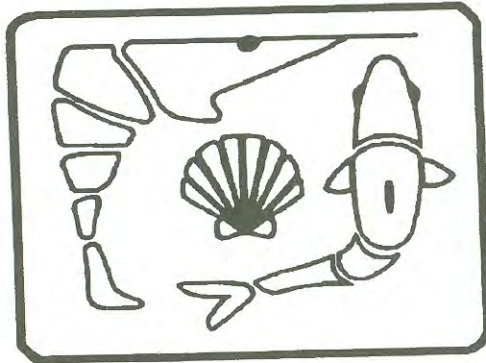




UNIVERSIDAD DE SONORA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

ABER DE MIS HIJOS
RÁ MI GRANDEZA

PROGRAMA REGIONAL DE POSGRADO EN ACUACULTURA



**Efecto de la Inclusión de una Fuente Natural de Carotenoides en el
Alimento Balanceado Sobre el Cultivo de Postlarvas de Camarón Blanco,
Litopenaeus vannamei, Boone, 1931.**

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS, con especialidad en Cultivo de Crustáceos

Presenta:

Liliana Dalila Guzmán Ramírez

Universidad de Sonora

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

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.	i
ABSTRACT.	ii
ÍNDICE DE FIGURAS.	iii
ÍNDICE DE TABLAS.	vi
I.- INTRODUCCIÓN.	1
II.- ANTECEDENTES.	5
III.- OBJETIVOS.	12
III.1- Objetivo general.	12
III.2- Objetivos particulares.	12
IV.- MATERIALES Y MÉTODOS.	13
IV.1.- Origen de los organismos.	13
IV.2.- Diseño experimental.	14
IV.3.- Condiciones de cultivo y alimentación.	15
IV.4.- Evaluación del estado de salud de las postlarvas.	17
IV.5.- Análisis de la pigmentación de los organismos.	18
IV.6.- Análisis de costo beneficio.	19
IV.7.- Análisis de los datos.	19
V.- RESULTADOS.	20
V.1.- Estado de salud de las postlarvas..	20
V.2.- Condiciones ambientales.	21
V.2.1.-Salinidad y Temperatura.	21
V.2.2.-Amonio.	22
V.2.3.-pH.	23
V.2.4.- Análisis bacteriológico del agua de cultivo.	24
V.3.- Crecimiento.	24
V.4.- Supervivencia.	25
V.5.- Análisis de los pigmentos corporales.	27
V.5.1.- Carotenoides totales.	27

V.5.2.-	Concentración de los diferentes tipos de carotenoides.	28
V.5.2.1.-	Astaxantina.	29
V.5.2.2.-	β -caroteno.	30
V.5.2.3.-	Zeaxantina.	31
V.5.2.4.-	Luteína.	32
V.5.2.5.-	Otros carotenoides no identificados.	34
V.5.3.-	Concentración de las formas de astaxantina.	35
V.5.3.1.-	Astaxantina monoéster.	35
V.5.3.2.-	Astaxantina diéster.	36
V.5.3.3.-	Astaxantina libre.	37
V.6.-	Análisis del alimento microparticulado.	38
V.7.-	Prueba de estrés.	39
V.8.-	Análisis de costo-beneficio de la alimentación.	39
VI.-	DISCUSIONES.	41
VII.-	CONCLUSIONES.	51
VIII.-	RECOMENDACIONES.	52
IX.-	LITERATURA CITADA.	53
X.-	APÉNDICE.	60

RESUMEN.

Se realizó un experimento para evaluar el efecto de la inclusión de una fuente natural de carotenoides en el alimento balanceado sobre el crecimiento, la sobrevivencia y la pigmentación de postlarvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Se practicaron seis tratamientos por triplicado correspondientes a seis dietas diferentes: (1) P: Alimento comercial peletizado con 40% de proteína; (2) P+C: Alimento peletizado con 40% de proteínas y 138 ppm de xantofilas; (3) M: Alimento comercial microparticulado; (4) P+A, (5) P+C+A y (6) M+A: correspondientes a las mismas dietas anteriores pero con la aplicación de nauplios de artemia en la alimentación. Se colocaron postlarvas siete (pl 7) con un peso promedio de 0.000819 g en tanques de fibra de vidrio de 90 l de capacidad a una densidad de 50 pls/l, donde fueron cultivadas hasta alcanzar la condición postlarva 18 (pl 18) mantenidas con las dietas referidas. Los mayores valores de la sobrevivencia se registraron para las poblaciones de los tratamientos (2) P+C con 93%, el (3) M con el 87.9% y el (5) P+C+A con el 92.3%, que resultaron ser estadísticamente superiores a las registradas para las poblaciones de los tratamientos restantes. Los pesos promedios superiores se registraron para las poblaciones de los tratamientos (4) P+A (0.0080 g), (5) P+C+A (0.0081 g) y (6) M+A (0.0093g), que resultaron ser estadísticamente superiores a los pesos promedios de las poblaciones de los tratamientos restantes. Mediante análisis de HPLC se analizó la pigmentación de los organismos experimentales. En la muestra inicial se encontró una concentración de carotenoides totales de 30.28 $\mu\text{g/g}$. Al final del experimento no se registraron diferencias significativas en la concentración de los carotenoides totales en las postlarvas de los diferentes tratamientos. La astaxantina, reportó concentraciones de 6.498 y 13.182 $\mu\text{g/g}$ de la composición en las muestras y fue el carotenoide dominante en las postlarvas. En la composición de astaxantina predominó la forma diéster (4.31 a 7.77 $\mu\text{g/g}$), sobre la monoéster (1.47 a 5.07 $\mu\text{g/g}$) y la libre (0.062 a 1.06 $\mu\text{g/g}$). El resto de la composición de carotenoides la conformaron el β -caroteno, la zeaxantina, la luteína y otros carotenoides no identificados. Se registraron diferencias significativas en la concentración de zeaxantina y luteína cuyos mayores valores fueron encontrados en las postlarvas que recibieron alimentos con la fuente adicional de carotenoides: (1) P+C y (5) P+C+A. De los resultados de este trabajo, se concluye que la aplicación de un alimento balanceado con una fuente adicional de carotenoides para el cultivo de postlarvas, produce un incremento significativo de la supervivencia, incluso en aquellas estrategias en las que se utilizan nauplios de artemia durante todo el periodo de cultivo. Dadas las tallas postlarvales significativamente superiores que se logran con la aplicación de estos últimos, se considera que una estrategia de alimentación que combine el uso de los nauplios de artemia y el alimento balanceado con la adición de carotenoides, representa una alternativa de alto rendimiento para las operaciones comerciales.

ABSTRACT.

An experiment was conducted to evaluate the effect of the inclusion of a natural source of carotenoids in the balanced feed pellets on the growth, survival and pigmentation of white shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae. Six dietary treatments were practiced with three replicate tanks for each one: (1) P: balanced pellets with 40% protein; (2) P+C: balanced pellets with 40% of protein and 138 ppm of xanthophylls; (3) M: commercial microparticulated food; (4) P+A, (5) P+C+A and (6) M+A: corresponding to the same previous diets but with the addition of artemia nauplii. Postlarvae seven (pl7) was put with a weight average of 0.000819 g in 90 l fiber glass tanks, to reach a density of 50 pls/l, where they were cultivated until reaching pl18 condition maintained with the referred diets. The biggest survival values were registered for the populations of the treatments (2) P+C with 93%, (3) M with 87.9% and (5) P+C+A with 92.3% that were statistically superior to those registered for the populations of the remaining treatments. The biggest weights averages were registered for the populations of the treatments (4) P+A (0.0080 g), (5) P+C+A (0.0081 g) and (6) M+A (0.0093g) that were statistically superior to those registered for the populations of the remaining treatments. By means of HPLC analysis the pigmentation of the experimental organisms was analyzed. Total carotenoids concentration in the initial sample was 30.28 $\mu\text{g/g}$. At the end of the experiment not significant differences in total carotenoids concentration in the postlarvae of the different treatments were registered. Astaxanthin was registered concentrations of 6.498 and 13.182 $\mu\text{g/g}$ of the total carotenoids composition in all of the samples and was the dominant postlarvae carotenoid. In the astaxanthin composition the form diester prevailed (4.31 to 7.77 $\mu\text{g/g}$) on the monoester (1.47 to 5.07 $\mu\text{g/g}$) and on the free form (0.062 to 1.06 $\mu\text{g/g}$). The rest of the carotenoids composition was conformed by β -carotene, zeaxanthin, lutein, and others non identified carotenoids. Were registered significant differences in zeaxanthin and lutein concentration, whose bigger values were found in the postlarvae that were received foods with the additional source of carotenoids: (1) P+C and (5) P+C+A. We conclude that the application of a balanced food with an additional source of carotenoids for the postlarvae cultivation, produced a significant increment of survival, even in those strategies in that artemia nauplii is used during the whole period of rearing. Given the superior postlarvae sizes achieved with artemia nauplii supplementation, it is considered that a feeding strategy that combines artemia nauplii and balanced food with carotenoid supplement, represents a high performance alternative for commercial operations.

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura	Página
1. Valores promedios de la temperatura (\pm d.e.) registrados durante los días experimentales, considerando todos los tratamientos. pl 7 representa el día 1 de cultivo, pl 8 el día 2 y así sucesivamente.	21
2. Valores promedios (\pm d.e) de amonio encontrados antes y después del recambio. P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.	22
3. Valores promedios de pH registrados en el agua de cultivo de cada tratamiento. P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.	23
4. Peso final promedio (\pm d.e.) de las postlarvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> en los diferentes tratamientos. Letras diferentes entre tratamientos denotan diferencias significativas entre ellos ($p \leq 0.05$). P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.	25
5. Valores de la supervivencia (\pm d.e.) de las postlarvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> obtenidos al final del experimento. Letras diferentes entre tratamientos denota diferencia significativa entre ellos ($p \leq 0.05$). P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.	26
6. Concentración del total de carotenoides ($\mu\text{g/g}$) en las postlarvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> en los diferentes tratamientos. P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.	28

7. Concentración ($\mu\text{g/g}$) de astaxantina en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia. 30
8. Concentración ($\mu\text{g/g}$) de β -caroteno en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. . P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia. 31
9. Concentración ($\mu\text{g/g}$) de zeaxantina en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. . Letras diferentes entre tratamientos denota diferencia significativa entre ellos ($p \leq 0.05$). P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia. 32
10. Concentración ($\mu\text{g/g}$) de luteína en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. Letras diferentes entre tratamientos denota diferencia significativa entre ellos ($p \leq 0.05$). P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia. 33
11. Concentración ($\mu\text{g/g}$) de carotenoides no identificados en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento.). P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia. 34
12. Concentración ($\mu\text{g/g}$) de la astaxantina monoéster en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. Letras diferentes entre tratamientos denota diferencia significativa entre ellos ($p \leq 0.05$). P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia. 36

13. Concentración ($\mu\text{g/g}$) de la astaxantina diéster en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia. 37
14. Concentración ($\mu\text{g/g}$) de la astaxantina libre en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. . P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia. 38
15. Costos (USD) de producción para un millar de postlarvas. P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia. 40

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla		Página
I.	Tratamientos empleados durante el experimento.	15
II.	Temperaturas promedios (\pm d.e.), máximas y mínimas registradas para cada tratamiento.	21
III.	Valores promedios del número de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) del presunto tipo <i>Vibrio</i> spp encontradas en los diferentes tratamientos.	24
IV.	Valores de la concentración de carotenoides totales registrados en las postlarvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> .	27
V.	Concentración ($\mu\text{g/g}$) de los diferentes tipos de carotenoides encontrados en las postlarvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> de los diferentes tratamientos al inicio y al final del experimento.	29
VI.	Concentración ($\mu\text{g/g}$ de muestra) de las diferentes formas de astaxantina en las postlarvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> .	35
VII.	Resultados del análisis proximal (\pm d.e.) del alimento microparticulado.	39
VIII.	Costos de alimentación para la producción de un millar de postlarvas de camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> en los diferentes tratamientos.	40

AGRADECIMIENTOS.

A la Universidad de Sonora, a su Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, a la Maestría en Ciencias en Acuicultura y a su personal académico que me guió hasta culminar con este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología; por incluirme en su programa de Becas de estudio de Postgrado.

A la empresa Industrial Orgánica, por la realización de los análisis de los pigmentos mediante HPLC.

A mi Directora de tesis, M.C. Ma. Del Carmen Garza Aguirre, por su asesoría, apoyo y sobretodo su invaluable amistad.

A mis sinodales Dr. Reina Castro Longoria, Dr. José Manuel Grijalva Chon y M.C. Ramón Héctor Barraza Guardado, por sus comentarios y sugerencias en el escrito.

Al M.C. Eduardo Aguirre Hinojosa, Ex-Responsable de la Unidad Experimental Peñasco, por las facilidades otorgadas en la realización del trabajo experimental, pero sobretodo, su amistad y su pasión por el futbol.

Al M.C. José Antonio López Elías Ex-Coordinador del Programa de Maestría en Acuicultura, por su apoyo en mi ingreso y permanencia en el posgrado; pero sobretodo por su invaluable amistad.

A la M.C. Ma. Adriana Carrillo Sánchez; por su invaluable amistad.

Al personal del Laboratorio 1 y 6, por las facilidades para la terminación de este trabajo (Nolberta, Carlos, Alejandro V., Malu, Josefina,).

Al laboratorio larvario AREMAR S.A. de C.V., por su apoyo para la realización de este estudio. Especialmente a Ing. Ac. Jorge A., Oc. Octavio, Ing. Ac. Gilberto C.

Al personal de la UEP, especialmente a los muchachos de vigilancia, ya que fueron mi compañía durante mi experimental. Jorge R., Nicolás, Braulio, Don Memo, Don Jesús, César, Leobardo, Moisés, Álvaro y Lauro,

A mi padrino de Generación y Ex-Administrador del DICTUS, CP. Carlos Yocupicio por su apoyo en lo académico.

A mis compañeros y amigos de la maestría: Erika, Yrvin, Arturo, Francisco, Rogelio, Manuel, Fausto; especialmente a Lucia y Dante; a ustedes gracias por su amistad y por los momentos gratos que pasamos juntos, particularmente los fines de semana.

I.- INTRODUCCIÓN.

La camaronicultura es una actividad económica muy importante en algunas regiones del mundo. Su constante expansión esta sustentada en el desarrollo de diversos campos del conocimiento científico que, actualmente contribuyen a la consolidación de la transformación de ser una actividad artesanal a una actividad altamente tecnificada. Dentro de los campos del conocimiento involucrados en el cultivo de camarón, destaca el concerniente al estudio de los requerimientos nutricionales para los diversos estadios del ciclo de vida de los peneidos y la elaboración de dietas y productos necesarios para satisfacerlos.

Particularmente, en el caso de los cultivos para la producción de las postlarvas, las estrategias alimenticias que día a día se optimizan con la aparición de nuevos productos, tienen su base inicial en los estudios de Hudinaga (1942) quién logró por primera vez, en trabajos realizados desde 1933, determinar las necesidades alimentarias y medioambientales para el desarrollo larvario de *Marsupenaeus japonicus*. En el desarrollo larvario de los camarones peneidos existen tres estadios planctónicos (nauplio, zoea y mysis) hasta alcanzar la etapa de postlarva.

Al cabo de unos 10 días las larvas se convierten en postlarvas y poco a poco adquieren hábitos bentónicos y mayor capacidad de movimiento (Holtzman, 1995). De acuerdo con Holtzman, (1995) conforme las larvas se van desarrollando y van cambiando a través de las mudas, no solamente tienen cambios morfológicos, sino también cambios importantes en sus requerimientos alimenticios. Los nauplios dependen únicamente de las reservas de vitelo que contienen. Después de cinco o seis mudas, estas reservas se agotan y el nauplio manifiesta una metamorfosis que lo transforma en zoea.

Uno de los cambios importantes es la aparición del tracto digestivo completo y apéndices dotados de gran vellosidad que le permiten entre otras cosas, atrapar partículas pequeñas como el fitoplancton, alimento comúnmente utilizado durante su cultivo, además de diversos productos formulados. Al pasar de zoea a mysis, los organismos muestran mayor movilidad y capacidad para atrapar no solo fitoplancton sino también pequeños organismos del zooplancton, de modo que su dieta cambia típicamente de herbívora a omnívora.

En los cultivos larvarios, durante la etapa de mysis el alimento consiste en nauplios de artemia, y en muchos casos en la adición de alimentos comerciales. Las postlarvas, aunque prefieren dieta carnívora, son capaces de seguir ingiriendo partículas pequeñas como detritus y fitoplancton, y en los sistemas de cultivo es a partir de este estadio en el que se les empieza a suministrar alimento peletizado para su adaptación a la etapa de engorda.

Hasta mediados de la década de los 90's, generalmente el producto final de los cultivos larvarios comerciales de camarón blanco eran postlarvas de tres a siete días (pl 3-7), las cuales eran ofrecidas a los productores para su posterior crianza directamente en los estanques de engorda, o en la minoría de los casos, para ser maternizadas de una manera intensiva y bajo condiciones ambientales controladas (McVey y Fox, 1983; Sandifer *et al.*, 1988; Martínez-Córdova *et al.*, 1993). Actualmente, debido a la problemática de la camaronicultura intensiva y a la existencia de diferentes enfermedades, la estrategia de siembra ha cambiado. Los productores demandan postlarvas de talla mayor (generalmente postlarvas 12 en adelante) para iniciar las engordas con organismos que por su mayor talla pueden ofrecer mayor resistencia a las condiciones de estrés (Garmendia-Núñez, 1996).

Si bien las estrategias de mantenimiento de las larvas son relativamente comunes en diversas incubadoras, la ampliación del período de mantenimiento de las postlarvas en condiciones de laboratorio abre un nuevo campo de la investigación para el desarrollo óptimo de las técnicas de cultivo. La condición biológica de las postlarvas tempranas está caracterizada por un cambio de hábitos planctónicos a bentónicos, además de la consolidación del diseño final del sistema digestivo, y entre otras cosas, un incremento notable de los volúmenes de alimento requeridos para asegurar la supervivencia y el crecimiento (McVey y Fox, 1983).

La alimentación en dicha etapa del cultivo es costosa, y debe considerarse también compleja ya que además de la utilización de alimentos artificiales, la utilización de nauplios de artemia es aún imprescindible en términos de su aportación de nutrientes como proteínas, ácidos grasos esenciales e incluso pigmentos. Por esto es importante buscar alternativas alimenticias menos onerosas, y definir los requerimientos nutricionales de las mismas, que en épocas pasadas, cuando se sembraban postlarvas en los estanques de engorda, eran más bien satisfechos por la productividad natural de los mismos (Leger y Sorgeloos, 1992).

La determinación de los requerimientos nutricionales de las diferentes especies de camarones cultivados es aún un campo de la investigación dentro del cual existen aún muchos aspectos por estudiar y dilucidar. En las últimas décadas se ha observado un incremento sustancial en el número de trabajos sobre nutrición de camarones, enfocados a determinar los requerimientos de los principales nutrientes en las diferentes especies y fases de producción. Dentro de este campo, varios trabajos han sido publicados en donde se documenta el uso de los carotenoides ya sea como pigmentantes o como nutrientes en diferentes especies de peneidos, y para diferentes etapas del ciclo de vida (Latscha, 1989, 1991a y 1991b; Yamada *et al.*, 1990; Miki, 1991; Chien y Jeng, 1992; Arango, 1996; Kurmaly, 1993a, 1994; Kurmaly y Latscha, 1993; Menasveta, 1993; Menasveta *et al.*, 1993; Negre-Sadargues *et al.*, 1993, High, 1995 y Pedraza *et al.*, 1996).

Los crustáceos silvestres son considerados particularmente ricos en carotenoides, los cuales están presentes en el caparazón, ojos, hemolinfa, hepatopáncreas y ovarios (Meyers y Latscha, 1997). Dentro de los carotenoides presentes en estos organismos, una amplia gama de éstos han sido identificados, por ejemplo la astaxantina, cantaxantina, luteína, zeaxantina, β -caroteno y otros. El más abundante en crustáceos, y en particular en camarones peneidos es la astaxantina (Latscha, 1989).

La mayoría de los estudios realizados con relación al uso de carotenoides en la dieta de camarones peneidos se enfocan a organismos juveniles y adultos, donde se examina principalmente su efecto en la pigmentación, en la supervivencia, el crecimiento y la tasa de conversión alimenticia. Sin embargo son escasos los trabajos relativos a su actividad sobre la maduración y la calidad de las larvas producidas, mismo que pudieran ser de gran valor sobre éstas fases iniciales (High, 1995; Linan-Cabello y Paniagua-Michel, 1998; Cruz-Suárez *et al.*, 1998a y 1998b). En la actualidad existen diferentes fuentes de pigmentos carotenoides utilizados en las dietas para camarón. El de uso más común es una astaxantina sintética, aunque también es posible el uso de cantaxantina, β -carotenos, ó productos naturales ricos en carotenoides como la paprika, spirulina o alfalfa, entre otros (Chien y Jeng, 1992; Arango, 1996; Menasveta *et al.*, 1993; Wyban *et al.*, 1997).

Con la idea de probar la respuesta a la incorporación de carotenoides en la fase de postlarvas tempranas, el propósito de esta investigación fue analizar el efecto en el crecimiento, la supervivencia y la pigmentación de una fuente natural de dicho pigmento en postlarvas de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, durante su cultivo.

II.- ANTECEDENTES.

Uno de los aspectos más delicados del cultivo larvario de camarón es la alimentación. Si las larvas no obtienen suficiente alimento de buena calidad, se debilitan, no crecen, son atacadas por patógenos y se vuelven más frágiles ante los cambios ambientales. La alimentación de las larvas consiste de tres elementos principales: microalgas, nauplios de artemia y alimentos formulados (Holtzman, 1995). Como resultado del entendimiento de los hábitos alimenticios naturales de los crustáceos decápodos, se han utilizado una amplia variedad de alimentos naturales como fuentes externas por los acuicultores.

Desde los cultivos pioneros se detectó la necesidad de adicionar zooplancton para las mysis y postlarvas y desde entonces los acuicultores han experimentado con distintos alimentos vivos como copépodos, larvas de ostión, rotíferos, larvas de nemátodos, poliquetos, entre otros. Sin embargo, ninguno ha resultado tan conveniente como los nauplios de artemia, los cuales son el alimento natural mayormente utilizado como complemento en la dieta de postlarvas de decápodos (Browdy *et al.*, 1989; Chen y Lin, 1992; Ogle y Beaugez, 1991). Actualmente existen alimentos formulados para larvas que sustituyen de un 50 a un 70% los nauplios de artemia, y hasta un 80 a 90% las microalgas (Holtzman, 1995).

De acuerdo a un estudio publicado en 1992, el 90% de los laboratorios de América utilizan algún alimento complementario (Wilkenfeld, 1992). Así, los esquemas de alimentación utilizados por los productores de postlarvas son variados en cuanto a sus componentes y las cantidades utilizadas de los mismos, lo cual depende de la especie, así como de la experiencia propia del acuicultor. Sin embargo, respecto a la alimentación de las postlarvas, el elemento común es siempre la utilización de nauplios de artemia, ofrecidos en cantidades variables aún en la producción de postlarvas de 12 o más días.

Respecto a la siembra de las postlarvas, Clifford (1997) recomienda que las postlarvas de camarón azul, *Litopenaeus stylirostris*, de origen de laboratorio comercial (Super Shrimp) sean sembradas a partir de pl 12 y 13, que es un tamaño en el que pueden resistir la siembra directa sin mayores consecuencias. Garmendia-Núñez (1996) recomienda que los organismos adquiridos en el laboratorio, preferentemente deberán promediar una edad de 10 a 12 días (pl 10 a pl 12), para garantizar parcialmente una mayor supervivencia durante el transporte,

aclimatación y siembra, lo que se reflejará en una mayor supervivencia durante todo el ciclo de cultivo.

Las cosechas de postlarvas de hasta 15 días son también comunes en laboratorios de otras regiones del mundo (Chiu-Liao y Chien, 1996). Si se considera que el costo adicional para el mantenimiento de las postlarvas hasta edades más avanzadas podría disminuirse si se bajaran los costos de su alimentación, sin demeritar la calidad de las mismas, el alimento comercial peletizado fortalecido con carotenoides resultaría una buena opción a probar, dado que actualmente los carotenoides están plenamente reconocidos como nutrientes esenciales que afectan la supervivencia y el crecimiento en poblaciones cultivadas de camarón (Lastcha, 1991b).

Los carotenoides son compuestos terpenoides que se dividen en dos grandes grupos, los carotenos y las xantofilas. Los carotenos son hidrocarburos puros, compuestos de átomos de carbón e hidrógeno; y las xantofilas son a su vez productos oxidados de los carotenos (Lehninger, 1976; Badui, 1981 y 1988). Desde hace algunos años, se ha incrementado la atención hacia las propiedades químicas y biológicas de los carotenoides, especialmente en su papel sobre el metabolismo humano y en la prevención de enfermedades (Britton, 1993).

También las funciones fisiológicas en especies de peces de importancia comercial han sido objeto de estudio por diversos autores (Tacon, 1981; Al-Khalifa y Simpson, 1988; Torrissen, 1989; Christiansen *et al.*, 1994; Thompson *et al.*, 1995). En el caso de los invertebrados, ese conocimiento es muy incompleto, y la mayoría de éste es relativo a crustáceos comercialmente importantes (Maugle *et al.*, 1980; D'Abramo *et al.*, 1983; National Research Council, 1983,1987; McKay, 1987; Bendich, 1989; Petit *et al.*, 1991; Howell y Matthews 1991; Krinsky, 1994; Meyers y Latscha, 1997).

El estado nutricional es considerado uno de los factores más importantes que determinan la susceptibilidad de los animales a diversas enfermedades. Más específicamente los carotenoides, la vitamina C y la vitamina E, juegan un papel importante en la salud animal ya que actúan como antioxidantes (Chew, 1995). En general, a los carotenoides se les han atribuido diversas funciones además de las pigmentantes. Entre éstas destacan su efecto en el sistema de defensa del organismo, su función como agentes antioxidantes y precursores de vitamina A, la formación de carotenoproteínas, las cuales parecen mejorar la permeabilidad y

la estabilidad de la membrana celular, y además, su función como reservorios de oxígeno para algunas reacciones intracelulares (Latscha, 1989, 1991a y 1991b; Menasveta, 1993; Kurmaly 1993a y 1993b, 1994a, 1994b y 1994c).

Los crustáceos, como todos los animales, son incapaces de sintetizar los carotenoides *de novo*, por lo que para satisfacer sus demandas dependen de una adecuada ingestión de los mismos. Básicamente, los carotenoides ocurren en tres diferentes formas: a) como forma libre, esto es, sin esterificar la forma oxicarotenoidea; b) como forma esterificada, la cual puede estar esterificada con una o dos cadenas largas de ácidos grasos, tales como ácido palmítico, oléico, esteárico y linoléico; y como c) oxicarotenoides libres o esterificados asociados a proteínas como las carotenoproteínas y carotenolipoproteínas, responsables del color característico de los crustáceos (Latscha, 1989).

Los análisis de la pigmentación en *Penaeus monodon*, *Marsupenaeus japonicus* y *Litopenaeus vannamei*, mostraron que la mayoría de los carotenoides almacenados están en forma mono y diéster (Latscha, 1989, 1991a y 1991b). Para el caso de larvas y postlarvas, Petit *et al.* (1991), observaron que en las primeras la astaxantina se depositaba en forma libre, mientras que para las postlarvas, ésta se depositaba en formas esterificadas. Yamada *et al.* (1990) observaron similares efectos al utilizar β -caroteno, astaxantina y cantaxantina sobre la pigmentación de *Marsupenaeus japonicus*. Estos tres carotenoides se depositaron como ésteres de astaxantina.

La astaxantina, perteneciente al grupo de las xantofilas, es el carotenoide dominante en peces e invertebrados marinos, incluyendo los crustáceos. Conforma del 86 al 98% del total de carotenoides en camarones (Okada *et al.*, 1995). No todas las especies de animales pueden metabolizarla a partir de sus precursores. Los crustáceos son capaces de sintetizar astaxantina, y su depositación se eficientiza cuando es metabolizada de precursores más cercanos como la luteína o la zeaxantina (Latscha, 1989, 1991a).

Según Miki (1991), la astaxantina por naturaleza tiene la habilidad de quelatar sustancias tóxicas y protege el ambiente intracelular de los organismos. La potencia de la astaxantina como quelador de radicales libres, en último término antioxidante, es aproximadamente 2500 veces la potencia de la vitamina E, conocida como el mayor antioxidante intracelular. Esto coloca a la astaxantina como el mayor antioxidante celular en

crustáceos. Palozza y Krinsky (1992) documentan también la función de la astaxantina como un extremadamente eficiente antioxidante y Kurshize *et al.*, (1990) destacan su función inhibitoria en la peroxidación lipídica mitocondrial.

En relación con la respuesta inmune, se sabe que en los vertebrados, además de su función como precursores de vitamina A, los β carotenos y otros precursores del retinol, como la astaxantina, fortalecen la resistencia a tumores inmunogénicos y la liberación celular de factores antitumorales (Watson y Earnest, 1993). Czeczuga (1979), encontró que los peces con altos niveles de carotenoides fueron más resistentes a enfermedades bacteriales y micóticas que los peces con bajos niveles de carotenoides. Por su parte, Thompson *et al.*, (1995) sugieren que la vitamina A o su precursor, la astaxantina, es requerida para mantener ciertos aspectos del sistema inmune de la trucha arcoiris.

En comparación con los vertebrados, el sistema inmune de los crustáceos en general, y de los camarones en particular, es mucho más primitivo, y su relación con los carotenoides no está dilucidada. Sin embargo, también en este grupo algunos autores sugieren que los carotenoides contribuyen a incrementar la resistencia a enfermedades (Menasveta, 1993; Meyers y Latscha, 1997). Howell y Matthews (1991) encontraron que la decoloración (enfermedad azul) del camarón tigre de granja, *Penaeus monodon*, es atribuible a una deficiencia nutricional en carotenoides.

Algunos autores sugieren que durante la embriogénesis los carotenoides protegen las reservas de nutrientes de los embriones de la oxidación y de la radiación solar, y que suplementan las reservas de pigmentos para los cromatóforos y manchas oculares (Nelis *et al.*, 1988). Durante la etapa de nauplio los camarones encuentran precursores de astaxantina y otros carotenoides en la reserva vitelina, y posteriormente en las algas y especies de plantas y zooplancton que les siguen en la cadena alimenticia (Petit *et al.*, 1991; Meyers y Latscha, 1997). Sin embargo la naturaleza no alcanza a proveer las cantidades demandadas en los procesos acuiculturales, sobre todo cuando éstos son intensivos, por lo que la astaxantina o los precursores apropiados deben ser incluidos en las dietas artificiales.

Según algunos autores que han estudiado los efectos de la inclusión de pigmentos en las dietas de algunas especies de camarones y peces, los carotenoides, y particularmente la astaxantina, son considerados como nutrientes esenciales para los mismos, los cuales no sólo influyen en la pigmentación de los organismos, sino que mejoran la supervivencia y en algunos casos incluso el crecimiento bajo condiciones de cultivo (Meyers y Latscha, 1997). Para el caso de los peces, se demostró que las dietas enriquecidas con suplementos de cantaxantina mejoraron el crecimiento de la trucha arcoiris, y se sostiene la hipótesis de una posible función de los carotenoides en el crecimiento durante el desarrollo embrionario de este pez (Tacon, 1981). Por otra parte, la astaxantina adicionada a la dieta del salmón del Atlántico (*Salmo salar*) ha sido considerada esencial para mejorar el crecimiento y la supervivencia de esta especie (Christiansen *et al.*, 1994; Torrisen, 1989).

Con relación a los camarones, Chien y Jeng (1992) probaron varias fuentes y niveles de pigmentos así como de regímenes de alimentación en *Marsupenaeus japonicus*. Ellos encontraron que la astaxantina suplementada a 50 ppm produjo un incremento de la supervivencia mayor al 30% con relación a los tratamientos control, así como una mejoría en el crecimiento. También detectaron una correlación positiva entre el índice de supervivencia y la concentración del pigmento en el tejido del camarón. Thongrod *et al.* (1995), observaron que la supervivencia y el crecimiento de las postlarvas de *Penaeus monodon* se incrementaba con dietas suplementadas con astaxantina en niveles de 60 a 300 ppm.

Por su parte, Negre-Sadargues *et al.* (1993), probaron tres dietas en la alimentación de *Marsupenaeus japonicus* con carotenoides sintéticos, una con 100 ppm de astaxantina, otra con 100 ppm de cantaxantina, y otra con ambos pigmentos a razón de 50/50 ppm, contra una dieta control sin pigmentos. Ellos observaron mejor supervivencia en los camarones alimentados con las dietas con pigmentos con relación al control (57%), con mejores resultados para el tratamiento con astaxantina (91.3%), seguido por el que contuvo sólo cantaxantina (80%).

También Arango (1996) encontró incrementos del 10% en el peso final, del 16.6% en la supervivencia y del 28.6% en la producción por hectárea en el cultivo semi-intensivo de *Litopenaeus vannamei* cuya dieta fue complementada con 50 ppm de astaxantina, con respecto a las poblaciones control sin el pigmento. Petit *et al.*, (1991) demostraron en etapas

postlarvales de *Marsupenaeus japonicus*, que la reducción de la tasa de carotenoides depende del grado de evolución de las postlarvas. La tasa de crecimiento lineal y ponderado fue menor en animales alimentados con una dieta libre de carotenoides, comparada con los individuos alimentados con una dieta suplementada con astaxantina y artemia.

Estudios fisiológicos indican que la astaxantina es capaz de funcionar como donador de oxígeno en ambientes donde la presión parcial de dicho elemento es baja, como es el caso de cuerpos de aguas con alta concentración de sedimentos, lo cual permite, en el caso de los camarones, tener mejor supervivencia en ambientes con características estresantes (Chen y Jeng, 1992; Menasveta, 1993). Kurmaly y Guo (1995) evaluaron el efecto de diferentes tipos de estrés en el cuerpo de camarones *Penaeus monodon* previamente alimentados durante seis semanas con altas dosis de astaxantina. En condiciones de bajo oxígeno disuelto y baja temperatura, los camarones mostraron una disminución significativa en el depósito de astaxantina en el cuerpo a nivel del hepatopáncreas y ojos.

La mayoría de los estudios que incluyen el uso de agentes pigmentarios en el alimento balanceado, han dirigido su atención principalmente al efecto de la coloración de organismos adultos con fines de mercado. Muy poca atención se ha registrado sobre algunos aspectos zootécnicos del cultivo como el crecimiento y la supervivencia, sobre todo en el caso particular de postlarvas como es el enfoque de este estudio, que además de su análisis meramente biológico, se lleva a cabo con el fin práctico de buscar alternativas para eficientizar la producción de postlarvas tempranas en los laboratorios comerciales.

En dichos laboratorios, a pesar del ya muy desarrollado mercado de alimentos microparticulados balanceados y otros productos de apoyo para el cultivo postlarvario temprano, la utilización de los nauplios de artemia sigue siendo la base alimentaria de su estrategia. La artemia es sin lugar a dudas el insumo más costoso de las estrategias de alimentación, y es la principal fuente de proteínas y lípidos para las postlarvas. Aunque estos últimos aspectos se conocen bastante bien, su aportación pigmentaria no ha sido abordada desde una perspectiva que permita evaluar su efecto sobre los parámetros zootécnicos como la sobrevivencia y el crecimiento.

En este estudio, una fuente natural de carotenoides (*Hi-Zea*®) extraída de la flor de cempasúchil, *Tagetes erecta*, fue incluida en la elaboración de un alimento balanceado peletizado con 40% de proteína, y se utilizó en la crianza de postlarvas tempranas de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, según el diseño experimental y con los resultados que se comentan en las siguientes secciones de este escrito.

III.- OBJETIVOS.

III.1- Objetivo general.

Evaluar el efecto de la inclusión de una fuente natural de carotenoides en el alimento balanceado sobre el crecimiento, la supervivencia y la pigmentación de postlarvas de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, bajo condiciones de laboratorio.

III.2- Objetivos particulares.

- 1.- Evaluar el efecto de la inclusión de una fuente natural de pigmentos carotenoides en el alimento sobre el crecimiento, la supervivencia y la pigmentación de las postlarvas.
- 2.- Evaluar el efecto del uso de nauplios de artemia en el alimento sobre el crecimiento, la supervivencia y la pigmentación de las postlarvas.
- 3.- Valorar las concentraciones finales de los constituyentes pigmentarios en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei*.
- 4.- Realizar un análisis costo-beneficio de las estrategias de alimentación utilizadas.

IV.- MATERIALES Y MÉTODOS.

IV.1.- Origen de los organismos.

El presente trabajo se realizó durante el verano de 1999 en las instalaciones de la Unidad Experimental Peñasco (U.E.P.), del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (D.I.C.T.U.S.).

La obtención de las postlarvas necesarias para llevar a cabo este experimento, se logró mediante el cultivo de nauplios de *Litopenaeus vannamei* obtenidos de reproductores cultivados, los cuales se proporcionaron por la empresa AREMAR S.A. de C.V.

Los nauplios se cultivaron en tanques rectangulares de fibra de vidrio con una capacidad de 3,500 l, a los que previamente se les realizó un tratamiento de limpieza. Estos tanques se llenaron a un nivel inicial de 1,000 l, y posteriormente el volumen del agua se aumentó paulatinamente cada día hasta alcanzar un nivel de 3,000 l durante la etapa de zoea III y hasta el final del cultivo.

Los tanques contaron con mangueras plásticas que proporcionaron aireación. También se colocó un drenaje en la esquina, consistente de un tubo de 5 cm de diámetro cubierto por otro de 10 cm de diámetro, ranurado y forrado con malla "Nitex" de 200 μ para evitar la fuga de las larvas. La iluminación se mantuvo durante todo el día mediante la colocación de lámparas de 40 watts aproximadamente a 50 cm de la superficie del agua. La temperatura del agua se mantuvo en 28 ± 1 °C, y la salinidad en 38‰.

Desde el inicio del cultivo se suministraron como alimento las microalgas *Chaetoceros gracilis* e *Isochrysis galbana* a una concentración de 50,000 cel/ml de cada especie. A partir de zoea III se adicionaron nauplios de artemia en concentraciones de 0.5 nauplios/ml, hasta llegar a 3 nauplios/ml en la etapa de mysis III y hasta el final del cultivo. El ajuste de las concentraciones de estos alimentos se realizó dos veces al día.

Los recambios de agua se iniciaron a partir de la etapa de zoea I en un 50%, y a partir de la etapa de mysis I, los recambios fueron del 100% diario. Al llegar los organismos a la etapa de postlarva 7, se cosecharon para llevar a cabo el experimento con las diferentes dietas.

IV.2.- Diseño experimental.

El diseño experimental de este trabajo consistió en probar seis tratamientos correspondientes a seis dietas diferentes para la alimentación de las postlarvas, cada uno con tres repeticiones (Tabla I). El tratamiento número uno consistió en el uso de un alimento comercial peletizado con 40% de proteína, utilizado para la alimentación de postlarvas en granjas de engorda comerciales. La concentración de carotenoides de este alimento fue de 4 ppm, provenientes de los ingredientes que de manera normal se utilizan para su elaboración.

El segundo tratamiento consistió en el uso del mismo alimento peletizado del tratamiento anterior, con la diferencia de que en su formulación se incluyó una mezcla de carotenoides de origen natural, provenientes de un producto comercial a base de xantofilas (75% de zeaxantina) extraídas de la flor de cempasúchil *Tagetes erecta*. La incorporación de este producto produjo una concentración de 138 ppm de xantofilas en el alimento. El alimento anterior fue preparado según especificaciones del D.I.C.T.U.S. y por una empresa internacional productora de alimentos balanceados (Purina) para este experimento (Aguirre-Hinojosa y Garza-Aguirre, 2000; Garza-Aguirre y Aguirre-Hinojosa, 2000).

El tratamiento número tres consistió de una dieta a base de un alimento microparticulado comercial (Biomarine) recomendado para la alimentación de las postlarvas, de uso común en los laboratorios comerciales y en cuya formulación también se incluyen carotenoides, aunque no se proporciona su concentración, por lo que se cuantificaron en este estudio.

A estos tres primeros tratamientos se les incluyó nauplios de artemia durante los 2 primeros días del experimento, mientras se indujo a la aceptación de los alimentos empleados. Posteriormente en este escrito se hará referencia a estos tratamientos sin nauplios de artemia. Los tres tratamientos restantes correspondieron a las tres dietas anteriores con la diferencia de que todos los días se les proporcionó a las postlarvas un nauplio de artemia por mililitro tres veces al día.

Tabla I.- Tratamientos empleados durante el experimento.

Tratamiento	Descripción
1) P	Alimento peletizado*.
2) P+C	Alimento peletizado adicionado con xantofilas naturales*.
3) M	Alimento microparticulado*.
4) P+A	Alimento peletizado + nauplios de artemia.
5) P+C+A	Alimento peletizado adicionado con xantofilas naturales + nauplios de artemia.
6) M+A	Alimento microparticulado + nauplios de artemia.

* A estos tratamientos se les incluyó nauplios de artemia en los 2 primeros días.

El experimento con las postlarvas se llevó a cabo en 18 tanques cuadrados de fibra de vidrio de color blanco con capacidad de 90 litros. A cada uno de ellos se les proporcionó aireación continua a través de una manguera con una piedra difusora al final de ésta. En cada tanque se dispuso de un drenaje central que funcionó por rebosamiento y que estaba compuesto de un tubo de PVC de 2 cm de diámetro, en cuyos extremos se colocó un filtro a manera de tambor con un trozo de tubo de PVC de 5 cm de diámetro y malla "Nitex" de 200 μ .

IV.3.- Condiciones de cultivo y alimentación.

En cada tanque se sembraron 50 postlarvas de siete días de edad (pl 7) por litro con un peso promedio inicial de 0.000819g que se obtuvo mediante el pesado de un grupo de al menos 1000 organismos, que fueron posteriormente contabilizados para obtener el peso promedio. Las dietas se sortearon entre las estructuras experimentales para que quedaran distribuidas de manera aleatoria y así evitar algún factor que afectara el desarrollo del experimento.

Los alimentos peletizados se maceraron y tamizaron de acuerdo a los tamaños de partículas requeridas y establecidas para la edad de las postlarvas según la metodología de Martínez-Córdova *et al.*, (1993). Las raciones de éstos y del alimento microparticulado se ofrecieron en cuatro porciones diarias que se establecieron también con base a la metodología de Martínez-Córdova *et al.*, (1993). Los nauplios de artemia se ofrecieron a razón de 1 nauplio/ml tres veces al día. Todos los días se eliminó el alimento sobrante, con la ayuda de un sifón. Además se realizó un análisis bromatológico del alimento comercial para determinar su composición proximal por los métodos 7.007, 7.009, 7.062, 7.015 y 7.070 de la AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1990), y con especial atención a su contenido de proteína. Diariamente se realizaron recambios de agua del 75% a todos los tanques. Se trató de mantener una temperatura de 28°C y una salinidad de 38‰ que es la salinidad del agua del pozo que surte a las instalaciones de la U.E.P. Se manejó un fotoperiodo natural mediante luz artificial (14 L:10 O).

Durante el experimento se monitorearon parámetros físico-químicos tales como la temperatura del agua, pH y amonio. La temperatura se registró cada cuatro horas mediante un termómetro con escala de 0-50°C. Debido a que en ocasiones la temperatura ambiental fue muy elevada, se requirió utilizar un sistema de ventilación para prevenir que las temperaturas en el área del experimento y en los tanques experimentales se incrementaran demasiado y que tuvieran algún efecto sobre los resultados. El pH se registró dos veces al día con un potenciómetro manual, con mediciones antes y después de los recambios. Para evaluar la concentración de amonio se utilizó el ORION 290, las muestras para ello se tomaron también antes y después de los recambios.

Se efectuó un cultivo bacteriológico en el medio selectivo TCBS para monitorear la presencia de bacterias en el agua. Las muestras de agua para los cultivos se tomaron de cada tanque experimental antes de los recambios y se les realizó una dilución de 10^{-1} y 10^{-2} . Después de 48 horas de incubación se llevó a cabo el conteo de las colonias formadas, que se representaron como unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml).

IV.4.- Evaluación del estado de salud de las postlarvas.

Durante el trabajo experimental se observaron diariamente algunos organismos de cada tratamiento (aproximadamente 15 organismos). Las observaciones consistieron en describir el estado de salud general de los organismos a simple vista y bajo el microscopio. Los principales aspectos a observar fueron los siguientes, de acuerdo a las observaciones comunes realizadas en las instalaciones de la U.E.P.

a)- Condición del tracto digestivo: Se realizó una apreciación del contenido de alimento dentro del tracto digestivo y de la presencia de heces fecales.

b)- Irritaciones y lesiones: El aspecto observado dentro de este punto fue buscar algunas zonas que presentaran puntos o líneas rojizas, principalmente en el abdomen. Se dio atención a la apariencia de los cromatóforos y a la presencia de lesiones melanizadas.

c)- Actividad: Se observó en general la actividad de los organismos, al respecto de sus movimientos de locomoción y de respuesta a la presencia de alimento.

d)- Adherencias: Se observó la presencia o ausencia de adherencias tales como protozoarios, hongos y bacterias filamentosas.

e)- Deformidades: Se revisó en los organismos la presencia de deformidades en los apéndices, rostrum, antenas y cuerpo en general.

f).- Canibalismo: Los organismos se revisaron para identificar lesiones causadas por canibalismo.

g).- Mortalidades: Además de las observaciones anteriores, otro aspecto en el cual se puso especial atención fue el de observar continuamente en las estructuras de cultivo la presencia de mortalidades.

Este trabajo finalizó al llegar a la etapa de postlarva 18 (pl 18). En ese momento se realizó una cuantificación de los organismos de todos los tanques para valorar la supervivencia (%). Para el conteo de los organismos se empleó el método volumétrico, que se emplea en los laboratorios comerciales: se tomaron varias muestras de un litro de cada tratamiento y se contaron los organismos contenidos; después estos datos se extrapolaron a 90 litros, que fue la capacidad de las estructuras experimentales.

En cuanto al crecimiento, fue necesario cosechar al menos 100 organismos de cada una de las repeticiones de los diferentes tratamientos. La distribución de la población se uniformizó mediante la agitación de la columna de agua, y los organismos se cosecharon mediante una red de cuchara con luz de malla de 250 μ . Después de la cosecha los organismos se trasladaron al área de pesado. Para el transporte se emplearon vasos de precipitado con capacidad de un litro. Para evitar las mediciones erróneas fue necesario absorber el exceso de agua con papel secante y después se pesaron en una balanza analítica, con grado de sensibilidad de 0.001g.

Se realizó una prueba de estrés para los organismos de cada una de las repeticiones de todos los tratamientos. Las pruebas de estrés tienen la finalidad de evaluar la condición de salud general de las postlarvas previamente a su aclimatación y siembra dentro de los estanques de engorda, por lo que se ha vuelto una práctica común en todas las granjas al recibir las postlarvas. Esta prueba se realizó al final de este experimento, siguiendo una combinación de las pruebas de estrés realizadas por Brock y Main (1994) y Clifford (1997). En esta prueba se evaluó la supervivencia de 50 postlarvas mantenidas en un recipiente de un litro después de someterlas durante una hora a cambios térmicos y de salinidad. Las condiciones empleadas para realizar las pruebas de estrés para este trabajo fueron: salinidad 7 ppm y temperatura de 23°C.

IV.5.- Análisis de la pigmentación de los organismos.

Para evaluar la pigmentación de los organismos, se enviaron muestras de las postlarvas a la ciudad de Monterrey, N.L., para su análisis mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, por sus siglas en inglés). Para esto se congelaron las muestras de los organismos dentro de frascos de vidrio con tapas de rosca y con agua de mar. Estas muestras se trasladaron de Puerto Peñasco vía terrestre a Hermosillo, y posteriormente vía aérea a la ciudad de Monterrey, N.L. En el envío las muestras se colocaron dentro de una hielera con hielo molido y un gel refrigerante para asegurar que llegaran congeladas al lugar de análisis. Se enviaron muestras con un número representativo de organismos colectados al inicio del experimento (más de 2000 postlarvas), y con organismos correspondientes a cada uno de los

tratamientos colectados al final del experimento (2 gramos por cada muestra; entre 250 y 500 organismos).

IV.6.- Análisis de costo-beneficio.

Para la realización del análisis de costo-beneficio de los diferentes tratamientos se procedió de la siguiente manera: de acuerdo a los datos de supervivencia arrojados en cada uno de los tratamientos, se extrapoló el número de organismos supervivientes para cada caso a unidades de 1,000 l. Posteriormente se extrapoló también la cantidad total de alimento utilizado y el costo del mismo. Finalmente, con los datos anteriores se calculó el costo para la producción de un millar de postlarvas en cada uno de los tratamientos.

IV.7.- Análisis de los datos.

Para el análisis estadístico de los datos se utilizaron pruebas de normalidad y homocedasticidad, y a partir de los resultados de éstas, se emplearon las pruebas correspondientes. Se realizaron análisis de varianza de dos vías para determinar diferencias significativas entre los diferentes tratamientos con relación a la supervivencia y al crecimiento en peso (Zar, 1974). Los datos de supervivencia (%) fueron transformados al arcoseno para su posterior análisis estadístico (Zar, 1974).

Las concentraciones de los carotenoides en las postlarvas se representaron en microgramos de carotenoides por gramo de muestra de postlarvas ($\mu\text{g/g}$). Para los análisis del contenido de carotenoides en los organismos, dado que los datos proporcionados presentaron un solo valor, se realizó una ANDEVA de dos vías con una muestra por grupo (Zar, 1974). Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa Statistica vers. 5.5 para Windows (StatSoft, Inc.) y el programa Microsoft Excel para Windows vers. 2000 (Soft-Art, Inc.).

V.- RESULTADOS.

V.1.- Estado de salud de las postlarvas.

De manera general, durante el transcurso del experimento los organismos presentaron un buen estado de salud aparente. De acuerdo a las evaluaciones realizadas se observaron las siguientes condiciones:

a) **Condición del tracto digestivo:** En los organismos de todas las muestras se observó el tracto siempre lleno e incluso la presencia de cordón fecal.

b) **Irritaciones y lesiones:** Se observó en general una coloración normal de los organismos, sin irritaciones o expansiones manifiestas de los cromatóforos y sin lesiones en el cuerpo.

c) **Actividad:** En general todos los organismos observados se presentaron activos, con movimientos de nado normales.

d) **Adherencias:** Todos los organismos observados siempre se encontraron limpios y sin adherencias que denotaran la presencia de algún problema patológico.

e) **Deformidades:** No se observaron organismos deformes.

f) **Canibalismo:** En las muestras no se observaron organismos con apéndices mutilados ni se observó canibalismo entre las larvas de los tanques.

g) **Mortalidades:** No se observaron mortalidades masivas en los tanques de ningún tratamiento.

V.2.- Condiciones ambientales.

V.2.1.- Salinidad y temperatura.

La salinidad siempre se mantuvo constante en 38‰, durante todo el experimento y en todas las estructuras de cultivo. Los valores promedios, mínimos y máximos de la temperatura registrados para cada tratamiento durante el experimento se muestran en la tabla II. Se observó poca variación de la temperatura del agua entre los diferentes tratamientos, con valores promedios que fueron entre 28.8 y 28.9°C, y con temperaturas máximas entre 29.4 y 29.5°C, y mínimas entre 28.3 y 28.4°C.

Tabla II.- Temperaturas promedios (\pm d.e.), máximas y mínimas registradas para cada tratamiento durante todo el periodo experimental.

Tratamientos	T° C	Máx.	Min.
P	28.9 ± 0.01	29.5	28.3
P+C	28.9 ± 0.11	29.4	28.3
M	28.8 ± 0.01	29.5	28.4
P+A	28.8 ± 0.05	29.5	28.3
P+C+A	28.9 ± 0.17	29.5	28.4
M+A	28.8 ± 0.05	29.4	28.4

Se presenta el valor promedio de la temperatura del agua durante cada uno de los días de cultivo del experimento, en donde cada uno considera todas las estructuras experimentales (Fig. 1). Se puede observar que la fluctuación diaria de la temperatura fue poca, con excepción del segundo día del cultivo (pl 8) con variación de casi un grado. En general las temperaturas promedio más bajas se presentaron en la primer mitad del experimento (28.5 a 29.0°C), y las más altas en la segunda mitad (29.0 a 29.5°C).

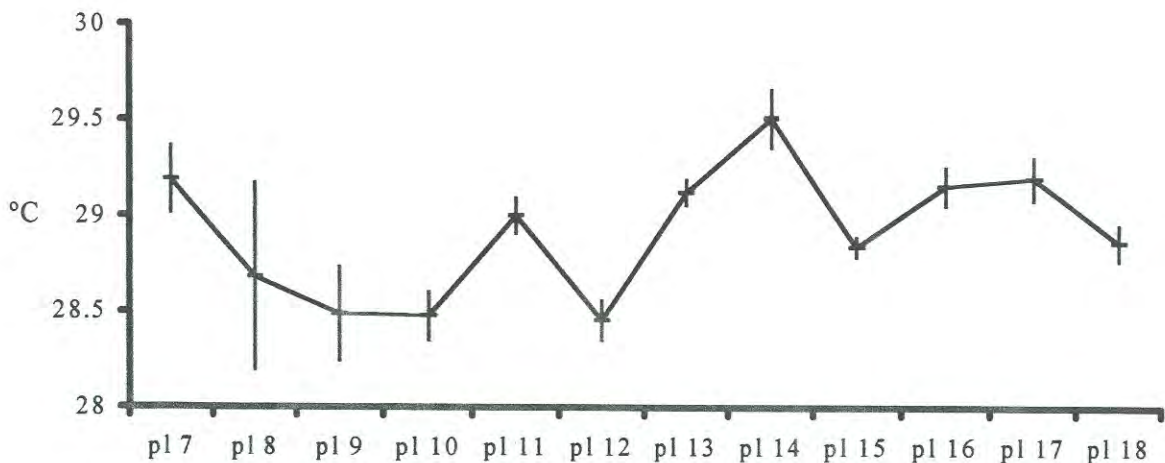


Figura 1.- Valores promedios de la temperatura (\pm d.e.) registrados durante los días del experimento, con todos los tratamientos, pl 7 representa el día uno de cultivo, pl 8 el día dos y así sucesivamente.

V.2.2.- Amonio.

En general los valores de amonio fluctuaron entre 0.60 y 0.82 mg/l antes de los recambios, y entre 0.42 y 0.69 después de los recambios (Fig. 2). En todos los tratamientos la concentración de amonio disminuyó después de efectuados los recambios. En general, los tratamientos que incluyeron artemia incrementaron sólo ligeramente su concentración de amonio (menos de 0.1mg/l) en el agua de cultivo con respecto a los tratamientos sin artemia.

Los valores más altos (0.68 y 0.82 mg/l) se registraron, independientemente del recambio y del uso de los nauplios de artemia, en los tratamientos que emplearon el alimento microparticulado y para el resto de los tratamientos los valores fueron muy similares entre sí (0.42 y 0.65 mg/l) según el caso particular con o sin nauplios de artemia.

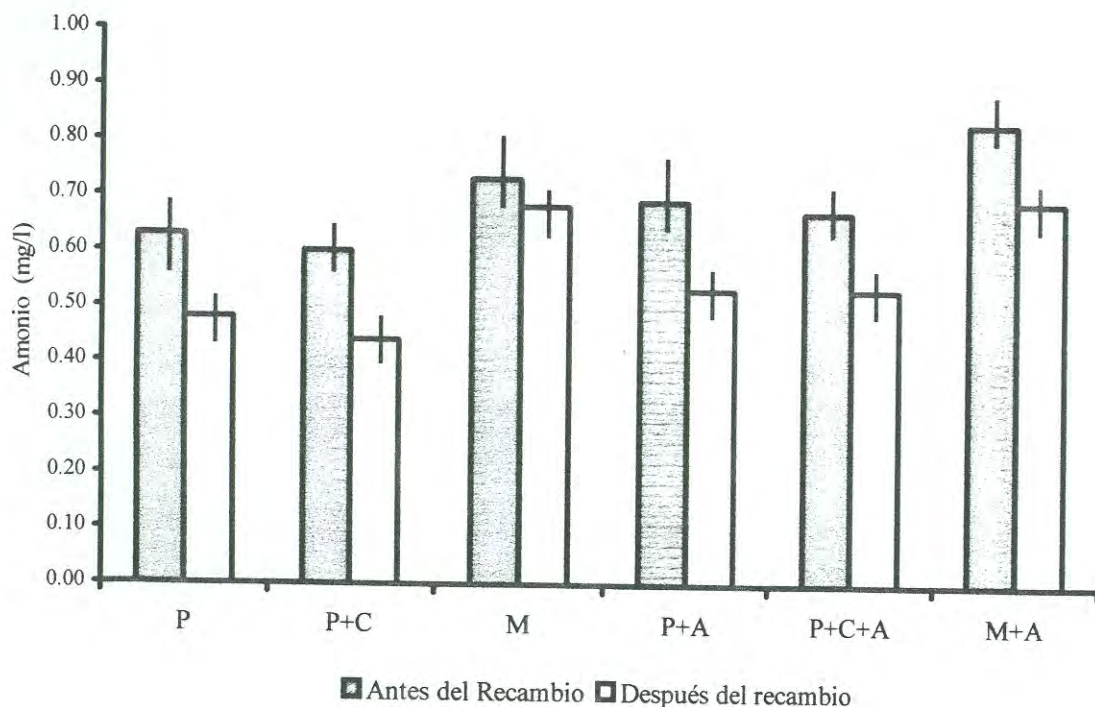


Figura 2.- Valores promedio (\pm d.e) de amonio encontrados antes y después del recambio. P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

V.2.3.-pH.

En general los valores promedios del pH del agua de cultivo registrados antes de los recambios diarios de ésta en los distintos tratamientos fueron muy similares, con valores dentro de 8.0 y 8.2 unidades (Fig. 3). En todos los tratamientos que incluyeron nauplios de artemia, los valores del pH fueron ligeramente menores que sus correspondientes sin nauplios. Independientemente del uso de los nauplios de artemia los valores promedios más bajos se registraron siempre para los tratamientos con xantofilas adicionales. Después de los recambios diarios, el agua de cultivo de todos los tratamientos igualó su pH promedio a 8.3 unidades.

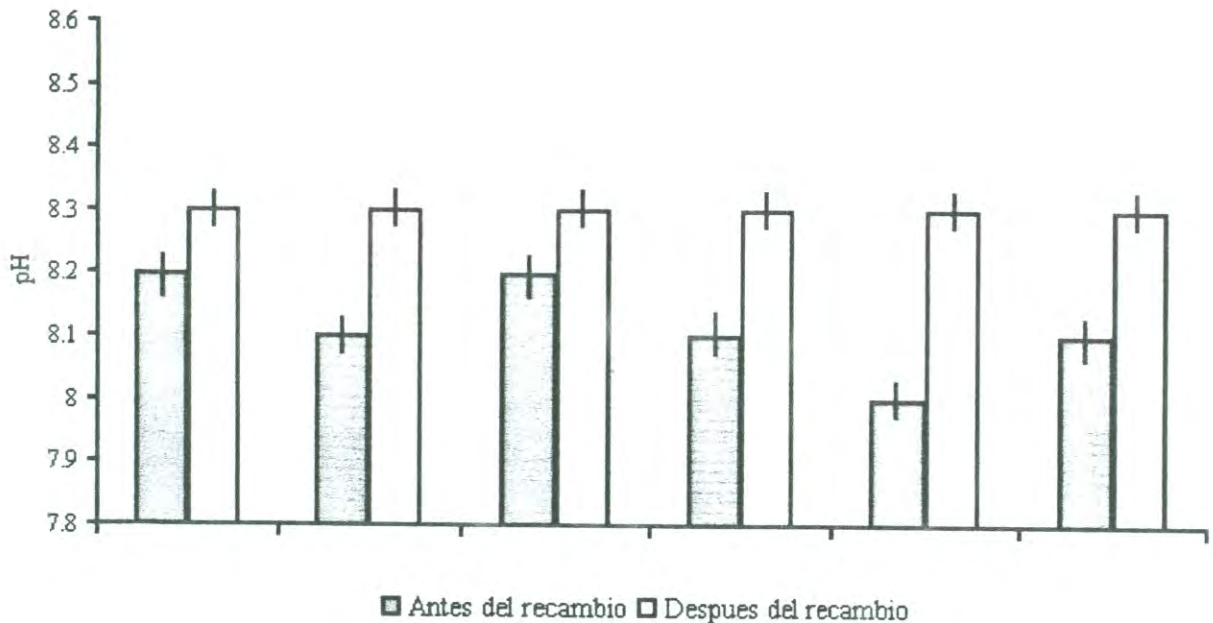


Figura 3.- Valores promedios de pH (\pm d.e.) registrados en el agua de cultivo de cada tratamiento. P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

V.2.4.-Análisis bacteriológico del agua de cultivo.

Después de las 48 horas de incubación de las muestras se realizó el conteo de las unidades formadoras de colonias de bacterias presuntas del tipo *Vibrio* spp. en las placas de TCBS de cada tratamiento (Tabla III). Se observó que el mayor número de colonias (10,000 UFC/ml) se presentó en aquellos tratamientos que emplearon nauplios de artemia. Sin embargo, el número de colonias en todos los tratamientos alcanzó un número total de 8 y 10×10^3 .

Tabla III.- Valores promedios del número de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) del presunto tipo *Vibrio* spp encontradas en los diferentes tratamientos.

Tratamientos	UFC/ml .
P	8×10^3
P+C	7×10^3
M	7×10^3
P+A	10×10^3
P+C+A	10×10^3
M+A	10×10^3

V.3.- Crecimiento.

Los resultados observados de crecimiento (g) muestran que los organismos de todos los tratamientos en que se emplearon nauplios de artemia crecieron más rápido que los organismos de los tratamientos sin éstos. Los primeros alcanzaron pesos finales promedio de 0.008 y 0.009g, y los últimos de 0.004 y 0.005g (Fig. 4). De acuerdo con los resultados del análisis de varianza de dos vías (Apéndice, Tabla I), se encontraron diferencias muy altamente significativas ($p < 0.001$) entre los pesos promedio de los individuos. Estas diferencias fueron debidas al uso de los nauplios de artemia en la alimentación. Los tipos de alimentos formulados, alimento balanceado, alimento balanceado adicionado con carotenoides o alimento microparticulado, no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) (Apéndice, Tabla I).

Las pruebas de comparación múltiples *a posteriori* indicaron la existencia de dos únicos grupos diferentes al respecto del peso final, el de los organismos alimentados con y sin nauplios de artemia.

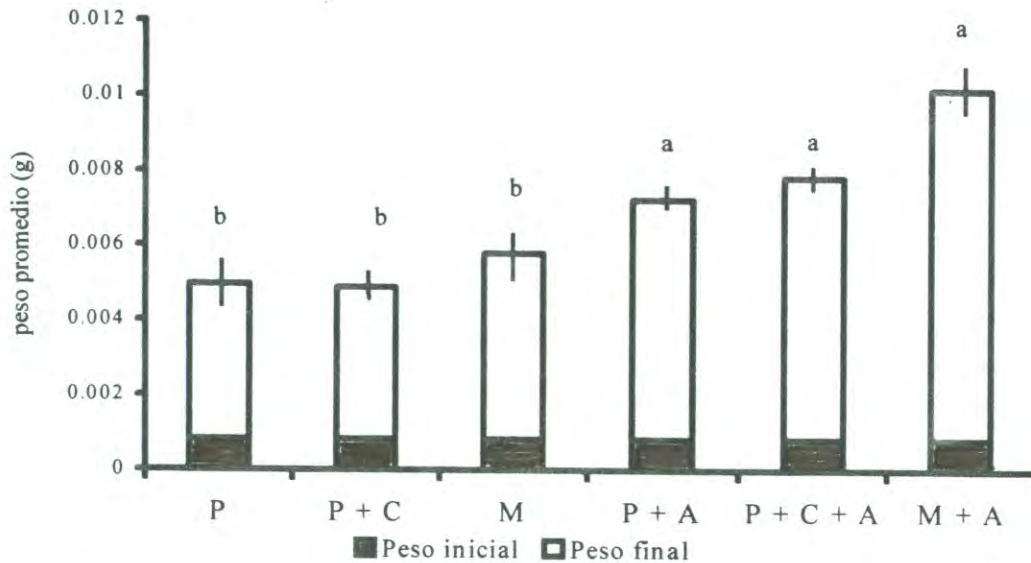


Figura 4.- Peso final promedio (\pm d.e.) de las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* en los diferentes tratamientos. Letras diferentes entre tratamientos denotan diferencias significativas entre ellos ($p \leq 0.05$). P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

V.4.- Supervivencia.

La mayor supervivencia se registró para el tratamiento P+C, con un porcentaje del 93.07, seguido por el tratamiento P+C+A con un porcentaje del 92.30; el registro más bajo de supervivencia se encontró en el tratamiento P, con un valor del 79.58%.

El análisis de varianza de dos vías para detectar las diferencias en la supervivencia entre las poblaciones de las postlarvas alimentadas con los diferentes tipos de alimentos formulados y entre las poblaciones que recibieron la complementación o no de estos alimentos con nauplios de artemia, indicó diferencias altamente significativas ($p=0.006$) debidas al uso de los diferentes tipos de alimentos formulados (Apéndice, Tabla II).

Según la prueba *a posteriori* de comparación múltiple, en el grupo de los tratamientos que no recibieron nauplios de artemia las postlarvas del tratamiento con carotenoides adicionales (P+C) tuvieron una supervivencia significativamente mayor (93.07%) que las de las poblaciones del tratamiento P (79.6%), pero no con respecto a las de las poblaciones del tratamiento con alimento microparticulado M (87.9%). En el grupo de tratamientos que incluyeron los nauplios de artemia en la alimentación, las poblaciones del tratamiento con carotenoides adicionales (P+C+A) tuvieron una supervivencia significativamente mayor (92.3%) que las postlarvas de los dos tratamientos restantes (P+A y M+A) (82.4 y 80.33% respectivamente) (Fig. 5).

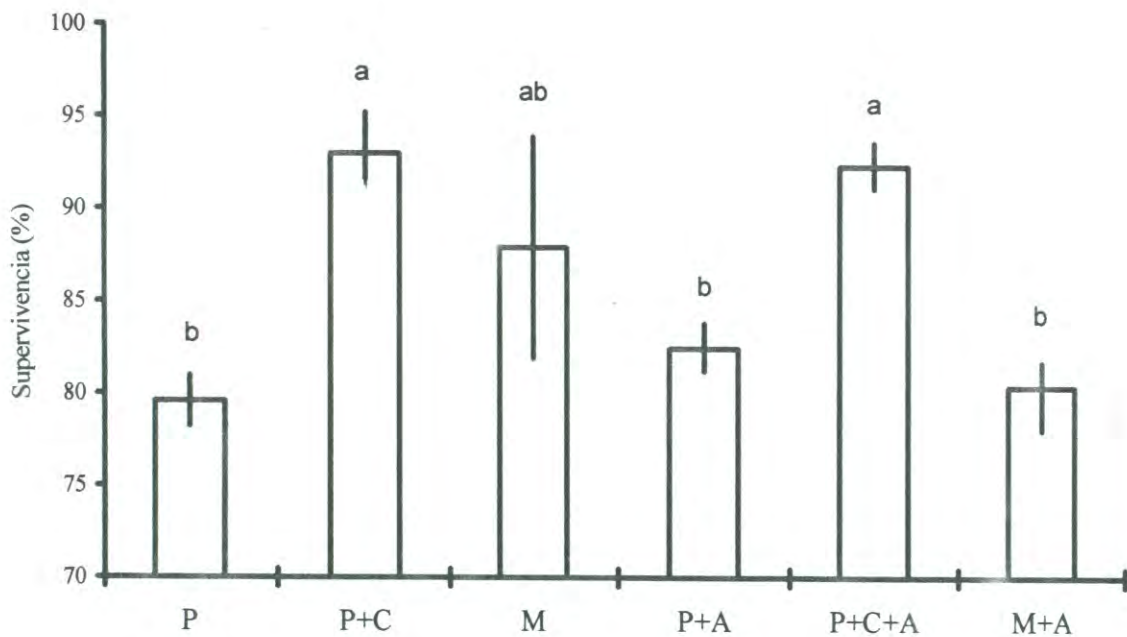


Figura 5.- Valores de la supervivencia (\pm d.e.) de las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* obtenidos al final del experimento. Letras diferentes entre tratamientos denota diferencia significativa entre ellos ($p \leq 0.05$). P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

V.5.-- Análisis de los pigmentos corporales.

V.5.1.- Carotenoides totales.

El valor de referencia inicial promedio del contenido total de carotenoides del cuerpo de las postlarvas fue mucho mayor, casi el doble o más, que los valores registrados para los organismos de los diferentes tratamientos al final del experimento (Tabla IV).

Tabla IV.- Valores de la concentración de carotenoides totales registrados en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei*.

Tratamientos	Carotenoides totales ($\mu\text{g/g}$)
Inicial	30.28
P	7.58
P+C	10.91
M	14.54
P+A	11.21
P+C+A	12.40
M+A	15.36

En cada uno de los dos conjuntos de tratamientos, los que incluyeron nauplios de artemia y los que no los incluyeron, el valor más bajo en la concentración de carotenoides totales de las postlarvas se registró en los tratamientos con alimento peletizado sin la adición de xantofilas (P, $7.58\mu\text{g/g}$ y P+A, $11.21\mu\text{g/g}$); el valor intermedio correspondió a los tratamientos con alimento peletizado adicionado con xantofilas (P+C, $10.91\mu\text{g/g}$ y P+C+A, $12.40\mu\text{g/g}$); y el valor más alto se registró para los tratamientos con alimento microparticulado (M, $14.54\mu\text{g/g}$ y M+A, $15.36\mu\text{g/g}$). En cada caso en particular, el valor mayor correspondió a los tratamientos con nauplios de artemia. Sin embargo es importante destacar que el análisis estadístico de los datos anteriores (Apéndice, Tabla III) demostró que no presentaron diferencias significativas ($p>0.05$) (Fig. 6)

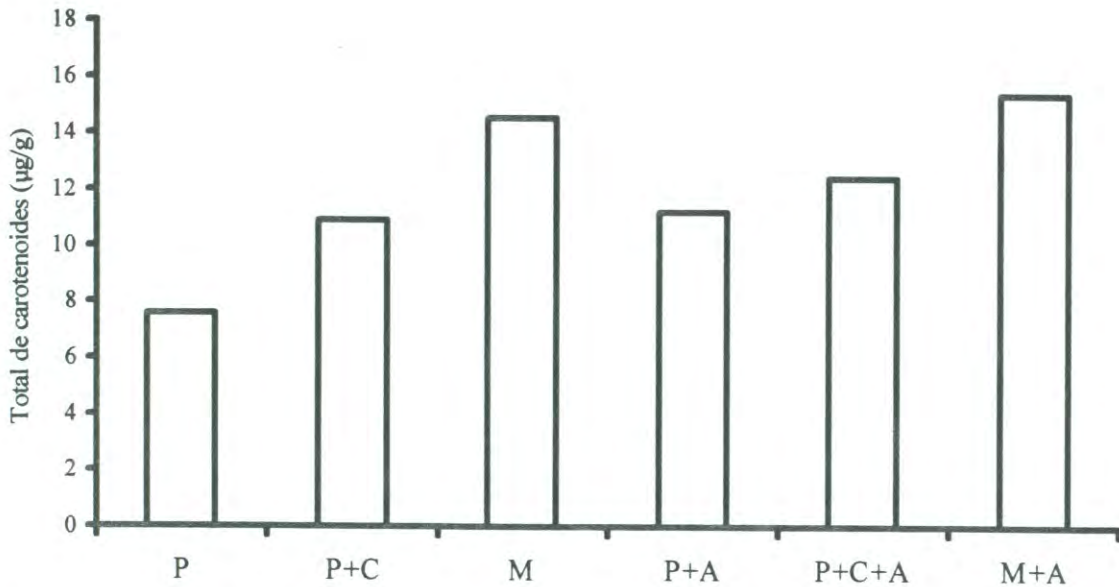


Figura 6.- Concentración del total de carotenoides ($\mu\text{g/g}$) en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* en los diferentes tratamientos. P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

V.5.2.- Concentración de los diferentes tipos de carotenoides.

En general, con excepción de la zeaxantina, que no fue detectada en las postlarvas de la muestra inicial, y de los carotenoides no identificados, la concentración del resto de los pigmentos disminuyó con relación a lo observado en las postlarvas de la muestra inicial. En todas las postlarvas, sin embargo, el carotenoide más abundante fue la astaxantina (Tabla V).

Tabla V.- Concentración ($\mu\text{g/g}$) de los diferentes tipos de carotenoides encontrados en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* de los diferentes tratamientos al inicio y al final del experimento.

Tratamiento	Astaxantina	β -caroteno	Zeaxantina	Luteina	Otros
Inicial	27.5972	2.2861	*N.D.	0.1604	0.2361
P	6.498	0.6367	0.0485	0.0333	0.3638
P+C	9.764	0.8891	0.1538	0.0981	0.0043
M	12.166	0.6601	0.0290	0.0276	1.6575
P+A	10.088	0.9068	0.0325	0.0011	0.1816
P+C+A	10.658	0.9610	0.1128	0.0694	0.5989
M+A	13.182	1.9906	0.0261	0.0001	0.1612

*N.D. No detectado.

V.5.2.1.- Astaxantina.

Los valores de las concentraciones del pigmento dominante en las postlarvas, la astaxantina, fluctuaron dentro de 6.5 a 13.2 $\mu\text{g/g}$ (Tabla V).

En general se observó una tendencia similar en las postlarvas de todos los tratamientos, con y sin nauplios de artemia, las mayores concentraciones de astaxantina se registraron en los organismos que se alimentaron con alimento microparticulado, seguidas por la de las postlarvas de los tratamientos que incluyeron xantofilas adicionales, y por último por las de los tratamientos que no incluyeron xantofilas adicionales. También se observó que las postlarvas de los tratamientos que utilizaron nauplios de artemia tuvieron una concentración ligeramente mayor de astaxantina que las postlarvas de su tratamiento correspondiente sin nauplios de artemia (Fig. 7).

Los resultados del análisis de varianza de los datos anteriores (Apéndice, Tabla IV), sin embargo, no indican diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

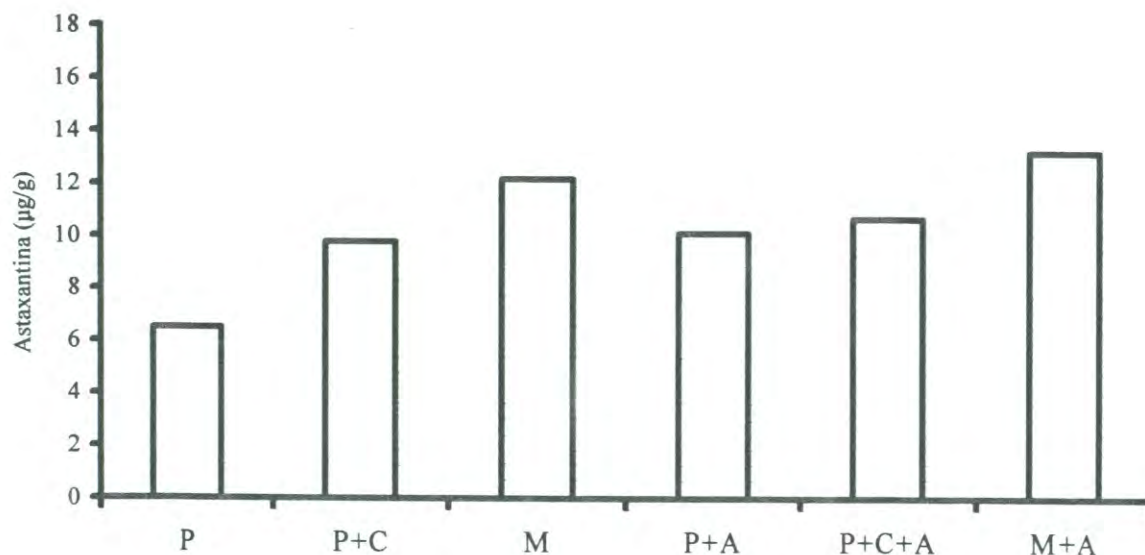


Figura 7.- Concentración ($\mu\text{g/g}$) de astaxantina en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

V.5.2.2.- β -caroteno.

La concentración de β -caroteno en las postlarvas de los diferentes tratamientos fueron muy similares entre sí, con valores entre 0.6 y 1.0 $\mu\text{g/g}$, con excepción de las postlarvas del tratamiento M+A, las cuales alcanzaron el valor mayor, que fue de 1.99 $\mu\text{g/g}$. Sin embargo no se observó un patrón definido en las diferencias entre los distintos tratamientos, y los resultados del análisis de varianza (Apéndice Tabla V) de estos datos no indicaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) (Fig. 8).

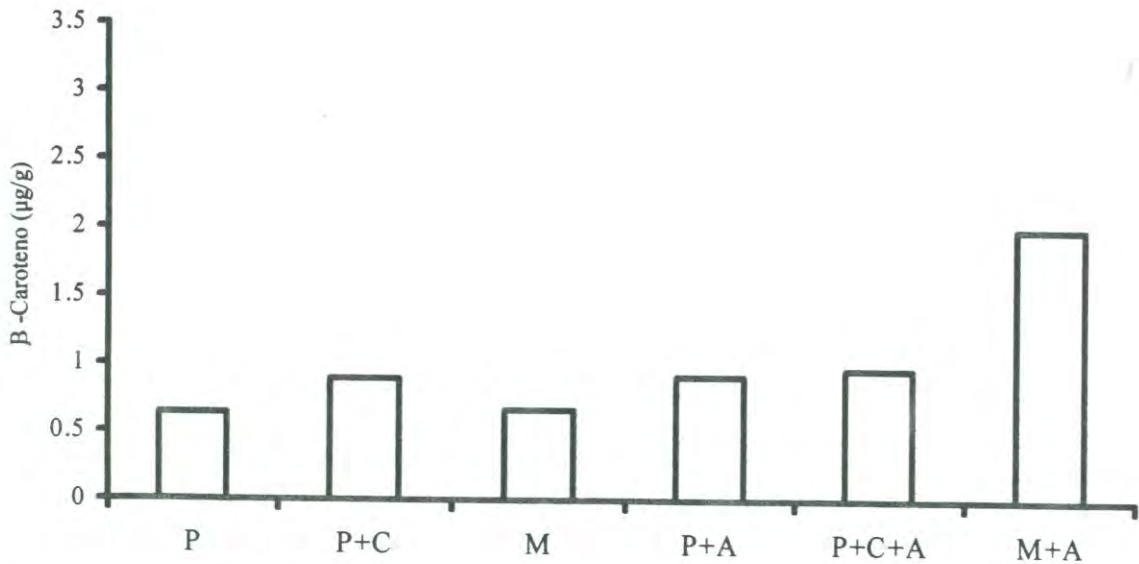


Figura 8.- Concentración ($\mu\text{g/g}$) de β -caroteno en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. . P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

V.5.2.3.-Zeaxantina.

Los resultados de la concentración de zeaxantina indican una mayor abundancia en las postlarvas de los tratamientos que incluyeron las xantofilas adicionales ya sea con nauplios de artemia o sin ellos, con valores de 0.11 y 0.15 $\mu\text{g/g}$ respectivamente. Las postlarvas de los tratamientos restantes tuvieron concentraciones de zeaxantina muy similares, entre 0.02 y 0.04 $\mu\text{g/g}$.

Los resultados del análisis de varianza (Apéndice Tabla VI) de estos datos, indicaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.027$) entre los tratamientos debidos al uso de los alimentos formulados, mas no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) debidas a la utilización de los nauplios de artemia. La prueba *a posteriori* empleada indicó que la diferencia se debió al empleo de xantofilas adicionales, lo cual incrementó la concentración de zeaxantina en ambos tratamientos (Fig. 9).

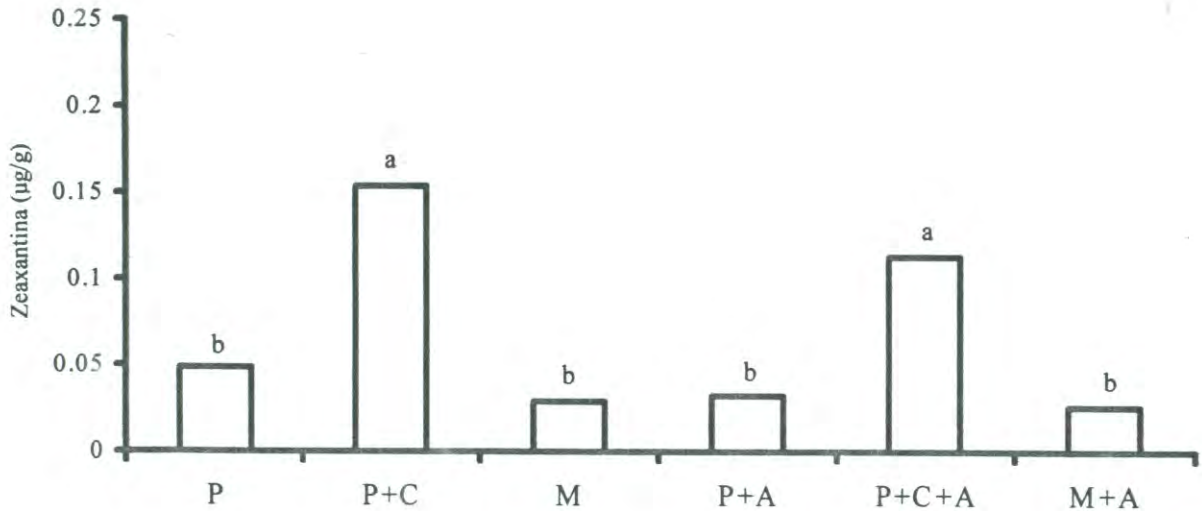


Figura 9.- Concentración ($\mu\text{g/g}$) de zeaxantina en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. Letras diferentes entre tratamientos denota diferencia significativa entre ellos ($p \leq 0.05$). P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

V.5.2.4.-Luteína.

Los resultados de la concentración de luteína en las postlarvas indican, al igual que el caso del pigmento anterior, mayor abundancia en los tratamientos que incluyeron xantofilas adicionales (P+C, 0.098; P+C+A, 0.69 $\mu\text{g/g}$). Además se observó que las postlarvas de los tratamientos con nauplios de artemia registraron valores menores de luteína que los tratamientos correspondientes sin nauplios de artemia.

Según el análisis de varianza existieron diferencias muy altamente significativas ($p < 0.001$) entre las postlarvas debidas al uso de los diferentes alimentos formulados y también diferencias altamente significativas ($p = 0.002$) debidas a la utilización de los nauplios de artemia (Apéndice Tabla VII).

La prueba *a posteriori* demostró que en el primer caso, las diferencias en la concentración de luteína se debieron efectivamente al empleo de xantofilas adicionales ya que en el caso del grupo de tratamientos con artemia, el tratamiento P+C+A fue significativamente mayor que los dos restantes, diferencia también muy notoria para el grupo sin nauplios de artemia (Fig. 10).

Con respecto a las diferencias debidas a la utilización de nauplios de artemia, se observó diferencia significativa en la concentración de luteína de las postlarvas del tratamiento P, las cuales tuvieron una concentración mayor que sus correspondientes con nauplios de artemia del tratamiento P+A.

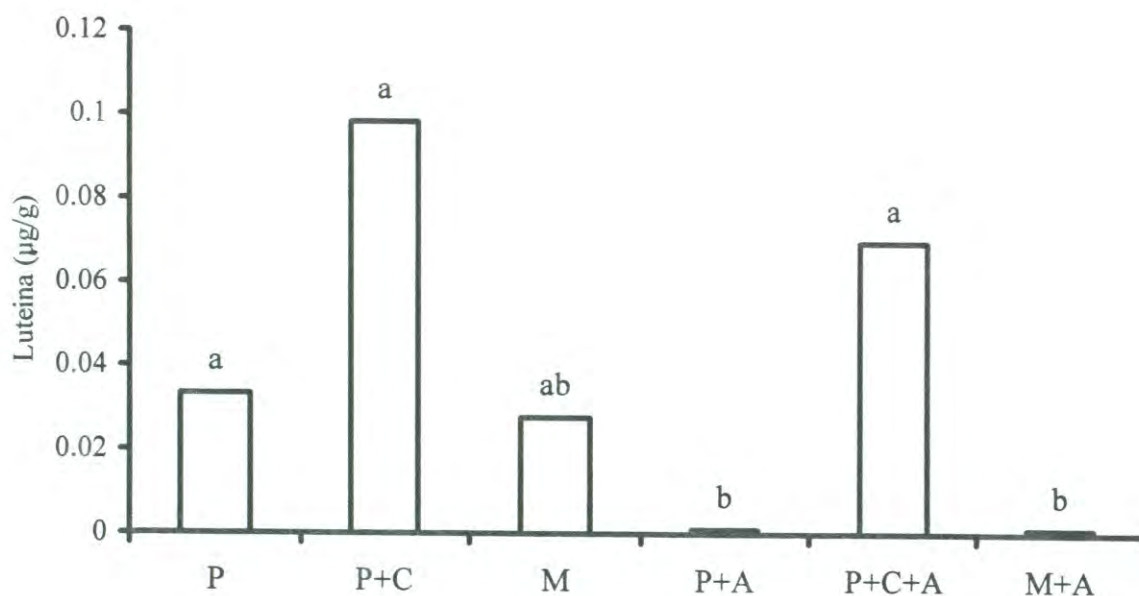


Figura 10.- Concentración (µg/g) de luteína en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. Letras diferentes entre tratamientos denota diferencia significativa entre ellos ($p \leq 0.05$). P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

V.5.2.5.-Otros carotenoides no identificados.

Con relación a la concentración de los carotenoides no identificados, se encontró que el valor mas alto se registró en las larvas del tratamiento con alimento microparticulado y sin nauplios de artemia (1.6575 $\mu\text{g/g}$). Las concentraciones de carotenoides no identificados en las postlarvas fueron muy variables, dentro de valores de 0.0043 a 1.6 $\mu\text{g/g}$, con diferencias entre los distintos tratamientos que no mostraron un patrón o tendencia observable.

Los resultados del análisis de varianza (Apéndice Tabla VIII) de estos datos no indicaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) debidas al uso de los alimentos formulados ni a la utilización de los nauplios de artemia (Fig. 11).

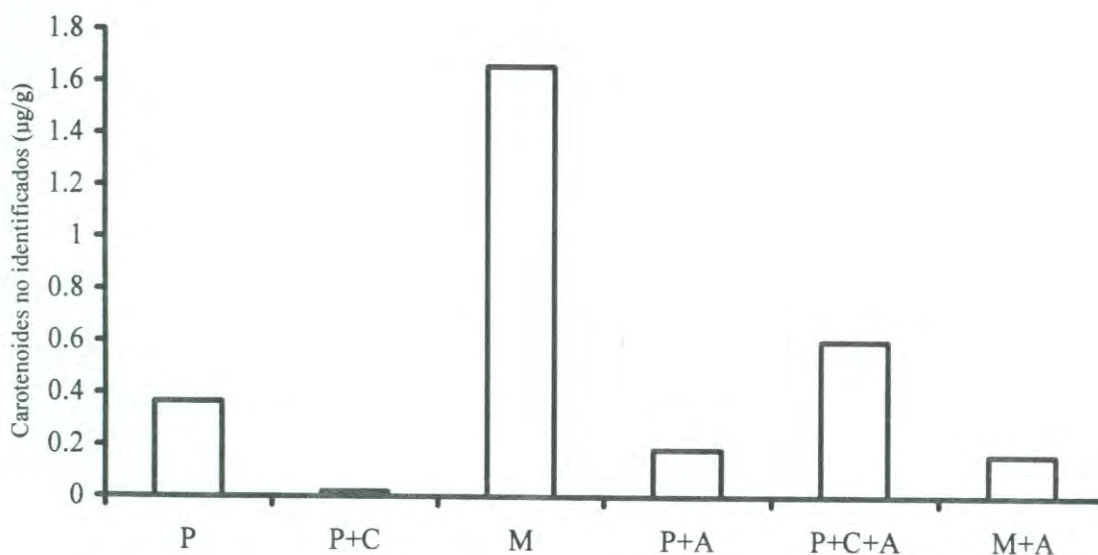


Figura 11.- Concentración ($\mu\text{g/g}$) de carotenoides no identificados en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento.). P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

V.5.3.- Concentración de las formas de Astaxantina.

La mayor concentración de cada una de las formas de astaxantina (monoéster, diéster y libre) se observó en las postlarvas de la muestra inicial con decrementos del doble o más en las postlarvas al final del experimento. En todos los casos se notó una mayor concentración de la forma diéster, seguida por la monoéster, y en una mucho menor concentración la forma libre, siguiendo la relación ya marcada por los valores relativos señalados con anterioridad (Tabla VI).

Tabla VI.- Concentración ($\mu\text{g/g}$ de muestra) de las diferentes formas de astaxantina en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei*.

Tratamiento	Monoéster	Diéster	Libre	Total
Inicial	10.91	13.26	3.42	27.60
P	1.56	4.31	0.62	6.50
P+C	1.47	7.54	0.75	9.76
M	3.33	7.77	1.06	12.16
P+A	3.87	5.50	0.71	10.09
P+C+A	2.93	7.08	0.65	10.66
M+A	5.07	7.33	0.78	13.18

V.5.3.1.- Astaxantina monoéster.

Las concentraciones de astaxantina monoéster en las postlarvas de los diferentes tratamientos al final del experimento fueron mayores para las de los tratamientos que emplearon el alimento microparticulado (Fig. 12). En general, en las postlarvas de los tratamientos que incluyeron nauplios de artemia se presentaron también concentraciones mayores de astaxantina monoéster que sus correspondientes que no los incluyeron. Los resultados del análisis de varianza corroboraron las diferencias anteriormente señaladas; las pruebas *a posteriori* señalaron diferencias significativas ($p=0.042$) debidas al uso del alimento microparticulado. Para el caso del incremento en la concentración de la astaxantina monoéster debido al uso de los nauplios de artemia, éste fue significativo ($p=0.018$) en los tratamientos con alimento peletizado y microparticulado (Apéndice, Tabla IX).

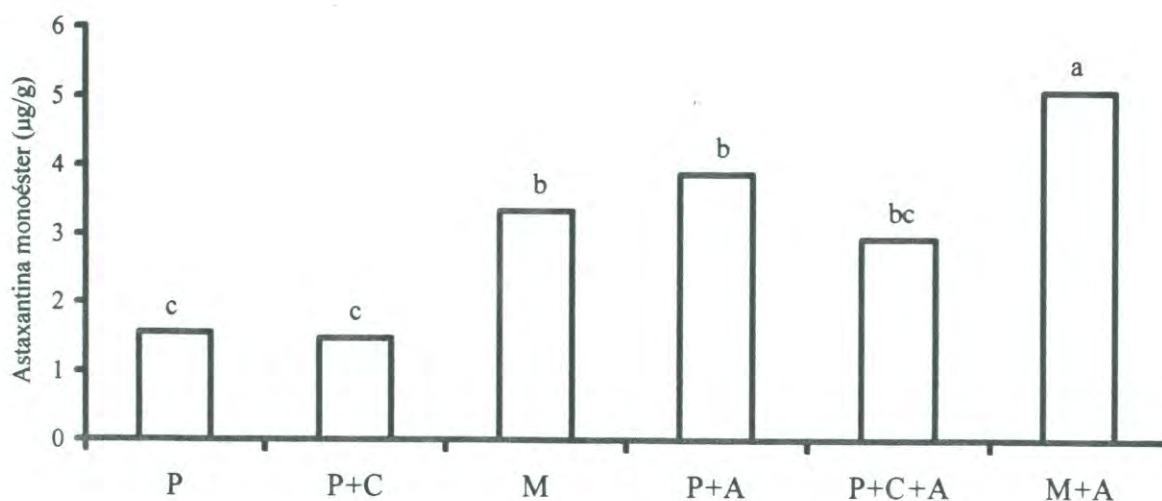


Figura 12.- Concentración ($\mu\text{g/g}$) de la astaxantina monoéster en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. Letras diferentes entre tratamientos denota diferencia significativa entre ellos ($p \leq 0.05$). P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

V.5.3.2.-Astaxantina diéster.

Con relación a las concentraciones de astaxantina diéster de las postlarvas, los valores mayores se encontraron en las postlarvas de los tratamientos que incluyeron el alimento microparticulado y en los que contenían xantofilas adicionales, con valores dentro del rango de 7.08 y $7.77 \mu\text{g/g}$. Las postlarvas de los tratamientos basados en alimento peletizado sin carotenoides adicionales presentaron una concentración más baja, entre $4.31 \mu\text{g/g}$ y $5.50 \mu\text{g/g}$ (Fig. 13). Los resultados del análisis de varianza (Apéndice, Tabla X) sin embargo no indicaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

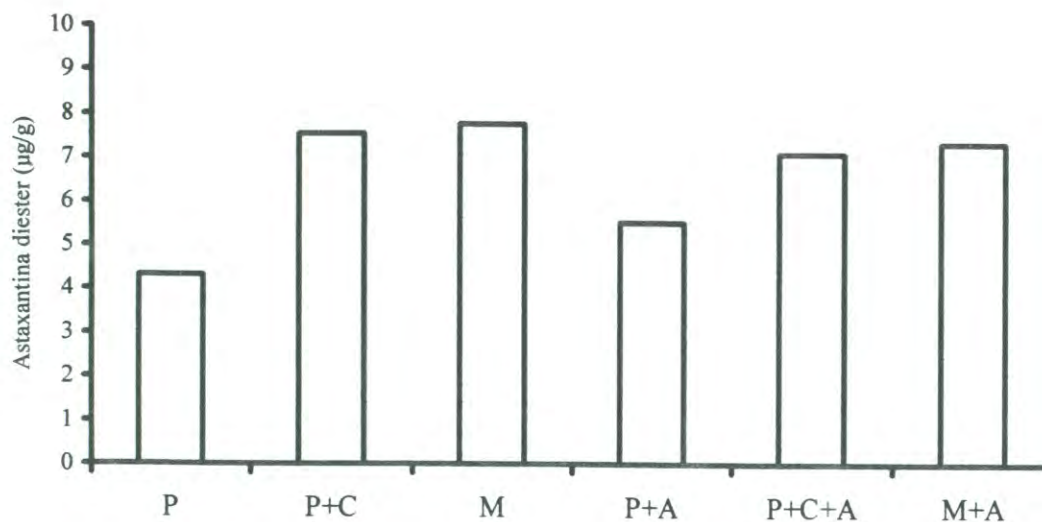


Figura 13.- Concentración ($\mu\text{g/g}$) de la astaxantina diéster en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

V.5.3.3.- Astaxantina libre.

Las concentraciones de astaxantina libre en las postlarvas de los diferentes tratamientos fueron muy similares, con valores fluctuantes dentro del intervalo de 0.61 y $0.78\mu\text{g/g}$, con excepción del tratamiento que incluyó el alimento microparticulado, el cual registró un valor de $1.06\mu\text{g/g}$ (Fig. 14). Los resultados del análisis de varianza (Apéndice Tabla XI), sin embargo, no indicaron diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$) entre ninguno de los tratamientos.

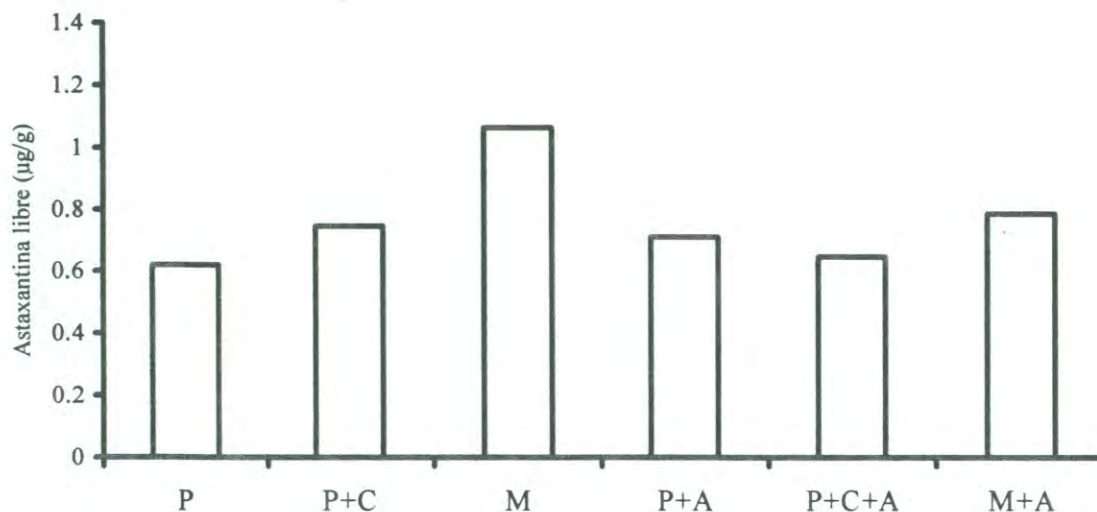


Figura 14.- Concentración ($\mu\text{g/g}$) de la astaxantina libre en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* registrados al final del experimento. P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

V.6.- Análisis del alimento microparticulado.

El perfil bromatológico del alimento microparticulado empleado en los tratamientos M y M+A se muestra a continuación en la tabla VII. Destaca principalmente el alto contenido de proteína encontrado (54.95%). Además se cuantificó una concentración de $178\mu\text{g/g}$ de carotenoides totales, de los cuales el 74.5% fueron carotenos y el 2.3% astaxantina.

Tabla VII.- Resultados del análisis proximal (\pm d.e.) del alimento microparticulado.

Microparticulado	%	Método
Proteína	54.95 \pm 0.05	7.015 AOAC
Carbohidratos	17.68	**
Cenizas	1.76 \pm 0.010	7.009 AOAC
Humedad	6.20 \pm 0.05	7.007 AOAC
Grasa	19.11 \pm 0.03	7.062 AOAC
Fibra	0.30 \pm 0.14	7.070 AOAC
Carotenoides totales	178 μ g/g	HPLC

** Calculado por diferencia.

V.7.- Prueba de estrés.

Los porcentajes de la supervivencia de las postlarvas registrados al final de la prueba de estrés aplicada por separado en todos los tratamientos y sus repeticiones no variaron, pues se contabilizaron los mismos números de organismos vivos al inicio y al final de la prueba, es decir, se registraron supervivencias del 100% en todos los casos.

V.8.- Análisis de costo-beneficio de la alimentación.

La información necesaria para determinar los costos de alimentación para la producción de un millar de postlarvas en cada uno de los tratamientos, extrapolada a partir de los datos de la supervivencia y alimentación generados en este experimento, se muestran en la tabla VIII. A simple vista, es fácil observar el incremento en los costos generados por la utilización de los nauplios de artemia, incremento que alcanzó un valor de más de 13,000% en el tratamiento M+A al respecto del costo de alimentación más bajo, el cual se observó en el tratamiento P. En cada uno de los dos grupos de tratamientos, con y sin nauplios de artemia, el costo mayor de alimentación para la producción del millar de postlarvas se dio en los tratamientos que utilizaron alimento microparticulado (Fig.15).

Al respecto del uso de los carotenoides en el alimento, los costos de alimentación en el tratamiento P+C fueron prácticamente iguales que los costos en el tratamiento P; en el caso de los tratamientos P+A y P+C+A, el que contuvo los carotenoides resultó con un costo ligeramente menor.

Tabla VIII. Costos (USD) de alimentación para la producción de un millar de postlarvas de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, en los diferentes tratamientos.

Tratamientos	Pl's en 1000 l	Alimento (g)	Nauplios de artemia	Costo de alimentación	Costo /millar de pl's
P	71622	503.88	*	0.3183	0.0044
P+C	83763	503.88	*	0.3878	0.0046
M	79119	503.88	*	10.06	0.1272
P+A	74160	503.88	36,000,000	34.02	0.4587
P+C+A	83070	503.88	36,000,000	34.09	0.4104
M+A	72297	503.88	36,000,000	43.76	0.6053

*.- No se suministró.

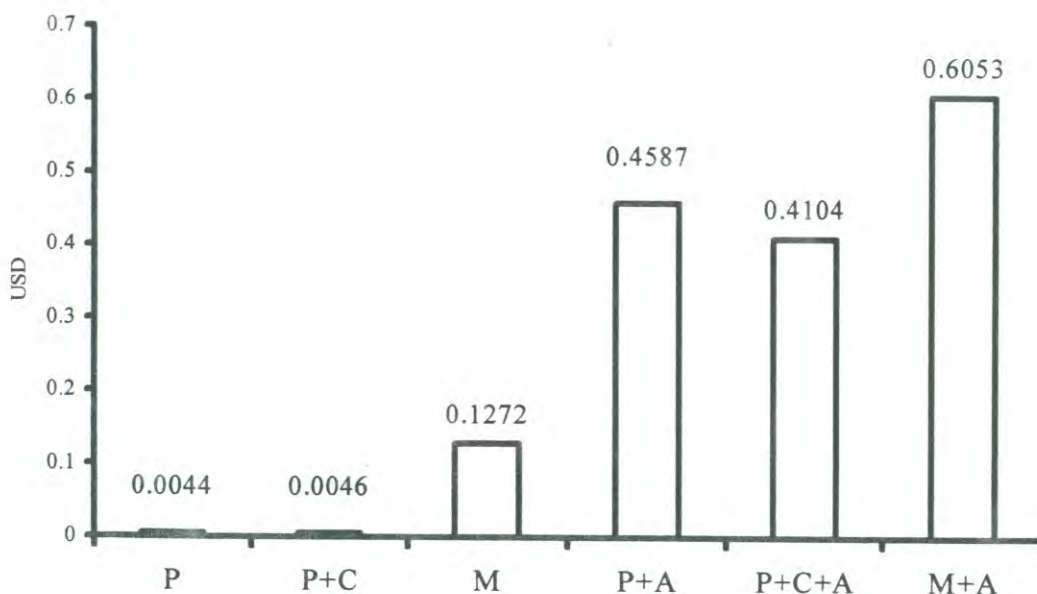


Figura 15.- Costos (USD) de producción para un millar de postlarvas. P: alimento peletizado; P+C: alimento peletizado adicionado con xantofilas; M: alimento microparticulado; P+A: alimento peletizado + nauplios de artemia; P+C+A: alimento peletizado adicionado con xantofila + nauplios de artemia; M+A: alimento microparticulado + nauplios de artemia.

VI. DISCUSIONES.

Durante el desarrollo de un experimento, las condiciones ambientales como la fluctuación de la temperatura, la salinidad, y el fotoperíodo, pueden llegar a tener un impacto significativo en la respuesta fisiológica de cada especie. Cuando el objetivo del experimento no es en sí el buscar el efecto de estas variables, es necesario cuidar que el experimento se lleve a cabo dentro de los valores considerados como óptimos para el desarrollo de cada especie en particular, para evitar que influyan sobre los resultados o enmascaren los efectos de los tratamientos de prueba.

Las fluctuaciones registradas en la temperatura del agua de los tanques experimentales, producto de la variación de la temperatura ambiente, fueron mínimas, de aproximadamente un grado durante todo el periodo experimental, con variaciones diurnas mucho menores en todas las unidades experimentales. Por lo anterior puede considerarse que este factor probablemente no ejerció una influencia sobre algún tratamiento en particular. Con respecto de la salinidad, el valor de 38‰ se mantuvo constante durante todo el experimento. Esta salinidad es la que mantiene el agua del pozo que surte a la Unidad Experimental Peñasco y bajo la que se desarrolla satisfactoriamente todo el ciclo cerrado del cultivo de camarón en la misma.

Con relación a la concentración de amonio, aunque se observó una concentración ligeramente mayor en el agua de los tratamientos en que se utilizó el alimento microparticulado, y por razones obvias en los que se utilizaron los nauplios de artemia, este se mantuvo siempre por debajo de 1 mg/l, esto es, dentro de los valores considerados como óptimos para el cultivo (Wyban y Sweeney, 1991; Martínez-Córdova *et al.*, 1993). Igualmente el pH, aunque ligeramente menor en los tratamientos que utilizaron una fuente adicional de carotenoides, se mantuvo también dentro del rango óptimo para el cultivo de *L. vannamei* (Wyban y Sweeney, 1991).

Por otro lado, aunque fue notorio con la presencia de los nauplios de artemia un incremento de la carga bacteriológica registrada en las unidades experimentales, en todos los tratamientos los conteos bacteriológicos en las placas de TCBS tuvieron valores máximos de 10×10^3 UFC/ml, considerados dentro de lo permisible para el cultivo de esta especie (López-

Torres, 1997; Aguirre-Hinojosa *et al.*, 1999), por lo que tampoco se considera que este factor haya influenciado de manera diferencial a alguno de los tratamientos.

Con relación al crecimiento se observaron diferencias en los organismos de los distintos tratamientos. El uso de los nauplios de artemia como alimento, independientemente de los alimentos formulados utilizados, fue el factor determinante de un mayor incremento en el peso de las postlarvas, las cuales alcanzaron un peso final de casi el doble que las que se alimentaron sin éstos (0.008 y 0.009g vs. 0.004g). Este resultado refleja la ya reconocida calidad nutricional de los nauplios de artemia en el cultivo de larvas y postlarvas de camarón, en la que destaca como factor principal su contenido en ácidos grasos esenciales, además de su alto contenido de proteínas 51 – 55% (Leger y Sorgeloos, 1992); su carga de carotenoides, y el aporte de aminoácidos esenciales y otros macro y micronutrientes (Sorgeloos *et al.*, 1983, 1986; Webster y Lovell, 1990; Correa-Sandoval *et al.*, 1993). Un aspecto importante que hay que tomar en cuenta es que la cantidad de nauplios utilizados en este experimento fue menor (1 nauplio/ml) a lo empleado en algunos laboratorios comerciales, en donde se ofrecen hasta 5 nauplios/ml a pl 14-16 (AREMAR, com. pers¹.; GENESIS, com. pers².; Wyban y Sweeney, 1991).

Con relación al uso de carotenoides en las dietas para camarón, bajo las condiciones de cultivo de este experimento, no provocaron cambios en el crecimiento de las postlarvas, aunque se tienen referencias relativas a sus efectos positivos en el crecimiento, (Petit *et al.*, 1991; Chien y Jeng, 1992; Thongrod *et al.*, 1995; Arango, 1996.). Por otra parte, la utilización del alimento microparticulado no ocasionó un cambio importante en el crecimiento de las postlarvas, como podría haberse esperado dada su reconocida calidad, la cual al parecer tampoco pudo competir con la calidad nutricional de los nauplios de artemia, por lo menos en relación a sus efectos en el crecimiento.

Com. Pers.¹ AREMAR. Carretera a las Conchas Km 1.2 C.P. 83550. Puerto Peñasco, Sonora, Méx.

Com. Pers.² GENESIS. Carretera a las Conchas Km 1.2 Puerto Peñasco, Sonora, Méx.

Con relación a la supervivencia, si se consideran únicamente los tratamientos en los que se utilizó alimento peletizado (P vs P+C y P+A, vs P+C+A), fue notable que la adición de la fuente de carotenoides produjo un incremento importante en el valor de la supervivencia, de 13.5% para el tratamiento sin nauplios de artemia, y del 10% para el tratamiento con los nauplios. Al integrar al análisis los resultados de los tratamientos con alimento microparticulado, los valores de supervivencia para P+C (93%), y M (88%) se consideran similares, y relativamente altos, tanto en el contexto de los resultados en este experimento, como en lo que se observa en operaciones comerciales.

Debe destacarse que el alimento microparticulado tiene en su formulación una proporción importante de carotenoides dominada por carotenos, esto es, de diferente composición a los utilizados para enriquecer el alimento peletizado, en los que predomina la zeaxantina, y es además un tipo de alimento que por su formulación general es considerado de alta calidad para la crianza de postlarvas.

Por otro lado, las postlarvas del tratamiento en que se utilizó el alimento microparticulado adicionado con los nauplios de artemia (M+A), presentaron un valor bajo de supervivencia (80.33%) al respecto del tratamiento fortificado con carotenoides y adicionado con nauplios de artemia (P+C+A, 92%). Este resultado no es el esperado dado la calidad del alimento microparticulado y de acuerdo a la tendencia general del experimento, en donde a diferencia de lo observado en el crecimiento de las postlarvas, la adición de nauplios de artemia no modificó los valores de la supervivencia, como puede observarse al comparar por separado cada pareja de tratamientos P y P+A (79.5% y 82% respectivamente) además de P+C y P+C+A (93% y 92%). Puede declararse entonces que la adición de una fuente natural de carotenoides en el alimento balanceado (P+C y P+C+A) produjo un incremento en la supervivencia.

Los resultados de este experimento concuerdan con los obtenidos en experimentos paralelos a este trabajo, en los que se observaron incrementos significativos de la supervivencia en prejuveniles, juveniles y adultos de camarón blanco, mantenidos en condiciones experimentales y de *Litopenaeus stylirostris* en operaciones comerciales en granjas del sur del estado de Sonora (Aguirre-Hinojosa y Garza Aguirre, 2000; Garza-Aguirre y Aguirre-Hinojosa, 2000).

Los resultados anteriores, referentes al incremento de la supervivencia atribuible al uso adicional de los carotenoides, coinciden también con los resultados obtenidos por otros autores para diferentes especies de camarones (Yamada *et al.*, 1990; Chien y Jeng, 1992; Negre-Sadargues *et al.*, 1993; Thongrod, *et al.*, 1995; Arango, 1996) y peces (Czeczuga, 1979; Thompson *et al.*, 1995). Aunque no se conoce a ciencia cierta cómo es que los carotenoides causan estos efectos en la supervivencia, el papel reconocido de su alta eficiencia como antioxidantes, quelatadores de productos tóxicos del metabolismo intracelular, precursores de vitamina A, y otras funciones ya mencionadas anteriormente en este escrito (Latscha, 1991a y 1991b; Petit *et al.*, 1991; Menasveta *et al.*, 1994; Miki *et al.*, 1994; D'Abramo y Castell; 1997; Meyers y Latscha, 1997). Lo anterior apoya que estos compuestos contribuyen a generar en los organismos un buen estado de salud. Esto los hace capaces de soportar mejor las condiciones de estrés, mismas que aumentan conforme se intensifican los sistemas de cultivo, y probablemente mejoran su resistencia a las enfermedades (Menasveta, 1993; Scholz *et al.*, 1999).

Cabe considerar que en general la condición de todas las postlarvas fue muy buena, según lo demostró la prueba de estrés practicada al final del experimento, lo cual es importante señalar, ya que esto supone que si en efecto el uso de los carotenoides mejora la supervivencia, podrían esperarse beneficios importantes con su uso, en el caso de poblaciones que por alguna razón su condición física se viera demeritada.

Con respecto a la fuerte disminución de la concentración total de carotenoides que se observó en todas las postlarvas hacia el final del experimento, al compararse con la concentración cuantificada al inicio de éste, puede deberse a varias causas. Una de ellas, denominada por Latscha (1991b) como el "efecto de dilución", corresponde a una disminución aparente del contenido de carotenoides debido al incremento corporal, esto es: dado un contenido específico de carotenoides, un incremento en el peso o superficie del cuerpo producirá un decremento en la concentración de éstos. Otra causa de pérdida importante de pigmentos, es durante la muda, a través de la pérdida del exoesqueleto que consigo lleva una cantidad importante de carotenoides, y que en la etapa de postlarvas debe representar una pérdida muy importante debido a la alta frecuencia de las mudas, producto del rápido crecimiento propio de esta etapa de vida. En todo caso, si la pérdida de carotenoides es debida

a cualquiera o ambas de las causas anteriores, esta condición debe ser sólo temporal si el medio en que habitan les aporta los carotenoides que necesitan. Según Latscha (1991b), las pérdidas de carotenoides en *P. monodon* bajo cultivo pueden ser del 33% en un mes y hasta del 92% en cuatro meses de cultivo sin un aporte apropiado de carotenoides.

En este trabajo, la mayor disminución de carotenoides (75%) se dio en las postlarvas del tratamiento que tuvo como dieta sólo alimento peletizado. En el resto de los tratamientos en donde se adicionó a la dieta alguna fuente de carotenoides estos decrementos fueron significativos, ya que variaron entre un 49 y un 64%, y fueron menores según se incrementó el contenido de carotenoides en la dieta. Esto significa que el menor decremento se dio en los organismos alimentados con alimento microparticulado más nauplios de artemia. Esto hace pensar que el contenido de carotenoides en las dietas probablemente tenga que ser mucho mayor a lo aquí experimentado para poder compensar las posibles pérdidas, o que independientemente de si estas pérdidas se dan o no, los organismos requieren de una mayor concentración de éstos en la dieta, lo cual deberá ser objeto de estudio.

Con relación a lo anterior, hay que tener en consideración que las postlarvas de la muestra inicial habían sido alimentadas con microalgas, ricas en carotenoides; con una mayor cantidad de nauplios de artemia que lo utilizado en este experimento, dado que representaban la principal fuente de alimentación en esa etapa del cultivo; además de alimento microparticulado que es también un aportador importante de carotenoides. Por otra parte, existe también la posibilidad de que este decremento sea un fenómeno fisiológicamente normal, propio del desarrollo del organismo. En todo caso, no existe en la literatura algún punto de referencia que detalle la dinámica normal de los carotenoides en organismos silvestres de *L. vannamei*.

Los resultados anteriores ponen de manifiesto la necesidad de investigar más sobre la cantidad y tipo de carotenoides presentes en las diferentes etapas de vida del camarón, desde la etapa de huevo hasta la de adulto, y propiamente de la especie que nos concierne, para poder tener una mejor idea de los requerimientos de estos compuestos en la formulación de las dietas.

Como era de esperarse, dados los antecedentes, los resultados del análisis corporal de los pigmentos encontrados en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* indicaron que la astaxantina fue el carotenoide dominante, representando en general del 83 al 90% del total de ellos, valores que se encuentran dentro de lo comúnmente encontrado en otras especies de camarón (Meyers y Latscha, 1997). Los resultados del análisis estadístico de la concentración de astaxantina en las postlarvas de los distintos tratamientos mostraron que no hubo diferencias significativas entre ellas.

Sin embargo, es importante hacer notar que para el caso de las postlarvas de los tratamientos sin nauplios de artemia, existió una tendencia hacia una mayor concentración de astaxantina según se incrementó el contenido de carotenoides de sus dietas. Así, las postlarvas del tratamiento con alimento peletizado con carotenoides (P+C) y las del tratamiento con alimento microparticulado (M) aumentaron de un 50 a un 87% su contenido de astaxantina al respecto de las postlarvas del tratamiento con alimento peletizado solamente (P). Lo anterior indica que los carotenoides dietarios fueron en algún grado metabolizados a astaxantina, por lo que es importante investigar más al respecto.

La dinámica de los procesos fisiológicos que involucran a los carotenoides en los diversos organismos del reino animal y en particular en los crustáceos, esta lejos de ser un asunto dilucidado definitivamente, y por lo tanto no conocemos con que velocidad se estén metabolizando en dichos procesos. Es decir que los carotenoides provenientes de cualquier fuente alimenticia no necesariamente pueden quedar como estructuras de reserva asociadas en los diferentes tejidos, lo que podría en parte explicar la falta de diferencias estadísticas en lo observado de la concentración de astaxantina de las postlarvas de este experimento.

No obstante, una mayor concentración de astaxantina en el cuerpo de las postlarvas pueden estar relacionadas con un incremento en la supervivencia, tal como se observó en este como en otros trabajos (Chien y Jeng, 1992; Negre-Sadargues *et al.* 1993; Thongrod *et al.* 1995; etc). Dicho desde otra perspectiva, es posible que las fuentes adicionales de carotenoides pudieran presentar diferente "calidad", dada su composición, en los distintos tratamientos.

Por otra parte, el aporte de astaxantina por parte de los nauplios de artemia es difícil dilucidarlo en los tratamientos que incluyeron la fuente adicional de carotenoides y en los tratamientos que incluyeron el microparticulado comercial, que también contenía una fuente de carotenoides importante. Al comparar los tratamientos P y P+A, la adición de los nauplios de artemia elevó los niveles de astaxantina, 6.5 y 10.1 $\mu\text{g/g}$ respectivamente.

Con relación a las formas de astaxantina depositadas en los organismos, en general, se observó una mayor concentración de las formas ésteres, en particular de la diester, en comparación a la forma libre de ésta. Esto concuerda con el estudio de Petit *et al.* (1991), quienes mencionan que *P japonicus* adquiere la capacidad para metabolizar pigmentos a partir del estadio postlarvario, cuando se desarrollan las vías de oxidación y esterificación de los carotenoides. Esto es diferente de lo que ocurre en las larvas nauplio, las cuales dependen de los pigmentos contenidos en las reservas vitelinas; y también de lo que sucede en las zoeas y mysis, quienes dependen de la composición pigmentaria de la dieta, ya sea microalgas, nauplios de artemia u otros. En estos, al parecer los pigmentos se almacenan sin transformar, según los altos niveles de astaxantina en su forma libre y de otros pigmentos comunes de los lotes alimenticios, encontrados como tales en las larvas.

Del resto de los carotenoides cuantificados en los organismos el β -caroteno fue el que se encontró en mayor proporción y concentración, pero sin diferencias significativas entre los tratamientos. Las postlarvas de los tratamientos con carotenoides adicionales mostraron una significativa mayor proporción y concentración de zeaxantina. En estos mismos tratamientos la luteína alcanzó también los mayores valores de concentración, aunque esta variación sólo fue significativa para el tratamiento P+C+A en el grupo de las postlarvas alimentadas con nauplios de artemia.

Lo anterior refleja en las postlarvas la composición de los carotenoides naturales adicionados al alimento, los cuales contienen luteína y una alta proporción de zeaxantina (75%) principalmente. Ambos pigmentos tienen la particularidad de estar más cercanos a la astaxantina, en comparación a otros como por ejemplo el β -caroteno, dentro de las vías metabólicas de los carotenoides para la formación de astaxantina en el camarón, por lo cual se consideran precursores más eficientes para esto. En este experimento, dada la tendencia ya comentada de una mayor concentración de astaxantina en las postlarvas de los tratamientos

Por otra parte, el aporte de astaxantina por parte de los nauplios de artemia es difícil dilucidarlo en los tratamientos que incluyeron la fuente adicional de carotenoides y en los tratamientos que incluyeron el microparticulado comercial, que también contenía una fuente de carotenoides importante. Al comparar los tratamientos P y P+A, la adición de los nauplios de artemia elevó los niveles de astaxantina, 6.5 y 10.1 $\mu\text{g/g}$ respectivamente.

Con relación a las formas de astaxantina depositadas en los organismos, en general, se observó una mayor concentración de las formas ésteres, en particular de la diester, en comparación a la forma libre de ésta. Esto concuerda con el estudio de Petit *et al.* (1991), quienes mencionan que *P japonicus* adquiere la capacidad para metabolizar pigmentos a partir del estadio postlarvario, cuando se desarrollan las vías de oxidación y esterificación de los carotenoides. Esto es diferente de lo que ocurre en las larvas nauplio, las cuales dependen de los pigmentos contenidos en las reservas vitelinas; y también de lo que sucede en las zoeas y mysis, quienes dependen de la composición pigmentaria de la dieta, ya sea microalgas, nauplios de artemia u otros. En estos, al parecer los pigmentos se almacenan sin transformar, según los altos niveles de astaxantina en su forma libre y de otros pigmentos comunes de los lotes alimenticios, encontrados como tales en las larvas.

Del resto de los carotenoides cuantificados en los organismos el β -caroteno fue el que se encontró en mayor proporción y concentración, pero sin diferencias significativas entre los tratamientos. Las postlarvas de los tratamientos con carotenoides adicionales mostraron una significativa mayor proporción y concentración de zeaxantina. En estos mismos tratamientos la luteína alcanzó también los mayores valores de concentración, aunque esta variación sólo fue significativa para el tratamiento P+C+A en el grupo de las postlarvas alimentadas con nauplios de artemia.

Lo anterior refleja en las postlarvas la composición de los carotenoides naturales adicionados al alimento, los cuales contienen luteína y una alta proporción de zeaxantina (75%) principalmente. Ambos pigmentos tienen la particularidad de estar más cercanos a la astaxantina, en comparación a otros como por ejemplo el β -caroteno, dentro de las vías metabólicas de los carotenoides para la formación de astaxantina en el camarón, por lo cual se consideran precursores más eficientes para esto. En este experimento, dada la tendencia ya comentada de una mayor concentración de astaxantina en las postlarvas de los tratamientos

con mayor contenido de carotenoides en sus dietas, puede decirse que la astaxantina presente en el alimento microparticulado (2.5%) fue asimilada, y que los precursores de la formación de astaxantina del alimento microparticulado y de los carotenoides naturales adicionados también fueron en algún grado metabolizados por los postlarvas. Lo anterior sugiere que debe trabajarse más en relación a determinar el tipo y la dosis adecuada de carotenoides en el alimento para postlarvas.

Ya se ha destacado que la crianza de las postlarvas en las operaciones comerciales se ha resuelto como una extensión de las estrategias de incubación, más que como una introducción a las etapas de precría y/o engorda, por lo que prevalece el uso de alimentos microparticulados y de nauplios de artemia para su alimentación. En particular, la importancia de estos últimos no puede soslayarse, como lo demuestra este experimento, donde en cada tratamiento en que los nauplios de artemia fueron utilizados, el peso individual de los organismos prácticamente dobló el peso de las postlarvas de los tratamientos en los que los nauplios de artemia no fueron incluidos en la dieta.

La importancia nutricional de los nauplios de artemia para la crianza de las larvas y postlarvas de camarones está muy bien documentada (Browdy *et al.*, 1989; Chen y Lin, 1992; Ogle y Beaugez, 1991) y su necesidad no está en duda. Lo que está en duda es hasta cuándo los laboratorios comerciales podrán soportar el uso de un insumo que cada vez es más escaso y costoso, que significa el rubro más alto en el renglón de los costos de alimentación en dichos laboratorios. Su sustitución con el incremento de las dosis de alimentos microparticulados, que también son caros dada su calidad, la cual a veces no es muy convincente, y su carácter de insumos que se producen en el extranjero, no puede resolver en la práctica el éxito de las operaciones comerciales.

La sustitución de los nauplios de artemia con otros zooplanctones, cultivados o silvestres, vivos o congelados, no han pasado de ser aproximaciones meramente experimentales, o acaso en escala piloto. Dicho de otra manera, el uso de los nauplios de artemia para lograr ciertos estándares de crecimiento en el cultivo de las postlarvas tempranas parece ser imprescindible. Sin embargo la situación económica actual demanda el ajuste de los modelos de producción para hacerlos más eficientes en su relación costo-beneficio. Aunque en este sentido la aproximación que logra este experimento es apenas incipiente, permite discutir

ciertos aspectos destacables.

Aunque los pesos promedio logrados por las postlarvas de los tratamientos que no incluyeron nauplios de artemia no están muy lejos de los observados en algunas operaciones comerciales, pueden dejarse de lado en esta discusión, ya que no representan una alternativa a considerar para una operación comercial, al menos si ésta ha de darse de manera óptima. Es decir, con algunas de esas alternativas puede lograrse una supervivencia adecuada pero con un tamaño final de las postlarvas relativamente pequeño, lo cual puede indicar una baja en la frecuencia de muda de los organismos.

Circunscribiendo el caso a los tratamientos en que se utilizaron los nauplios de artemia son destacables varios puntos:

Primero: El crecimiento logrado en los tratamientos M+A, P+A y P+C+A, no fueron estadísticamente diferentes.

Segundo: La sobrevivencia lograda en el tratamiento P+C+A es mayor a la lograda en los tratamientos P+A y M+A.

Tercero: El costo de un millar de postlarvas de una talla bastante aceptable en el contexto comercial, es 30% menor cuando se producen con la estrategia del tratamiento P+C+A que cuando se produce con el tratamiento M+A, es decir, el tratamiento de uso común en los laboratorios comerciales.

Por lo tanto en consideración a la relación costo beneficio del proceso, es factible reconsiderar el uso de los alimentos peletizados debidamente enriquecidos con carotenoides, como una alternativa a utilizar en las operaciones comerciales. Es importante mencionar que primero hay que resolver la ingeniería del proceso con las implicaciones sanitarias del uso de los mismos. Cabe pensar sin embargo, que si son utilizados racionalmente, su efecto sobre la calidad del agua del cultivo no puede ir más allá del que producen los alimentos microparticulados.

Anteriormente se ha utilizado la palabra “reconsiderar”, porque finalmente existen referencias bibliográficas sobre el uso de alimentos peletizados en la crianza de postlarvas tempranas en sistemas de precría intensivos, esto es, en sistemas separados del cultivo larvario (Samocho y Lawrence, 1992; Martínez-Córdova *et al.*, 1993), los cuales ante la demanda de postlarvas de mayor edad, han sido sustituidos por otros alimentos comerciales como los

ciertos aspectos destacables.

Aunque los pesos promedio logrados por las postlarvas de los tratamientos que no incluyeron nauplios de artemia no están muy lejos de los observados en algunas operaciones comerciales, pueden dejarse de lado en esta discusión, ya que no representan una alternativa a considerar para una operación comercial, al menos si ésta ha de darse de manera óptima. Es decir, con algunas de esas alternativas puede lograrse una supervivencia adecuada pero con un tamaño final de las postlarvas relativamente pequeño, lo cual puede indicar una baja en la frecuencia de muda de los organismos.

Circunscribiendo el caso a los tratamientos en que se utilizaron los nauplios de artemia son destacables varios puntos:

Primero: El crecimiento logrado en los tratamientos M+A, P+A y P+C+A, no fueron estadísticamente diferentes.

Segundo: La sobrevivencia lograda en el tratamiento P+C+A es mayor a la lograda en los tratamientos P+A y M+A.

Tercero: El costo de un millar de postlarvas de una talla bastante aceptable en el contexto comercial, es 30% menor cuando se producen con la estrategia del tratamiento P+C+A que cuando se produce con el tratamiento M+A, es decir, el tratamiento de uso común en los laboratorios comerciales.

Por lo tanto en consideración a la relación costo beneficio del proceso, es factible reconsiderar el uso de los alimentos peletizados debidamente enriquecidos con carotenoides, como una alternativa a utilizar en las operaciones comerciales. Es importante mencionar que primero hay que resolver la ingeniería del proceso con las implicaciones sanitarias del uso de los mismos. Cabe pensar sin embargo, que si son utilizados racionalmente, su efecto sobre la calidad del agua del cultivo no puede ir más allá del que producen los alimentos microparticulados.

Anteriormente se ha utilizado la palabra “reconsiderar”, porque finalmente existen referencias bibliográficas sobre el uso de alimentos peletizados en la crianza de postlarvas tempranas en sistemas de precría intensivos, esto es, en sistemas separados del cultivo larvario (Samocho y Lawrence, 1992; Martínez-Córdova *et al.*, 1993), los cuales ante la demanda de postlarvas de mayor edad, han sido sustituidos por otros alimentos comerciales como los

microparticulados para el mantenimiento de las postlarvas tempranas al final de los sistemas de cultivos larvarios. Finalmente es necesario abocarse a estudios de nutrición e ingeniería, que permitan proponer sistemas propios para cultivos de postlarvas tempranas, para que éstas dejen de ser lo que son en la actualidad, una extensión de los cultivos larvarios.

VII.- CONCLUSIONES.

1). Desde la perspectiva de los resultados obtenidos en este experimento, puede concluirse que la utilización del alimento balanceado enriquecido con una fuente natural de carotenoides produjo un incremento de la supervivencia en las poblaciones tratadas.

2). La supervivencia y las tallas obtenidas en las poblaciones de los tratamientos que utilizaron este alimento, permite concluir que esta estrategia puede representar una alternativa viable económicamente, ya que con un menor costo pueden lograrse los mismos rendimientos que los obtenidos con el uso de alimento microparticulado comercial.

3). Se observó una tendencia general hacia mayores niveles en la concentración de astaxantina en particular, y de carotenoides en general, en el cuerpo de las postlarvas, en relación a las dosis de carotenoides de los alimentos comerciales, por lo que puede concluirse que estas fuentes fueron en algún grado metabolizadas .

4). La utilización de los nauplios de artemia en la cría de las postlarvas tempranas, permitió la obtención de tallas mayores en las postlarvas producidas, con lo que se corrobora su carácter de la mejor alternativa para lograr a pesar de su alto costo, los mejores rendimientos en los modelos de producción comerciales.

VIII.- RECOMENDACIONES.

1). Realizar más estudios encaminados a conocer el tipo y concentración de los carotenoides en todas las etapas de vida del camarón, desde huevo hasta adulto reproductor, la dinámica de su papel en las diferentes funciones fisiológicas, y los efectos de los factores extrínsecos e intrínsecos en su metabolismo, para determinar los requerimientos de éstos .

2). En el caso de la fuente de carotenoides utilizada en este experimento, trabajar con dosis más altas para encontrar la dosis óptima de aplicación en el alimento balanceado y posteriormente llevar la prueba a una escala mayor.

3). Diseñar estrategias de cultivo propias para postlarvas tempranas, independientes del sistema de cultivo larvario, y que operen de manera eficiente en términos de costo-beneficio.

IX.- LITERATURA CITADA.

- Aguirre-Hinojosa, E.; M.A. López-Torres y M.C. Garza-Aguirre. 1999. Cultivo larvario de camarones peneidos. p: 67-104. En: L.R. Martínez-Cordova (Ed.), Cultivo de camarones peneidos. Principios y Prácticas. A.G.T. Editor S.A. México, D.F.
- Aguirre-Hinojosa, E. y M. C. Garza-Aguirre. 2000. Evaluación del uso de una fuente natural de carotenoides en el alimento balanceado, en una engorda comercial del camarón azul *Litopenaeus stylirostris*. DICTUS. Reporte Interno. 35 pp.
- Al-Khalifa, A.S. y K.L. Simpson. 1988. Metabolism of astaxanthin in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Comp. Biochem. Physiol., 91B: 563-568.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. ed. 15 pp
- Arango, G. 1996. Resumen de la evaluación sobre la utilización de astaxantina en nutrición de camarones. Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuícola 11-13 de Noviembre. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N.L. México.
- Badui, S. 1981. Química de los alimentos. Edit. Alhambra. 1er. Edición. México. 430. pp
- Badui, S. 1988. Diccionario de tecnología de los alimentos. Edit. Alhambra. 1er. Edición. México. pp 300.
- Bendich, A. 1989. Carotenoids and the immune response. J. Nutrition. 119:112-115.
- Britton, G. Ed. 1993. 10th International Symposium on Carotenoids. Pure and Applied Chemistry 66: 931-1076.
- Brock, J.A. y K. L. Main. 1994. A guide to the Common problems and Diseases of cultured *Penaeus vannamei*. Pg 180. The World Aquaculture Society. Press.The Oceanic Institute, E.U. pp 242.
- Browdy, C.L., A. Hadani, T.M. Samocha y L. Loya. 1989. An evaluation of frozen Artemia as a dietary supplement for the simulation of reproduction in Penaeid shrimp. p: 617-623 En: N. DePauw, E. Jasper, H. Ackerfors y N. Wilkins, (Eds.), Aquaculture –a biotechnology in progress. European Aquaculture Society, Bredene, Belgium.
- Chen, H-Y. y H-F. Lin. 1992. Effects of different Artemia diets on the growth and digestive enzyme activities of early post-larval *Penaeus monodon*. Asian Fisheries Science, 5: 73-81.

- Chew, W.P. 1995. Antioxidant vitamins affect food animal immunity and health. *J. Nutrition*, 125, 1804-1808.
- Chien, Y.H. y S.C. Jeng. 1992. Pigmentation of Kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes. *Aquaculture*, 102: 333-346.
- Chiu-Liao, I. y Y.H. Chien. 1996. The evolution of the grass Prawn (*Penaeus monodon*) Hatchery industry in Taiwan. *Aquaculture Engineering*, 15 (2): 111-131.
- Christiansen, R., O. Lie y O.J. Torrissen. 1994. Effect of astaxanthin and vitamin A on growth and survival of Atlantic salmon fry, *Salmo salar*. *Aquaculture Fish, Managements*, 25: 903-914.
- Clifford, H.C. 1997. Manual de operación para el manejo de Super Shrimp en estanques. Super Shrimp S.A. de C.V. 105 pp.
- Correa-Sandoval, F., L.F. Bucle-Ramírez y D. Voltolina-Lobina. 1993. The Biochemical composition of the cysts of the some mexican population of *Artemia franciscana* Kellog, 1906. *Comp. Biochem. Physiol.*, 104B(1): 163-167.
- Cruz-Suárez, L.E., U. Schols, D Ricque, M. Torres-Cardona. 1998a. The effect of dietary carotenoid pigment inclusion in terms of growth, survival, feed conversion and pigment concentration on *Penaeus stylirostris* juveniles. IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola Noviembre 15-18. La Paz B.C.S. México.
- Cruz-Suárez, L.E., L.O. Peña, U. Scholz, D. Ricque y M. Torres-Cardona. 1998b. Incorporation and conversion of a commercial dietary carotenoid pigment by *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* juveniles. IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola Noviembre 15-18. La Paz B.C.S. México.
- Czeczuga, B. 1979. *Hydrobiologia*. 64, 251-259.
- D'Abramo, L.R., N.A. Baum, C.E. Bordner y D.E. Conklin. 1983. Carotenoids as a source of pigmentation in juvenile lobsters fed a purified diet. *Can. J. Fish. Aquatic Scs.*, 40: 699-704.
- D'Abramo, L.R. y J.D. Castell. 1997. *Research Methodology in Crustacean Nutrition*. The World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana. E.U. pp. 587.
- Garmendia-Núñez, E.A. 1996. Las granjas acuícolas y su participación en el desarrollo regional. *Memorias del Foro Internacional de Camaronicultura 96*; Mazatlan, Sin., México; pp28.

- Garza-Aguirre, M.C. y E. Aguirre-Hinojosa. 2000. Efecto de la inclusión de una fuente natural de carotenoides en el alimento balanceado, sobre el crecimiento, la supervivencia y la pigmentación del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. DICTUS. Reporte Interno. 28 pp.
- High, M. 1995. El efecto de la astaxantina en la maduración del camarón, *Penaeus vannamei*. Tercer congreso ecuatoriano de acuicultura. Octubre 27 a Noviembre 1 de 1995. Poster.
- Holtschmit, M. K-H. 1995. Cultivo larvario de camarón. Curso Nacional Teórico-Práctico para la producción de postlarvas de camarón (*Penaeus vannamei*); Guaymas, Son. México; 25 pp.
- Howell, B. K. y A.D. Matthews. 1991. The carotenoids of wild and blue disease affected farmed tiger shrimp (*Penaeus monodon*, Fabricus). Cop. Bioche. Physiol., Vol. 98B 2/3: 375-379.
- Hudinaga, M. 1942. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate; Research Institute of Nippon Suivsan Kaisya Ltd. Tokyo. p 305-332.
- Krinsky, J.I. 1994. The biological properties of carotenoids. Pure Appl. Che. 66: 1003-1010.
- Kurmaly, K. y T. Latscha. 1993. Health and nutrition complete with astaxanthin Part I. Physiological functions. Aquaculture News, 1(1):3
- Kurmaly, K. 1993a. Increase in harvest yield and net benefit using Carophyll pink (astaxanthin), in shrimp feed. Aquaculture News, 2(1):1.
- Kurmaly, K. 1993b. Health and nutrition complete with astaxanthin. Part 1. Physiological functions. Aquaculture News, 1 (1):3.
- Kurmaly, K. 1994a. Commercial trial results with Carophyll pink (astaxantina) fed to *Penaeus monodon* in Chantaburi, Thailand. Aquaculture News, 3(1):1.
- Kurmaly, K. 1994b. Micro-ingredients and immune response. Roche. Aquaculture Center Far East. 32p.
- Kurmaly, K. 1994c. Mode of operation of Crophyll Pink (astaxanthin). Aquaculture News, 3 (1):1.
- Kurmaly, K. y F.C. Guo. 1995. Effect of enviromental stressors; High ammonia, low dissolved oxygen, low salinity, high salinity and low temperature shock on vitamin C and astaxanthin content of shrimp tissue. Roche Aquaculture Centre Far East (RACFE). Rovithai Ltd.

- Kurshize, M., E. Okiasu, E. Inoue y K. Utsuma. 1990. Inhibition of oxidative injury of biological membranes by astaxanthin. *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR* 22: 27-38.
- Latscha, T. 1989. The role of astaxanthin in shrimp pigmentation. *Advances in tropical Aquaculture. Aquacop. IFREMER. Actes de colloque* 9:319-325.
- Latscha, T. 1991a. Crustacean pigments. *Crustacean nutrition Newsletter*, 7(1):53-60.
- Latscha, T. 1991b. Carotenoids in aquatic animal nutrition. p:68-79. En: workshop. D.M Akiyama and R.K.H. Tan. (Eds.), *Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition American Soybean Association*.
- Leger, P. y P. Sorgeloos. 1992. Optimised feeding regimes in shrimp hatcheries. p 245-287 En: A.W. Fast and L.J. Lester, (Eds.), *Marine shrimp culture principles and practices*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Lehninger, A. 1976. *Biochemistry*. Second edition. Worth Publishers, Inc. EU. pp 1104.
- Linan-Cabello, A. y J. Paniagua-Michel. 1998. Carotenoides como precursores de moléculas bioactivas de la maduración en *Penaeus vannamei*. IV Simposium Internacional de Nutrición Acuicola, Noviembre 15-18. La Paz B.C.S. México.
- López-Torres, M.A. 1997. Bacterias asociadas con quistes comerciales de *Artemia franciscana* cultivadas en el medio selectivo TCBS. Tesis de Maestría. CICESE, 113 pp.
- Martínez-Córdova, L.R., E. Aguirre-Hinojosa y H. Duarte-Moreno. 1993. Sistemas de cultivo de camarón. p:41-117. En: L.R. Martínez-Cordova (Ed.), *Camaronicultura: Bases técnicas y científicas para el cultivo de camarones peneidos*. A.G.T. Editor S.A. México, D.F.
- Maugle, P., T. Kamata, S. McLem, K.L. Simpson y T. Katayama. 1980. The influence of eyestalk ablation on the carotenoid composition of juvenile *Macrobrachium rosenbergii*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 46: 901-904.
- McKay, C. 1987. The effectiveness of a dietary astaxanthin supplement in respect to the pigmentation and growth response in the American lobster, *Homarus americanus*. *Crustacean Nutrition Newsletter*, 4 (1) 5-6.
- McVey, J.P. y J. Fox. 1983. Hatchery Techniques for penaeid shrimp utilized by Texas A & M – NMFS. Galveston laboratory program. p:127-154. En: J.P. McVey, (Ed.), *CRC Handbook of Mariculture, Vol I, Crustacean Aquaculture*, CRC Press, Inc., Florida.

- Menasveta, P. 1993. Biological benefits of carotenoids: Astaxanthin. Feed production tomorrow. II: Animal nutrition victam international, 26th October 1993. Bangkok, Thailand. 18 p.
- Menasveta, P.W., T. Latscha y J.S. Clark. 1993. Correction of black tiger prawn (*Penaeus monodon*. Fabricius) coloration by astaxanthin. Aquaculture Engineering, 12(4): 203-213.
- Meyers, S.P. y T. Latscha. 1997. Carotenoids in crustacean nutritionp: 164-193. En: D. D'Abramo , D. Conklin and D. Ageuyaa (Eds.), Crustacean Nutrition: Advances in World Aquaculture. Vol. 6 (eds.) World Aquaculture Society : 164-193.
- Miki, W. 1991. Biological functions and activities of animal carotenoids. Pure. Appl. Chem., 63(1):141-146.
- Miki, W., N. Otaki, N. Shimidzu y A. Yokoyama. 1994. Carotenoids as free radical scavengers in marine animals. J. Mar. Biotech., (2):35-37.
- National Research Council. 1983. Nutrient Requeriment of domestic animals. Nutrient requeriments of Warmwater Fishes and Shell-fishes. National Academy Press, Washington, DC. 102 pp.
- National Research Council. 1987. Vitamin tolerance of animals. National Academy Press, Washington, DC. 96 pp.
- Negre-Sadargues, G., R. Castillo, H. Petit, S. Sance, R. Goetz, J. Milicuac, G. Choubert y J. Trilles. 1993. Utilization of synthetic carotenoids by the prawn *Penaeus japonicus* reared under laboratory conditions. Aquaculture, 110: 151-159.
- Nelis, H.C., H. Chen, P. Sorgelos, P.A. Jonckheere, G.R. Criel. y A.P. De Leenchee. 1988. Quantitative and qualitative changes in the carotenoids during development of the brine shrimp *Artemia*. J. Lipid Res., 29: 491-499.
- Ogle, J.T. y K. Beaugez. 1991. Food preference of *Penaeus vannamei*. Gulf Research Reports, 8 (3): 291-294.
- Okada, S.A., Nur-E.-Borhan y K.Y. Yamaguchi. 1995. Carotenoproteins from the exoskeleton and the muscular epithelium of the black tiger prawn *Penaeus monodon*. Fish. Sci., 61:337-343.
- Palozza, P. y N.I. Krinsky. 1992. Antioxidant effect of carotenoids in vitro and in vivo: An overview. Methods Enzymol., 213: 403-421.
- Pedraza, L.J.C., H. Rey y G. Arango. 1996. Efecto de la astaxantina en la producción de camarones, *Penaeus vannamei*, a dos densidades de siembra. In. Proyecto Carophyll

pink en camarones. Oceanos-Productos Roche Colombia Roche Ecuador. Cartagena, Colombia.

- Petit, H., S. Sance, G. Negre-Sadargues, R. Castillo. y J.P. Trilles. 1991. Ontogeny of carotenoid metabolis in the prawn *Penaeus japonicus* Bate 1888 (Crustacea Penaeidae). A qualitative approach. Cop. Biochem. Physiol., 99B: 667-671.
- Samocha, T.M. y A.L. Lawrence. 1992. Shrimp nursery systems and management. p:87-105 En: J. Wyban,. (Ed.), Proceeding of the Special Session on Shrimp Farming. World Aquaculture Society, Baton Rouge, L.A. U.S.A.
- Sandifer, P.A., J.S. Hopkins. y A.D. Stokes. 1988. Intensive culture potential of *Penaeus vannamei*; J. World Aquaculture Soc., 2, (18): 94-100.
- Scholz, U., G. García-Díaz, D. Ricque, L.E. Cruz-Suárez, F. Vargas-Albores, y J. Latchford. 1999. Enhancement of vibriosis resistance in juvenile *Penaeus vannamei* by supplementation of diets with different yeast products. Aquaculture, 176: 271-283.
- Sorgeloos, P., E. Bossuy, P. Lavens, P. Leger, P. Vanhaecke y D. Versichele. 1983. The use of brine shrimp *Artemia* in crustacean hatcheries and nurseries. p: 71-96. En J.P. McVey, (Ed.), Handbook of mariculture, Volume I, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Sorgeloos, P., P. Lavens, P. Leger, W. Tackaert y D. Versichele. 1986. Manual for the culture and use of brine shrimp *artemia* in aquaculture. The Belgian Administration for Development Cooperation / The Food and Agriculture Organization of the United Nations. 319 pp.
- Tacon, A.G.J. 1981. Speculative review of possible carotenoid function in fish. Prog. Fish Culturist, 43: 205-207.
- Thompson, I., G. Choubert, D.F. Houlihan y C.J. Secoes. 1995. The effect of dietary vitamin A and astaxanthin on the immunocompetence of the rainbow trout. Aquaculture, 133: 91-102.
- Thongrod, S., A. Tansutapanich y O.J. Torrissen. 1995. Effect of dietary astaxanthin supplementation on accumulation, survival and growth in postlarvae of *Penaeus monodon* Fabricius. p:251-254. En: P. Lavens, E. Jasper, y I. Roelants (Ed.), Larvi '95- Fish and Shellfish larviculture Symposium.
- Torrissen, O.J., 1989. Pigmentation of salmonids: interaction of astaxanthin and canthaxanthin on pigment deposition in rainbow trout. Aquaculture, 79: 363-374.

- Watson, R. y D. Earnest. 1993. En Nutrient modulation of the immune response. Edited by Sussana Cunningham. The New York Hospital, Council University Medical Center. New York. 63-73 p.
- Webster, C.D. y R.T. Lovell. 1990. Quality evaluation of four sources of brine shrimp *Artemia spp.* J. World Aquaculture Soc., 21(3):180-185
- Wilkenfeld, J.S. 1992. Commercial hatchery status report: an industry panel viewpoint.; Wyban J. editor; Proceedings of the special session on shrimp farming. World Aquaculture Society. Baton Rouge, LA.USA. p 71-83.
- Wyban, J.A. y J.N. Sweeney. 1991. Intensive Shrimp Production Technology. The Oceanic Institute. Makapuu Point, Honolulu, Hawaii. USA. 137 pp.
- Wyban, J.A., G. Martínez y J. N. Sweeney. 1997. Adding páprika to *Penaeus vannamei* maturation diet improves nauplii quality. World Aquaculture (June):59-62.
- Yamada, S., Y. Tanaka., M. Sameshima e Y. Ito. 1990. Pigmentation of prawns (*Penaeus japonicus*) whit carotenoids I. Effects of dietary astaxanthin, beta-carotene and cantaxanthin on pigmentation. Aquaculture, 87:323-330
- Zar, H.J. 1974. Bioestatalistical analysis. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs N.J. E.U.A. 619 pp.

X.- APÉNDICE.

Tabla I.- Resumen del análisis de varianza realizado para el crecimiento en peso de las postlarvas de *Litopenaeus vannamei*.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Alimentos formulados	4.53E-06	2	2.265E-06	2.368	0.135
Artemia	7.770E-05	1	7.7709E-05	1.084	1.084E-06
Interacción entre los Alimentos y Artemia	1.877E-07	2	9.388E-08	1.517	0.258
Error	1.147E-05	12	9.561E-07		
Total	0.0000939	17			

$p \leq 0.05$ indica diferencia significativa.

Tabla II.- Resumen del análisis de varianza de dos vías para la supervivencia de las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* entre los diferentes tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Alimentos formulados	1018.98	2	509.49	20.423	3.82E-07
Artemia	45.81	1	45.81	1.836	0.182
Interacción entre los Alimentos y Artemia	199.49	2	99.75	3.998	0.065
Error	1197.45	48	24.95		
Total	2461.73	53			

$p \leq 0.05$ indica diferencia significativa.

Tabla III.- Resumen del análisis de varianza de dos vías sin réplica para la concentración promedio ($\mu\text{g/g}$) de carotenoides en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* en los diferentes tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Alimentos formulados	0.3267	2	0.1633	0.7135	0.5835
Artemia	0.4662	1	0.4662	2.0359	0.2897
Error	0.4580	2	0.2290		
Total	1.2509	5			

$P \leq 0.05$: indica diferencia significativa.

Tabla IV.- Resumen del análisis de varianza de dos vías sin réplica para la concentración ($\mu\text{g/g}$) de la astaxantina en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* de los distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Alimentos formulados	19.2924	2	9.642	8.3192	0.1073
Artemia	5.0416	1	5.041	4.3481	0.1723
Error	2.3189	2	1.159		
Total	26.6529	5			

$P \leq 0.05$: indica diferencia significativa.

Tabla V.- Resumen del análisis de varianza de dos vías sin réplica para la concentración ($\mu\text{g/g}$) del β -caroteno en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* de los distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Alimentos formulados	0.3267	2	0.163	0.7135	0.5835
Artemia	0.4662	1	0.466	2.0359	0.2897
Error	0.4580	2	0.229		
Total	1.2509	5			

$P \leq 0.05$: indica diferencia significativa.

Tabla VI.- Resumen del análisis de varianza de dos vías sin réplica para la concentración ($\mu\text{g/g}$) de la zeaxantina en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* de los distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Alimentos formulados	0.0133	2	0.0066	35.6492	0.0272
Artemia	0.0005	1	0.0005	3.2101	0.2150
Error	0.0003	2	0.0001		
Total	0.0141	5			

$P \leq 0.05$: indica diferencia significativa.

Tabla VII.- Resumen del análisis de varianza de dos vías sin réplica para la concentración ($\mu\text{g/g}$) de la luteína en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* en los distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Alimentos formulados	0.0062	2	0.0031	1025.823	0.0009
Artemia	0.0013	1	0.0013	429.9624	0.0023
Error	6.0656E-06	2	3.0328E-06		
Total	0.0075	5			

$P \leq 0.05$: indica diferencia significativa.

Tabla VIII.- Resumen del análisis de varianza de dos vías sin réplica para la concentración ($\mu\text{g/g}$) de los carotenoides no identificados en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* en los distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Alimentos formulados	0.5170	2	0.2585	0.46.29	0.6835
Artemia	0.1958	1	0.1958	0.3506	0.6137
Error	1.1169	2	0.5584		
Total	1.8297	5			

$P \leq 0.05$: indica diferencia significativa.

Tabla IX.- Resumen del análisis de varianza de dos vías sin réplica para la concentración ($\mu\text{g/g}$) de la astaxantina monoéster en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* en los distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Alimentos formulados	4.3126	2	2.156	22.7362	0.0421
Artemia	5.0462	1	5.046	53.2069	0.0182
Error	0.1896	2	0.094		
Total	9.4485	5			

$P \leq 0.05$: indica diferencia significativa.

Tabla X.- Resumen del análisis de varianza de dos vías sin réplica para la concentración ($\mu\text{g/g}$) de la astaxantina diéster en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* en los distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Alimentos formulados	8.5372	2	4.268	9.5085	0.9051
Artemia	0.0135	1	0.013	0.0302	0.8779
Error	0.8978	2	0.448		
Total	9.4486	5			

$P \leq 0.05$: indica diferencia significativa.

Tabla XI.- Resumen del análisis de varianza de dos vías sin réplica para la concentración ($\mu\text{g/g}$) de la astaxantina libre en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* en los distintos tratamientos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	P
Alimentos formulados	0.0801	2	0.040	2.3619	0.2974
Artemia	0.0138	1	0.013	0.8143	0.4620
Error	0.0339	2	0.016		
Total	0.1278	5			

$P \leq 0.05$: indica diferencia significativa.