desde sus inicios en los países asiáticos hasta su desarrollo en países de Centroamérica y Sudamérica. Esta expansión ha traído como consecuencia un aumento en la oferta de alimentos de origen acuático (Martínez-Córdova, 1999).

El manejo adecuado del alimento y la alimentación dentro del cultivo es uno de los aspectos fundamentales que deben tomarse en cuenta en aras de una acuacultura sustentable (Martínez-Córdova, 2009). Este aspecto es de suma relevancia si se considera que la alimentación es uno de los factores más importantes dentro de los costos de producción en las granjas acuícolas, llegando a representar hasta el 50% en la producción de camarones peneidos (Holland y Rusell, 1993), por lo que es de suma importancia buscar alternativas para que su valor nutricional sea aprovechado al máximo.

Para mejorar los alimentos acuícolas se han utilizado diversos aditivos, estos aditivos pueden clasificarse como: atrayentes, aglutinantes, hormonas, enzimas, inmunoestimulantes, fosfolípidos y colesterol. Los organismos acuáticos utilizan un sinnúmero de señales químicas en diversos procesos fisiológicos, que determinan su comportamiento, tanto al momento de reconocer a sus presas como para alimentarse. Estas señales químicas o estímulos, son reconocidos y diferenciados por células especializadas, a pesar de la gran cantidad y complejidad de sustancias o estímulos que componen el medio acuático (Lee y Meyers, 1997). De esta forma, la percepción de estímulos químicos específicos por parte de los organismos acuáticos juega un papel vital para alimentarse.

En términos de nutrición, un alimento es de poco valor si no es consumido por el camarón de manera rápida antes de lixiviarse o disgregarse; por lo tanto, la atractabilidad y la palatabilidad de los alimentos acuícolas son críticas. Cuando se alimenta a los camarones, las sustancias atrayentes del alimento balanceado se liberan al medio y estas son detectadas por quimiorreceptores distribuidos en la parte anterior del cuerpo; este sistema es utilizado por los camarones para detectar presas o posible alimento (Mendoza et al., 1999).

La mayoría de los alimentos formulados para crustáceos contienen atrayentes. Los atrayentes son ingredientes químicos sintéticos o naturales que contienen sustancias que promueven una respuesta óptima en peces y crustáceos hacia el alimento; éstos propician una

rápida localización y un aumento significativo en el consumo del alimento suministrado. Además, los atrayentes se han considerado como factores importantes relacionados con la disminución de los costos de producción de las empresas acuícolas y, por lo tanto, con una mayor rentabilidad (Galicia-González, 2003). La importancia que tienen los atrayentes en la formulación de alimentos comerciales ha sido ampliamente reconocida como medio para incrementar la respuesta de las diferentes especies hacia cierto alimento y reducir el desperdicio del mismo debido a un lento consumo (Costero y Meyers, 1993).

El uso de atrayentes en los alimentos balanceados ha adquirido una enorme importancia ecológica, ya que mediante su utilización se puede reducir el desperdicio del alimento, lo que influye directamente sobre la calidad del ambiente de cultivo. Por otra parte, permite la incorporación de fuentes proteicas vegetales, que como la harina de soya, que al ser incluidas en proporciones importantes en la formulación provocan la disminución de los niveles de ingestión (Lee y Meyers, 1996).

Se pueden considerar dos tipos de estimulantes alimenticios para el uso en la camaronicultura: ingredientes que provienen de recursos naturales (subproductos animales o vegetales), o derivados químicos (compuestos purificados) (Tacon, 1989).

Tanto los atrayentes químicos sintéticos como los naturales se pueden diferenciar por el efecto atrayente, incitante o estimulante que provocan sobre las especies acuáticas. En base a esta diferenciación los atrayentes o estimulantes son clasificados de acuerdo con la conducta que ocasionan en los animales frente a una fuente alimenticia (Metallier y Guillaume, 2001). Los atrayentes, repelentes y aprehensores típicamente funcionan a distancia y son detectables a muy bajas concentraciones. Por el contrario, los incitantes, supresores, estimulantes y disuasivos, actúan por el contacto directo de la fuente alimenticia con el quimiorreceptor (gusto).

Se ha determinado que las sustancias purificadas o sintéticas que actúan como atrayentes incluyen mezclas de L aminoácidos y compuestos cuaternarios de amonio tales como betaina, cloruro de amonio y oxido de trimetilamina, los nucleótidos como inosina 5-monofosfato, el hidrocloruro de trimetil amonio y las aminas biogénicas cadaverina y putrescina (Tacon, 1989). Algunas plantas de raíces tuberosas presentan aminoácidos libres exactamente localizados en sus tubérculos, estos aminoácidos son: ácido aspártico, ácido

glutámico, glutamina, alanina, +ácido γ-aminobutírico, valina y asparagina (Nakatani y Koda, 1992).

Investigaciones recientes han determinado que los L aminoácidos, la amina cuaternaria betaina y las sustancias purificadas de extractos marinos de peso molecular inferior a 700 Da, son los mayores efectores del comportamiento alimenticio y en menor grado, los nucleótidos, nucleósidos, ácidos grasos, compuestos lipídicos y algunos azúcares. A medida que se avance en el conocimiento de la quimiorecepción de los camarones será posible desarrollar nuevos atrayentes purificados de alta potencia como sustitutos o suplementos de los subproductos animales. Investigaciones relacionadas con el uso de atrayentes de origen vegetal son escasas en la actualidad.

Lasianthaea podocephala o también conocida como pionilla de la montaña es una pequeña hierba perene con raíces tuberosas; estas son muy valoradas por sus propiedades curativas. Las flores son brillosas de color amarillo, a finales de verano la fructificación se torna negra con la edad. Se encuentra ampliamente distribuida en laderas montañosas de Yécora y Sierra de Álamos, Sonora (Martin et al., 1998).

II. ANTECEDENTES

II.1. Parámetros de Producción, Calidad del Agua y Condición Nutricional

Se ha determinado que la evaluación de parámetros de producción, parámetros de la calidad del agua y la condición nutricional dentro del cultivo de camarón son factores importantes para conocer si existe una buena o mala alimentación, la posibilidad de contaminar los cuerpos de agua receptores de las descargas y la incidencia de estrés en los organismos ocasionado por las condiciones de cultivo (Clifford, 1994; Martínez-Córdova, 2009; Racotta y Palacios, 1998).

Dentro de los parámetros de producción que se han evaluado principalmente en la actividad acuícola por mucho tiempo destacan: la ganancia en peso, la biomasa, el peso final y el factor de conversión alimenticia, siendo este ultimo quizás el de principal importancia (Tacon, 1995). Un bajo factor de conversión alimenticia en el camarón puede expresar la buena calidad del alimento y un buen aprovechamiento por parte del organismo de los nutrientes contenidos en el alimento.

Con respecto a los parámetros de calidad del agua, Lester y Pante (1992), consideran a la salinidad, oxígeno disuelto, temperatura y pH, como los cuatro parámetros de primera importancia a monitorear en el cultivo de camarón. En este contexto es importante el monitoreo de dichos parámetros para identificar aquellos que son alterados durante el proceso de cultivo de especies comerciales. El monitoreo de nutrientes como el nitrógeno amoniacal en su forma ionizada y no ionizada (NH_4 y NH_3 respectivamente), nitratos (NO_3), nitritos (NO_2) y fosfatos (PO_4) son también parámetros de calidad del agua importantes ya que pueden promover el desarrollo del fitoplancton en los sistemas de cultivo, no obstante, en concentraciones altas pueden ser tóxicos para los organismos cultivados (Martínez-Córdova, 2009).

Los conocimientos adquiridos acerca de la condición nutricional en crustáceos señalan que la medición de las concentraciones de proteína, lactato, glucosa y colesterol tanto en músculo como en hemolinfa son indicadores de estrés y condición fisiológica de crustáceos (Vargas-Albores et al., 1991). En el campo acuícola hoy en día existe una abundancia de

trabajos de investigación realizados acerca de los parámetros mencionados anteriormente, como el estudio que llevo a cabo Audelo-Naranjo et al. (2010), donde evaluaron el efecto del uso de sustratos artificiales en un sistema intensivo de camarón blanco con cero recambio de agua sobre los parámetros de producción, calidad del agua y condición nutricional, como conclusiones establecieron que la incorporación de sustratos artificiales tiene efectos positivos sobre los parámetros de producción así como la condición nutricional y no afecta la calidad del agua.

II.2. Estudios sobre Ingredientes y Dietas para Camarón

Alrededor de la década de 1970 con poco conocimiento sobre los requerimientos nutricionales en el alimento, se formularon las primeras dietas para el camarón. En aquella época, eran muchos los investigadores que pensaban en los ingredientes que proporcionarían los supuestos nutrimentos esenciales para un buen desarrollo (García-Galano et al., 2007). Como consecuencia de ésto, numerosos trabajos de investigación indicaron que en la etapa larval (protozoea) el alimento óptimo era la leche de soya o huevos, incluso se utilizaba una preparación semi-líquida elaborada a base de huevos de pescado. En la etapa juvenil, el alimento utilizado como referencia se basaba en productos obtenidos a partir de organismos acuáticos como la almeja, la cual fue sustituida al realizar estudios posteriores, por dietas balanceadas (García-Galano et al., 2007).

Investigadores japoneses evidenciaron la importancia de algunos ingredientes de los alimentos; un ejemplo de esta evidencia fue que identificaron la ventaja de agregar músculo de calamar en dietas para camarón (Cruz-Suárez y Guillaume, 1987). Después de los reportes de éstos investigadores, vino la comparación del perfil de los aminoácidos con otros ingredientes tales como la harina de pescado, la levadura y la pasta de soya, así como la harina de cacahuate como fuente rica en arginina (Chamberlain, 1993).

La necesidad urgente de formular los alimentos balanceados para camarón, condujo inevitablemente a probar múltiples opciones, de esta manera se generaron muchas alternativas para cubrir los nutrientes esenciales suplementados con la adición de diversos compuestos. Con el paso del tiempo y después de diversas investigaciones se dio paso al uso de una

diversidad de ingredientes, tomando en cuenta sus características principales, tales como sus propiedades atrayentes, de preservación, pigmentación, o como fuentes de muco-polisacaridos (Nieto-López et al., 2005; Chamberlain y Rosenthal, 1995; Garduño-Lugo y Olvera-Novoa, 2008).

II.3. Requerimientos Nutricionales en el Camarón

Para poder conseguir una buena calidad en el camarón de cultivo como producto final, es necesario tener un amplio conocimiento de los procesos de nutrición y los requerimientos nutricionales de las especies que se están manejando. La fisiología digestiva en el camarón puede afectar la disponibilidad de nutrientes y la digestibilidad de los alimentos (Lee y Lawrence, 1985). En algunos estudios se ha determinado que diferentes especies de camarones, presentan diferencias en la actividad de enzimas digestivas, las cuales se pueden atribuir a sus respectivos hábitos alimenticios (Lee y Lawrence, 1985).

Los requerimientos nutricionales varían dependiendo de diferentes factores como la talla, especie, condiciones de cultivo, estado fisiológico, formulación y procesamiento del alimento (Akiyama et al., 1992). Se cree que los camarones requieren aproximadamente 40 nutrientes esenciales, esta cantidad es similar en peces y animales terrestres, entre estos nutrientes que destacan con mayor importancia son: proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales.

II.3.1. Proteínas

Los niveles de proteína que requieren los camarones se encuentran en un rango de 30 - 50%, este rango varia por distintos factores tales como el tamaño, fuente de proteína, la especie, manejo de la alimentación y porcentaje de energía no proteica. La proteína es el ingrediente más costoso en la formulación de las dietas, por esta razón la mayoría de las investigaciones se han enfocado a determinar los niveles proteicos óptimos (Lim y Dominy, 1990). Las consecuencias de un nivel inadecuado de proteína en la dieta son severas, ya que puede

ocasionar un menor crecimiento de los organismos debido a que la proteína consumida es usada para mantener las funciones vitales, y solo una parte es usada para la síntesis de nuevo tejido (Lim y Persyn, 1989).

II.3.2. Lípidos

Los niveles recomendados de lípidos en la dieta de los camarones varía entre 6 y 7.5% (Akiyama et al., 1992). Son nutrientes necesarios en la dieta de los camarones no solo por su valor energético, sino por ser una fuente de ácidos grasos esenciales, vitaminas liposolubles y fosfolípidos (Lim y Persyn, 1989). Los ácidos grasos y fosfolípidos son de vital importancia ya que se requieren para el transporte del colesterol y triglicéridos. El colesterol se considera esencial en la dieta de los camarones, debido a que no tienen la capacidad de sintetizar el anillo esteroide, y este es utilizado por el organismo para la síntesis de hormonas de la muda, hormonas sexuales, ácidos biliares y algunos tipos de vitamina (Teshima y Kanazawa, 1971).

II.3.3. Carbohidratos

La información sobre los niveles recomendados de carbohidratos en la dieta para camarones es limitada (Kanazawa, 1984), sin embargo, la inclusión de niveles adecuados en la dieta permite un ahorro de proteínas al evitar que estas se desvíen hacia la producción de energía. Generalmente, los polisacáridos son mejores fuentes de carbohidratos dietéticos que los monosacáridos, entre los que destacan por su uso efectivo es el almidón (García-Galano et al., 1990) Algunos trabajos de investigación han demostrado que diferentes especies de camarones peneidos alcanzan sus mejores crecimientos con dietas en donde se incluye un nivel de carbohidrato del 12 a 21% (García-Galano et al., 1990).

II.3.4. Vitaminas

Son compuestos orgánicos complejos necesarios para las funciones de crecimiento, metabolismo y reproducción. No se conoce en su totalidad los requerimientos vitamínicos de los camarones, sin embargo, se ha establecido que ciertas vitaminas liposolubles e hidrosolubles son esenciales para el crecimiento del camarón (Lim y Persyn, 1989). En general, los alimentos acuícolas presentan niveles altos de vitaminas por diversas razones, entre ellas, los camarones se alimentan de forma lenta y el alimento puede permanecer por horas en el agua, esto ocasiona que algunas vitaminas como las hidrosolubles presenten lixiviación, y otra razón es debido a la poca estabilidad de las vitaminas a los procesos de elaboración de los alimentos. Con base a lo anterior, los altos niveles de vitaminas en los alimentos garantizan que dichos nutrientes permanezcan en el alimento (Akiyama et al., 1992).

II.3.5. Minerales

La información existente sobre requerimientos de minerales en la dieta de camarones es escasa. Principalmente se debe a la variación de cada especie sobre la respuesta a la regulación de sales ocasionada por la presión osmótica, ya que los camarones viven en un medio hipertónico el cual contiene un exceso de sales y tienden a sufrir desecación por la pérdida de agua a través de las branquias. Entonces, para compensar esa pérdida tienen que consumir continuamente pequeñas cantidades de agua y bombear el exceso de sales del agua de mar contenida en su intestino a través de las branquias (Cowey y Sargent, 1979). Con base a lo mencionado anteriormente, es evidente que el requerimiento dietético del camarón con respecto algún mineral en particular dependerá en gran medida de la concentración de ese elemento en el agua. Algunos trabajos de investigación han reportado que se requiere una concentración de 1 y 0.30 % para calcio y magnesio respectivamente en la dieta de *Penaeus japonicus* (Kanazawa, 1984).

II.4. Quimiorrecepción en Crustáceos

En relación a la anatomía de crustáceos, los quimiorreceptores están divididos en función de su estructura, se pueden dividir en astetascos y receptores de contacto (Ache et al., 1976). Los astetascos se encuentran exclusivamente en el flagelo lateral de las anténulas en donde se componen como mechones de sensillia, estos son inervados por múltiples células bipolares, presentando una cantidad aproximada de 400,000 por anténula. Los axones de los receptores celulares forman el nervio antenular que se proyecta hacia el lóbulo del protocerebro de los crustáceos (Ache et al., 1976).

Por otro lado, los movimientos antenulares desempeñan un papel significativo en la fisiología de la quimiorrecepción adaptándose al ambiente local al cual están expuestos los astetascos propiciando cambios mecánicos en la posición de los receptores (Nunes et al., 2006). De esta manera, los movimientos de las antenas sirven para aumentar la exposición de los astetascos a los químicos propiciando la circulación del agua (Pearson, et al., 1979). La función de los astetascos está asociada con el sentido del olfato en vertebrados, los cuales pueden reconocerse como receptores de distancia, mientras que otro tipo de quimiorreceptores sensitivos localizados en apéndices masticadores y partes bucales funcionarían como el sentido del gusto que se podrían reconocer como receptores de contacto. Entonces, un animal es capaz de detectar el alimento a distancia mediante los astetascos, y una vez que se acerca a este lo explora con los apéndices bucales y pereiópodos en donde intervienen los receptores de contacto, de esto dependerá que acepte o rechace el alimento (Atema, 1988).

Es importante mencionar que la habilidad para percibir la presencia y calidad del alimento se debe considerar no sólo como una ventaja que poseen los crustáceos sino también como una estrategia en ahorro de energía, ya que se minimiza el tiempo de búsqueda y se maximiza la proporción neta de energía o nutrientes ingeridos. Sin embargo, la decisión para alimentarse es influenciada por diferentes factores, tanto internos, como puede ser la dominancia social, sexo, estado reproductivo y el nivel de inanición; y factores externos, como representa la presencia de competidores o predadores.

II.5. Uso de Atrayentes en la Acuacultura

La adición de atrayentes, quimioatractantes y aperitivos se considera definitiva para garantizar la localización y la ingestión del alimento en cultivos comerciales, en donde las condiciones a menudo resultan ser adversas para la fácil localización y por lo tanto la ingestión del alimento en el estanque (Lee y Meyers, 1997). Entre los quimioatractantes, que han despertado mayor interés debido a buenos resultados en investigaciones experimentales, son los obtenidos a partir de moluscos, principalmente calamar. Los aminoácidos libres son abundantes como osmolitos en los tejidos de todos los invertebrados acuáticos, los cuales constituyen la dieta principal de los crustáceos omnívoros. Debido a que los aminoácidos se difunden rápidamente de las presas muertas, ellos probablemente determinan la frescura de los tejidos (Carr et al., 1996).

Dentro de las aproximaciones utilizadas para investigar el papel de los atrayentes, la mayor parte de los estudios realizados se han restringido a evaluar extractos orgánicos y en ocasiones algunas moléculas puras (Harpaz et al., 1987). Como consecuencia a esta situación, los productores de alimentos han utilizado compuestos a los que se refieren como atrayentes, encontrándose entre los más conocidos los extractos solubles de pescados marinos, harina de pescado, harina de cabeza de camarón y harina de calamar o aceite de hígado de calamar (Montemayor et al., 2005).

II.6. Uso de Compuestos Químicos como Atrayentes en la Acuacultura

Entre los primeros experimentos realizados acerca del uso de atrayentes en organismos acuáticos se encuentra la investigación de Heinen (1980), donde menciona que existen diferentes tipos de efectores químicos en la alimentación, y documentó los lugares y las funciones de los quimiorreceptores en los decápodos; el autor mencionó que las sustancias de bajo peso molecular resultaban ser mayormente estimulantes en estudios de comportamiento, fisiología y electrofisiología en decápodos. La mayoría de estos productos químicos no han sido ampliamente probados y algunos tienen un precio extremadamente alto para su uso en los alimentos. Indicó que por lo general, la mayoría de las sustancias estimulantes son el ácido L-

glutámico, glicina y taurina; además, la mezcla de sustancias puede ser más eficaz que una sola sustancia, por ejemplo, el uso de la betaina en combinación con otros aminoácidos ha mostrado resultados satisfactorios.

Goh y Tamura (1980), demostraron que la mezcla de betaina mas aminoácidos fue más atractiva para la lisa (*Mugil cephalus*) y la brema roja (*Chryosophris major*) que dichos componentes por separado. Mendoza et al. (1997) utilizaron feromonas y aminas biogénicas como atrayentes en el alimento para *Macrobrachium rosenbergii*, en el caso de las aminas biogénicas solo la cadaverina presento resultados alentadores, las feromonas mostraron buenos resultados solo en machos, por lo que su utilización podría ser recomendada para cultivos de un solo sexo.

Otros estudios también han reforzado la hipótesis de que compuestos químicos como la betaina y aminoácidos libres juegan un rol importante como atrayentes en alimentos utilizados en el cultivo de especies acuícolas (Carr et al., 1996; Guérin, 2000; Huang et al., 2005). Harpaz et al. (1987) demostraron que este tipo de compuestos pueden ser detectados por crustáceos en concentraciones tan bajas como $1x10^{-6}M$.

Huang et al. (2005) utilizaron distintos tipos de dietas con distintos ingredientes, evaluando la atractabilidad de cada una de ellos para camarones peneidos. Los autores concluyeron que la atractabilidad de una dieta podía tener relación directa con respuestas positivas en términos de crecimiento y conversión alimenticia.

El actual estancamiento y/o caída de la captura de peces silvestres ha dado como resultado una gran escasez de harina de pescado, mientras que la demanda aumenta por parte de la industria alimenticia para acuacultura, esto puede llegar a ser crítico lo que hace necesario encontrar fuentes alternativas de proteína (Tacon, 1989).

II.7. Uso de Productos de Origen Vegetal con Diferentes Finalidades en la Acuacultura

Los productos de origen vegetal dentro de la acuacultura se han venido estudiando desde épocas antiguas, no tanto por su uso de atrayente sino por su uso medicinal. Para la terapia de enfermedades de seres humanos, las plantas son una materia prima para la producción biotecnológica de medicamentos; sin embargo, en medicina veterinaria y en especial en

acuacultura, los objetivos del uso de las plantas son utilizarlas en su forma natural, primordialmente para abatir costos (Prieto et al., 2005).

Debido a la amplia disponibilidad y comparativamente menor costo de los productos de origen vegetal, estos son interesantes candidatos para reemplazar la harina de pescado. Sin embargo, algunas de estas fuentes proteicas no muestran la atractabilidad suficiente para los organismos consumidores, por lo que es necesario buscar ingredientes que funcionen como atrayentes para el camarón y otras especies. Respecto al uso de atrayentes y aperitivos de origen vegetal, la información existente en la literatura científica es muy escasa.

Al igual como las plantas terrestres, las plantas acuáticas se han venido estudiando con anterioridad. Algunos trabajos (Molina-Poveda et al., 2006), indican que algunas diatomeas tienen propiedades aperitivas para el camarón; sin embargo, no se ha realizado ningún estudio sistemático al respecto. Las harinas de algas han sido empleadas como aditivos en los alimentos para promover el crecimiento, la eficiencia alimenticia, los constituyentes corporales, la calidad de la carne, las características fisiológicas, la respuesta al estrés y la resistencia a enfermedades en varias especies de peces (Mustafa y Nakagawa, 1995). Los efectos positivos de incluir algas en los alimentos se derivan de su composición en fibra dietética, carotenoides, atrayentes químicos, fuentes de vitaminas y minerales (Mustafa y Nakagawa, 1995). Jaime-Ceballos et al. (2007) evaluaron el uso de la harina de *Spirulina platensis* como atrayente en el alimento para el camarón *Litopenaeus schmitti*, los autores concluyeron que la inclusión de 5 % de harina de *Spirulina platensis* mejora la atractabilidad del alimento para juveniles del camarón *Litopenaeus schmitti*.

Martínez-Córdova et al. (2008) utilizaron un extracto de *Yucca schidigera* para incluirla en la dieta alimenticia del camarón blanco y estudiar el efecto de distintos niveles de inclusión sobre los parámetros de producción y de calidad del agua. Los autores concluyeron que la inclusión dietaria de 2 o 3 g del extracto de yuca por kg de alimento del camarón blanco, es recomendable desde el punto de vista ecológico, ya que disminuye de manera significativa los niveles de nitrógeno amoniacal en el agua. Auró y Ocampo (2003) registraron el efecto antibacteriano de *Allium sativum* específicamente contra bacterias Gram negativas (*Aeromonas hydrophila* y *Pseudomonas fluorescens*) en tilapia (*Oreochromis hornorum*), el que atribuyen a la presencia de un antibiótico de potente acción parecido al de la penicilina, cuando se utilizó en dosis de 50 mg por día, durante tres días.

En otros trabajos de investigación como el de Montemayor et al. (2005), se utilizaron extractos vegetales como extracto de coco y extracto de alfalfa en dietas prácticas para el camarón blanco, siendo el extracto de coco el que obtuvo mejores resultados de ingestión. Resultados similares a los obtenidos con el extracto de coco, fueron encontrados por Harada y Miyasaki (1997) en un estudio realizado con *Haliotis discus*, *Misgurnus anguillicaudatus* y *Seriola quinqueradiata* los cuales fueron expuestos a diferentes concentraciones de un extracto de la cascara de coco, mostrando un gran potencial atrayente en las tres especies de animales acuáticos. Zheng et al. (2009) evaluaron el uso del aceite esencial de orégano sobre el crecimiento, efecto antioxidante y resistencia contra *Aeromonas hydrophila* en bagre de canal (*Ictalurus punctatus*); en el transcurso del experimento los autores identificaron dos componentes activos principales del aceite esencial de orégano (carvacrol y timol); los autores reportaron resultados satisfactorios al combinar ambos extractos e incluirlos en la dieta del bagre de canal.

II.8. Posición Actual de *Lasianthaea podocephala* en la Acuacultura

Actualmente, no existen trabajos de investigación realizados sobre *Lasianthaea podocephala* dentro del campo acuícola, aunque en el área de la química orgánica hay pocas publicaciones como la de Ono et al. (2001) quienes utilizaron esta planta para aislar (R)-curcufenol el cual exhibe actividad antibacteriana en contra de *Staphylococcus aureus* y *Vibrio anguillarum*.

Resultados no publicados (Porchas-Cornejo, comunicación personal), indican que la raíz de pionilla (una planta que se ha utilizado como aperitivo y antiamibiano en humanos), podría tener propiedades aperitivas para el camarón. Es necesario sin embargo, probar esto en un estudio sistemático como el que se está planteando.

III. JUSTIFICACIÓN

En los cultivos de camarón que se realizan en laboratorio, las condiciones no son las óptimas, sino más bien pueden llegar a ser de adversas a estresantes para el organismo. Bajo estas condiciones por lo general el consumo de alimento es negativamente afectado y es necesario aplicar ciertas estrategias para normalizarlo, tal como el uso de atrayentes y aperitivos.

Existen diversas investigaciones sobre la aplicación de atrayentes en acuacultura, ya sea de péptidos, extractos animales y extractos vegetales; sin embargo, faltan investigaciones científicas sobre el uso de aperitivos de origen vegetal en condiciones de laboratorio. El aperitivo a utilizar será de un extracto vegetal de la hierba *Lasianthaea podocephala*, también llamada pionilla de la montaña que, entre otras cosas, se utiliza en regiones rurales para estimular el apetito de infantes.

La realización de este tipo de investigaciones es importante ya que al arrojar resultados positivos se aumentaría el consumo de alimento, que a su vez influye sobre una mejora en los parámetros de producción (crecimiento, biomasa y factor de conversión alimenticia), y por otro lado, disminuirían los desperdicios de alimento no consumido, contribuyendo con ello a minimizar el impacto ambiental de la actividad acuícola.

IV. HIPÓTESIS

El poder atractivo de un extracto de la raíz de pionilla se presume está relacionada con los aminoácidos libres presentes en su tubérculo, lo que debería significar un estímulo en el consumo de alimento, que se verá reflejado en la respuesta productiva y condición nutricional del camarón blanco bajo condiciones de laboratorio.

V. OBJETIVOS

V.1. Objetivo General

Determinar el efecto de dos niveles de inclusión de un extracto de la raíz de pionilla sobre el consumo de alimento, respuesta productiva y condición nutricional del camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei.*) bajo condiciones de laboratorio.

V.2. Objetivos Específicos

Determinar el contenido de aminoácidos libres en el extracto de pionilla.

Determinar el efecto de las dietas sobre los parámetros de calidad del agua del cultivo de camarón en condiciones de laboratorio.

Determinar el efecto de diferentes niveles de inclusión dietaria de pionilla sobre los parámetros de producción y la condición nutricional del camarón.

VI. METODOLOGÍA

El estudio se desarrolló en el laboratorio húmedo del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS).

VI.1. Obtención del Extracto

La planta pionilla (*Lasianthaea podocephala*) se recolectó de campos ubicados en el municipio de Sahuaripa, Sonora (Figura 1). El proceso para la obtención del extracto se realizó en un laboratorio del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD).

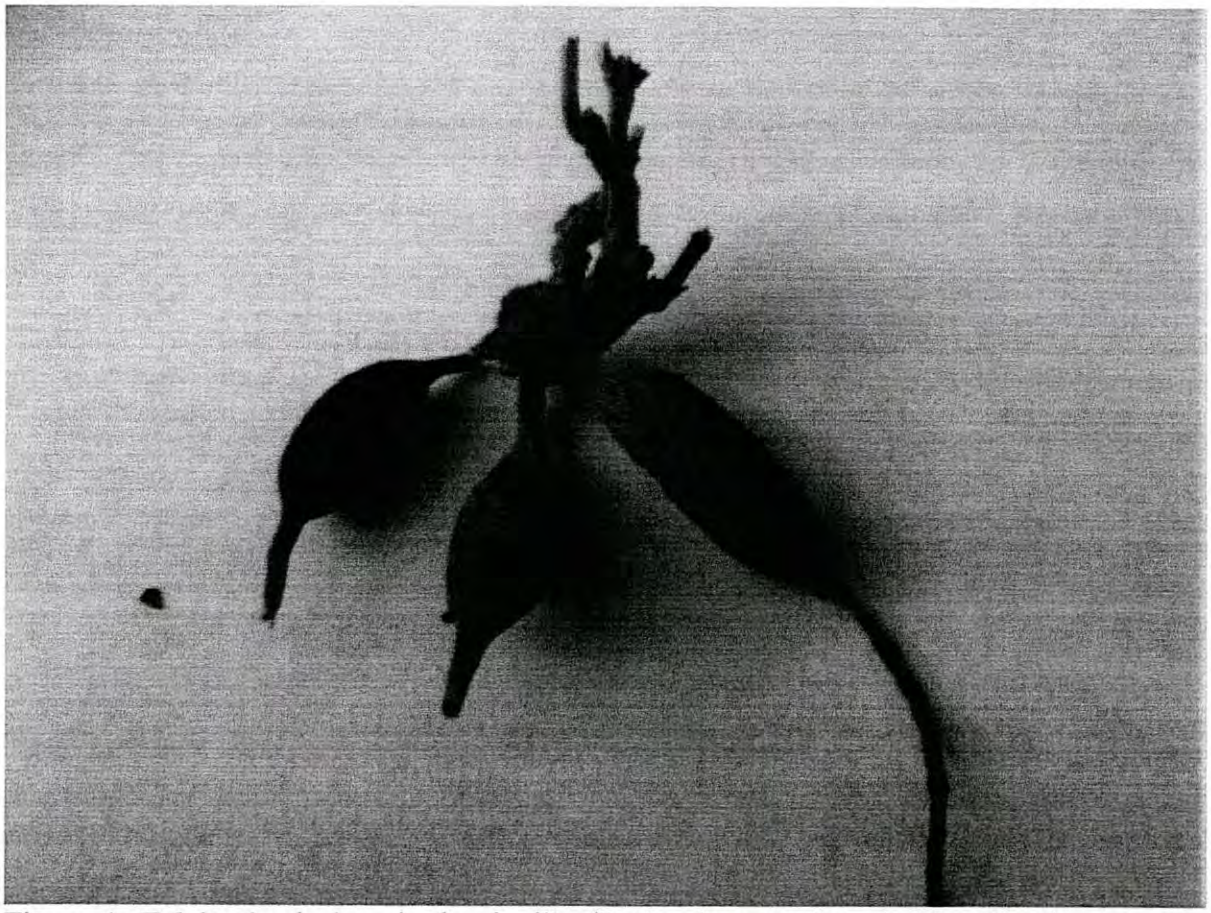

Figura 1. Tubérculo de la raíz de pionilla (*Lasianthaea podocephala*) utilizado como una inclusión en la dieta del camarón.

El proceso consistió en hacer un corte longitudinal de los tubérculos de la raíz, después se secó en estufa a 80 °C por 12 h. Posteriormente se utilizó una licuadora de laboratorio para obtener los tubérculos en trozos más pequeños y finalmente se procedió a moler finamente con un molino eléctrico (GE Motors and Industrial Systems) utilizando malla de 40 mesh (Figura 2).

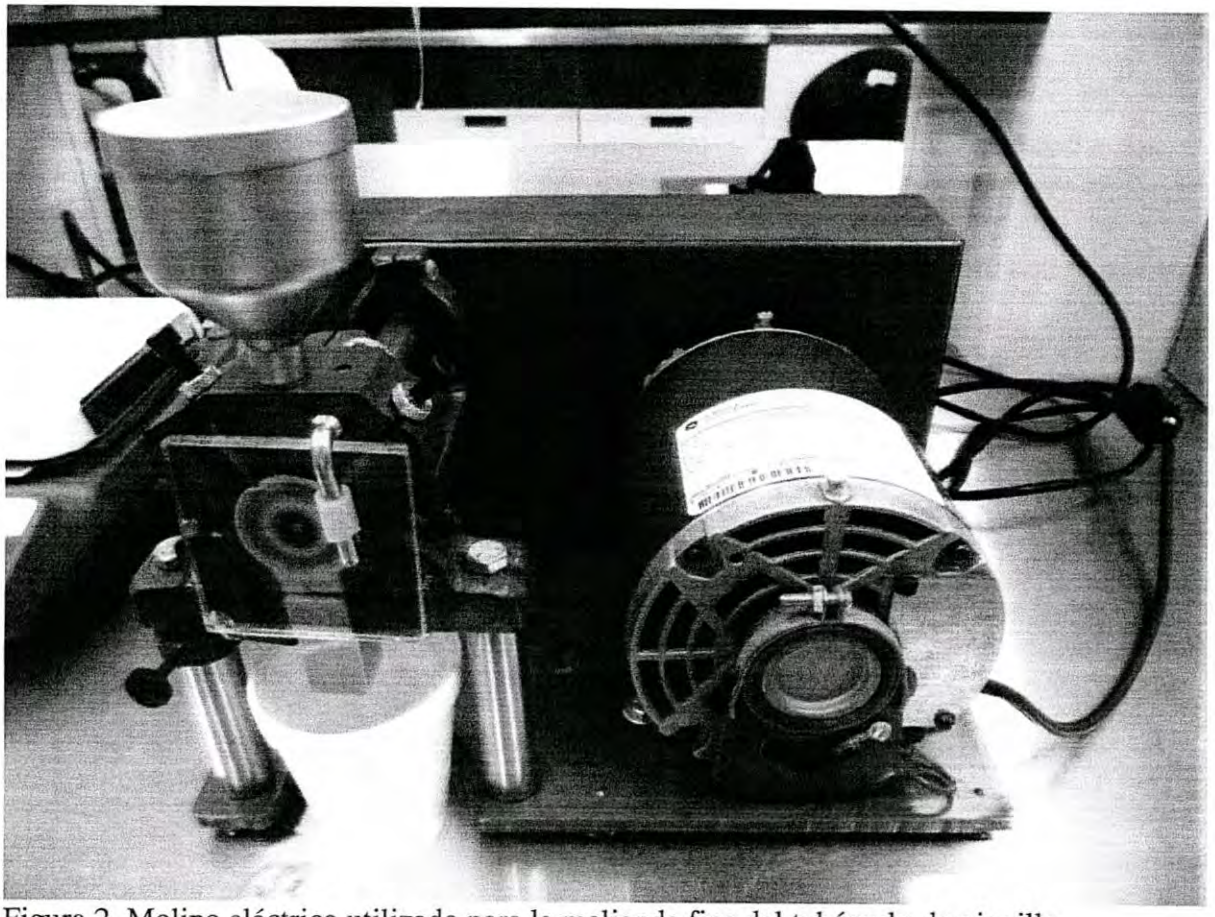

Figura 2. Molino eléctrico utilizado para la molienda fina del tubérculo de pionilla.

VI.2. Determinación de Aminoácidos Libres en el Extracto

La determinación de aminoácidos libres en la raíz de pionilla se realizó en un laboratorio del CIAD utilizando la técnica descrita por Vázquez-Ortiz et al. (1997) con ligeras modificaciones. Se tomo 1 g de muestra al que se añadieron 20 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 7.5%, después se homogenizo totalmente la mezcla en procesador de alimentos, hasta formar una pasta. Se pesaron 5 g del homogenizado en un vaso de licuadora y se añadió 100 mL de TCA al 7.5%, después se licuo a velocidad estándar. Se pasó la muestra licuada a tubos de centrifuga de 500 mL y se taparon perfectamente, almacenándolos a 4 °C. Se colocaron las muestras en eje encontrado dentro de una centrifuga refrigerada (Beckman J2-21), después se centrifugó por 15 min a 4000 rpm con una temperatura de 4 °C. Posteriormente, se filtraron las muestras a través de papel Whatman #1, y se almacenó el filtrado en viales dentro de un refrigerador hasta la cuantificación por HPLC de los aminoácidos.

Se utilizó una inyección automatizada en el equipo de HPLC Agilent 1100. Para este tipo de inyección el equipo solo tomó 10 µL los cuales se mezclaron con 10 µL de OPA (o-phtaladehyde); previo a la inyección, el equipo corrió un tiempo de dos minutos en el cual se llevo a cabo la derivatización para finalmente inyectar la muestra. Se identificó la corrida de un blanco y la muestra en la pantalla de la computadora, pantalla donde se tuvo la información de la muestra. Se llenó el loop del inyector manual con fase móvil de buffer de acetatos filtrada. Para el inicio de la determinación, se giro la perilla del inyector a la posición de carga y se mostró un color azul del diagrama completo. Entonces, se espero un tiempo de corrida de 30 min, después se inicio con las inyecciones de los estándares, al término de estos se hizo una línea base para proceder con la inyección de las muestras. Se repitió el llenado del loop con estándares primero una vez que se llevo a cabo la derivatización y se siguió el procedimiento anterior. Se corrió otro blanco para quitar los remanentes de estándares.

Para la inyección automatizada, se utilizó una tabla de secuencia donde se observa el gradiente a utilizar para la determinación de aminoácidos (Tabla I).

Tabla I. Gradiente para pionilla en la determinación de aminoácidos libres con un flujo de 0.2 mL/min. Técnica modificada de Vázquez-Ortiz et al. (1997).

Tiempo (min)	% Buffer	% Metanol
0	90	10
5	70	30
8	70	30
10	50	50
15	50	50
18	20	80
22	20	80
25	90	10
26	90	10

VI.3. Dietas Experimentales

Se elaboraron dos dietas con dos diferentes niveles de inclusión (0.2 % y 1 %) del extracto de pionilla, de la siguiente manera.

Se utilizó como base un alimento comercial pelletizado para engorda de camarón, el cual se molió en un molino eléctrico (Thomas-Wiley, USA), con una malla de 2 mm (Figura 3), ubicado en el Laboratorio de molinos del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA). Se utilizaron tres tratamientos los cuales fueron basados en las dietas experimentales (Tabla II).

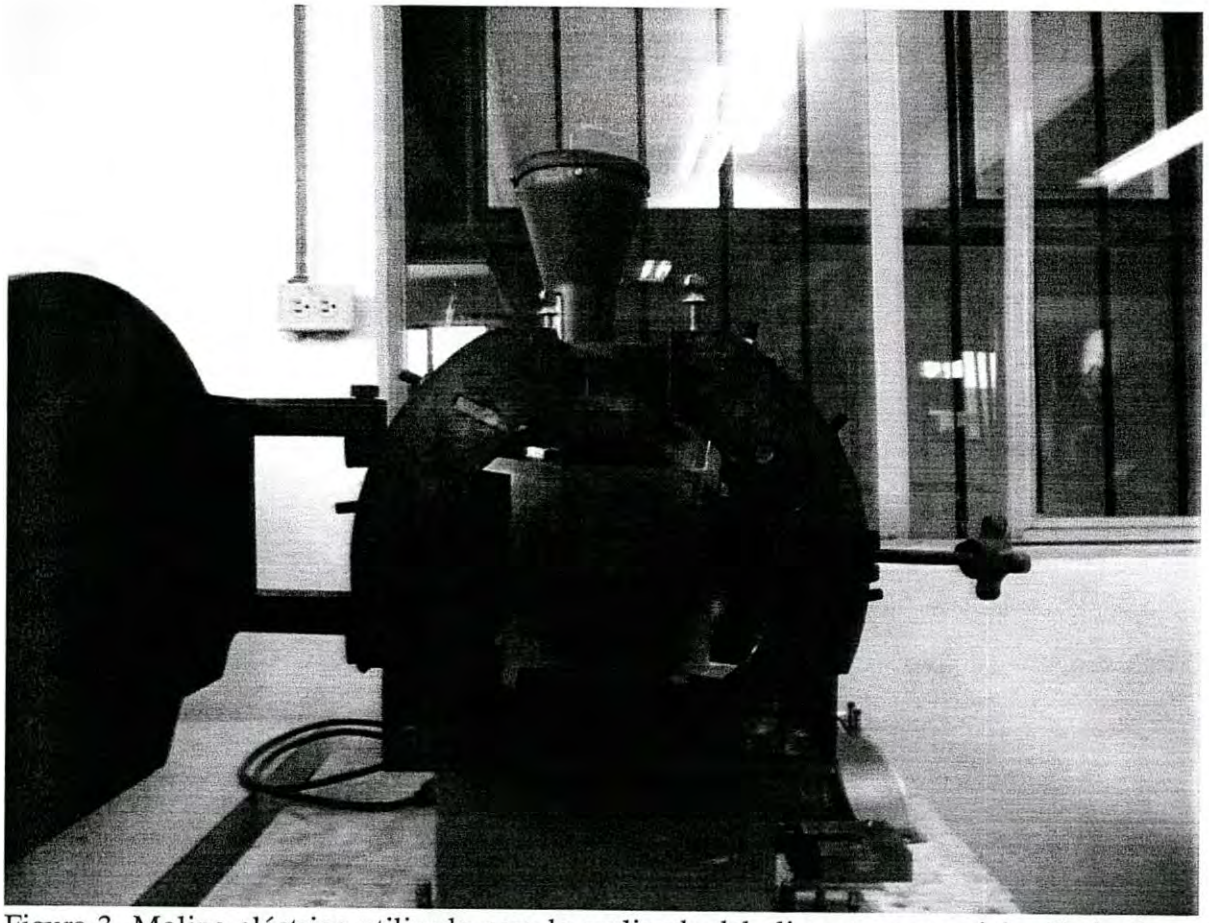

Figura 3. Molino eléctrico utilizado para la molienda del alimento comercial pelletizado que sirvió como base para la elaboración de las dietas experimentales.

Tabla II. Tratamientos utilizados durante el bioensayo. *Camaronina de Purina, Aquaprofile®.

Tratamiento	% de Inclusión
Control (C)	Alimento comercial* + 0% de inclusión
Tratamiento 1 (T1)	Alimento comercial + 0.2% del extracto
Tratamiento 2 (T2)	Alimento comercial + 1% del extracto

La elaboración de las dietas se realizó en el Laboratorio de Nutrición Acuícola del DICTUS. Se utilizaron 2 kg del alimento comercial molido para ambas dietas, posteriormente se agregó la cantidad correspondiente del extracto (4 g para T1 y 20 g para T2) en una mezcladora (Hobart, USA), después se añadió 50 % de agua destilada a 85 °C, por un tiempo de batido aproximado de 30 min (Figura 4). Finalmente, la masa se colocó dentro del molino pelletizador (Figura 5). El alimento pelletizado formado se secó por medio de ventilación durante 24 h a temperatura ambiente (27 °C). Después del secado, el alimento pelletizado se quebró y tamizó para dejarlo a un tamaño de pellet conveniente a fin de que el camarón lo pudiera consumir (Figura 6).

Figura 4. Proceso de batido de los ingredientes en la preparación de las dietas experimentales.

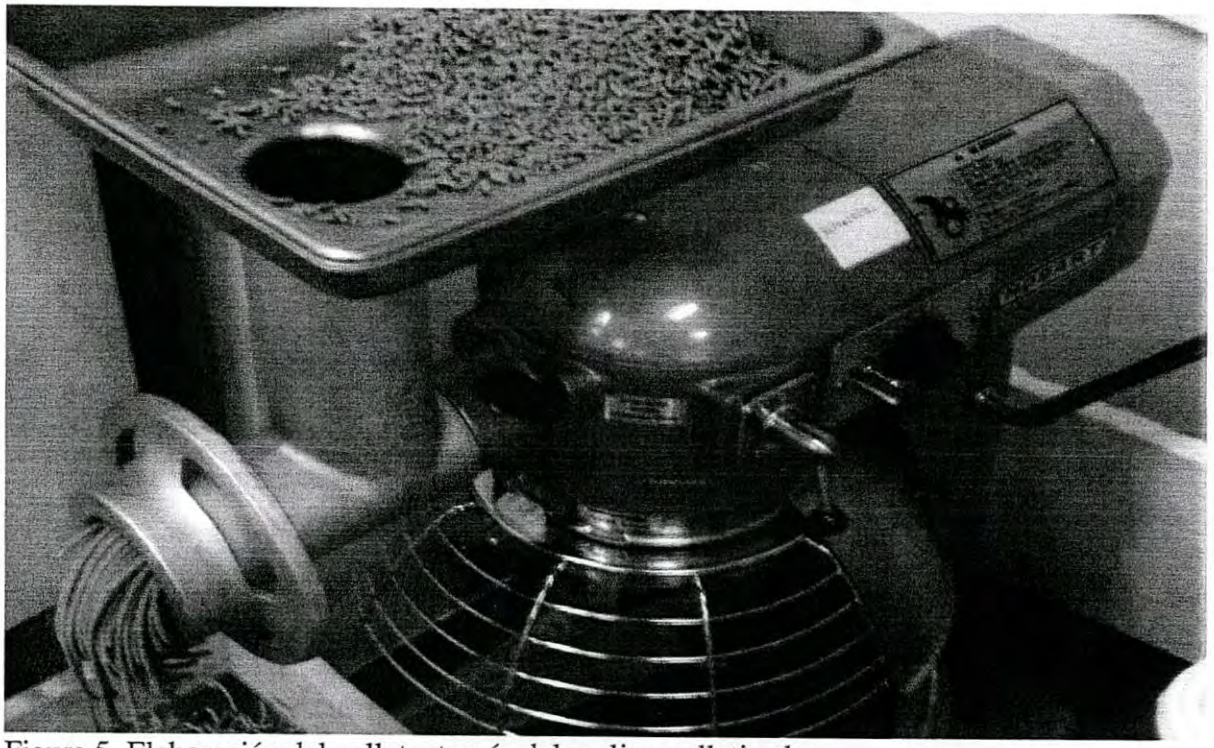

Figura 5. Elaboración del pellet a través del molino pelletizador.

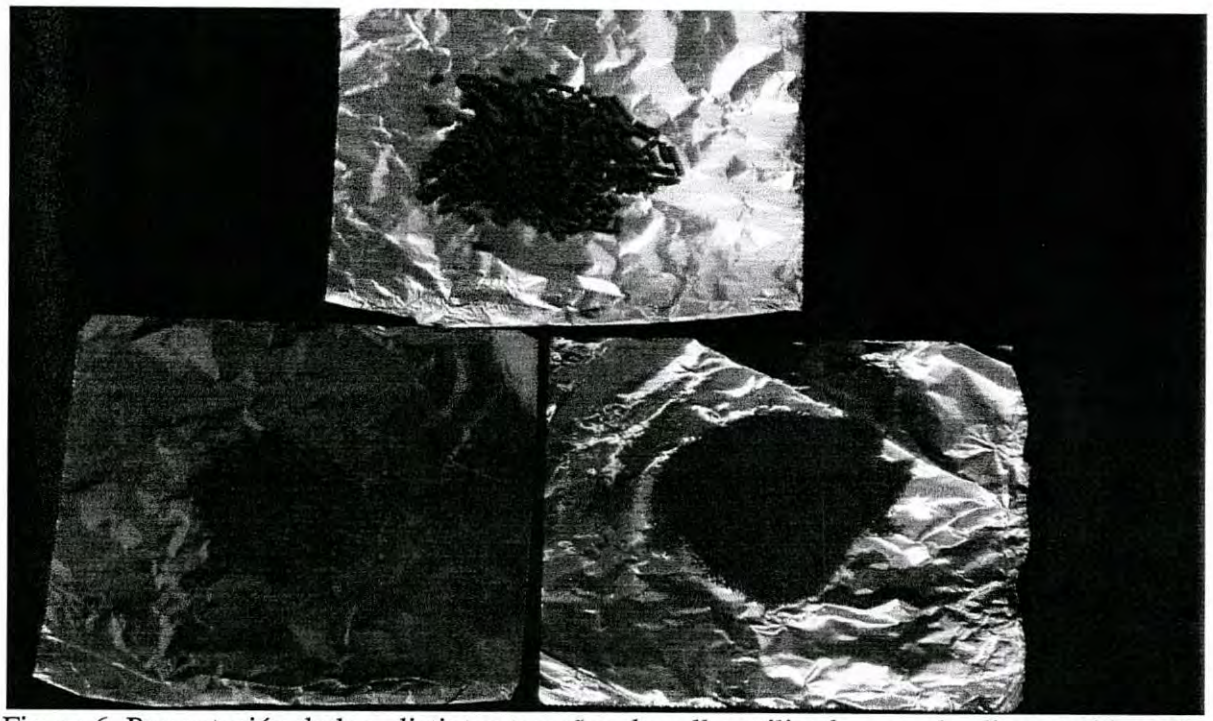

Figura 6. Presentación de los distintos tamaños de pellet utilizados para la alimentación en las distintas etapas de crecimiento del camarón.

VI.4. Organismos Experimentales

Los organismos experimentales (con un peso promedio de 0.06 g) fueron obtenidos del laboratorio de postlarvas Maricultura del Pacífico, S. A. de C. V. en Bahía Kino, Sonora.

VI.5. Sistema Experimental

El sistema experimental consistió de 9 acuarios de plástico de 60 L de capacidad con aireación continua que fueron llenados con 40 L de agua de mar filtrada con salinidad de 35 ups, suministrada por la Unidad Experimental Kino (UEK) del DICTUS (Figura 7).

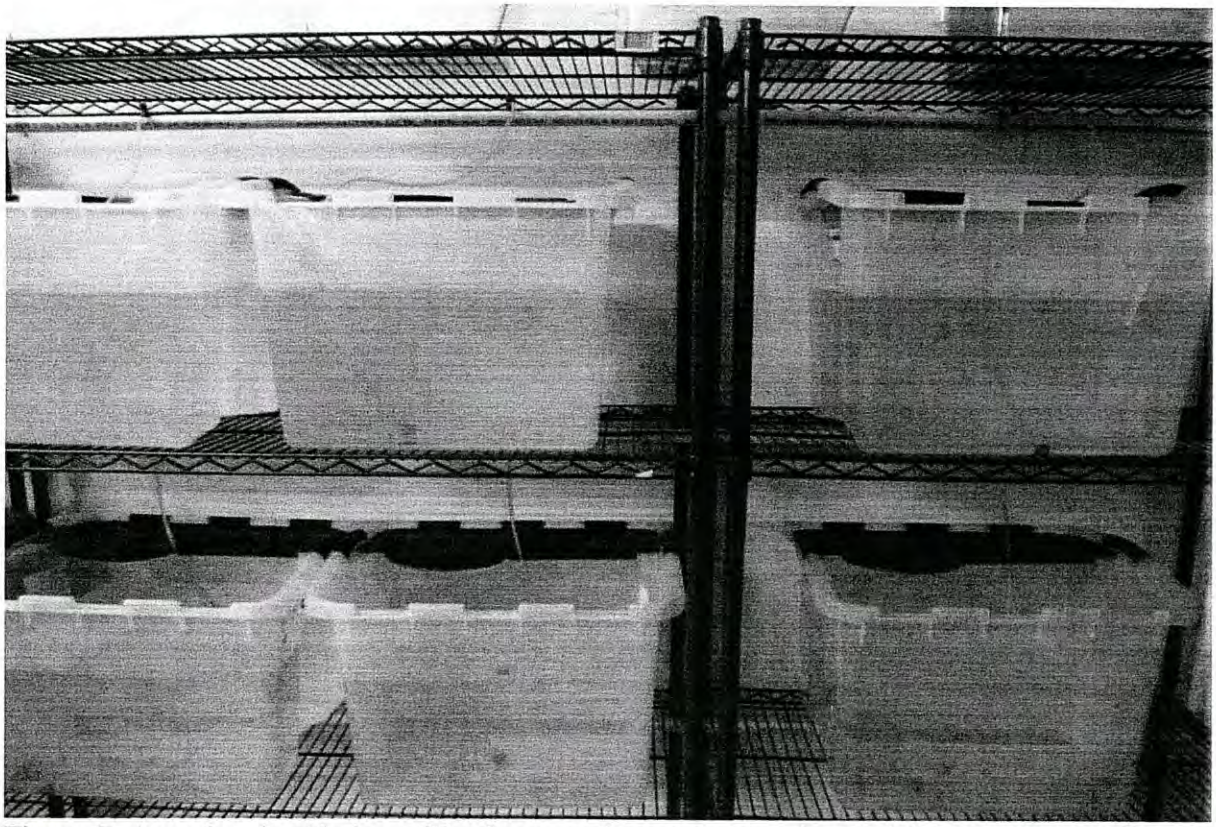

Figura 7. Acuarios de plástico utilizados para el sistema experimental del presente estudio.

VI.6. Bioensayo de Crecimiento

En cada unidad experimental se colocaron 25 camarones (equivalente a 125/m^2). Diariamente se retiraron exoesqueletos producto de la ecdisis y camarones muertos mediante sifoneo manual con una manguera de 1''. Semanalmente también se retiraron restos de alimento no consumido y heces fecales, y se llevo a cabo un recambio de agua del 25 %.

El bioensayo tuvo una duración de 52 días, para el cual se planifico un diseño experimental simple con un arreglo completamente al azar, considerando tres repeticiones por tratamiento.

Los camarones fueron alimentados con dos raciones diarias de sus respectivas dietas, ajustando la ración en base al consumo aparente (Salame 1993), iniciando con una ración correspondiente al 8% de la biomasa del camarón. Se utilizaron pequeños comederos fabricados con malla metálica e hilo de nylon (13 x 13 cm) (Figura 8); éstos se colocaron en las esquinas de cada acuario con el fin de observar más detalladamente el consumo de alimento (Figura 9).

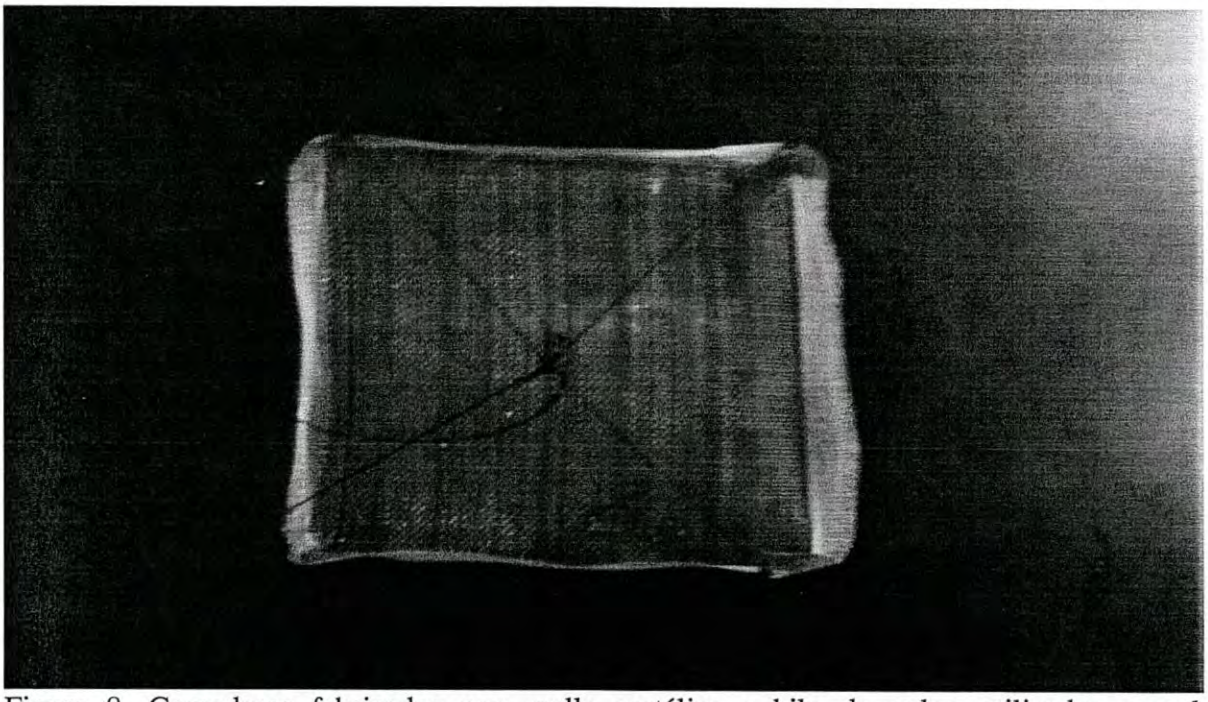

Figura 8. Comederos fabricados con malla metálica e hilo de nylon utilizados para la alimentación del camarón.

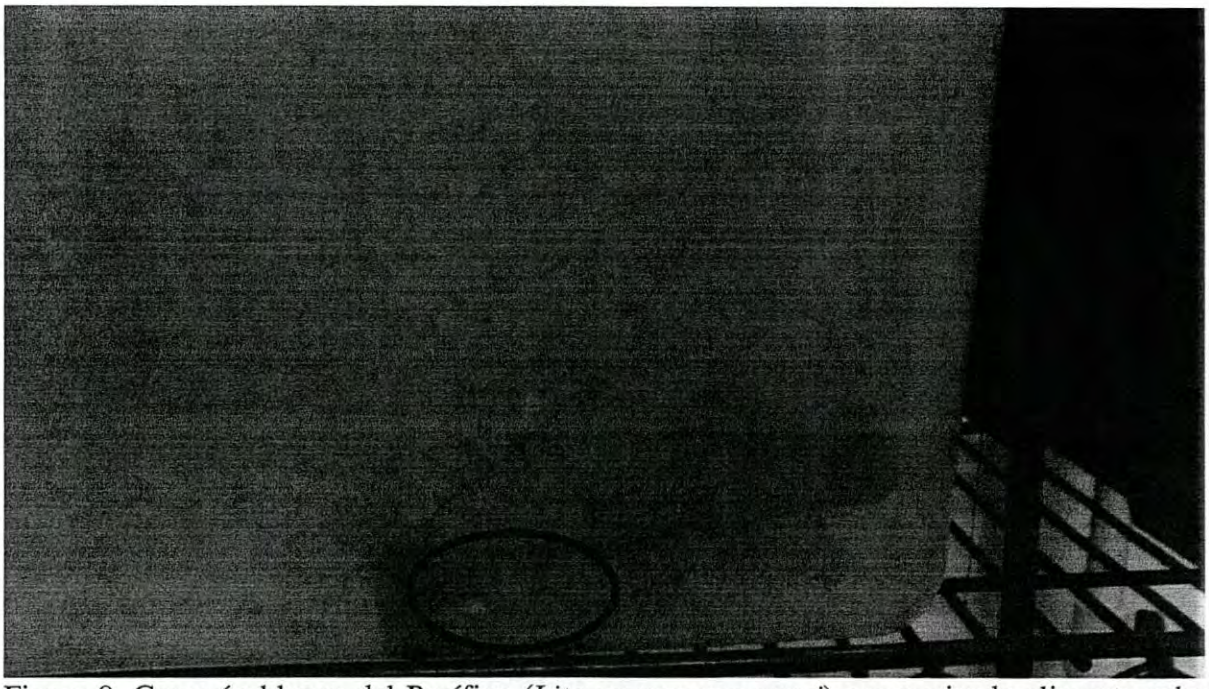

Figura 9. Camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) consumiendo alimento sobre el comedero.

El comportamiento alimenticio del camarón se registró diariamente en una bitácora monitoreando diferentes niveles de respuesta (Tabla III).

Tabla III. Niveles de respuesta utilizados para conocer el consumo aparente de alimento en el camarón.

Consumo de alimento	Alimento remanente %	Ajuste
Todo	0	Aumentar 10 %
Poco	10 %	Igual
Nada	80 % ó 100 %	Disminuir el 15 % ó el 20 %

VI.7. Calidad del Agua

Diariamente se monitoreó la temperatura, salinidad, oxígeno disuelto (OD) y pH, utilizando una sonda multiparámetros YSI 6600 (YSI Inc., Yellowspring, OH, USA) (Figura 10).

Semanalmente se midieron las concentraciones de amonio (NH_4), fosfatos (PO_4), nitritos (NO_2) y nitratos (NO_3) utilizando un espectrofotómetro Hach DR 2000 y su respectivo kit de reactivos (Hach Co. Loveland, CO, USA) siguiendo las técnicas descritas en el manual del equipo (Figura 11).

Figura 10. Sonda multiparámetros YSI 6600 para monitorear temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y pH. Fuente: Perla Urquídez Bejarano.

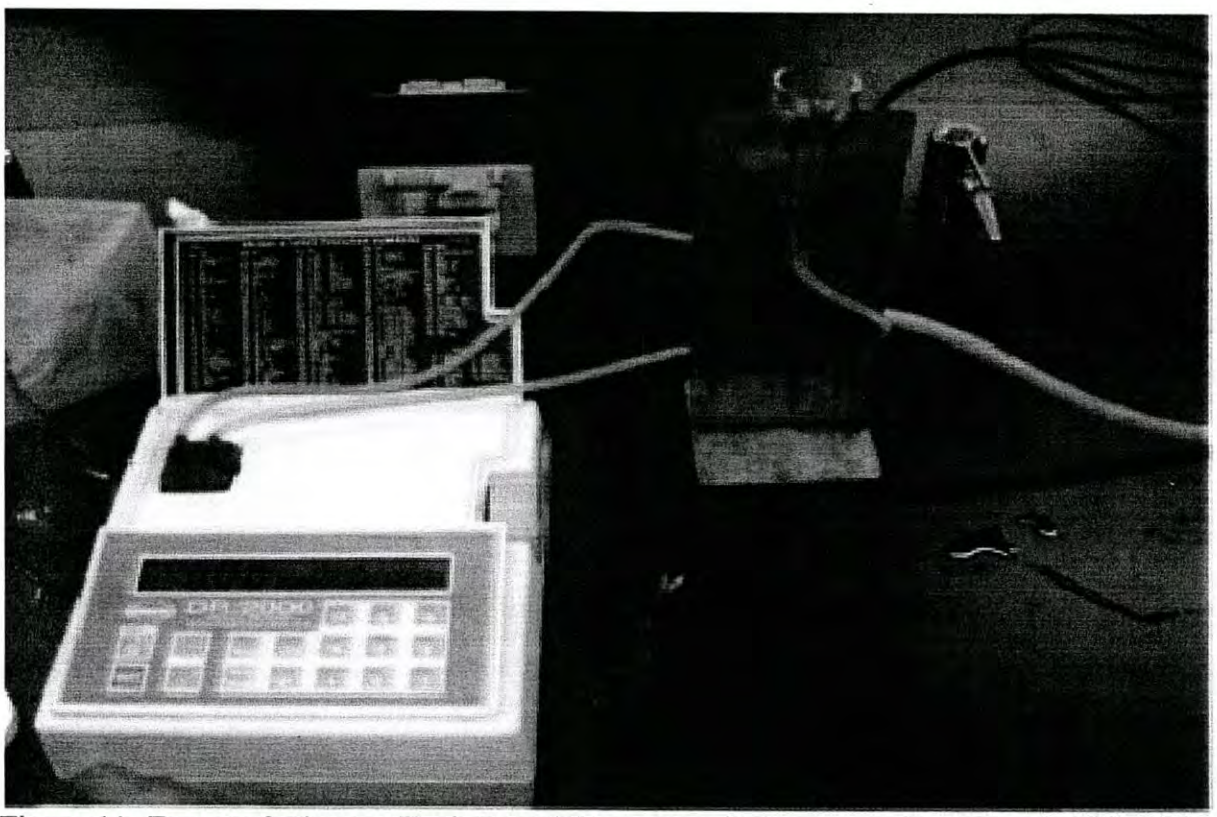

Figura 11. Espectrofotómetro Hach DR 2000 para medir las concentraciones de NH_4, NO_2, NO_3 y PO_4. Fuente: Perla Urquídez Bejarano.

VI.8. Parámetros de Producción del Camarón

Se evaluaron parámetros como ganancia en peso total, supervivencia, biomasa total, factor de conversión alimenticia (FCA) y tasa de crecimiento específico (TCE).

Para evaluar la ganancia en peso, cada semana se realizaron biometrías; se tomaron muestras de 10 camarones de cada unidad experimental y se pesaron utilizando una balanza digital para obtener el peso promedio. Posteriormente los camarones fueron regresados a sus respectivas tinas.

Semanalmente se realizó un conteo de los camarones vivos de cada tina para determinar la supervivencia y la biomasa. Al finalizar el experimento se evaluó el FCA y la TCE. Se evaluó también el consumo real de alimento.

Para el cálculo del FCA y la TCE se utilizaron las siguientes ecuaciones. Donde ln, es el logaritmo natural de la diferencia del peso final y el peso inicial.

$$FCA = \frac{\text{Consumo de alimento total}}{\text{Ganancia en peso}}$$

$$TCE = \left(\frac{\ln \text{Peso final} - \ln \text{Peso inicial}}{\text{Día final} - \text{Día inicial}}\right) \times 100$$

VI.9. Condición Nutricional del Camarón

Al final del experimento se evaluó la condición nutricional de los camarones alimentados con las distintas dietas. Los camarones de cada tratamiento se congelaron inmediatamente para evitar la alteración de metabolitos debido al estrés por manejo (Figura 12).

Figura 12. Camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) congelado para evitar la alteración de metabolitos debido al estrés por manejo.

La cuantificación de metabolitos en el tejido muscular de los organismos experimentales, se llevo a cabo en los laboratorios del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR).

Se tomó una muestra de tres camarones por cada repetición. Se cuantificó la concentración muscular de proteína, glucosa, lactato y colesterol utilizando kits comerciales de Randox (Laboratorios Randox, Oceanside, CA, EE.UU) y un espectrofotómetro con lector de microplaca (BIO-RAD Model 680) (Figura 13).

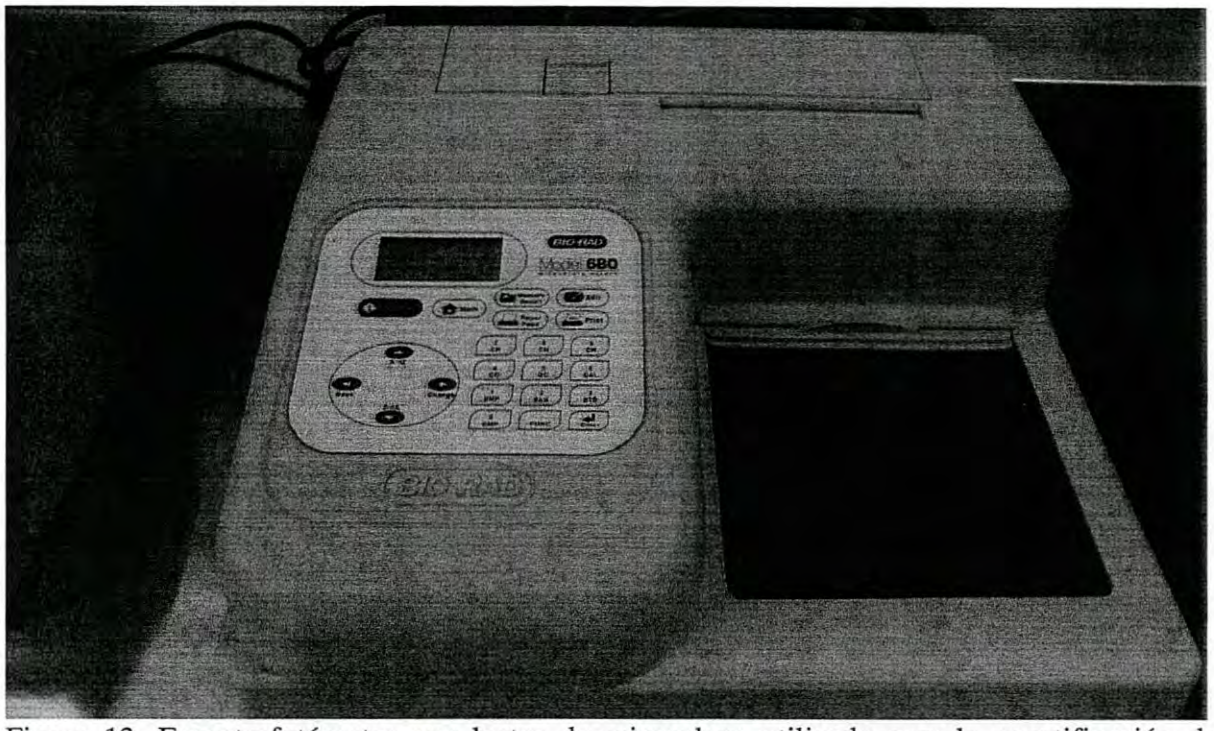

Figura 13. Espectrofotómetro con lector de microplaca utilizado para la cuantificación de metabolitos en tejido de camarón.

Se tomó una muestra de tejido del abdomen de cada camarón, cada muestra se colocó en tubos de microcentrífuga correspondiente a la repetición de cada tratamiento. Posteriormente se agregó 1 mL de agua destilada dentro de cada tubo con la muestra de tejido. El tejido se maceró dentro del tubo para obtener un homogenizado de la masa muscular. Cada tubo se introdujo a una microcentrífuga (VWR 2416) por un tiempo de 30 min. Al finalizar el tiempo, se tomaron 10 µL de la muestra liquida sin tocar el tejido sedimentado y se colocaron en una celda de la microplaca donde se agregaron 200 µL de la solución reactivo correspondiente a cada Kit (Figura 14).

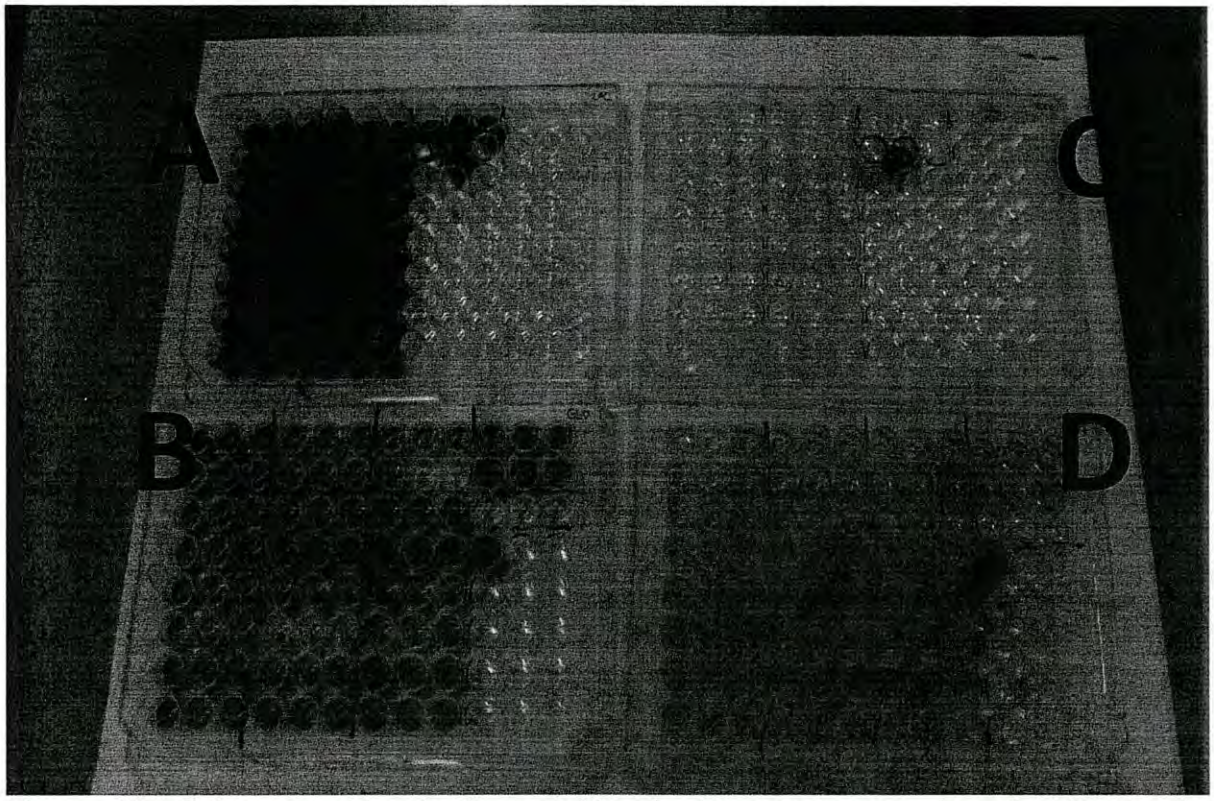

Figura 14. Color obtenido de la reacción de la muestra con la solución reactivo correspondiente a cada Kit, cada letra corresponde a un metabolito. A = Lactato, B = Glucosa, C = Colesterol y D = Proteína.

Posteriormente, la placa se insertó dentro del espectrofotómetro, dando inicio a un tiempo de incubación. El tiempo de incubación y la lectura de longitud de onda difieren para cada metabolito (Tabla IV). El colesterol se incubó durante 10 min y se midió a una longitud de onda de 490 nm. La glucosa se incubó durante 30 min y se monitoreó a una longitud de onda de 490 nm. Para proteínas el tiempo de incubación fue de 10 min y se leyó a una longitud de onda de 550 nm. El lactato se incubó durante 10 min y se leyó a una longitud de onda de 490 nm (Tabla IV). Todos los metabolitos se incubaron a temperatura ambiente. Para medir la concentración de cada metabolito, se realizó una comparación con los estándares provistos para cada kit (glucosa, proteína, lactato y colesterol).

Tabla IV. Tiempo de incubación, longitud de onda y color de reacción para cada metabolito.

Metabolito	Tiempo	Longitud de onda	Color obtenido
Proteína	10 min	550 nm	Azul
Lactato	10 min	490 nm	Morado
Glucosa	30 min	490 nm	Naranja
Colesterol	10 min	490 nm	Rojo

Después del tiempo de incubación, los datos obtenidos se alimentaron a ecuaciones para calcular la concentración de dicho metabolito en mg por gramo de músculo de camarón. Las ecuaciones fueron las siguientes:

Donde AM es el valor de la absorbancia de la muestra que es igual a la diferencia entre el valor de la muestra y el valor del blanco.

Donde AE es el valor de la absorbancia estándar que es igual a la diferencia entre el valor del estándar y el valor del blanco.

$$\left(\frac{\text{valor AM} \times 70\ \text{mg/mL}}{\text{valor AE}}\right) \times 10\ (\text{factor})$$

$$= \text{conc. de proteína}\,\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\ \text{por gramo de músculo en camarón}$$

$$\left(\frac{\text{valor AM} \times 0.4\ \text{mg/mL}}{\text{valor AE}}\right) \times 10\ (\text{factor})$$

$$= \text{conc. de lactato}\,\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\ \text{por gramo de músculo en camarón}$$

$$\left(\frac{\text{valor AM} \times 1\ \text{mg/mL}}{\text{valor AE}}\right) \times 10\ (\text{factor})$$

$$= \text{conc. de glucosa}\,\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\ \text{por gramo de músculo en camarón}$$

$$\left(\frac{\text{valor AM} \times 2\ \text{mg/mL}}{\text{valor AE}}\right) \times 10\ (\text{factor})$$

$$= \text{conc. de colesterol}\,\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\ \text{por gramo de músculo en camarón}$$

VI.10. Análisis Estadístico

Se realizó un análisis exploratorio de los datos para determinar normalidad y homogeneidad de varianzas. Los datos de la calidad del agua, los datos de los parámetros de producción y los datos obtenidos de la condición nutricional fueron sometidos a un análisis de varianza paramétrico de una sola vía y una prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer. Para los datos de la supervivencia se aplicó un análisis estadístico de chi-cuadrada. Los datos de colesterol y la biomasa total fueron sometidos a un análisis de varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis) y su correspondiente prueba de comparaciones múltiples. Todas las pruebas se realizaron con un nivel de confianza del 95%, utilizando el software estadístico NCSS. Todos los resultados se muestran como medias ± desviación estándar.

VII. RESULTADOS

VII.1. Aminoácidos Libres

Se realizó una extracción de aminoácidos por duplicado presentándose los promedios y desviaciones estándar de las mismas (Tabla V).

Tabla V. Aminoácidos libres (mg g^{-1}) en la muestra de pionilla.

Aminoácido	Promedio	Desviación Estándar
Ácido aspartico	0.000	0.000
Ácido glutamico	0.310	0.006
Glutamina	3.361	0.207
Serina	0.050	0.002
Asparagina	0.302	0.011
Histidina	0.516	0.164
Arginina	8.595	0.573
Glicina	0.097	0.013
Treonina	0.192	0.027
Taurina	0.114	0.014
Alanina	0.000	0.000
Tirosina	0.695	0.015
Metionina	0.000	0.000
Valina	0.039	0.004
Fenilalanina	0.006	0.002
Isoleucina	0.001	0.000
Leucina	0.007	0.000
Lisina	0.054	0.007

VII.2. Calidad del Agua

Algunos de los parámetros de la calidad del agua como el oxígeno disuelto, temperatura y salinidad no presentaron diferencias significativas entre tratamientos (Tabla VI). Se registraron valores con un rango de 4 a 5 mg L^{-1} para oxígeno disuelto, 27 a 28 °C para temperatura y 35 a 36 ups para salinidad. En relación al pH, se registró un valor de 6.69 para T1 significativamente menor en comparación con el control (6.9), mientras que T2 (6.74) no presentó diferencias significativas con respecto a estos tratamientos (Tabla VI). La concentración de amonio, nitritos y nitratos fue estadísticamente similar en todos los tratamientos; con un rango de 0.20–0.40 mg L^{-1} para amonio, 0.20–0.30 mg L^{-1} para nitritos y 2.50–3.50 mg L^{-1} para nitratos (Tabla VI). La concentración de fosfatos fue significativamente mayor en el control con un valor de 1.24 mg L^{-1} en comparación con T1 y T2, donde se registraron valores de 0.36 y 0.55 mg L^{-1} respectivamente (Tabla VI).

Tabla VI. Promedio ± ds de los parámetros de calidad del agua en los tratamientos con distintas concentraciones de pionilla. Letras diferentes en una misma fila implican diferencias significativas (a = menor, b = mayor, ab = igual con respecto a los tratamientos).

Parámetro	T1	T2	C
OD (mg L^{-1})	4.47 ± 0.28^{a}	4.51 ± 0.1^{a}	4.85 ± 0.07^{a}
Temperatura (°C)	27.5 ± 0.05^{a}	27.43 ± 0.05^{a}	27.5 ± 0.07^{a}
pH	6.69 ± 0.06^{a}	6.74 ± 0.01^{ab}	6.9 ± 0.08^{b}
Salinidad (ups)	35.76 ± 0.11^{a}	35.72 ± 0.15^{a}	35.47 ± 0.27^{a}
NH_4 (mg L^{-1})	0.38 ± 0.05^{a}	0.34 ± 0.03^{a}	0.29 ± 0.06^{a}
NO_2 (mg L^{-1})	0.23 ± 0.04^{a}	0.26 ± 0.09^{a}	0.25 ± 0.00053^{a}
NO_3 (mg L^{-1})	3.35 ± 0.26^{a}	2.75 ± 0.14^{a}	3.16 ± 0.22^{a}
PO_4 (mg L^{-1})	0.36 ± 0.06^{a}	0.55 ± 0.07^{a}	1.24 ± 0.27^{b}

VII.3. Parámetros de Producción

Los valores de la ganancia en peso total, FCA y TCE fueron estadísticamente similares entre los tratamientos (Tabla VII). La ganancia en peso total varió en un rango de 1.40 a 1.70 g. El FCA presentó valores entre 2.50 y 4.50. La TCE osciló valores entre 6–6.50 %. La supervivencia fue significativamente mayor en T2 (46 %) con respecto al tratamiento control (28 %), parámetro donde T1 (41 %) no presentó diferencias significativas con respecto a estos dos tratamientos (Tabla VII). En el caso de la biomasa total, T2 tuvo un registro de 17.80 g el cual fue estadísticamente mayor que el valor del tratamiento control (10.66 g), T1 (17.69 g) fue estadísticamente similar entre los tratamientos (Tabla VII). El consumo de alimento final no presentó diferencias entre tratamientos, el cual mostró un rango de 36–43 g (Tabla VII). El crecimiento semanal fue de forma exponencial para los tres tratamientos (Figura 15).

Tabla VII. Promedio ± ds de los parámetros de producción y consumo de alimento del camarón *Litopenaeus vannamei* alimentado con dietas de diferentes concentraciones de pionilla. Letras diferentes en una misma fila implican diferencias significativas (a = menor, b = mayor, ab = igual con respecto a los tratamientos).

Parámetro	T1	T2	C
Ganancia en peso (g)	1.65 ± 0.08^{a}	1.5 ± 0.1^{a}	1.44 ± 0.14^{a}
Supervivencia (%)	41 ± 0.24^{ab}	46 ± 0.08^{b}	28 ± 0.05^{a}
Biomasa total (g)	17.69 ± 10.6^{ab}	17.8 ± 4.8^{b}	10.66 ± 3.13^{a}
FCA	3.33 ± 2.12^{a}	2.72 ± 0.9^{a}	4.14 ± 0.68^{a}
TCE (%)	6.44 ± 0.09^{a}	6.26 ± 0.13^{a}	6.19 ± 0.18^{a}
Consumo total de alimento (g)	39.88 ± 8.28^{a}	42.17 ± 1.68^{a}	36.8 ± 6.71^{a}

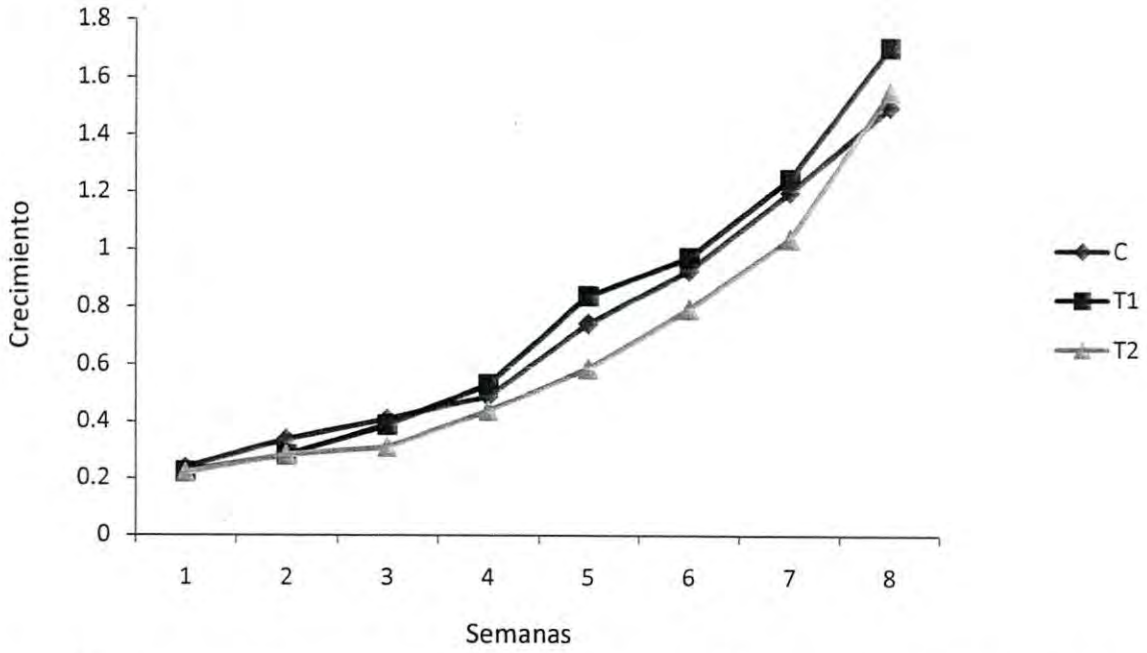

Figura 15. Crecimiento semanal de los camarones *Litopenaeus vannamei* en los 3 tratamientos. C = tratamiento control, T1 = tratamiento con menor concentración de pionilla y T2 = tratamiento con mayor concentración de pionilla.

VII.4. Condición Nutricional

La concentración de proteína fue significativamente mayor en el tratamiento control (77.39 mg g^{-1}) en comparación con T1 (61.5 mg g^{-1}), mientras que T2 (64.41 mg g^{-1}) no presentó diferencias con respecto a ningún de los otros dos tratamientos (Tabla VIII). La concentración de lactato fue estadísticamente similar en todos los tratamientos con un rango de 2.48–2.99 mg g^{-1} (Tabla VIII). La concentración de glucosa en T2 fue de 4.8 mg g^{-1}, significativamente mayor que T1 con 3.39 mg g^{-1}, mientras que el control (3.68 mg g^{-1}) no presentó diferencias significativas con los demás tratamientos (Tabla VIII). La concentración de colesterol fue significativamente más alta en T2 con 12.14 mg g^{-1} que T1 (4.32 mg g^{-1}) y el tratamiento control (0.9 mg g^{-1}). El control y T1 no presentaron diferencias significativas (Tabla VIII).

Tabla VIII. Promedio ± ds de la concentración de metabolitos en tejido muscular del camarón *Litopenaeus vannamei* alimentado con dietas de diferentes concentraciones de pionilla. Letras diferentes en una misma fila implican diferencias significativas (a = menor, b = mayor, ab = igual con respecto a los tratamientos).

Metabolito	T1	T2	C
Proteína (mg g^{-1})	61.5 ± 7.38^{a}	64.41 ± 12.44^{ab}	77.39 ± 14.23^{b}
Lactato (mg g^{-1})	2.48 ± 0.32^{a}	2.99 ± 0.92^{a}	2.74 ± 0.62^{a}
Glucosa (mg g^{-1})	3.39 ± 0.64^{a}	4.8 ± 1.47^{b}	3.68 ± 0.81^{ab}
Colesterol (mg g^{-1})	4.32 ± 6.32^{a}	12.14 ± 7.06^{b}	0.9 ± 0.4^{a}

VIII. DISCUSIÓN

VIII.1. Aminoácidos Libres

Los aminoácidos que presentaron mayor concentración en la raíz de pionilla fueron la histidina, glutamina, arginina y tirosina. Se ha reportado que la arginina es un aminoácido esencial para peces y presenta propiedades atrayentes en la dieta alimenticia de diferentes especies de estos organismos, sin embargo, individualmente no es muy efectivo en términos de atractabilidad, pero sí lo es mezclado con otros aminoácidos como la betaína o inosina (Polat y Beklevik, 1999).

Johnson y Jelle (1986) reportaron que la arginina y glutamina funcionan como atrayentes en dietas para crustáceos. Nunes et al. (2006) realizaron un estudio donde compararon distintos atrayentes en el alimento comercial para el camarón blanco y como resultado obtuvieron que un complejo formado por histidina y tirosina junto con otros aminoácidos fue uno de los atrayentes con respuestas alimenticias más altas.

VIII.2. Calidad del Agua

Respecto a los parámetros de calidad del agua prevalecientes durante el desarrollo del experimento, el oxígeno disuelto y la temperatura se mantuvieron en el intervalo recomendado por Martínez-Córdova (2009) para el cultivo de camarón blanco. La salinidad registrada en los tres tratamientos fue similar a la óptima sugerida por Ponce-Palafox et al. (1997).

Aunque el pH presentó valores bajos, sobre todo en el tratamiento con menor concentración de pionilla (T1), el valor registrado no fue menor que el recomendado por Clifford (1994) y Martínez-Córdova (2009). Las concentraciones de amonio y nitritos, se encontraron dentro del rango recomendado para los estanques camaronícolas por diversos autores (Martínez-Córdova, 2009; Boyd et al., 2002; Russo y Thurston, 1991). Colt y Armstrong (1981) mencionan que cuando se presenta un aumento del nivel de NH_4 en el agua

los organismos tienden a consumir menores cantidades de alimento, lo que afecta de manera negativa la tasa de crecimiento. La concentración de NO_3 registrada en los tres tratamientos fue similar a la óptima sugerida por Martínez-Córdova (2009) para su uso en camaronicultura.

La mayor concentración de PO_4 se registró en el control, tratamiento en el cual no hubo inclusión de pionilla; sin embargo, los valores registrados en los tres tratamientos no representan problema para el desarrollo de la especie (Teichert-Coddington, 1994; Arredondo-Figueroa y Ponce-Palafox, 1998; Saoud et al., 2003). En relación a la calidad del agua, los resultados sugieren que la inclusión de pionilla en la dieta del camarón no produce un efecto negativo, ya que los principales indicadores se mantuvieron de manera en términos generales dentro de los rangos recomendados por diversos autores.

VIII.3. Parámetros de Producción

Los parámetros de producción como la ganancia en peso total, el FCA y la TCE fueron ligeramente mejores en los tratamientos en donde se incluyó el extracto de pionilla en la dieta, si se comparan con el tratamiento control; aunque no presentaron diferencias significativas.

En particular, se observa que la supervivencia fue mejor estadísticamente en el tratamiento con mayor inclusión de pionilla en comparación con el tratamiento control. Este resultado se puede relacionar con lo reportado por Casas-Valdez et al. (2006), investigación donde registraron una mayor supervivencia en los camarones alimentados con una dieta que contenía 4 % de harina de *Sargassum* spp con respecto a los camarones de la dieta control, registraron una supervivencia de 78 y 69 % respectivamente. Sin embargo, en todos los casos las supervivencias obtenidas fueron inferiores a aquellas reportadas como adecuadas para propósitos comerciales que son del 60 % (Araneda et al., 2008; Laramore et al., 2001; Facanha et al., 2003; Lira et al., 2003; Lee y Wickins, 1992; Clifford, 1994). Esto quizá pueda atribuirse a un posible grado de estrés y canibalismo causados por las altas densidades de siembra. Por otro lado, las unidades experimentales no contaron con sedimento, refugios o sustratos artificiales, lo que en ocasiones reduce el estrés y canibalismo de los camarones. Es necesario enfatizar que las densidades utilizadas en este experimento corresponden a un

cultivo super-intensivo, por lo que estos parámetros de producción no son comparables con aquellos obtenidos en sistemas semi-intensivos.

El peso final, al igual que los demás parámetros de producción, presentó mayores valores en los tratamientos con inclusión de pionilla, siendo mejor en T1 (1.71 g), seguidos de T2 (1.56 g) que presentó un valor similar al control (1.50 g); sin embargo, estadísticamente no hubo diferencias entre los tratamientos. El promedio de la ganancia semanal en peso del camarón para T1, T2 y el control, fue de 0.20, 0.18 y 0.17 g semana^{-1} respectivamente. Esta ganancia en peso por semana se considera inferior a la obtenida en granjas comerciales, que es de alrededor de 1 g semana^{-1} (Clifford, 1994).

La ganancia en peso de los tratamientos en este estudio se encuentra muy por debajo del resultado que obtuvieron Wyban y Sweeney (1989), quienes reportaron un crecimiento de 0.70 a 1.80 g semana^{-1} en cultivos intensivos de camarón en estanques circulares utilizando tres tratamientos, T1 (los camarones eran alimentados una vez al día), T2 y T3 (los camarones se alimentaban cuatro veces al día). El bajo valor del peso final se debe en parte a la alta densidad de siembra (125 ind/m^2), pero además a las condiciones de cultivo. Costas et al. (2007) explican que al haber un elevado número de organismos por unidad de volumen hay un mayor consumo de oxígeno y de alimento, mayor producción de metabolitos tóxicos y menor espacio entre organismos, lo que produce estrés al organismo y representa un aumento adicional a la demanda energética, afectando negativamente el crecimiento. Un espacio reducido y la competencia por el alimento entre los camarones, pudieron haber sido los factores que provocaran actos de canibalismo en el presente estudio, teniendo un efecto directo sobre la supervivencia de los tres tratamientos.

El peso final y la biomasa total fueron menores a los reportados por Campaña-Torres et al. (2009), quienes realizaron un experimento con diferentes concentraciones de rotíferos añadidos a la dieta de *L. vannamei*, para el tratamiento control (0 rotíferos Ml^{-1}) presentó un peso final y una biomasa total de 2.18 g y 29.92 g respectivamente. El peso final y la biomasa total de los tratamientos con la inclusión de pionilla fue de 1.71 g y 17.69 g para T1, 1.56 g y 17.8 g para T2. Se ha reportado que camarones cultivados al exterior en agua "verde" presentan una mejor respuesta productiva (sobre todo mejor crecimiento) que aquellos que se cultivan en condiciones de laboratorio en agua clara (Izquierdo et al., 2006).

El FCA de los tratamientos con inclusión de pionilla se encontró muy por encima de los reportados por otros investigadores (Tacon, 1995; Nunes y Suresh, 2001). Los valores de FCA también sobrepasaron a los reportados por ADB/NACA (1998) los cuales fueron entre 1.38 y 2.08 en granjas intensivas de Asia. La TCE de los tratamientos T1, T2 y control, fue de 6.44, 6.26 y 6.19 % respectivamente, inferiores a los obtenidos por otros autores (Ziaei-Nejad et al., 2006; Ponce-Palafox et al., 1997).

En relación al consumo total de alimento, se encontró que fue ligeramente mejor en los tratamientos con la inclusión de pionilla a diferentes concentraciones (T1 y T2), lo que sugieren que el efecto de la pionilla como atrayente es bajo, al menos a los niveles utilizados y bajo las condiciones de cultivo del presente estudio. Uno de los factores que pudieron haber influido en el bajo consumo de alimento en los tres tratamientos es la muda, ya que los camarones en la fase de premuda y postmuda presentan poco apetito y no se alimentan debido a que sus estructuras trituradoras se encuentran blandas y es imposible utilizarlas (Bador et al., 1998; Martínez-Porchas et al., 2009). Se ha sugerido que bajo condiciones estresantes la muda se da de manera más frecuente (Mercier et al., 2006). En el presente estudio se observaron mudas frecuentes del camarón en los tres tratamientos pero no se llevó un control de estas mismas para ajustar una ración de alimento adecuada o en dado caso, suspender la ración por ese día para no afectar el consumo de alimento. Por otra parte, el camarón tiende a tomar pellets de la bandeja de alimentación y desecharlos antes de consumirlos por completo, lo que pudo ocasionar una mala estimación del consumo y por consiguiente una sobrealimentación.

En términos generales se puede establecer que aunque los parámetros de producción fueron muy pobres en todos los tratamientos, lo fueron menos en aquellos en los que se incluyó el extracto de pionilla, destacando de una manera clara la supervivencia y la biomasa.

VIII.4. Condición Nutricional

En relación a la condición nutricional del camarón, se ha propuesto que la determinación de algunos iones, metabolitos y proteínas plasmáticas específicas, así como la cantidad y tipo de hemocitos en el plasma son útiles para evaluar el estado de salud o estado fisiológico (Vargas-

Albores et al., 1991). La mayor concentración de proteína en el presente estudio se observó en el tratamiento control con 77.39 mg g^{-1}, este fue mayor que el registro de T1 (61.5 mg g^{-1}). Difícilmente pudiera pensarse que la inclusión de pionilla en las dietas pudiera ser directamente responsable de una baja concentración de proteína en el músculo del camarón ya que la inclusión en ambos tratamientos es muy baja como para crear una deficiencia nutricional, además, los niveles encontrados en todos los tratamientos se encuentran dentro de los valores considerados como normales; no obstante, la concentración de proteína puede variar como consecuencia de una condición de estrés ya sea de carácter nutricional o ambiental (Racotta y Palacios, 1998), por lo que es posible que ciertas variaciones puedan estar relacionadas con algún grado de estrés. Por ejemplo, Martínez-Porchas y Martínez-Córdova (2012) encontraron incrementos en la concentración de proteína plasmática en camarones que padecían estrés nutricional.

Los valores registrados en el presente estudio fueron mayores que los reportados por Audelo-Naranjo et al. (2010), quienes encontraron una concentración de proteína en músculo de entre 20.44 y 21.64 mg g^{-1} para camarones cultivados con y sin sustratos artificiales. Sin embargo, fueron valores muy similares a lo encontrado por Cheng y Hardy (2004) quienes obtuvieron una concentración de entre 70.74 y 73.23 mg g^{-1} en camarón blanco alimentado con dietas que contenían diferentes fuentes de proteína (harina de pescado y soya) y lípidos (aceite de pescado y de soya).

Las concentraciones de lactato en el presente estudio presentó valores altos en todos los tratamientos, en comparación con los reportados por Ahuejote-Sandoval (2004) quien obtuvo valores de entre 0.87 y 0.99 mg g^{-1} para camarón blanco bajo condiciones controladas, así como con una exposición a hipoxia y a re-oxigenación. Los altos niveles de lactato probablemente reflejaron el estado de estrés sugerido anteriormente debido a la alta densidad de siembra y a las condiciones de cultivo en laboratorio. La demanda de energía durante el estrés por actividad, induce el metabolismo anaeróbico causando la acumulación de lactato (Spotts y Lutz, 1981; Tyler y Taylor, 1988; Santos y Keller, 1993).

La concentración de glucosa para todos los tratamientos presentó niveles bajos en comparación a lo reportado por Puente-Carreón (2009) quien registro valores de 28.52, 28.49 y 31.41 mg g^{-1} al evaluar la respuesta fisiológica del camarón blanco bajo condiciones oscilantes de oxígeno disuelto y temperatura. El estrés causado por la densidad pudo haber

causado un aumento significativo en la demanda energética debido al aumento en el metabolismo, reduciendo sus niveles en hemolinfa y músculo, tal como ha sido reportado en estudios anteriores (Martínez-Porchas et al., 2009). Algunos otros reportes de investigación indican que peces sometidos a condiciones de estrés aumentaban su consumo de glucosa hasta por 30 veces (West et al., 1993). Al igual que los niveles de proteína y el lactato, la glucosa puede servir como indicador de estrés en los camarones (Racotta y Palacios, 1998; Chen y Cheng, 1993).

Considerando que el colesterol es un nutriente esencial para el camarón, el cual no puede ser sintetizado de novo por crustáceos (Teshima y Kanazawa, 1971), los bajos niveles reportados en el tratamiento control sugieren un deficiente estado nutricional, el cual no necesariamente fue causado por el alimento balanceado, sino por las condiciones de cultivo, que pudieron tener efecto sobre los procesos bioenergéticos de los camarones (Lucas, 1996). Entonces, los niveles de colesterol podrían estar directamente relacionados con la supervivencia de los camarones. Autores como Soto-Hernández (1999) señala que niveles deficientes de colesterol en crustáceos pueden comprometer su supervivencia. Por otro lado, es hipotéticamente posible que algún componente de la pionilla causara un mayor aprovechamiento del colesterol suministrado en el alimento. Shiau y Chou (1994), encontraron que los niveles de colesterol de *P. monodon* se elevaban considerablemente al suministrarles dietas con algunos suplementos alimenticios.

La concentración de colesterol para cada tratamiento del presente estudio fue menor que lo reportado por Puente-Carreón (2009) para camarón blanco quien registro valores de 17.50, 18.98 y 18.07 mg g^{-1} para T1, T2 y control respectivamente. Sin embargo, las concentraciones de la presente investigación fueron mayores que el registro de Casas-Valdez et al. (2006) quienes reportaron un valor de 0.77 mg g^{-1} al evaluar el efecto de la inclusión dietaria de *Sargassum* spp. sobre la concentración de colesterol en el camarón café *F. californiensis*.

Es evidente, que la concentración de metabolitos hemolinfáticos varía dependiendo de las condiciones de cultivo; en nuestro experimento, el incremento de proteína se observó en los organismos cultivados en el tratamiento control, lo que aunado a los bajos índices de colesterol y la extremadamente baja supervivencia sugieren un estado nutricional alterado en éstos camarones.

El uso de pionilla, a los niveles de inclusión evaluados y bajo las condiciones experimentales utilizadas, parece tener un efecto positivo en algunos de los parámetros productivos del camarón.

IX. CONCLUSIONES

El extracto obtenido de la raíz de la planta pionilla *Lasianthaea podocephala* contiene algunos de los aminoácidos que se han reportado como atrayentes para camarones y peces. La inclusión de diferentes niveles del extracto en la dieta del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* no tiene efectos negativos sobre los parámetros de la calidad del agua. Los parámetros de producción fueron ligeramente superiores en los tratamientos en donde se incluyó el extracto, aunque a los niveles evaluados no se observaron diferencias significativas. La condición nutricional del camarón excepto por los niveles de colesterol no se vio afectada por la inclusión de pionilla ya que todos los indicadores se encontraron dentro de valores normales.

X. RECOMENDACIONES

Llevar a cabo estudios complementarios, considerando respuestas a nivel molecular para clarificar el efecto del consumo de pionilla sobre el aprovechamiento del colesterol. Además, a pesar de que todos los tratamientos tuvieron las mismas condiciones experimentales a excepción del nivel de inclusión de pionilla, es importante realizar estudios bajo condiciones de experimentación menos estresantes como modificar densidades y hacer uso de sustratos, de esta manera se podrán revelar resultados más contundentes.

XI. LITERATURA CITADA

Ache, B. W., Z. Fuzessery y W. E. S. Carr. 1976. Antennular chemosensitivity in the spiny lobster, *Panulirus argus*: Comparative test of high- and low-molecular-weight stimulants. Biol. Bull. 151:273-282.

ADB/NACA. 1998. Aquaculture Sustainability and the Environment. Report on a regional study and workshop on aquaculture sustainability and the environment. Asian Development Bank and Network of Aquaculture Centers in Asia-Pacific. Bangkok, Thailand.

Ahuejote-Sandoval, M. 2004. Estrés oxidativo en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en respuesta a hipoxia y reoxigenación. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, B.C.S., México.

Akiyama, D. M., W. G. Dominy y A. L. Lawrence. 1992. Penaeid shrimp nutrition, 535-568 p. En: Fast, A. W. y L. J. Lesters (Eds.), Marine Shrimp Culture: Principles and Practices. Elseviers Sci. Publishers. B.V., USA.

Araneda, M., E. P. Perez y E. Gasca-Leyva. 2008. White shrimp *Penaeus vannamei* culture in freshwater at three densities: Condition state based on length and weight. Aquaculture 283:13–18.

Arredondo-Figueroa, J. L. y J. T. Ponce-Palafox. 1998. Calidad del agua en acuicultura: conceptos y aplicaciones. AGT Editor S. A. México, D.F.

Atema, J. 1988. Distribution of chemical stimuli, 29-56 p. En: Atema, J., A. N. Popper, R. R. Fay y W. N. Tavolga (Eds.), Sensory biology of aquatic animals. Springer-Verlag. New York, USA.

Audelo-Naranjo, J. M., L. R. Martínez-Córdova, D. Voltolina y S. Gómez-Jiménez. 2010. Water quality, production parameters, and nutritional condition of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) grown intensively in zero water exchange mesocosms with artificial substrates. Aquaculture Research, 42:1371-1377.

Auró, O. A. y C. L. Ocampo. 2003. Evaluación comparativa del efecto profiláctico del ajo y de un producto de patente contra Gram negativos en tilapia (*Oreochromis hornorum*). Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas 6(2):67-73.

Bador, R., E. D. Scura y R. Naivosoa. 1998. The use of feeding trays in the semi-intensive grow-out of *Penaeus monodon*: a tool to better understand shrimp feeding behavior in ponds. Book of abstracts, World Aquaculture Society 27-32.

Boyd, C. E., C. W. Wood y T. Thunjai. 2002. Aquaculture pond bottom soil quality management. Pond Dynamics/Aquaculture Collaborative Research Support Program 41-45.

Campaña-Torres, A., L. R. Martínez-Córdova, H. Villarreal-Colmenares, J. Hernández-López, J. M. Ezquerra-Brauer y E. Cortés-Jacinto. 2009. Efecto de la adición del rotífero *Brachionus rotundiformis* (Tschugunoff, 1921) sobre la calidad del agua y la producción, en cultivos super-intensivos de camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Revista de Biología Marina y Oceanografía 44(2):335-342.

Carr, W. E. S., J. C. Netherton III, R. A. Gleeson y C. D. Derby. 1996. Stimulants of feeding behavior in fish: analyses of tissues of diverse marine organisms. Biol. Bull. 190:149-160.

Casas-Valdez, M., G. Portillo-Clark, N. Aguila-Ramirez, S. Rodriguez-Atudillo, I. Sanchez-Rodriguez y S. Carrillo-Domínguez. 2006. Efecto del alga marina *Sargassum* spp. sobre las variables productivas y la concentración de colesterol en el camarón café, *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes, 1900). Rev. biol. mar. oceanogr. 41:97-105.

Chamberlain, G. W. 1993. Aquaculture trends and feed projections. World Aquaculture 24 (1):19-29.

Chamberlain, G. y H. Rosenthal. 1995. Aquaculture in the next century: Opportunities for growth challenges of sustainability. World Aquaculture 26:21-25.

Chen, J. C. y S. Y. Cheng. 1993. Hemolymph PCO-2, hemocyanin, protein levels and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. Aquatic Toxicology 27(3-4):281-291.

Cheng, Z. y R. Hardy. 2004. Protein and lipid sources affect cholesterol concentrations of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). Journal of Animal Science 82:1136-1145.

Clifford, H. C. 1994. Semi-intensive sensation. A case study in marine shrimp pond management. World Aquaculture 25:98-104.

Rls. T 130037

Colt, J. E. y D. A. Armstrong. 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and mollusks, 34-47 p. En: Allen L. J. y Kinney E. C. (Eds.), Proceedings of the Bio-Engineering Symposium for fish culture. Fish culture section of the American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA.

Costas, B., C. Aragao, J. M. Mancera, M. T. Dinis y L. E. C. Conceicao. 2007. High stocking density induces crowding stress and affects amino acid metabolism in Senegalese sole *Solea senegalensis* (Kaup 1858) juveniles. Aquaculture Research 39:1-9.

Costero, M. y S. P. Meyers. 1993. Consideraciones sobre atrayentes químicos y estimulantes de la alimentación del camarón de cultivo *Penaeus vannamei*, 355-364 p. En: Cruz-Suárez L. E., Ricque-Marie D. y Mendoza R. (Eds.), Memorias del I Simposium Internacional de Nutrición y tecnología de Alimentos Acuícolas. Asociación Americana de Soya y Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Cowey, C. B. y J. R. Sargent. 1979. Nutrition, 1-69 p. En: Hoaar, W. S., D. J. Randall y J. Brett (Eds.), Fish Physiology. Bioenergetics and growth. Academic Press, London, England.

Cruz-Suárez, L. E. y J. Guillaume. 1987. Squid protein effect on growth of four penaeid shrimp. Journal of the World Aquaculture Society 18:209.

Facanha, S., S. Pinhiero y V. De Abreu. 2003. Rearing of shrimp species *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in oligohaline water with focus on the evaluation of two different commercial feeds in the diet. World Aquaculture Society 258-261.

Galicia-González, A. 2003. Utilización de hidrolizado de langostilla (*Pleuroncodes planipes*) como aditivo en alimentos para juveniles de camarón *Litopenaeus*. Tesis de Maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. La Paz, B.C.S., México.

García-Galano, T., G. Gaxiola y B. Jaime. 1990. Effects of protein energy ratios on the growth and survival of *Penaeus schmitti*, 61 p. En: García-Galano, T. y B. Jaime (Eds.), Memorias de la World Aquaculture 90 Conference. 10-14 de Junio de 1990. Halifax, Canadá.

García-Galano, T., H. Villarreal-Colmenares y J. L. Fenucci. 2007. Manual de ingredientes proteicos y aditivos empleados en la formulación de alimentos balanceados para camarones peneidos. EUDEM. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

Garduño-Lugo, M. y M. A. Olvera-Novoa. 2008. Potential of the use of peanut (*Arachis hypogea*) leaf meal as a partial replacement for fish meal in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture Research 39:1299-1306.

Goh, Y. y T. Tamura. 1980. Olfactory responses to amino acids in two marine teleosts – red sea bream and mullet. Comp. Biochem. Physiol. 66:217-224.

Guérin, M. 2000. Uso de betaina en alimentos acuícolas: atractantes, osmo-reguladores o metabolitos lipotropicos?, 492-508 p. En: Civera-Cerecedo, R., C. J. Pérez-Estrada, D. Ricque-Marie y L. E. Cruz-Suárez. (Eds.), Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 15-18 de Noviembre de 1998. La Paz, B.C.S., México.

Harada, K. y T. Miyasaki. 1997. Attractivity of exotic fruit fleshes for the abalone, the oriental weatherfish, and the yellowtail. Fisheries Science 63(5):671-675.

Harpaz, S., D. Kahan, R. Galun y I. Moore. 1987. Responses of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, to chemical attractants. J. Chem. Ecol. 13(9):1957-1965.

Heinen, J. M. 1980. Chemoreception in decapod crustacea and chemical feeding stimulants as potential feed additives. Proceedings of the World Mariculture Society 11:317–334.

Holland, J. K. N. y B. J. Russell. 1993. A palatability bioassay for determining ingestive stimuli in the marine shrimp *Penaeus vannamei*. Aquaculture 109:153-164.

Huang, G., S. Dong y F. Wang. 2005. Effects of different diets on the dietary attractability and selectivity of chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. Journal of Ocean University of China 4:56-60.

Izquierdo, M., I. Foster, S. Divakaran, S. Conquest, O. Decamp y A. Tacon. 2006. Effect of green and clear water and lipid source on survival, growth and biochemical composition of Pacific white shrimp*Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Nutrition 12:192-202.

Jaime-Ceballos, B., R. Civera-Cerecedo, H. Villareal, J. Galindo-López y L. Pérez-Jar. 2007. Uso de la harina de *Spirulina platensis* como atrayente en el alimento para el camarón *Litopenaeus schmitti*. Hidrobiológica 17(2):113-117.

Johnson, B. R. y A. Jelle. 1986. Chemical stimulants for a component of feeding behavior in the common gulf-weed shrimp *Leander tenuicornis*. Biol. Bull. 170:1-10.

Kanazawa, A. 1984. Nutrition of penaeid prawns and shrimps, 123-130 p. En: Taki, Y., J. L. Llobrera y J. H. Primavera (Eds.), Proc. First Int. Conf. on the Culture of Penaeid Prawns/Shrimps. SEAFDEC, Philippines.

Laramore, S., C. R. Laramore y J. Scarpa. 2001. Effect of low salinity on growth and survival of postlarva and juvenile *Litopenaeus vannamei*. J. World Aquacult. Soc. 32(4):385-392.

Lee, D. O. C. y J. F. Wickins. 1992. Crustacean farming. Halsted Press/Wiley. New York, USA.

Lee, P. G. y A. L. Lawrence. 1985. Effects of diet and size on growth, feed digestibility and digestive enzyme activities of the marine shrimp *Penaeus setiferus*. J. World Maricult. Soc. 16:275-287.

Lee, P. G. y S. P. Meyers. 1996. Chemoattraction and feeding stimulation in crustacean. Aquacult. Nutr. 2:157-164.

Lee, P. G. y S. P. Meyers. 1997. Chemoattraction and feeding stimulation, 292-351 p. En: D´ Abramo L. R., D. E. Conklin, D. M. Akiyama (Eds.), Crustacean Nutrition. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.

Lester, L. y J. Pante. 1992. Penaeid temperature and salinity responses, 23:515-534 p. En: Fast A. y L. Lester (Eds.), Marine shrimp culture: Principles and practices. Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Elsevier Publishers, USA.

Lim, C. y W. Dominy. 1990. Evaluation of soybean as a replacement for marine animal protein in diets for shrimp (*Penaeus vannamei*). Aquaculture 87:53-63.

Lim, C. y A. Persyn. 1989. Practical feeding – penaeid shrimps, 205-222 p. En: Lovell, T. (Ed.), Nutrition and Feeding of Fish. Van Nostrand Reinhold, New York, USA.

Lira, JR. G. P., R. Amaral, V. F. Moura, I. Rocha y E. S. Correia. 2003. Performance evaluation of *Litopenaeus vannamei* marine shrimp in intensive and semi-intensive farming systems. World Aquaculture Society 423-424.

Lucas, A. 1996. Physical concepts of bioenergetics, 52-54 p. En: Lucas A. (Ed.), Bioenergetics of aquatic animals. English edition, Taylor y Francis, France.

Martin, P. S., D. Yetman, M. Fishbein, P. Jenkins, T. Van Devender y R. K. Wilson. 1998. Gentry´s Río Mayo plants; the tropical deciduous forest and environs of northwest Mexico. University of Arizona Press. Tucson, Arizona, USA.

Martínez-Córdova, L. R. 1999. Cultivo de camarones peneidos: Principios y prácticas. AGT Editor S.A. México.

Martínez-Córdova, L. R. 2009. Camaronicultura Sustentable. Editorial Trillas. México, D.F.

Martínez-Córdova, L. R., A. Campaña-Torres, L. Bringas-Alvarado y M. Porchas-Cornejo. 2008. Efectos de la inclusión dietaria de *Yucca schidigera* en los parámetros de calidad del agua y producción del camarón blanco del pacífico, *Litopenaeus vannamei*. Investigación y Ciencia 40:4-10.

Martínez-Porchas, M. y L. R. Martínez-Córdova. 2012. World Aquaculture: Environmental Impacts and Troubleshooting Alternatives. The Scientific World Journal *En prensa*.

Martínez-Porchas, M., L. R. Martínez-Córdova y R. Ramos-Enríquez. 2009. Dinámica del crecimiento de peces y crustáceos. REDVET 10(10):1-16.

Mendoza, R., J. Montemayor y J. Verde. 1997. Use of pheromones and biogenic amines as attractants in food by shrimp prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture Nutrition, 3(3):167-174.

Mendoza, R., J. Montemayor, J. Verde y C. Aguilera. 1999. Quimioatracción en crustáceos: papel de moléculas homologas, 365-401 p. En: Cruz-Suárez L. E., D. Ricque-Marie y R. Mendoza (Eds.), Memorias del III Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 11-13 de Noviembre de 1996. Monterrey, Nuevo León, México.

Mercier, L., E. Palacios, A. Campa-Córdova, D. Tovar-Ramírez, R. Hernández-Herrera y I. Racotta. 2006. Metabolic and immune responses in Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to a repeated handling stress. Aquaculture 258: 633-640.

Metallier, R. y J. Guillaume. 2001. Part IV. Feeding of fish: Applications. Raw materials and additives used in fish foods, 279-295 p. En: Guillaume J., S. Kaushik, P. Bergot y R. Metallier (Eds.), Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans. Praxis Publishing, New York, USA.

Molina-Poveda, C., L. R. Martínez-Córdova y W. Quadros-Seiffert. 2006. Alimentación y manejo de la productividad natural, 228-273 p. En: Rosas C., O. Carrillo, R. Wilson y R. Andreata (Eds), Estado Actual y Perspectivas de la Nutrición de Camarones Peneidos Cultivados en Iberoamérica. CYTED, México, D.F.

Montemayor, J., R. Mendoza, C. Aguilera y G. Rodríguez. 2005. Moléculas sintéticas de extractos animales y vegetales como atractantes alimenticios para el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Universidad de Zaragoza, 2-5.

Mustafa, M.G. y H. Nakagawa .1995. A review: Dietary benefits of algae as an additive in fish feed. Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh 47(3-4):155-162.

Nakatani, M. y Y. Koda. 1992. Potato tuber root-inducing activity of the extracts of some root and tuber root crops. Jpn. J. Crop Sci. 61:394–400.

Nieto-López, M. G., L. E. Cruz-Suárez, D. Ricque-Marie y M. Ezquerra-Brauer. 2005. Técnica de digestibilidad in vitro en ingredientes y alimentos para camarón. Ciencia UANL 8(1):65-73.

Nunes, A. J. P., M. V. C. Sá, F. F. Andriola-Neto y D. Lemos. 2006. Behavioral response to selected feed attractants and stimulants in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 260(1-4):244-254.

Nunes, A. J. P. y A. V. Suresh. 2001. Feeding tray technique improves shrimp feed management in Brazil. The Global Aquaculture Advocate 4(1):23-26.

Ono, M., Y. Ogura, K. Hatogai y H. Akita. 2001. Total Synthesis of (S)-(+)-Curcudiol, and (S)-(+)- and (R)-(-)-Curcuphenol. Chem. Pharm. Bull. 49(12):1581-1585.

Pearson, W. H., P. C. Sugarman, D. L. Wooddruff y B. L. Olla. 1979. Thresoholds for detection and feeding in the dungeness crab, *Cancer magister*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 39:65-78.

Polat, A. y G. Beklevik. 1999. The importance of betaine and some attractive substances as fish feed additives, 217-220 p. En: Brufau J. y A. Tacon (Eds.), Feed Manufacturing in the Mediterranean region: Recent advances in research and Technology Zaragoza. Ciheam, Iamz, Spain.

Ponce-Palafox, J., C. A. Martinez-Palacios y L. G. Ross. 1997. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp *Penaeus vannamei*. Aquaculture 157:107-115.

(Porchas-Cornejo M. A. Comunicación personal. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Unidad Guaymas, Sonora, México).

Prieto, A., A. Auró de Ocampo, A. Fernández y M. B. Pérez. 2005. El empleo de medicina natural en el control de enfermedades de organismos acuáticos y potencialidades de

uso en Cuba y México. Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas 8(1):38-49.

Puente-Carreón, E. 2009. Respuestas fisiológicas de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, a condiciones oscilantes de oxígeno disuelto y temperatura. Tesis de Doctorado. Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, B.C.S., México.

Racotta, I. S. y E. Palacios. 1998. Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Penaeus vannamei*. J. World Aquac. Soc. 29:351-356.

Russo, R. G. y R. V. Thurston. 1991. Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to fishes, 58-89 p. En: Brune D. E. y J. R. Tomasso. (Eds.), Aquaculture and Water Quality. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.

Salame, M. 1993. Feeding trays in Penaeid shrimp ponds. Aquac. Mag. 19:59-63.

Santos, E. A. y R. Keller. 1993. Effect of exposure to atmospheric air on blood glucose and lactate concentrations in two crustaceans species: A role of crustaceans hyperglucemic hormone (CHH). Comp. Biochem. Physiol. A-Compar. Physiol. 106(2):343-347.

Saoud, I. P., D. A. Davis y D. B. Rouse. 2003. Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei* culture. Aquaculture 217:373-383.

Shiau, S. Y. y B. S. Chou. 1994. Grass shrimp, *Penaeus monodon*, growth as influenced by dietary taurine supplementation. Comp. Biochem. Physiol. 108:137-142.

Soto-Hernández, J. 1999. Validación de técnicas colorimétrico enzimáticas y del biuret para medir la concentración de metabolitos y proteínas totales en plasma de camarón blanco (*Penaeus vannamei*). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur.

Spotts, D. G. y P. L. Lutz. 1981. L-Lactic acid accumulation during activity stress in *Macrobrachium rosenbergii* and *Penaeus duorarum*. J. World Maricul. Soc. 12(2):244-249.

Tacon, A. G. J. 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados, manual de capacitación. Proyecto Aquila II. Documento de Campo No. 4. Brasilia, Brazil.

Tacon, A. G. J. 1995. Feed formulation and on-farm feed management, 61-74 p. En: New M. B., A. G. J. Tacon y I. Csavas. (Eds.), Farm-made Aquafeeds. FAO Fisheries Technical Paper No. 343, FAO, Rome, Italy.

Teichert-Coddington, D. 1994. La calidad del agua y su manejo en estanques de camarón, 12-29 p. En: Zendejas-Hernández J. (Ed.), Memorias del Seminario Internacional de Camaronicultura. Camarón 1994. Mazatlán, Sinaloa, México.

Teshima, S. y A. Kanazawa. 1971. Biosynthesis of sterols in the lobster *Panulirus japonica*, the prawn *Penaeus japonicus*, and the crab *Partonus trituberculatus*. Comparative Biochemistry and Physiology 38:597-602.

Tyler, R. y E. W. Taylor. 1988. Analysis of hemolymph and muscle acid-base status during aerial exposure in the crayfish *Austropotamobius pallipes*. J. Exp. Biol. 134:409-422.

Vargas-Albores, F., A. Guzmán-Murillo y J. L. Ochoa. 1991. Posibles indicadores de salud de los camarones y su aplicación en la acuacultura. Biotecnología 1:17-25.

Vázquez-Ortiz, F. A., G. Caire, I. Higuera-Ciapara y G. Hernández-Watanabe. 1997. High performance liquid chromatographic determination of free aminoacids in shrimp-J. Liquid Cromatography 18(10):2059-2068.

Wyban, J. A. y J. N. Sweeney. 1989. Intensive shrimp growth trials in a round pond. Aquaculture 76:215-225.

Xue, M. y Y. Yu. 2005. Digestion and growth response to dietary fish meal substitution with poultry by-product meal of shrimp (*P. monodon* and *L. vannamei*). NRA Research report No. 49. National Renderers Association, Inc., Hong Kong, China.

Zheng, Z. L., J. Y. W. Tan, H. Y. Liu, X. H. Zhou, X. Xiang y K. Y. Wang. 2009. Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum L.*) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture 292:214-218.

Ziaei-Nejad, S., M. Habibi-Rezaei, G. Azari-Takami, D. Lovett, A. R. Mirvaghefi y M. Shakouri. 2006. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzymes activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. Aquaculture 252:516-524.