



**EFECTO DE LAS XANTOFILAS DE LA FLOR DE CEMPASÚCHIL *Tagetes erecta* L. EN LA ACUMULACIÓN DE ASTAXANTINA Y LA SOBREVIVENCIA DE POSTLARVAS DEL CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)**

**THE EFFECT OF XANTOPHYLLS OF MARIGOLD *Tagetes erecta* L. FLOWER ON ASTAXANTHIN ACCUMULATION AND SURVIVAL OF WHITE SHRIMP POSTLARVAE *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)**

E. Aguirre-Hinojosa<sup>1,2</sup>, P. Piña-Valdez<sup>1\*</sup>, M. C. Garza-Aguirre<sup>1,2</sup>, L. D. Guzmán-Ramírez<sup>2</sup>, R. Montoya-Olvera<sup>3</sup>, J. O. Torres-Quiroga<sup>3</sup> y M. Nieves-Soto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa Regional del Noroeste para el Doctorado en Biotecnología, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán Sinaloa, México

<sup>2</sup>Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, México. <sup>3</sup>Industrial Orgánica S.A. de C.V. Monterrey, N. L. México

Recibido 15 de Febrero 2012; Aceptado 30 de Abril 2012

## Resumen

Un lote de alimento comercial utilizado para el mantenimiento de camarones peneidos en cultivos intensivos, fue suplementado con xantofilas extraídas industrialmente de la flor del cempasúchil *Tagetes erecta*, para producir pellets con una concentración total de carotenoides de 150 ppm, los cuales fueron utilizados para alimentar postlarvas (PL<sub>7</sub>, 0.78 mg) de *Litopenaeus vannamei*. La dieta suplementada produjo un incremento de la concentración total de carotenoides en el cuerpo de las postlarvas, debido al aumento efectivo de la concentración de astaxantina, en comparación con las postlarvas alimentadas con la dieta control no suplementada. Independientemente de la dieta utilizada, al final del periodo de alimentación la astaxantina representó más del 85% de la concentración total de carotenoides en el cuerpo de los camarones, mientras que el betacaroteno, la luteína, la zeaxantina y otros carotenoides no identificados, constituyeron la menor parte. En todas las muestras analizadas, más del 90% de la astaxantina se encontró en forma esterificada. Estos resultados indican que *L. vannamei* puede metabolizar las xantofilas precursoras dietarias para producir la astaxantina. En general se observó un incremento de la sobrevivencia en los grupos de postlarvas alimentadas con la dieta suplementada con xantofilas en comparación con aquellas alimentadas con la dieta control. Efectos similares en la respuesta pigmentaria y la sobrevivencia fueron observados en las postlarvas que incluyeron nauplios de artemia en su alimentación.

**Palabras clave:** zeaxantina, cempasúchil, astaxantina, vannamei, sobrevivencia.

## Abstract

A batch of commercial feed used to maintain shrimps in intensive farming systems, was supplemented with xanthophylls industrially extracted from marigold *T. erecta* flowers to produce pellets with 150 ppm of total carotenoid concentration, which were used to feed *Litopenaeus vannamei* postlarvae (PL<sub>7</sub>, 0.78 mg). The supplemented diet increased the total carotenoid concentration in postlarvae, due to a real increase in the accumulation of astaxanthin, compared to those fed with the no supplemented control diet. Regardless the diet, the astaxanthin concentration post-feeding accounted for more than 85% of the total carotenoid concentration in shrimp, while betacarotene, zeaxanthin, lutein, and other non-identifiable carotenoids comprised a minority of the total concentration. In all analyzed samples, more than 90% of astaxanthin was in esterified form. This result indicates that *L. vannamei* can metabolize precursor dietary xanthophylls to produce the astaxanthin. In general, improved survival was seen in postlarvae groups fed with supplemented diets compared to groups fed with the control diet. Similar effects were seen in postlarvae, which included artemia nauplii in their diet.

**Keywords:** zeaxanthin, marigold, astaxanthin, vannamei, survival.

\*Autor para la correspondencia. E-mail: pablopina@live.com.mx

## 1 Introducción

La astaxantina es el carotenoide más abundante en el cuerpo de algunas especies de camarones peneidos, que al igual que otros crustáceos que no pueden sintetizarla *de novo*, deben obtenerla de su dieta, ya sea en forma directa o producirla metabólicamente a partir de precursores moleculares cercanos (Meyers y Latscha, 1997; Maoka, 2011).

La astaxantina es el carotenoide con mayor actividad antioxidante que se conoce en la naturaleza. Su potencial como agente quelatador de productos tóxicos del metabolismo intracelular es mayor que el de la vitamina E (Miki, 1991), su actividad inhibe la peroxidación lipídica mitocondrial y contribuye a la estabilidad de la membrana celular (Goto y col., 2001). En el caso de camarones cultivados, la deficiencia dietética de este pigmento se ha relacionado con respuestas de baja calidad en el desempeño productivo y la manifestación de algunas enfermedades (Howell y Matthews, 1991; Kurmaly, 1993; Arango, 1999).

En el cultivo intensivo comercial de las larvas zoeas y mysis de *Litopenaeus vannamei*, los requerimientos pigmentarios son resueltos tanto por los carotenoides naturales encontrados en las microalgas y nauplios de artemia utilizados como alimento vivo, como por las altas concentraciones de astaxantina sintética o natural incluidas en algunos alimentos particulados comúnmente utilizados en estos sistemas de producción. Una vez que las mysis se transforman en postlarvas, éstas son mantenidas en los laboratorios de producción durante unos días más, hasta que se obtiene la talla requerida para la siembra en los estanques de engorda. Durante esta etapa, las postlarvas son cultivadas en estanques de precría bajo techo, donde el consumo de alimento inerte se incrementa considerablemente y puede llegar a constituir la única fuente de pigmentos, una vez que se suspende el suministro de los nauplios de artemia.

La astaxantina comercial sintética o natural incluida en el alimento inerte es un insumo de alto costo, lo que ha estimulado la investigación sobre el uso de carotenoides precursores de la misma, para sustituirla como fuente pigmentaria en la dietas para peneidos (Boonyaratpalin y col., 2001). De hecho, en investigaciones en las que se utilizaron mezclas de carotenoides de origen natural extraídos de diferentes fuentes vegetales, se han registrado algunos resultados positivos (Liao y col., 1993; Göçer y col., 2006; Lucien-Brun y Vidal, 2006).

Entre las fuentes pigmentarias precursoras de astaxantina investigadas se encuentra la flor del

campasúchil *Tagetes erecta*. Actualmente, los concentrados de xantofilas incluidas en aceite vegetal, producidos mediante el procesamiento industrial de estas flores, son utilizados comercialmente como agentes nutracéuticos o como suplementos de los alimentos balanceados utilizados en la avicultura (Del-Villar-Martínez y col., 2007) y podrían constituir también una alternativa acuicultural en caso de definirse su utilidad como agentes pigmentantes.

En una investigación inicial sobre el tema, Vernon-Carter y col. (1996) demostraron que una dieta suplementada con una oleoresina rica en luteína extraída de la flor de *T. erecta*, produjo una mayor sobrevivencia asociada a un aumento en la concentración total de carotenoides en juveniles de *L. vannamei*. Resultados similares fueron observados por Arredondo-Figueroa y col. (2003) utilizando una dieta suplementada con extractos saponificados del chile rojo *Capsicum annum*. Aunque los autores de ambas investigaciones sugirieron que los carotenoides precursores fueron transformados en astaxantina por los sujetos experimentales, en ningún caso se comprobó tal consideración, lo que podría haber definido mejor el alcance de la alternativa, no solo en términos de desempeño productivo, sino en el de los requerimientos del mercado internacional de insumos pigmentantes para la acuicultura.

Con base en los antecedentes anteriores se desarrolló esta investigación, para analizar los efectos de una dieta comercial suplementada con un extracto de carotenoides rico en zeaxantina, obtenido industrialmente de la flor del campasúchil *T. erecta*, sobre la sobrevivencia, el peso final, la concentración total de carotenoides y la concentración de astaxantina en postlarvas de *L. vannamei*.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Elaboración del alimento balanceado

Un concentrado de xantofilas incluidas en aceite vegetal, extraídas industrialmente de la flor de campasúchil *Tagetes erecta*, fue adicionado a un lote de un alimento comercial distribuido en el mercado como dieta de iniciación para el cultivo intensivo de camarones peneidos, con el fin de incrementar su concentración total de carotenoides hasta 150 ppm.

El producto utilizado como suplemento pigmentario tuvo las siguientes especificaciones: Hi Zea® US pat. 5523494 y 5959138, Industrial Orgánica, S.A. de C.V. 30000 ppm de xantofilas, con

Tabla 1. Tamaño de las partículas y ración diaria del alimento balanceado

Edad de las postlarvas	Diámetro de las partículas ( $\mu\text{m}$ )	Ración diaria ( $\text{g}\cdot 1000\text{PL}^{-1}$ )
PL <sub>7</sub> -PL <sub>8</sub>	425	0.64
PL <sub>9</sub> -PL <sub>12</sub>	500	1.2
PL <sub>13</sub> -PL <sub>17</sub>	500	1.8

75% de diésteres de cadena corta de zeaxantina, y el resto de la composición porcentual conformado por otros carotenoides sin la presencia de astaxantina. La cantidad requerida fue dispersada uniformemente en el aceite de pescado incluido en la formulación comercial, por lo que fue agregado como parte de los ingredientes líquidos del alimento.

De un lote de al menos una tonelada del alimento comercial suplementado con xantofilas, y de otro lote de alimento comercial sin suplementar, se seleccionaron al azar 5 kg de pellets en cada caso, de los que se obtuvieron las raciones de alimento inerte que fueron utilizadas en esta investigación para alimentar postlarvas de *L. vannamei*, de acuerdo al diseño experimental que se describe más adelante. Los alimentos fueron quebrados y tamizados para obtener los diferentes tamaños de partícula requeridos (Tabla 1), y fueron almacenados en un ambiente oscuro y seco, antes y durante el desarrollo del experimento.

De acuerdo a los análisis correspondientes (AOAC, 1995), la composición proximal registrada para el alimento comercial no suplementado, con 40% de proteína, 8% de grasa, 4% de fibra cruda y 10% de ceniza, no fue modificada por la adición de la fuente pigmentaria. El contenido total de carotenoides en el alimento no suplementado fue de 4 ppm, según el análisis que se describe mas adelante en este escrito. Después del secado del alimento, la concentración total de xantofilas en los pellets disminuyó en un 8% hasta las 138 ppm.

## 2.2 Diseño del experimento

Treinta y seis grupos de 4500 postlarvas (PL<sub>7</sub>) de camarón blanco *L. vannamei* cada uno, fueron colectados de un estanque de producción de una incubadora comercial en el NO del estado de Sonora, México, y sembrados por separado en acuarios de fibra de vidrio con 90 litros de agua proveniente de un pozo costero, con salinidad de 37 ups, filtrada por un sistema de cartuchos hasta de 5  $\mu\text{m}$  y calentada a 28 °C. Los organismos experimentales se mantuvieron

en estas condiciones durante un periodo de diez días según el siguiente diseño experimental de cuatro tratamientos (T) y nueve repeticiones, de acuerdo a la dieta utilizada: TI, dieta control de alimento comercial no suplementado con xantofilas (DC); TII, dieta de alimento comercial y nauplios de artemia vivos (DC-A); TIII, dieta de alimento comercial suplementado con xantofilas (DC-150X) y TIV, dieta de alimento comercial suplementado con xantofilas y nauplios de artemia vivos (DC-150X-A).

El diámetro de las partículas del alimento balanceado y la ración diaria, se establecieron de acuerdo a las relaciones mostradas en la Tabla 1. La ración diaria se dividió en cuatro porciones iguales que se aplicaron cada seis horas, y cada 12 horas se hizo el ajuste necesario para mantener la concentración de nauplios de artemia en una densidad de 2 nauplios por mililitro. Durante el transcurso del experimento no se manipularon las postlarvas para evitar la mortalidad debida al manejo de las poblaciones, por lo que la ración alimenticia fue establecida de acuerdo al número original de organismos sembrados en cada acuario.

Diariamente, los restos de alimentos y heces fecales del acuario fueron retirados con la ayuda de un sifón y un tamiz para impedir la pérdida de postlarvas y se recambió el 80% del agua, la cual se mantuvo con aireación moderada y a 28 °C durante todo el experimento mediante el uso de calentadores de inmersión.

Al final del experimento se contaron todos los organismos de cada unidad experimental para evaluar la sobrevivencia mediante la relación:

$$\% \text{Sobrevivencia} = Nf(100)/Ni$$

donde,  $Ni$  es el número inicial de organismos y  $Nf$  el número final.

Para obtener el peso final se colectó un grupo de al menos 1500 individuos de cada unidad experimental, a los que les fue retirado el exceso de agua mediante el uso de papel secante para después pesarlos en una balanza analítica con el fin de estimar el peso individual promedio, mediante la división del peso total obtenido entre el número de organismos de la muestra. Posteriormente, los mismos grupos fueron utilizados para conformar una muestra única para cada tratamiento, a la que se le determinó la concentración total de carotenoides y el perfil pigmentario mediante los procedimientos que se describen más adelante.

### 2.3 Análisis del perfil pigmentario

La identificación y cuantificación de los diversos carotenoides fue hecha mediante análisis de Espectrofotometría y Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC por sus siglas en inglés) tal y como es descrito en detalle en antecedentes publicados al respecto para diferentes especies de invertebrados marinos (Boonyaratpalin y col., 2001; Plank y col., 2002).

La muestra única de postlarvas de cada tratamiento fue macerada en un mortero de porcelana hasta formar una pasta fina. Posteriormente, fracciones de pasta homogenizada con al menos 1 gm de peso, se colocaron en matraces donde los carotenoides fueron extraídos con acetona y transferidos a hexano; enseguida, la solución se dejó reposar protegida de la luz hasta la clarificación de la fase de hexano. El procedimiento se repitió dos veces. Los extractos en hexano se transfirieron a un matraz al que se le adicionó  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, posteriormente se aforó con hexano y se registró el volumen de la solución. Finalmente se determinó la concentración total de carotenoides espectrofotométricamente a 470 nm, utilizando un coeficiente de extinción específico de  $E_{1\%,1\text{cm}} = 2100$  (Weber, 1988) de acuerdo al siguiente cálculo, considerando la astaxantina como el pigmento principal:

$$\mu\text{gCarotenoides/gM} = (\text{Abs} \times \text{FD} \times \text{V}) / (2100 \times \text{gM})$$

donde,

Abs: Absorbancia de la solución de hexano a 470 nm.

FD: Factor de dilución.

V: Volumen.

2100: Absortividad de Astaxantina en hexano, y

g M: Gramos de muestra analizada.

Para el análisis del perfil pigmentario, llevado a cabo con un gramo de pasta elaborada según las especificaciones de la sección anterior, una porción de 20 ml de la solución de hexano fue evaporada a sequedad en una atmósfera de nitrógeno y posteriormente el residuo fue diluido en 2 ml de la fase móvil hexano:acetona (86:14 v/v); la solución se filtró con una membrana de 0.2  $\mu\text{m}$ , para después proceder al análisis cromatográfico que fue hecho con un equipo Beckman System Gold modelo 126, equipado con dos bombas y con un detector arreglo de diodos modelo 168, con una pre-columna Beckman (Si60Å, 5 $\mu\text{m}$ ) de 100  $\times$  4.6 mm y una columna Phenomenex (Si60 Å, 5 $\mu\text{m}$ ) de 250  $\times$  4.6 mm tratada con  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . El volumen de la inyección de la fase

móvil fué de 10  $\mu\text{l}$  y la tasa de flujo fue de 1.5  $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . La detección se hizo a 470 nm para facilitar la identificación de betacaroteno, luteína y zeaxantina. La identificación de carotenoides se realizó mediante coinyección, comparación y correlación de espectros de absorción visible y por comparación de tiempos de retención de estándares comerciales o caracterizados espectroscópicamente (Industrial Orgánica, S.A. de C.V.). Los pigmentos fueron cuantificados utilizando la técnica de normalización interna en la que el área del analito es comparada con el área total de todos los picos presentes en la muestra (Britton, 1995).

Cada muestra fue analizada por duplicado. El alimento inerte fue analizado con los mismos procedimientos.

### 2.4 Análisis estadístico

Se hicieron análisis de varianza paramétricos de una sola vía (ANOVA), una vez que se comprobó la homoscedasticidad y la normalidad de los datos, para establecer la significancia estadística ( $P < 0.05$ ) de las diferencias observadas en la media del porcentaje de sobrevivencia y el peso promedio final. Previamente los porcentajes de sobrevivencia fueron transformados a valores arcoseno. Los análisis a posteriori para la comparación de pares de tratamientos, se llevaron a cabo utilizando la prueba Student-Newman-Keuls ( $P < 0.05$ ) (Zar, 1999). Los análisis estadísticos se hicieron con el software Sigma-Stat 3.5 (SISTAT).

## 3 Resultados

La dieta de alimento comercial suplementado con xantofilas (TIII: DC-150X), así como la dieta de alimento comercial no suplementado mas nauplios de artemia (TII: DC-A), produjeron un incremento significativo de la sobrevivencia de las poblaciones experimentales (Tabla 2). Se observó además un efecto acumulativo del uso conjunto de las xantofilas y los nauplios de artemia, ya que la mayor sobrevivencia se registró en las poblaciones que recibieron ambas fuentes alimenticias adicionales (TIV: DC-150X-A). El peso individual promedio final, fue más alto en las poblaciones que recibieron nauplios de artemia, independientemente de haber recibido o no el alimento comercial suplementado con xantofilas (TII: DC-A y TIV: DC-150X-A), con valores que prácticamente doblaron el peso registrado para las poblaciones que no consumieron nauplios (TI: DC y TIII: DC-150X).

Tabla 2. Porcentaje de sobrevivencia, peso promedio final y respuesta pigmentaria en las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* al final del experimento.

	TI (DC)	TII (DC-A)	TIII (DC-150X)	TIV (DC-150X-A)
<b>Desempeño productivo</b>				
Número inicial	4500	4500	4500	4500
Sobrevivencia (%)	66.4 <sup>a</sup> ±1.7	80.2 <sup>b</sup> ±3.8	87.1 <sup>c</sup> ±2.8	91.6 <sup>d</sup> ±2.0
Peso promedio inicial (mg)	0.78±0.14	0.78±0.14	0.78±0.14	0.78±0.14
Peso promedio final (mg)	4.18 <sup>a</sup> ±0.20	8.17 <sup>b</sup> ±0.24	4.18 <sup>a</sup> ±0.15	8.14 <sup>b</sup> ±0.18
<b>Respuesta pigmentaria</b>				
Carotenoides totales ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	7.5	10.9	11.2	12.4
% de Astaxantina	85.7	89.5	89.9	85.9
% de Zeaxantina	< 1	< 1	< 1	< 1
% de Luteína	< 1	< 1	< 1	< 1
% de Betacaroteno	8.4	8.1	8.0	7.7
% de otros no identificados	4.8	0.6	1.6	4.8
<b>Acumulación de astaxantina</b>				
Astaxantina total ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	6.4	9.8	10.1	10.7
% Astaxantina esterificada	90.4	92.4	93.0	94.0
% Astaxantina libre	9.6	7.6	7.0	6.0

La concentración total de carotenoides registrada en las postlarvas que no recibieron ni la fuente adicional de pigmentos ni nauplios de artemia (TI: DC) (Tabla 2), fue notablemente más baja que la observada en las poblaciones restantes. Tanto la adición de xantofilas como la de nauplios de artemia, por separado, determinaron una mayor concentración de carotenoides totales en los organismos experimentales (TII: DC-A y TIII: DC-150X), la cual alcanzó su mayor valor en las poblaciones que recibieron ambos insumos al mismo tiempo (TIV: DC-150X-A). En todos los casos, el incremento de la concentración total de carotenoides se debió a un aumento efectivo en la acumulación de astaxantina, que conformó entre el 86 y el 90% de la concentración de carotenoides totales en el cuerpo de las postlarvas de cualquiera de los tratamientos (Tabla 2), mientras que el betacaroteno, la zeaxantina, la luteína y otros carotenoides no identificados, tuvieron contribuciones menores. En todas las muestras analizadas, la concentración de astaxantina esterificada resultó ser mayor que la de su forma libre, ya que se registraron valores superiores al 90% en todos los casos. (Tabla 2).

## 4 Discusión

Los resultados de esta investigación demuestran que las xantofilas naturales extraídas de *T. erecta*,

incluidas en el alimento balanceado como suplemento pigmentario, fueron transformadas en astaxantina por las postlarvas de *L. vannamei*. Lo anterior comprueba lo sugerido en investigaciones precedentes con juveniles de esta misma especie, que consumieron dietas suplementadas con fuentes pigmentarias similares (Vernon-Carter y col., 1996; Arredondo-Figueroa y col. 2003; Ponce-Palafox y col., 2006). Cabe hacer notar además, que la acumulación de astaxantina en el cuerpo de los sujetos experimentales se registró principalmente en la forma esterificada, lo cual correspondió con la condición observada comúnmente en poblaciones silvestres y cultivadas de otras especies de camarones peneidos (Sachindra y col., 2005).

La respuesta pigmentaria descrita en el párrafo precedente, también fue observada en las postlarvas que consumieron nauplios de artemia. Estos zooplanctones son ricos en cantaxantina (Nelis y col., 1988), por lo que se refuerza la idea establecida anteriormente, con respecto a la capacidad de los camarones peneidos para transformar las xantofilas precursoras en astaxantina.

En la mayor parte de las especies animales que pueden derivar metabólicamente astaxantina a partir de sus precursores cercanos, poco se sabe de los mecanismos de absorción, transporte y transformación de dichas moléculas (Boonyaratpalin y col., 2001; Park y col., 2010). Sin embargo, cualquiera que sea la estrategia en el caso de los camarones peneidos,

los precursores son transformados metabólicamente en astaxantina, según lo observado en *Penaeus japonicus* utilizando dietas suplementadas con extractos de *Spirulina*, en *Penaeus monodon* utilizando extractos de *Dunalliella*, y en *Penaeus stylirostris* utilizando extractos de alfalfa (Yamada y col., 1990; Chien y Jeng, 1992; Negre-Sadargues y col., 1993; Liao y col., 1993; Boonyaratpalin y col., 2001; Lucien-Brun y Vidal, 2006).

Algunos autores han considerado que esta capacidad metabólica de los peneidos no es eficiente para satisfacer la demanda de pigmentos durante el desarrollo del cultivo, dado el costo metabólico de las transformaciones moleculares requeridas para producir la depositación final de astaxantina (Latscha, 1991; Chien y Jeng, 1992; Niu y col., 2011). Esta aseveración es basada en los resultados de experiencias pioneras sobre el tema, en las que se observó que dietas suplementadas con astaxantina sintética, produjeron una mayor acumulación de este carotenoide en especies tales como *P. japonicus* y algunos salmónidos cultivados, en comparación con los resultados obtenidos suplementando las dietas con betacaroteno o cantaxantina sintéticos (Torrissen, 1989; Yamada y col., 1990; Chien y Jeng, 1992).

Sin embargo, en los trabajos precedentes de esta investigación (Vernon-Carter y col., 1996; Arredondo-Figueroa y col., 2003), los resultados demuestran que al incrementar la dosis de xantofilas precursoras en el alimento inerte, con respecto a la dosis de astaxantina sintética utilizada para el mismo fin, se producen iguales o mayores incrementos de la concentración de carotenoides en *L. vannamei*, y según los resultados de esta investigación, este incremento se debe principalmente a un aumento en la acumulación de astaxantina. Por lo tanto puede concluirse que, si bien la producción metabólica de astaxantina a partir de sus precursores cercanos es un proceso de mayor costo bioenergético, este parece no afectar el desempeño productivo de *L. vannamei* cuando las dietas son suplementadas adecuadamente.

Relaciones similares se han observado en *P. monodon* utilizando astaxantina natural (Pan y col., 2001), y concentrados de carotenoides ricos en betacaroteno extraídos de células microalgas (Darachai y col., 1998; Boonyaratpalin y col., 2001).

En los casos de las diferentes especies de peneidos para las que se ha estudiado la respuesta pigmentaria, en función de la suplementación de las dietas con diferentes fuentes de carotenoides, no se han establecido valores de la concentración de carotenoides en general o astaxantina en particular, en

los sujetos experimentales, que puedan ser utilizados como parámetros para determinar la calidad de dicha respuesta. La eficiencia de las dietas suplementadas con estos pigmentos, se discute más bien en cada investigación, en términos de las variaciones de su acumulación en el cuerpo de los camarones y su asociación con la variación del desempeño productivo.

El incremento de la sobrevivencia en poblaciones experimentales de diversas especies de camarones peneidos cuando se incluyen fuentes suplementarias de carotenoides en la dieta, tal y como se observó en esta investigación utilizando las xantofilas de *T. erecta*, es un resultado común tanto en investigaciones llevadas a cabo en condiciones ambientales óptimas, así como en aquellas diseñadas como retos ecológicos (Pan y col., 2001; Pan y Chien, 2004).

En esta investigación, los máximos pesos finales se registraron en las poblaciones que consumieron nauplios de artemia, por lo que no se asoció un efecto positivo sobre el crecimiento atribuible exclusivamente a la inclusión del suplemento dietario de xantofilas de cempasúchil. Aunque los efectos positivos de la suplementación dietaria con pigmentos carotenoides no se han registrado en todos los casos analizados, algunos autores los han observado en poblaciones juveniles de *L. vannamei* y *P. monodon* cultivadas comercialmente en alta densidad, utilizando dietas suplementadas con astaxantina sintética (Kurmaly, 1993; Arango, 1999), en juveniles de *L. vannamei* utilizando oleoresinas de cempasúchil y del chile *C. Annum* (Vernon-Carter y col., 1996; Arredondo-Figueroa y col., 2003), y en postlarvas de la misma especie utilizando astaxantina (Niu y col., 2009).

Las relaciones proximales y energéticas de las dietas balanceadas no son modificadas por la adición de estos agentes pigmentantes (Arredondo-Figueroa y col., 2003), de tal manera que el mejor desempeño productivo no puede atribuirse a un incremento en la energía disponible de la dieta. Para otros grupos de animales, como es el caso de vertebrados superiores y algunas especies de peces cultivados, la actividad de los carotenoides presentes en su cuerpo se ha relacionado con las funciones provitamínica e inmunoestimulante. Tales efectos no se han comprobado para el caso de los camarones peneidos.

Sin embargo, la aproximación ecofisiológica permite reconocer una mejor eficiencia en el uso de la energía disponible por parte de sujetos experimentales, que tal vez pueda explicar parcialmente su mejor desempeño productivo. Por ejemplo, se ha observado la disminución del consumo de oxígeno en

condiciones de estrés en *P. japonicus* (Petit y col., 1998; Chen y Shiau, 2005); una mayor resistencia al shock osmótico en *P. monodon* (Merchie y col., 1998) y una reducción del consumo de oxígeno y la producción de amonio durante la adaptación a condiciones de baja salinidad en *L. vannamei* (Flores y col., 2007 y 2008), cuando son alimentados con dietas suplementadas con astaxantina natural o sintética.

La fuente de xantofilas utilizada en esta investigación es rica en diésteres de cadena corta de zeaxantina. Esta condición esterificada que parece favorecer la absorción de pigmentos en el caso de algunas especies de peces cultivados (Niu, y col., 2011), no se ha comprobado para el caso de los camarones peneidos. Dados los resultados de esta investigación, se concluye que las xantofilas suplementarias fueron transformadas metabólicamente en astaxantina por los organismos que las consumieron, produciéndose un impacto positivo sobre la sobrevivencia de las postlarvas de *L. vannamei*.

## Agradecimientos

El primer autor agradece el apoyo al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca (Reg. 52066) otorgada para cursar el Doctorado en Biotecnología en el Programa de Doctorado en Biotecnología de la Universidad Autónoma de Sinaloa. La investigación fue llevada a cabo mediante el convenio de colaboración Industrial Orgánica S.A. de C.V.-Universidad de Sonora.

## Referencias

- AOAC (1995). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
- Arango, J. (1999). Resumen de la evaluación de la utilización de astaxantina en la nutrición de camarones. En: *Avances en Nutrición Acuícola III. Memorias del Tercer Simposio Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos*. (ed. por L.E., Cruz Suárez, M.D. Ricque & R Mendoza Alfaro) pp 423-432. 11-13 Noviembre, 1996. Monterrey, N.L., México. ISBN 968-7808-62-4. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, N.L. México.
- Arredondo-Figueroa, J.L., Pedroza-Islas, R., Ponce-Palafox, J.T. y Vernon-Carter, E.J. (2003). Pigmentation of the pacific White shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) with esterified and saponified carotenoids from red chili *Capsicum annuum* in comparison to astaxanthin. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 2, 101-108.
- Boonyaratpalin, M., Thongrod, S., Supamattaya, K., Britton, G. y Schlipalius, L.E. (2001). Effects of  $\beta$ -carotene source, *Dunaliella salina*, and astaxanthin on pigmentation, growth, survival and health of *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research* 32 (Suppl. 1), 182-190.
- Britton, G. (1995). UV/visible spectroscopy. In: vol. 1B. *Carotenoids: Spectroscopy* (ed. by G. Britton, S. Liaaen-Jensen & H. Pfander), pp 13-62. Birkhäuser Verlag, Basel.
- Chien, Y.H. y Jeng S.C. (1992). Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes. *Aquaculture* 102, 333-346.
- Chien, Y.H. y Shiau, W. (2005). The effects of dietary supplementation of algae and synthetic astaxanthin on body astaxanthin, survival, growth, and low dissolved oxygen stress resistance of kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus* Bate. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 318, 201-211.
- Darachai, J., Piyatiratitivorakul, S., Kittakoop, P., Nitithamyong, C. y Menasveta, P. (1998). Effects of Astaxanthin on Larval Growth and Survival of the Giant Tiger Prawn, *Penaeus monodon*. In: *Advances in Shrimp Biotechnology. Proceedings to the Special Session on Shrimp Biotechnology*. (ed. by T.W. Flegel), pp, 117-121. 5th Asian Fisheries Forum Chiangmai, Thailand 11-14 November 1998.
- Del Villar-Martínez, M., Serrato-Cruz, M.A., Solano-Navarro, A., Arenas-Ocampo, M.L., Quintero-Gutiérrez, A.G, Sánchez-Millán, J.L., Evangelista-Lozano, S., Jiménez-Aparicio, A., García-Jiménez, F.A. y Vanegas-Espinoza, P.E. (2007). Carotenoides en *Tagetes erecta* L. la modificación genética como alternativa. *Revista Fitotecnica Mexicana* 30, 109-118.
- Flores, M., Díaz, F., Medina, R., Re, A. D. y Licea, A. (2008). The effect of dietary Astaxanthin on physiological responses of juvenile White

- shrimp *Litopenaeus vannamei* acclimated to low salinity water. *Journal of Fisheries International* 3, 75-82.
- Flores, M., Díaz, F., Medina, R., Re, A. D. y Licea, A. (2007). Physiological, metabolic and hematological responses in white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles fed diets supplemented with astaxanthin acclimated to low-salinity water. *Aquaculture Research* 38, 740-747.
- Goto, S., Kogure, K., Abe, K., Kimata, Y., Kitahama, K., Yamashita, E. y Terada, H. (2001). Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is responsible for highly potent antiperoxidative activity of the carotenoid astaxanthin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1512, 251-258.
- Göçer, M., Yanar, M., Kumulu, M. y Yanar, Y. (2006). The Effects of Red Pepper, Marigold Flower, and Synthetic Astaxanthin on Pigmentation, Growth, and Proximate Composition of *Penaeus semisulcatus*. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 30, 359-365.
- Howell, B.K. y Matthews, A.D. (1991). The carotenoids of wild and blue disease affected farmed tiger prawn (*Penaeus monodon*, Fabricius). *Comparative Biochemistry and Physiology* 98B, 375-379.
- Kurmaly, K. (1993). Increase in harvest yield and net benefit using Carophyll Pink (Astaxanthin), in shrimp feed. *Aquaculture News* 2,1
- Latscha, T. (1991). Crustacean pigments. *Crustacean Nutrition Newsletter* 7, 53-60.
- Liao, W.L., Nur-E-Borhan, S. A, Okada, S., Matsui, T. y Yamagushi, K. (1993). Pigmentation of cultured black tiger prawn by feeding with Spirulina-supplemented diet. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 59, 165-169.
- Lucien-Brun, H. y Vidal, F. (2006). Alfalfa concentrate: natural shrimp color enhancer. *Global Aquaculture Advocate* April-May 2006, 35-37.
- Maoka, T. (2011) Review. Carotenoids in Marine Animals. *Marine Drugs* 9, 278-293.
- Merchie, G., Kontara, E., Lavens, P., Robles, R., Kurmaly y Sorgeloos, P. (1998). Effect of vitamin C and astaxanthin on stress and disease resistance of postlarval tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquaculture Research* 29, 579-585.
- Meyers, S. P. y Latscha, T. (1997). Carotenoids. In: *Advances in world aquaculture. Vol. VI Crustacean Nutrition.* (ed. by L. R. D' Abramo, D. E. Conklin & D. M. Akiyama) pp 164-193. World Aquaculture Society.
- Miki, W. (1991). Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure and Applied Chemistry* 63, 141-146.
- Nelis, H.J.F.C., Lavens, P., Van Steenberge, M.M.Z., Sorgeloos, P., Criel, G.R., y De Leenheer, A.P. (1988). Qualitative and quantitative changes in the carotenoids during development of the brine shrimp *Artemia*. *Journal of Lipid Research* 29, 491-499
- Niu, J., Tian, L., Liu, Y., Yang, H., Ye, C., Gao, W., Mai, K. (2009). Effect of dietary astaxanthin on growth, survival and stress tolerance of postlarval shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 40, 795-802.
- Niu, J., Tian, L., Lin, H. y Liu, Y. (2011). Carotenoids in aquaculture, an overview. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 2, 44-58.
- Nègre-Sadargues, G., Castillo, R., Petit, H., Sancé, S., Martinez, R.G., Milicua, J.C.G., Choubert, G. y Trilles, J.P. (1993). Utilization of synthetic carotenoids by the prawn, *Penaeus japonicas*, reared under laboratory conditions. *Aquaculture* 110, 151-159
- Pan, C.H. y Chien, Y. H. (2004). Effects of dietary Astaxanthin on body astaxanthin, growth, and survival of *Penaeus monodon* postlarvae. *Journal of Fisheries Society of Taiwan* 31, 269-280
- Pan, C.H., Chien, Y.H. y Cheng, J.H. (2001). Effects of the light regime, alga in the water, and dietary Astaxanthin on pigmentation, growth and survival of black tiger prawn *Penaeus monodon* post-larvae. *Zoological Studies* 40, 371-382.

- Park, J. S., Kim, H. W., Mathison, B. D., Hayek, M. G., Massimino, S., Reinhar, G. A. y Chew, B. P. (2010). Astaxanthin uptake in domestic dogs and cats. *Nutrition & Metabolism* 7, 52.
- Plank, L. R., Lawrence, J. M., Lawrence, A.L. y Montoya-Olvera, R. (2002). The effect of dietary carotenoids on gonad production profiles in the sea urchin *Lytechinus variegatus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 33, 127-137.
- Petit, H., Nègre-Sadargues, G., Castillo, R., Valin, S. y Trilles, J. (1998). The effects of dietary astaxanthin on the carotenoid pattern of the prawn *Penaeus japonicus*, during postlarval development. *Comparative Biochemistry and Physiology* 119A, 523-527.
- Ponce-Palafox, J.T., Arredondo-Figueroa, J.L., Vernon-Carter, E.J. (2006). Carotenoids from plants used in diets for the culture of the pacific White shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 5, 157-165.
- Sachindra, N. M., Bhaskar, N. y Mahendrakar, N.S. (2005). Carotenoids in different body components of Indian shrimps. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85, 167-172.
- Torrissen, O. (1989). Pigmentation of salmonids: Interactions of astaxanthin and canthaxanthin on pigment deposition in rainbow trout. *Aquaculture* 79, 363-374.
- Vernon-Carter, E.J., Ponce-Palafox, J. T. y Pedroza-Islas, R. (1996). Pigmentation of Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) using Aztec marigold (*Tagetes erecta*) extracts as the carotenoid source. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 46, 243-246.
- Weber, S. (1988). Determination of stabilized, added astaxanthin in fish feeds and premixes with HPLC. In *Analytical Methods for Vitamins and Carotenoids in Feeds*. (ed. by H.E. Keller) pp. 59-61. Roche Publication No.2264, Basel, Switzerland,
- Yamada, S., Tanaka, Y., Sameshima, M. y Ito, Y. (1990). Pigmentation of prawn *Penaeus japonicus* with carotenoids. I. Effect of dietary astaxanthin, beta-carotene, and canthaxanthin on pigmentation. *Aquaculture* 87, 323-330.
- Zar, J.H. (1999). *Biostatistical Analysis*. Fourth edition. Prentice-Hall Inc. Upper Saddle River. 663 pp.