

2000B - 2005B

395314112

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

División de Ciencias Biológicas y Ambientales



Evaluación de dos inmunomoduladores comerciales sobre la condición nutricional de los juveniles de *Litopenaeus setiferus* (Linneo, 1767)

Trabajo de titulación en la modalidad

T E S I S

Que para obtener el título de:

Licenciado en Biología

Presenta:

JAIME HUMBERTO GARCÍA CHÁVEZ

Director de Tesis: Dra. Cristina Pascual Jiménez

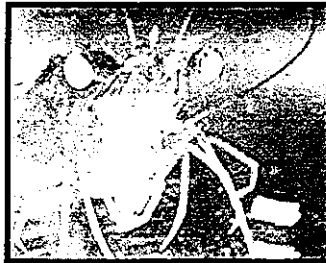
Las Agujas, Zapopan, Jalisco.

Noviembre, 2007



Universidad de Guadalajara
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

División de Ciencias Biológicas y Ambientales



Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación
Facultad de Ciencias, UNAM
Sisal, Yucatán, México





Universidad de Guadalajara
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y
Agropecuarias

Coordinación de Titulación y Carrera de Licenciatura
en Biología
7371 C. C. BIOLOGÍA

C. JAIME HUMBERTO GARCÍA CHAVEZ
PRESENTE


Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de: **Tests e Informes** opción **Tests** con el título: **"Evaluación de dos Inmunomoduladores comerciales sobre la condición nutricional de los juveniles de *Litopenaeus setiferus*"** para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director / a de dicho trabajo e/la: **DRA. CRISTINA PASCUAL JIMÉNEZ**.

Sin más por el momento, le envío un caluroso saludo.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"
Las Agujas, Zapopan., 6 de Julio del 2006.
"2006. Año del Bicentenario del natalicio del Benemérito de las Américas.
Don Benito Juárez García"


DR. CARLOS ÁLVAREZ MOYA
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN


DRA. LAURA GUADALUPE MEDINA CEJA
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN



C.c.p. DRA. CRISTINA PASCUAL JIMÉNEZ. - Director del trabajo

DR. FCO. MARTÍN HUERTA MARTÍNEZ.
 PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN.
 LICENCIATURA EN BIOLOGÍA.
 CUCBA.
 PRESENTE

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad tesis e informe, opción Tesis con el título: "Evaluación de dos inmunomoduladores comerciales sobre la condición nutricional de los juveniles *Litopenaeus setiferus*" que realizó el pasante Jaime Humberto García Chávez con número de código 395314112, consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente
 Las Agujas, Zapopan Jal., a 3 de agosto de 2007

Cristina P. J.
 Cristina Pascual Jiménez
 Directora del trabajo.

Vo B. J.
~~*[Signature]*~~
 12/10/07

Nombre completo de los Síndicos asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
Carlos Álvarez Moya	<i>[Signature]</i>	3/Julio/07
Agustín Camacho Rodríguez	<i>[Signature]</i>	02/08/07
Maurilio Soto Espinosa	<i>[Signature]</i>	31-07-07
Sergio Álvarez Barajas	<i>[Signature]</i>	28-07-07

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Cristina Pascual Jiménez por brindarme la oportunidad de conocer y aprender de muchas personas que realizan investigación dentro de la UMDI, por contribuir en mi formación académica y personal, su confianza, consejos, apoyo, esfuerzo, paciencia durante la realización de este trabajo.

Al Dr. Carlos Rosas Vázquez por las oportunidades, consejos y apoyos brindados.

A la M. C. Ariadna Berenice Sánchez Arteaga, por el apoyo, enseñanzas, consejos, confianza y su gran amistad dentro del laboratorio central de la UMDI y fuera del mismo.

A los técnicos Miguel Arévalo, Adriana, Paloma, Manuel Valenzuela, Vianey Sosa Koh que apoyaron de alguna manera en sus respectivas áreas para poder realizar este trabajo.

A José Gabriel Taboada, por las enseñanzas en la elaboración del alimento experimental, el apoyo dentro y fuera de la UMDI, su gran amistad y ayuda brindada durante mi estancia en Sisal.

A mis compañeros y amigos Renne Jair Cazares Simental y Marco Antonio Ponce Márquez que me alentaron para ir a realizar mi trabajo de tesis a la UMDI, sus consejos, apoyos y todas las experiencias buenas y malas que vivimos en Sisal.

DEDICATORIA

A mi familia

Por la confianza, apoyo, cariño que han depositado en mí durante mi vida personal y escolar brindándome la libertad de elegir mi camino apoyándome en todo, los buenos momentos que vivimos, que seguramente faltan muchos.

Padres

Irma de la Asunción Chávez Ponce

Arturo García Limón

Hermanos

Arturo Alejandro García Chávez

Gerardo Omar García Chávez

Irma Lizbeth García Chávez

Claudia Gabriela García Chávez

A Nashbly Elydee Pérez Covarrubias y a mis sobrinos Osmar García Pérez y Abraham Isay García Pérez por poner un granito más de felicidad a la familia.

A mis abuelos, tíos por su cariño, preocupación y apoyo.

A todos mis amigos del CUCBA, por ser parte en mi carrera universitaria.

A dos familias muy especiales, por aceptarme y hacerme sentir como si estuviese en mi hogar, por todo el apoyo y confianza que me brindaron durante mi estancia en Sisal.

Familia Chuc Chuc

Don Chuc, mamá Pastora, Tomate, Elmi, Farneli, Mac, Jorge, Adrián, Edenise.

Familia Bojorquez Uicab

Don David, Doña Deysi, Gema, Iveth, Cristi y Pancho su hijo Andresito, David.

A Chuc Farneli por apoyarme, darme la oportunidad de conocer, aprender y pescar, así como a Milo, Zotz y familia, Jorge (chapa), Israel (cashe) y familia, Adrian, Mac, y sobre todo por su amistad.

A José Luis Gutiérrez y Juan Gualberto Colli Mull, por su gran amistad.

A los estudiantes y amigos de la UMDI, Gaby (ciosa), Maldonado, Josué, Morris, Richard, Miroslava, los Shagys, Jacky, Mao, Emilio, Chela, Elis, Quetza, Ale, Pedro, Lenin, Chavita, Sara, Pedro Gallardo, Gaby Gax, Ana Sofía Soberano Torres (nunca cambies, eres una linda persona) por todo el tiempo que pasamos dentro y fuera de la unidad, su confianza, ayuda brindada en la unidad, intercambio de ideas, eventos sociales, eventos deportivos, momentos especiales, entre otras cosas.

A mis amigos Abraham, Sergio, Luis, Oman, Carlos, Ricardo, Arturo, Fernando, Agustín, Martín, Jorge, etc. por su amistad.

En cada uno de nosotros vive un guerrero de la luz, alguien capaz de escuchar el silencio de su corazón, de aceptar las derrotas sin dejarse abatir y de alimentar la esperanza en medio del cansancio y el desaliento.

“Los guerreros de la luz conservan el brillo en los ojos.

Están en el mundo y forman parte de la vida de otras personas.

No siempre son valientes ni actúan correctamente.

Sufren por cosas inútiles, a veces se consideran incapaces de crecer y con frecuencia se creen indignos de cualquier bendición o milagro. No siempre están seguros de lo que están haciendo aquí y pasan noches en vela pensando que sus vidas no tienen sentido.

Por eso son guerreros de la luz.

Porque se equivocan. Porque se preguntan. Porque buscan una razón y no se detienen hasta encontrarla.”

Paulo Coelho

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
<hr/>	
ANTECEDENTES	5
<hr/>	
Ciclo de vida de los camarones peneidos	5
Ciclo de muda de acuerdo a los cambios metabólicos	7
Post- muda A y B	8
Intermuda C	8
Premuda D0, D1 y D2, D3	8
Sistema Inmunológico de los camarones	9
Ubicación Taxonómica de <i>Litopenaeus setiferus</i>	11
Cultivo	11
Inmunoaditivos	12
Factores nutricionales que afectan el estado de salud de camarones	16
Micronutrientes	16
Pigmentos	17
Péptidos	17
Aspectos nutricionales	18
Macronutrientes	18
<hr/>	
JUSTIFICACIÓN	20
<hr/>	
HIPOTESIS	22
<hr/>	
OBJETIVO GENERAL	22
<hr/>	
Objetivos específicos	22
<hr/>	
MATERIALES Y MÉTODOS	23
<hr/>	
Origen y Obtención de los animales experimentales	23
Dietas experimentales	24

Diseño experimental	25
Mantenimiento de los Organismos	26
Evaluaciones	27
Muestreo de los Organismos	27
Obtención de la Hemolinfa	27
Respuestas Fisiológicas	28
Presión osmótica	28
Hemocianina	28
Respuestas Bioquímicas	29
Manejo de la muestra de hemolinfa	29
Cuantificación de los metabolitos en el plasma	29
Determinación de la glucosa	29
Determinación de colesterol	30
Determinación de lactato	30
Determinación de acilglicéridos	30
Determinación de proteínas	30
Caracterización microscópica de los estadios de muda	31
Post- muda A y B	31
Intermuda C	31
Premuda D0, D1 y D2, D3	32
Reservas energéticas	32
Glucógeno en la Glándula Digestiva	32
Lípidos en la Glándula Digestiva	32
Análisis Estadístico	34
RESULTADOS	35
Características fisicoquímicas	35
Sobrevivencia	35
Crecimiento en peso	36

Respuestas Bioquímicas	37
Repuestas fisiológicas	38
Reservas energéticas	38
Glucógeno en la glándula digestiva	38
Lípidos en la glándula digestiva	39
Peso de la glándula digestiva	39
Índice Hepatosomático %	40
DISCUSIÓN	42
CONCLUSION	55
LITERATURA CITADA	56

INDICE DE TABLAS

TABLAS

Tabla 1. Estadios de huevo, larvales y post-larvales de camarones peneidos	6
Tabla 2. Composición de la dieta experimental (%)	25
Tabla 3. Valores de las características fisicoquímicas	35
Tabla 4. Peso inicial, final de juveniles de <i>L. setiferus</i>	37
Tabla 5. Componentes de la hemolinfa evaluados en los juveniles de <i>L. setiferus</i>	37
Tabla 6. Resultados obtenidos de las respuestas fisiológicas de los juveniles de <i>L. setiferus</i> alimentados con tres dietas experimentales	38
Tabla 7. Concentración de glucógeno en la glándula digestiva de <i>L. setiferus</i>	38
Tabla 8. Ganancia de peso de juveniles de <i>L. setiferus</i>	45
Tabla 9. Concentración de lípidos mg/GD	51

INDICE DE FIGURAS

FIGURAS

Figura I. Ciclo de vida del camarón	7
Figura II. Distribución geográfica de <i>L. setiferus</i>	12
Figura III. Área experimental de fisiología	26
Figura IV. Extracción de hemolinfa	28
Figura V. Caracterización microscópica de los estadios de muda	31
Figura VI. Proceso de obtención de lípidos en la glándula digestiva	33
Figura VII. Porcentaje de sobrevivencia de <i>L. setiferus</i>	36
Figura VIII. Lípidos en la glándula digestiva de <i>L. setiferus</i>	39
Figura IX. Peso de la glándula digestiva de los juveniles de <i>L. setiferus</i>	40
Figura X. Índice hepatosomático de la glándula digestiva de <i>L. setiferus</i>	41

INTRODUCCIÓN

El camarón es considerado como un recurso de gran importancia económica, ya que llega a representar el 20 % del valor total de los productos marinos en el comercio internacional (SEMARNAP, 2000). En las últimas décadas la producción de camarón ha aumentado substancialmente siendo de 1.6 millones de toneladas en 1976 a más de 5 millones de toneladas en el 2003 (Panorama Acuicola, 2007).

En Latinoamérica, México fue el primer país que emprendió la pesquería comercial del camarón a través de grandes capturas del medio natural, no obstante, en los últimos años la pesquería ha ido disminuyendo (Weidner *et al.*, 1992). La saturación de la capacidad de la flota camaronera y el atractivo mercado norteamericano ha estimulado en México el cultivo del camarón como una actividad productiva de gran importancia económica (Vargas, 1995). En México, la producción en acuicultura se duplicó del 2000 al 2004 pasando de 33,480 toneladas a 68,550 señalando así, una mayor participación de la actividad camaronícola en nuestro país (CONAPESCA, 2005).

Hoy en día la camaronicultura representa el 25 % del total de la actividad acuicola a nivel mundial. El aumento de la producción de camarón ha estado ligado al significativo crecimiento de las áreas de engorda. Paralelamente a este crecimiento, la industria ha tenido que enfrentar importantes pérdidas económicas asociadas con la aparición y diseminación de enfermedades. En muchos casos las epizootias han estado vinculadas al manejo de altas densidades de cultivo y al consecuente deterioro ambiental, dentro y fuera de las granjas (Bachère, 2000; Bédier *et al.*, 1998; Pascual *et al.*, 2006).

El control de enfermedades y la nutrición son temas de gran interés para los involucrados en la industria del camarón. Mientras que los aspectos relacionados con la nutrición repercuten directamente en los gastos de operación y el estado fisiológico

de los organismos, el control de enfermedades representa el punto de mayor riesgo durante el desarrollo del cultivo (Vargas-Albores *et al.*, 1996).

El estudio de las enfermedades de los camarones ha logrado importantes avances en el reconocimiento de los principales patógenos, no obstante, se desconoce mucho de la biología de los agentes causantes, del proceso infeccioso y de la regulación de la respuesta inmune, así como el estado fisiológico del hospedero. En este sentido, la condición nutricional esta estrechamente vinculada con la susceptibilidad ante las infecciones, ya que del manejo de la energía procedente del alimento, dependen la respuesta fisiológica y la respuesta inmunológica de los organismos (Pascual *et al.*, 2006b).

Existe una amplia información sobre los aspectos nutricionales de los camarones, lo cual ha permitido la búsqueda de nuevos insumos que resulten mejores y más baratos. También se han establecido con mayor precisión los requerimientos nutricionales y se ha avanzado en la fisiología de la digestión aportando beneficios en la preparación de los alimentos (Arango, 1996; Vargas-Albores, 2002; Rosas *et al.*, 2002; López *et al.*, 2003). Además de los macronutrientes (proteínas, carbohidratos y lípidos), se ha identificado el valor de incorporar aditivos en la formulación de alimento balanceado para camarón (Tacon, 1998). El uso de los aditivos representa una línea prometedora en la búsqueda de sustancias estimuladoras del crecimiento y promotoras de un mejor estado de salud.

Los camarones no presentan anticuerpos, por lo tanto, los tratamientos contra las infecciones se vinculan con la activación de la respuesta innata a través de sustancias que modulan o estimulan algunos componentes del sistema inmunológico, constituyendo así, una familia muy heterogénea si se considera su origen, naturaleza química y actividad biológica específica (Pascual, *et al.* 2006b). Dentro de ellos se encuentran los inmunoestimulantes, los cuales funcionan como alarmas moleculares que activan al sistema inmunológico, el cual responde como si fuese una agresión microbiana (López *et al.*, 2003). Los inmunoestimulantes generalmente son fragmentos de la pared celular de microorganismos que en teoría

aportan una mayor resistencia ante las infecciones bacterianas y virales (Smith, *et al.* 2003). A nivel industrial muchos de los componentes activos son extraídos de las paredes de bacterias, hongos y de levaduras, entre los que destacan los lipopolisacáridos (LPS), lipopéptidos y β -glucanos entre otros (Le Moullac *et al.*, 1998a). La contraparte de los tratamientos con inmunoestimulantes es la sobredosis que puede ocasionar un desgaste inmunológico debido a la falta de protocolos de dosificación (López *et al.*, 2003).

Además de los inmunoestimulantes se encuentran los inmunomoduladores, los cuales generan beneficios sobre algunos componentes del sistema inmunológico sin desencadenar los mecanismos de defensa. Entre los más usados en acuicultura se encuentran la sobre dosis de vitaminas, incluso la astaxantina y otros carotenoides, así como lípidos, algunos péptidos y nucleótidos (Bendich, 1989; Dehasque *et al.*, 1996; Vargas-Albores *et al.*, 1996; Le Moullac *et al.*, 1998a). Los estudios realizados con inmunomoduladores señalan el efecto positivo sobre algunos componentes del sistema inmunológico de los camarones, pero poco o nada se ha reportado acerca de como afectan la condición nutricional y el estado fisiológico de los organismos.

La condición nutricional y el estado fisiológico de los camarones ha sido evaluado a través de la variación de la capacidad osmótica, los niveles de hemocianina y la concentración en la hemolinfa de glucosa, acilglicéridos, proteínas, lactato y colesterol en relación con su talla, estadio de muda, contaminación (Lignot *et al.*, 1999), oxígeno disuelto (Charmantier *et al.*, 1994), calidad de los reproductores (Palacios *et al.*, 1998; Racotta y Palacios, 1998; Palacios *et al.*, 1999; Sánchez *et al.*, 2001) y de la alimentación (Rosas *et al.*, 1995; Rosas *et al.*, 2002). Además de las evaluaciones realizadas en el tejido sanguíneo, la glándula digestiva de los camarones ha sido muy estudiada debido a su participación en numerosos procesos metabólicos. En este órgano se realiza la digestión, la asimilación de los nutrientes, y además representa un importante almacén de reservas energéticas (lípidos y carbohidratos), además de biosintetizar elementos como la hemocianina molécula que acarrea el

oxígeno (Gellisen *et al.*, 1991), y otros componentes de la hemolinfa de carácter inmunológico.

El desarrollo de las investigaciones sobre los aspectos inmunológicos y nutricionales de los camarones se han realizado por separado, lo cual impide visualizar la inmunidad de los organismos desde un punto de vista integrador, siendo esto la base de los alimentos funcionales para condiciones específicas de cultivo. En el caso de los camarones es necesario definir la dosis adecuada para los principales estadios de vida y para diferentes especies, lo cual requiere de un mayor conocimiento sobre el efecto metabólico inmunológico que tienen los distintos compuestos y su relación con importantes procesos biológicos como el crecimiento y la condición nutricional.

Bajo esta perspectiva el presente trabajo fue diseñado para determinar el efecto de dos inmunomoduladores comerciales (mezcla de vitaminas y un péptido derivado de la leche), sobre la condición nutricional y estado fisiológico de los juveniles de *Litopenaeus setiferus*.

ANTECEDENTES




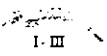

Ciclo de vida de los camarones peneidos

En el ciclo de vida en los camarones peneidos se distingue una fase larval compleja, que es acompañada por movimientos migratorios en distintas etapas de la vida (Hidalgo, 1997). Su ciclo se divide en dos fases, la marina y la estuarina (Morales, 1990). En mar abierto, la maduración y reproducción comienza en aguas profundas (15 m a 60 m) y alejadas de la costa. El macho deposita su paquete de espermias en la hembra, y posteriormente los huevos son fertilizados a medida en que la hembra realiza la puesta (CPC, 1989). Cuando los ovarios de una hembra están maduros, su coloración es verde-amarillento y es visible a través de su caparazón (Van Olts y Carlberg, 1972).

Después de unas horas los huevos fecundados eclosionan y dan origen a una serie de estadios denominados larvas: nauplio I-V, zoea I, II y III y mysis I, II y III, hasta llegar a la primera postlarva, que se asemeja a un camarón adulto y cada estadio tiene características morfológicas determinadas y diferentes requerimientos nutricionales (Manual para la cría de camarones peneidos, FAO, 1988). Diferentes tipos larvarios, formas de alimentación y comportamiento se muestran en la Tabla 1. (Manual para la cría de camarones peneidos, FAO, 1988; Manual básico sobre el cultivo extensivo y semi-intensivo del camarón, CENAIM-ESPOL-VVOB, 2001).

Las post-larvas se mueven en dirección a la costa hacia los estuarios de los ríos donde se desarrollan rápidamente ya que encuentran una mayor disponibilidad de alimento, una menor salinidad, mayores temperaturas y una mayor protección contra los depredadores (Figura 1). Después de sucesivas mudas, las post-larvas se transforman en juveniles manteniéndose en los estuarios de los ríos durante 3 o 4 meses (Morales, 1990), posteriormente migran hacia mar abierto donde su crecimiento es más rápido (CPC, 1989).

Tabla 1. Estadios de huevo, larvales y postlarvales de camarones peneidos.

Estadio	No. de sub-estadios	Alimentación principal	Comportamiento
Huevo		-----	Libre, flota con tendencia a depositarse en el fondo
Nauplios	 I-V	Propias reservas	Planctónico, fototactismo positivo, natación mediante apéndices cefálicos
Zoea	 I-III	Fitoplancton	Planctónico, fototactismo positivo, natación mediante apéndices cefálicos
Mysis	 I-III	Fitoplancton y Zooplancton	Planctónico, fototactismo positivo, natación mediante apéndices torácicos
Postlarva	 Es. Variable	Zooplancton	Deja la fase planctónica tras las primeras mudas, se apoya y penetra en el substrato blando, natación mediante apéndices abdominales

La vida normal del camarón es de 12 meses pero algunos llegan a dos años, las hembras desovan más de una vez, el número de huevos por desove varía entre los 200,000-500,000 (Morales, 1990), 300,000 (CPC, 1989), dependiendo la especie pueden llegar hasta 1, 000,000 de huevos (Manual para la cría de camarones peneidos, FAO, 1988).

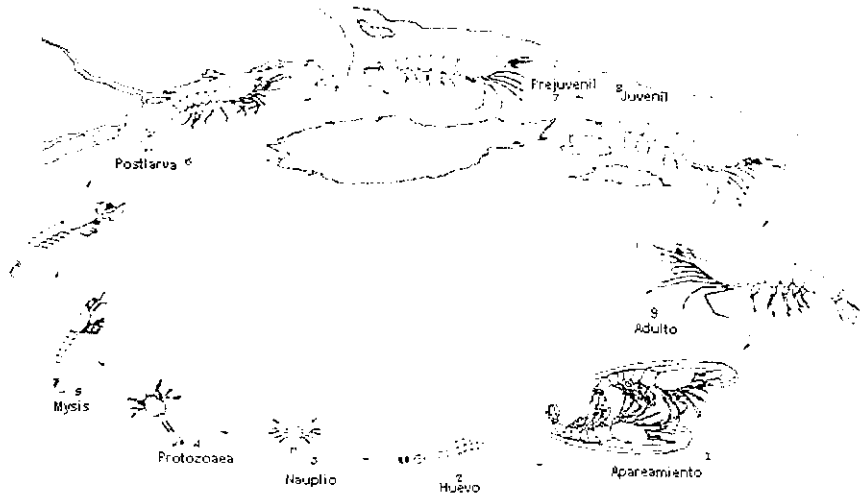


Figura 1. Ciclo de vida del camarón. 1.- Apareamiento 2.- Huevo (aprox. 24hrs.) 3.- Nauplio (5-6 estadios de 2 a 3 días) 4.- Protozoaea (3 estadios de 3-4 días) 5.- Mysis (3 estadios de 3-5 días) 6.- Postlarva (3 a 35 días) 7.- Prejuvenil 8.- Juvenil (alrededor de los 180 días) 9.- Adulto maduro (180-300 días), (Modificado de Hendrickx, 1995).

Ciclo de muda

La muda o ecdisis es un proceso fisiológico en los crustáceos que se caracteriza por el cambio del exoesqueleto a medida que los organismos van aumentando de tamaño y peso. Este mecanismo también les permite defenderse de bacterias, hongos y parásitos que se encuentren adheridos al exoesqueleto (Villalón, 1991; Molina-Poveda *et al.*, 2002). Durante el proceso de muda el camarón absorbe agua y la división celular se ve favorecida provocando el incremento del volumen y del peso del animal (Van Wormhoudt y Bellon-Humbert, 1996; Carrillo, O., *et al.*, 2000). El proceso está determinado por factores intrínsecos y extrínsecos. Antes y después de la ecdisis, se presentan algunos eventos metabólicos asociados específicamente con el crecimiento, en los cuales se incluyen la degradación del viejo exoesqueleto y la síntesis del nuevo, en donde la concentración de los metabolitos sanguíneos y las

reservas energéticas varía entre estadios, de acuerdo a los cambios metabólicos que son indispensables para la realización de la ecdisis. Los estadios se dividen en:

Post-muda, A y B

Temprana (A): el organismo absorbe agua lentamente, y pasa al interior de los tejidos y a la glándula digestiva.

Tardía (B): la endocutícula se mineraliza a partir de las sales procedentes de la glándula digestiva y, sobre todo del medio exterior. El tegumento (quitina) se endurece y la permeabilidad de la epicutícula disminuye. Los tejidos poco a poco pierden agua, y esta es remplazada por tejido.

Intermuda, C

Lípidos y carbohidratos se reconstituyen y se acumulan en la glándula digestiva, funcionando como fuente de energía y para la formación del nuevo tegumento (quitina). Este proceso es simultáneo al crecimiento de tejidos, con la intervención de las proteínas. Las concentraciones de calcio y magnesio aumentan, procedentes en gran medida del medio ambiente.

Pre-muda D₀, D₁ y D₂, D₃

Temprana (D₀, D₁): disminuye el glucógeno en la glándula digestiva y aumenta el consumo de oxígeno. Inicia la reabsorción de sustancias minerales y orgánicas presentes en la endocutícula.

Tardía (D₂, D₃): la endocutícula se desprende y sus constituyentes pasan a la sangre, sobreviene una descalcificación al formarse nuevas capas de tegumento, la pigmentada y la calcificada. En este estado, el consumo de alimento por el organismo disminuye, por lo que las proteínas y los lípidos en la glándula digestiva descienden al cubrir las necesidades energéticas del organismo.

El ciclo de muda afecta numerosas funciones fisiológicas. Se han observado cambios en la concentración de los hemocitos y en diversos mecanismos inmunológicos asociados a los hemocitos en crustáceos. Los cambios de estado de la cutícula durante el ciclo de muda pueden hacer más fácil la infección. En camarones peneidos la cutícula es esclerotizada y no es permeable en intermuda, entonces solamente pequeñas lesiones podrían permitir una infección. En premuda, la separación de la vieja cutícula podría permitir que los microorganismos penetren dentro del cuerpo a través de la nueva cutícula (Le Moullac, *et al.* 1997).

Sistema inmunológico de los camarones

Debido a que los invertebrados carecen de anticuerpos, su sistema inmunológico no presenta la alta especificidad y memoria inmunológica que poseen los peces y animales de sangre caliente. Por tal motivo, el mantenimiento del estado de salud depende totalmente de los mecanismos no específicos o respuesta innata para resistir a las infecciones (Raa, 2000).

Los camarones poseen células sanguíneas o hemocitos que desempeñan importantes funciones de defensa como son la fagocitosis, producción de antimicrobiales, remoción de partículas extrañas y agentes infecciosos de los tejidos y fluidos corporales a través de la formación de nódulos. Los hemocitos son caracterizados en tres tipos en base al tamaño, la forma y el contenido granular, que podemos aislar de la hemolinfa de los crustáceos, hialinos, semigranular y granular (Raa, 2000).

Como parte del sistema de defensa de los crustáceos se han descrito varios factores:

a) Proteínas séricas como las peneidinas, las peroxinectinas y las aglutininas (Destomiux *et al.*, 2001).

b) Procesos celulares ejecutados por los hemocitos, como fagocitosis, adhesión y encapsulación (Söderhäll, 1982; Söderhäll *et al.*, 1990; Vargas-Albores, 1995).

c) Sistemas multiméricos como la coagulación y el sistema profenoloxidasa (proFO) (Söderhäll, 1992; Guzmán-Murillo *et al.*, 1993; Vargas-Albores *et al.*, 1997).

El sistema proFO es una compleja cascada enzimática que se encuentra en el interior de los gránulos de los hemocitos, la cual puede ser liberado por estimulación con beta-glucanos o lipopolisacaridos (LPS) de hongos y bacterias. Una vez liberado el contenido granular en el plasma, la proFO es activada por una proteinasa en fenoloxidasa (FO), la cual es responsable de la oxidación de fenoles a quinonas, que finalmente se convierten en melanina (Ashida y Söderhäll, 1984). El sistema proFO al activarse genera algunos factores que estimulan a los hemocitos a eliminar el material extraño, por medio de procesos como fagocitosis, formación de nódulos y encapsulación (Söderhäll *et al.*, 1984; Söderhäll *et al.*, 1988). El sistema profenoloxidasa en crustáceos está sujeto a la regulación de ciertos inhibidores de proteasas; como la α_2 -macroglobulina y un inhibidor de tripsina de 155 kDa, llamado pacifastina (Hergenhahn *et al.*, 1988).

Uno de los mecanismos más importantes de la respuesta inmune mediada por los hemocitos es la fagocitosis del material extraño. Durante el proceso se origina la formación del fagosoma y en consecuencia se generan radicales de oxígeno biológicamente muy reactivos. Este proceso es conocido como el estallido respiratorio y juega un papel muy importante en la actividad microbicida de los hemocitos (Song y Hsieh, 1994).

La amplificación de la respuesta inmunológica depende de manera importante de la participación de los sistemas multiméricos y la respuesta celular, por lo que se han utilizado las evaluaciones de la actividad de la profenoloxidasa y sus reguladores, junto con los hemogramas (conteo y caracterización de hemocitos) y la actividad del estallido respiratorio para determinar el potencial inmune de los peneidos bajo diferentes circunstancias (Smith y Johnston, 1992; Le Moullac *et al.*, 1997; Le Moullac *et al.*, 1998b; Sánchez *et al.*, 2001).

Ubicación Taxonómica de *Litopenaeus setiferus* (ITIS, Report)

Reino: Animalia
Filo: Artrópoda
Subfilo: Crustácea
Clase: Malacostraca
Subclase: Eumalacostraca
Superorden: Eucarida
Orden: Decapoda
Suborden: Dendrobranchiata
Superfamilia: Penaeoidea
Familia: Penaeidae
Genero: *Litopenaeus* (Pérez Farfante, 1969)
Especie: *setiferus* (Linneo, 1767)

Cultivo

Durante los últimos 20 años, la producción mundial de camarón cultivado se ha incrementado firmemente principalmente por el avance zootecnológico. El crecimiento de las áreas de engorda y el manejo de altas densidades durante el cultivo ha generado el deterioro de las condiciones ambientales dentro y fuera de las granjas, favoreciendo la incidencia de enfermedades y afectando negativamente a la producción y al medio natural (Browdy, 1992). Aunque mucho se ha avanzado en el conocimiento de los parámetros ambientales, los requerimientos nutrimentales y la identificación de microorganismos que afectan negativamente a los cultivos, la presencia de enfermedades siguen representando el mayor riesgo de la actividad camarónica, debido a la falta de diagnósticos tempranos y tratamientos eficientes (Le Moullac y Haffner, 2000; Bâchere, 2000).

El camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, es la especie más extensamente utilizada para el cultivo en América debido a que presenta un buen acondicionamiento al manejo en cautiverio y un alto crecimiento (1 a 1.5 g/semana).

Sin embargo, el camarón blanco del Golfo de México *L. setiferus* es una especie que se distribuye desde el sur de Nueva York hasta la península de Yucatán (Figura 2). En condiciones de cultivo presenta un crecimiento de 0.7 a 1.2 g/semama, el cual es un poco mas bajo que el de *L. vannamei*, no obstante, el desarrollo del cultivo de *L. setiferus* es considerado una alternativa debido a su alta sobrevivencia (95-99 %), las atractivas tasas de producción de más de 5000 kg/ha, con un peso final de 13.5 g/camarón y por que puede ser cultivado en densidades relativamente altas (40 camarones/m²) (Sandifer *et al.*, 1993; Sánchez *et al.*, 2001). También se ha planteado que *L. setiferus* podría ser una especie menos susceptibles a las enfermedades virales que *L. vannamei*, por lo cual, es considerada como una especie potencial para el desarrollo de la camaronicultura (Alpuche *et al.* 2005).

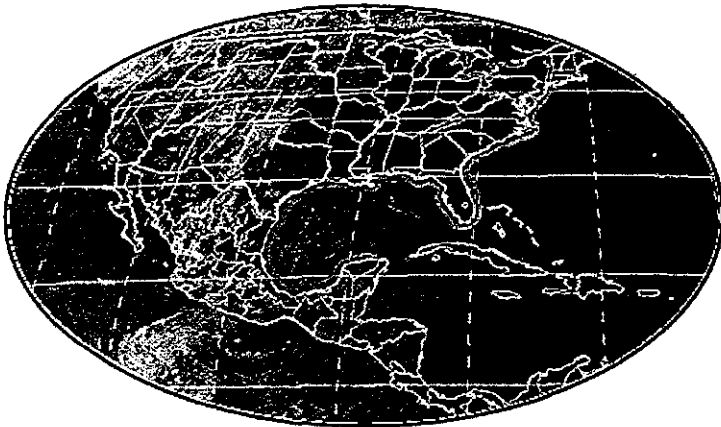


Figura II. Distribución geográfica *L. setiferus*

Inmunoaditivos

Debido a que los camarones no presentan anticuerpos, los tratamientos profilácticos y terapéuticos asociados a las enfermedades están vinculados con la activación de la respuesta innata a través de sustancias que modulan o estimulan algunos componentes del sistema inmunológico. Los compuestos que tienen una influencia

directa sobre el sistema inmunológico constituyen una familia heterogénea si se considera su origen, naturaleza química y actividad biológica específica (Pascual, *et al.* 2006b). En muchos casos con el fin de evitar infecciones se adicionan al alimento antibióticos, pero su uso frecuente puede propiciar resistencia por parte de los patógenos, además de bioacumularse en el camarón y generar efectos ambientales colaterales (Sun *et al.*, 1996; Rengpipat *et al.*, 1998). Adicionalmente, el origen viral de muchas de las infecciones de los camarones limitan la eficiencia de tales tratamientos (Le Moullac *et al.*, 1998b).

Los llamados inmunoestimulantes son compuestos que activan a los mecanismos de defensa, estos incluyen principalmente polisacáridos naturales, que son preparados frecuentemente de paredes celulares de hongos, bacterias y algas caféas (Smith *et al.*, 2003). Los inmunoestimulantes activan a la respuesta innata como si el organismo hubiese sido invadido por un patógeno. De este modo estas sustancias pueden proteger al animal frente a una posible infección (Scholz *et al.*, 1999; López *et al.*, 2003).

Durante el proceso evolutivo el sistema inmunológico de los animales, ha desarrollado mecanismos para detectar estructuras químicas que son típicas de micro-organismos potencialmente patógenos. Estas estructuras funcionan como "señal de alarma" para encender los mecanismos de defensas contra infecciones, respondiendo en presencia de estas estructuras químicas como si fuera desafiado por un patógeno. Por lo tanto, la administración de un producto que estimule la respuesta inmune antes de la infección puede aumentar algunos componentes del sistema de defensa de los camarones, es decir generar un estado de alerta inmunológica, proporcionando así protección ante posibles infecciones (Raa, 2000).

Se considera que los inmunoestimulantes pueden mejorar la salud y funcionamiento de algunos animales, incluyendo peces y camarones. Actualmente son utilizados principalmente en piscicultura previo a situaciones de cultivo que puedan alterar la condición fisiológica, como cambios de temperatura, manejo, cambio de alimento, al aumento de microorganismos y en las fases de desarrollo en la que los animales son más susceptibles ante las enfermedades. Los inmunoestimulantes son agentes

profilácticos que deben ser utilizados para elevar las barreras de defensa y por lo tanto reducir el riesgo a las enfermedades, no es una medicina curativa, si ésta es utilizada cuando la enfermedad ya es avanzada el inmunoestimulante tal vez puede ser reconocido por el organismo como una infección aparente en adición con una ya existente. Esto puede agravar los síntomas de la enfermedad en un momento dado. Los inmunoestimulantes hoy en día son utilizando en el sector acuícola por generar beneficios relacionados con una mayor sobrevivencia y una mejorada inmunidad (Raa, 2000).

Diferentes inmunoestimulantes han sido descritos y clasificados por Raa, (1996) y Smith *et al.* (2003) tomando en cuenta su naturaleza química y su modo de acción, entre los cuales se encuentran:

- a) Los elementos estructurales de bacterias (*lipopolisacaridos (LPS)*, *lipopéptidos*, *glicoproteínas* y *muramilpeptidos*).
- b) Varios inmunoestimulantes como el β -1,3-glucanos producto de bacterias (*Curdlan*) y hongos (*Krestin*, *Lentinan*, *Schizophyllan*, *Scleroglucan*, *SSG*, *VitaStim*).
- c) β -1,3/1,6-glucanos de la pared celular de la levadura de pan (*MacroGard*, *Betafectin*).
- d) Estructuras complejas de carbohidratos (*glucanos*) de varias fuentes marinas incluyendo algas marinas (*fucoïdinas*).
- e) Productos sintéticos (*Bestatin*, *muramilpeptidos*, *FK-156*, *FK-565*, *Levamisole*).

Los lipopolisacaridos (LPSs), lipopéptidos, peptidoglicanos y muramilpeptidos son inmunoestimulantes muy potentes cuando han sido probados *in Vitro*. No obstante, estos productos pueden causar serios problemas de inflamación y pueden ser muy tóxicos solo en concentraciones ligeramente por arriba de la dosis segura. Por ejemplo los lipopolisacaridos (LPSs) inducen la producción de la señal de las

moléculas que reducen el apetito y suprimen el crecimiento del organismo (Raa, 2000).

Los β - glucanos encontrados en hongos y levaduras, difieren de los inmunoestimulantes de origen bacterial en su estructura química y modo de acción. Se ha demostrado que los β -1,3-glucanos pueden mejorar la salud, crecimiento y el funcionamiento general en diversos grupos de animales, incluyendo organismos terrestres, peces y camarones cultivados, entre otros (Raa, 2000).

El fucoidan es un polisacárido sulfatado que se encuentra en el alga café, en camarones alimentados con fucoidan este sirve como inmunoestimulante aumentando la actividad fagocítica. También se ha encontrado que reduce la mortalidad inhibiendo el virus de la mancha blanca (WWSV) en *P. japonicus*, aunque su mecanismo de acción no es del todo claro. En estudios realizados *in Vitro*, se ha encontrado en el alga *Fucus vesiculosus* inhibe el virus de la inmunodeficiencia en humanos (Chotigeat *et al.* 2004). A pesar de los beneficios observados con algunos inmunoestimulantes, todavía quedan muchos aspectos sin resolver, entre los que se destacan las relacionadas con la destrucción gástrica, la dosificación, el tiempo de administración, el desgaste energético, etc. A diferencia de los quimioterapéuticos, para inmunoestimulantes la relación dosis/respuesta no es lineal sino que presenta un máximo a una concentración intermedia; a dosis más elevadas pueden no tener efectos o ser tóxicos (Sakai, 1999; Takahashi *et al.*, 2000). La explicación sobre esta respuesta no está totalmente aclarada pero se podría deber a la competencia por los receptores y a una sobreestimulación que genere una fatiga inmunológica (Scholz *et al.*, 1999; Raa, 2000; López *et al.*, 2003).

Debido a la presencia de virus en importantes epizootias a nivel mundial los antibióticos no presentan una solución, lo cual ha incrementado el interés en la inmunomodulación como una alternativa profiláctica para prevenir infecciones. El objetivo de la inmunomodulación es propiciar que algunos componentes del sistema inmunológico se vean incrementados sin que se traduzca en un estado de difícil control fisiológico para el organismo (Rodríguez *et al.* 2000).

En el caso de la acuicultura los aditivos con propiedades inmunomoduladoras que destacan son los pigmentos, las vitaminas antioxidantes y en menor medida los péptidos. Estos compuestos generan un efecto positivo sobre algunos componentes del sistema inmunitario. Hay aparentemente una fuerte relación bioquímica entre el metabolismo oxidativo, la conformación de la membrana celular y la función de algunos componentes de la dieta, como son, la función antioxidante de las vitaminas (C y E) y los pigmentos que protegen a las células de los radicales libres derivados del metabolismo y de los mecanismos de defensa.

Factores nutricionales que afectan el estado de salud de los camarones

Micronutrientes

Una parte muy importante en la alimentación es la composición de los nutrientes en la dieta que se pueden alterar y afectar el crecimiento y el funcionamiento del animal, incluyendo a los procesos del sistema inmunológico (Raa, 2000; Pascual et al., 2006). Las vitaminas E y C constituyen una parte muy importante en la dieta de los crustáceos ya que estas son esenciales para el mantenimiento, crecimiento y reproducción. Las vitaminas son un grupo de sustancias orgánicas que son requeridas en pequeñas cantidades, la mayoría no son sintetizadas y si lo son es a niveles menores de los requeridos, cada una de las vitaminas cumple funciones biológicas específicas en el organismo, por ejemplo, en el caso de las vitaminas liposolubles, la vitamina E es un potente antioxidante biológico dentro de la célula (Arango, 1996), contribuye a la estabilidad de la membrana protegiendo las estructuras celulares críticas contra daños de los radicales libres de oxígeno y los productos reactivos de la peroxidación de lípidos (Lee, MH., Shiau, SY., 2004).

En el grupo de vitaminas hidrosolubles se encuentra la vitamina C, la cual ha recibido mucha atención en la nutrición de peces y camarones debido a que son especies vitamina C-dependientes. Estos organismos no tienen la capacidad de sintetizar las cantidades necesarias para el crecimiento normal y reproducción (Arango, 1996). La ausencia de ésta vitamina causa la llamada "muerte negra", que se caracteriza por

lesiones melanizadas en el exoesqueleto (Hunter *et al.*, 1979; Ligthner *et al.*, 1979; Heinen, 1984; Petriella *et al.*, 2002; Catacutan y Lavilla-Pitogo, 1994; D'Abrahamo *et al.*, 1994; Montoya y Molina, 1995; Fenucci, *et al.* 2004) debido a la reducción de la síntesis de colágeno (Hunter *et al.*, 1979; Fenucci, *et al.* 2004).

Pigmentos

Otra parte importante en la nutrición de camarones son los carotenoides entre los cuales destaca la astaxantina como principal componente pigmentante o como nutriente en diferentes peneidos (Arango, 1993; Arango *et al.*, 1994, 1995; Chien y Jeng, 1992; High, 1995; Kurmaly, 1994, 1995; Kurmaly y Latscha, 1993; Latscha, 1989, 1991, 1991A; Menasveta *et al.*, 1993; Miki, 1991; Negre-Sadargues, 1993; Pedraza *et al.*, 1996; Yamada *et al.*, 1990; Arango, 1996), los pigmentos juegan un papel importante en salud animal por la inactivación de los radicales libres producidos de actividades celulares, se encontró que la actividad antioxidante de la astaxantina es aproximadamente 10 veces más fuerte que los β -carotenos y 100 veces mejor que el α -tocoferol (vitamina E) (Shimidzu *et al.*, 1996), mostrando también una fuerte actividad como un inhibidor de la peroxidación de lípidos mediado por las formas activas del oxígeno (Miki, 1991).

Varios trabajos han demostrado que las vitaminas C y E, el selenio y los carotenoides actúan sobre el sistema inmune incrementando la resistencia a las enfermedades en especies acuáticas cultivables (Kanazawa, 1996; Fenucci *et al.* 2004), siendo esto muy importante debido a que las enfermedades en un cultivo de camarones, pueden causar grandes pérdidas.

Péptidos

Se ha observado que los péptidos inmunomoduladores que se encuentran en la leche, específicamente de la caseína (β - y α_{s1} -CN) y lactoalbúmina (α -LA) pueden afectar al sistema inmunológico y a la proliferación celular. Algunos aumentan la fagocitosis, modulan la proliferación y la diferenciación de los linfocitos. La

lactoferrina intacta o su péptido N- terminal modulan la blastogénesis o diferenciación de linfocitos. También en la leche podemos encontrar hormonas, factores de crecimiento y citocinas que son importantes en la inmunoregulación y desarrollo inmune (Torres-Llana *et al.*, 2005).

Aspectos nutricionales

La dieta representa la oportunidad de brindarles a los organismos los elementos necesarios para lograr un mejor desempeño ante determinadas condiciones de cultivo. Bajo este contexto, lograr una mayor inmunidad depende fuertemente del uso adecuado de factores nutricionales y aditivos que permitan estimular y modular a los componentes del sistema inmunitario de los camarones.

Macronutrientes

Las proteínas son sustancias orgánicas nitrogenadas constituidas por aminoácidos que participan en la estructura y funcionamiento de la materia viva, siendo el componente más importante, representando el 45-75 % del tejido seco y es imprescindible para el mantenimiento del organismo y su crecimiento (García-Galano, 2006). El requerimiento de proteínas para juveniles de *L. setiferus* que se consideran óptimos han sido reportados por diferentes autores, Andrews, *et al.* (1972) reportaron niveles de 28-32 %, Lee y Lawrence (1985) reportaron 30 %, Taboada, *et al.* (1998) reportaron 30 %.

Los lípidos son un grupo heterogéneo de sustancias que se encuentran en los tejidos. Son una importante fuente de energía y componentes fundamentales de las membranas celulares y subcelulares. Funcionan como transportadores en la absorción de vitaminas liposolubles, precursores de prostaglandinas y hormonas. Están constituidos por un grupo carboxilo y una cadena larga de carbonos (Fenucci y Harán, 2006). En dietas comerciales para camarón el nivel recomendado por Akiyama, *et al.* 1991 para los organismos de 3 a 15 g es de 6.3 %.

Los carbohidratos son compuestos químicos formados por carbono, hidrógeno y oxígeno, pueden utilizarse como fuente de energía, como reserva de glucógeno, en la síntesis de quitina, ácidos nucleicos y en la formación de esteroides y de ácidos grasos (Gutiérrez, 2002). No hay un requerimiento de la glucosa en la dieta para camarones peneidos, debido a que esta puede ser convertida vía gluconeogénica por las proteínas (Tacon, 1990; Wigglesworth y Griffith, 1994). Sin embargo, el almidón representa la mayor fuente de energía en el camarón. Cousin (1995), Davis y Arnold (1993), confirman que hay un coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) (aprovechamiento del alimento) constante de 5-40 %, proporcionando el almidón de trigo los mejores valores de CDA, cuando se incluye 35% del total de la dieta.

El desarrollo de una enfermedad infecciosa es generado por la ruptura del equilibrio entre patógeno, hospedero y ambiente. Este equilibrio está directamente vinculado a los procesos fisiológicos, que permiten canalizar la energía del alimento hacia los ajustes metabólicos, originados por la interacción dinámica entre el organismo y su ambiente (Pascual, 2005). Bajo este enfoque resulta evidente que la evaluación de los inmunoaditivos debe de contemplarse bajo una visión integral en donde se verifique la condición nutricional de los organismos para descartar las inmunodeficiencias asociadas con un alimento de poca calidad nutrimental. Los indicadores del estado de salud, como la hemocianina y la capacidad osmótica han sido ampliamente utilizados en los estudios de crustáceos relacionados principalmente al tipo de dieta o con alteraciones ambientales (Lignot, 2000). Mientras que los niveles de glucosa, colesterol, lactato, acilglicéridos, proteínas y hemocianina han sido utilizados para conocer la condición nutricional (Racotta y Palacios, 1998; Rosas *et al.*, 2001; Rosas *et al.*, 2002; Pascual *et al.*, 2003).

JUSTIFICACIÓN

A *Litopenaeus setiferus* se le considera una especie con potencial para el cultivo, representando una alternativa viable para la camaronicultura en el Golfo de México. Diversos estudios han demostrado que esta especie tiene buenos rendimientos de producción en sistemas de cultivo intensivo (Sandifer *et al.*, 1993; Sánchez *et al.*, 2001). Además, presenta una ventaja ecológica al ser una especie local, que no representa ningún riesgo ambiental, como es el caso de las especies introducidas como *Litopenaeus vannamei*, quien es actualmente utilizada por su alto crecimiento y grado de domesticación.

La camaronicultura en los últimos veinte años ha venido enfrentado diferentes retos, entre los que sobresalen las enfermedades ocasionadas por virus y bacterias. La experiencia en el cultivo señala que los brotes infecciosos están asociados al manejo de la producción con altas densidades y el deterioro ambiental en los sistemas de cultivos, la cual ha llevado a importantes pérdidas económicas (Bachère, 2000; Bédier *et al.*, 1998; Pascual *et al.*, 2006).

La presencia de una enfermedad esta asociada a la inmunidad del hospedero y el manejo de la energía metabólica canalizada a los mecanismos homeostáticos. Debido a que los camarones no presentan anticuerpos los tratamientos profilácticos, como el uso de los inmunoaditivos suministrados a través del alimento, presenta un gran potencial para la prevención de enfermedades durante el cultivo. Sin embargo, es necesario profundizar en los mecanismos de acción, así como su efecto sobre el metabolismo general y la condición fisiológica e inmunológica de los camarones, con el fin de asentar las bases biológicas que permitan establecer una dosificación adecuada ante situaciones específicas de cultivo.

La condición nutricional y el estado fisiológico de los camarones han sido evaluadas a través de los metabolitos sanguíneos y la determinación de las reservas en la glándula digestiva en diferentes condiciones ambientales, relación con su talla, contaminación

(Lignot *et al.*, 1999), oxígeno disuelto (Charmantier *et al.*, 1994), calidad de reproductores (Palacios *et al.*, 1998; Racotta y Palacios, 1998; Palacios *et al.*, 1999; Sánchez *et al.*, 2001) y de la alimentación (Rosas *et al.*, 1995; Rosas *et al.*, 2002).

La mayoría de las investigaciones en camarones peneidos que están relacionadas con inmunomoduladores se enfocan a dos especies de gran importancia productiva en América y Asia como son *L. vannamei* y *P. monodon*. Existe un desconocimiento sobre estos aspectos en las especies de camarón del Golfo de México, por lo cual, el presente trabajo se diseñó para determinar el efecto de dos inmunomoduladores comerciales sobre la condición nutricional y el estado fisiológico de los juveniles de *Litopenaeus setiferus*.

HIPÓTESIS

Si los inmunomoduladores tienen un efecto sobre el metabolismo de los organismos esto se verá reflejado en la condición nutricional y/o el estado fisiológico de los juveniles de *Litopenaeus setiferus* alimentados con los aditivos comerciales.

OBJETIVOS

Objetivo general

Conocer los efectos que causan las dietas adicionadas con dos inmunomoduladores comerciales; péptidos derivados de la leche y sobre dosis de vitaminas C y E más astaxantina, sobre la condición nutricional y el estado fisiológico de los juveniles del camarón blanco *Litopenaeus setiferus*.

Objetivos específicos

Determinar los efectos que causan las dietas adicionadas con dos inmunomoduladores comerciales; péptido derivado de la leche y sobre dosis de vitaminas C y E más astaxantina sobre la concentración de hemocianina y la capacidad osmótica de los juveniles de *Litopenaeus setiferus*.

Determinar los efectos que causan las dietas adicionadas con dos inmunomoduladores comerciales; péptido derivado de la leche y sobre dosis de vitaminas C y E más astaxantina sobre los metabolitos sanguíneos y las reservas de glucógeno y lípidos en la glándula digestiva de los juveniles de *Litopenaeus setiferus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó acabo en la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI) de la Facultad de Ciencias de la UNAM, ubicada en el puerto de abrigo en Sisal, municipio de Hunucmá en Yucatán, México.

Origen y obtención de los animales experimentales

Para la realización del presente estudio se utilizaron los juveniles de *Litopenaeus setiferus* procedentes de un desove en condiciones controladas en el área de maduración de la UMDI. Los reproductores fueron capturados en la plataforma continental adyacente a la Laguna de Términos, Campeche, México. Posteriormente fueron transferidos a la Unidad, en bolsas de polietileno con aproximadamente 10 litros de agua y con ambiente saturado de oxígeno. Durante el traslado la temperatura se mantuvo a 21 °C con el fin de reducir el metabolismo y así evitar el estrés producido por la captura, traslado y la manipulación.

En el área de maduración las 31 hembras y 19 machos reproductores fueron repartidos en dos estanques de 3000 l. Después de 24 horas los organismos fueron alimentados con una dieta de maduración convencional para camarón semi-húmeda (Vimifos 40% de proteína animal) tres veces al día (8:00, 14:00 y 20:00 h), se proporciono el 6 % de alimento con respecto a la biomasa. Diariamente se registraron los parámetros fisicoquímicos del agua: la temperatura se mantuvo a 28 ± 0.5 °C con un enfriador (Chiller 230 voltios, $\frac{3}{4}$ Hp). La salinidad fue de 38 ± 2 UPS (Unidades Practicas de Salinidad) y se registró con un refractómetro Portable refractometer, Salt refractometer 0 to 100 ppt w/ATC SPER SCIENTIFIC. El oxígeno disuelto se mantuvo en 3.9 mg/L. y fue registrado con DISSOLVED OXYGEN METE, YSI, Model 50B El pH fue de 7.9 (Potenciómetro, model 250A, © 1990, Orion research, Inc. Boston, MA02129 USA).

Para acelerar la maduración sexual a las hembras se les ablacionó el tallo del pedúnculo ocular (Primavera, 1987), y se les suministró una dieta para reproductores

enriquecida con calamar, ostión, mejillón y hueva de pescado en una proporción de 6 %. Las hembras con desarrollo ovárico avanzado fueron fertilizadas manualmente con el contenido espermático de los machos adultos. El espermátforo fue obtenido por medio de una estimulación eléctrica (3-4 voltios) realizada en la base del ampula terminal en el quinto segmento abdominal por la parte ventral (Rosas *et al.*, 1993).

Una vez que se obtuvieron los huevos y estos eclosionaron, emergieron los nauplios, los cuales fueron transferidos al área de cría larval, donde se les proporcionó el esquema básico de alimentación para *L. setiferus* (Gallardo, 1994), constituido por algas verdes (*Chaetoceros gracilis*), algas café (*Tetraselmis chuii*) y *Artemia franciscana*. Las larvas fueron mantenidas con aereación constante y a una temperatura de 28 °C. Cuando alcanzaron el estadio de postlarva 6 fueron trasladadas 1,268 postlarvas a estanques exteriores de 1.5 m de diámetro, donde fueron alimentadas con *A. franciscana*. La salinidad del dispositivo de cultivo se mantuvo a 25 UPS con aereación constante. En postlarva 30 fueron trasferidas a un estanque de 20 toneladas (4 m de diámetro) y se sembraron a una densidad de 50 postlarvas/mt². Se mantuvo la oxigenación constante y se continuo con el registro de los parámetros y el suministro diario de alimento pelletizado (40 % de proteínas). Cuando alcanzaron un peso cercano a 6.5 g los juveniles se transfirieron al área experimental en el iglú de fisiología.

Dietas experimentales

Las dietas experimentales utilizadas fueron preparadas en el área de nutrición de UMDI basadas en la formulación de la Dra. Gabriela Gaxiola. Se utilizó la misma dieta basal para los tres tratamientos pero con dos diferentes inmunomoduladores comerciales; el primero con la premezcla de dosis alta de vitaminas C, E y astaxantina (Vitamina C 1,280,003 mg, Vitamina E 162000 mg, Astaxantina 25,000 mg Vehículo c.b.p. 131.27 g), el segundo conteniendo a los péptidos derivados de la leche. La dieta control, sin inmunomoduladores, incluyó la dosis basal de vitaminas (Tabla 2).

Tabla 2. Composición de la dieta experimental (%)

Ingredientes	% de las Dietas		
	Control	Vitaminas	Péptidos
H. de pescado (Súper Prime)	32	32	32
Pasta de Soya	25	25	25
H. de Calamar	5	5	5
Colesterol	0.5	0.5	0.5
Lecitina de Soya	1	1	1
Ac. de H. de Bacalao	4	4	4
Almidón de Trigo	29	29	29
*Premezcla de vitaminas y minerales	0.4	0.4	0.4
Rovimix – C	0.0286	0.0286	0.0286
Alginato	1	1	1
Relleno	2.0714	1.5714	2.0714
Proteínas	36.7	36.7	36.7
Carbohidratos	35	35	35
Lípidos	9.7	9.7	9.7
Inmunoaditivos			
**Vitaminas más astaxantina	0	0.5	0
Péptidos	0	0	0.0025
Sub-Total	100	100	100

*Premezcla de vitaminas y minerales para camarón donación DSM

**Vitaminas dosis alta más astaxantina

- Vitamina E 162000 mg.
- Vitamina C 1 280 003 mg
- Astaxantina 25 000 mg
- Vehículo c.b.p. 131.27 g

Diseño experimental

El experimento tuvo una duración de 30 días. Se trabajó en un sistema de circulación semi-cerrado con tres módulos, uno por tratamiento para mantener independientemente el agua de las distintas dietas experimentales, y evitar así, el posible efecto generado por la lixiviación de los componentes del alimento. Los módulos fueron distribuidos al azar dentro del área experimental. Cada tratamiento contó con 5 réplicas experimentales con 15 juveniles de *L. setiferus* por estanque de plástico con capacidad de 185 l.

Este sistema fue abastecido con agua de mar y agua dulce para mantener la salinidad a 25 UPS. Se utilizaron espumadores, filtros de arenas (GE Osmonics, Model: 263/440j), lámparas de UV (smart UV 02025) y cartuchos de 5 y 30µm respectivamente para mantener una buena calidad de agua. Se contó con un sistema de aireación constante (air lift), el cual evita que se concentren las heces y el alimento en un punto del estanque. El fotoperiodo fue de 12 horas luz por 12 de oscuridad con una intensidad luminosa de 260.533 lux (Sper scientific Light methether Lux/fc mod: 840020) (Fig. III).

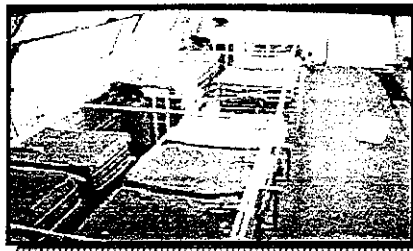
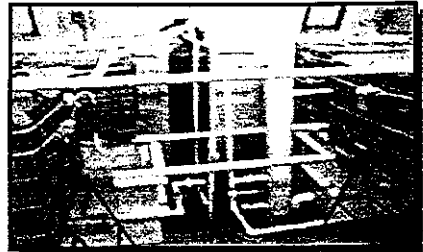
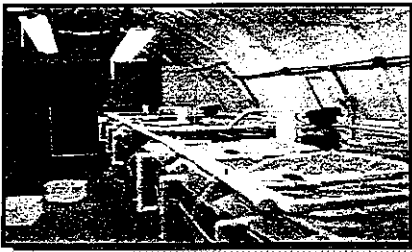


Figura III. Área experimental de fisiología

Mantenimiento de los organismos

Los organismos fueron alimentados *ad libitum* con las dietas experimentales tres veces al día (8:00, 14:00 y 20:00 h). Diariamente se sifoneó el fondo del tanque con la finalidad de recoger los desechos alimenticios y las heces fecales, y también fueron registrados los valores fisicoquímicos del agua (temperatura, salinidad, pH y

oxígeno disuelto). La concentración de nitritos, nitratos y amonio (Kit Hatch) se evaluó una vez por semana.

Durante el experimento se registraron la frecuencia de muda y la sobrevivencia. Al término del experimento se registró el peso de los camarones.

Evaluaciones

Al término del experimento 45 organismos por tratamiento fueron transportados al laboratorio de la Unidad para llevar a cabo las diversas evaluaciones. La respuesta fisiológica fue determinada a partir de la capacidad osmótica y la concentración de hemocianina. La condición nutricional se evaluó por medio de los metabolitos plasmáticos de proteínas, acilglicéridos, colesterol, lactato, y glucosa. Las reservas energéticas fueron abordadas a través de la concentración de glucógeno y lípidos totales en la glándula digestiva.

Muestreo de los organismos

Se llenó un recipiente a la mitad con agua del dispositivo experimental y se tomó la temperatura. Posteriormente se le agregaron botes con agua previamente congelados hasta bajar la temperatura 5 °C por debajo de la inicial. Los camarones fueron capturados aleatoriamente usando una red con mango, posteriormente fueron colocados en el agua fría con la finalidad de disminuir el efecto de la manipulación. Una vez en el laboratorio se dejaron a los organismos por cinco minutos para que se acondicionaran al cambio de intensidad de luz y después de este tiempo se comenzó a extraer las muestras de hemolinfa y tejido.

Obtención de Hemolinfa

La hemolinfa se extrajo por punción en el seno ventro lateral del abdomen con una jeringa de insulina (1 ml con aguja ultrafina de 29G x 13mm) (Fig. IV). La jeringa fue incubada previamente con aproximadamente 100 µl de solución anticoagulante

enfriada previamente a 8 °C (450 mM NaCl, 10 mM KCl, 10mM HEPES, 10 mM EDTA-Na₂, pH 7.3, 850 mOsm/Kg) (Vargas-Albores, 1993). La solución anticoagulante se descarto completamente de la jeringa antes de la extracción de la hemolinfa con la finalidad de dejar impregnadas las paredes de la jeringa y la aguja, sin afectar la dilución de la muestra. La hemolinfa obtenida se puso inmediatamente sobre un trozo de parafilm, el cual estaba sobre una placa congelante para mantener fría la muestra y evitar la coagulación. Se tomaron submuestras con micropipetas para las diferentes evaluaciones.



Figura IV. Extracción de hemolinfa

Respuestas Fisiológicas

Presión osmótica

Se obtuvo a partir de 20 μ l de hemolinfa, la cual se analizó en un micro-osmómetro (3 MO-PLUS; Advanced Instruments, Inc. USA). Se calculó la capacidad osmótica a partir de la diferencia de la presión osmótica de la hemolinfa y la del medio externo o agua de cultivo (Lignot *et al.*, 1999).

Hemocianina

Se utilizó el método descrito por Chen *et al.* (1993), para el cual se diluyeron 8 μ l de hemolinfa en 990 μ l de agua destilada, se resuspendió varias veces para mezclarlo bien. Posteriormente se registro la absorbancia a una longitud de onda de 335 nm

en el espectrofotómetro (Spectronic®21D) con lámpara UV. La concentración de hemocianina se calculó utilizando el coeficiente de extinción (Chen *et al*, 2003):

$$Hc = (\text{valor de la absorbancia} / \epsilon) \times FD$$

Hc= Hemocianina

FD= Factor de Dilución

ϵ = (coeficiente de extinción de la hemocianina) = 17.26

Respuestas bioquímicas

Manejo de la muestra de hemolinfa

50 μ l de hemolinfa se diluyeron inmediatamente con 100 μ l de solución anticoagulante enfriada previamente (8 °C) de acuerdo a Pascual, (2006). La muestra se resuspendió gentilmente varias veces con la ayuda de la micropipeta. Posteriormente la dilución se centrifugó a 800 g por 5 minutos a 4°C. El sobrenadante fue separado para llevar a cabo las evaluaciones plasmáticas de los metabolitos.

Cuantificación de metabolitos en el plasma

Los metabolitos fueron evaluados con "kits" o reactivos de diagnóstico clínico para humanos. Las determinaciones fueron adaptadas para realizar la evaluación en microplaca y considerado la concentración esperada en camarones peneidos de acuerdo con Hernández-López y Vargas-Albores, 1996.

Determinación de glucosa

Se colocaron por triplicado 10 μ l de plasma en una microplaca y se adicionaron 200 μ l de solución reactiva (Bayer Sera Pack Plus B01 4509-01). Posteriormente se incubaron a 24 ± 2 °C durante 10 min, y se registró la absorbancia a 540 nm utilizando un lector de microplacas (BIO-RAD model 550). La concentración de glucosa (mg/ml) se calculó con una curva patrón utilizando el estándar del kit.

Determinación de colesterol

Se colocaron 10 μ l de plasma por triplicado de plasma en una microplaca y se adicionaron 200 μ l de solución reactiva (Bayer Sera Pack Plus B01 4507-01). Posteriormente se incubaron a 24 ± 2 °C durante 5 min, y se registró la absorbancia a 540 nm utilizando un lector de microplacas (BIO-RAD model 550). La concentración de colesterol (mg/ml) se calculó con una curva patrón utilizando el estándar del kit.

Determinación de lactato

Se colocaron 10 μ l de plasma por triplicado en una microplaca y se adicionaron 200 μ l de solución reactiva (Trinity 735-10). Posteriormente se incubaron a 24 ± 2 °C durante 10 min, y se registró la absorbancia a 540 nm utilizando un lector de microplacas (BIO-RAD model 550). La concentración de lactato (mg/ml) se calculó con una curva patrón utilizando el estándar comercial de lactato (Trinity Biotech 826-10).

Determinación de acilglicéridos

Se colocaron 10 μ l de plasma por triplicado en una microplaca y se adicionaron 200 μ l solución reactiva (Bayer Sera Pack Plus B01 4551-01). Posteriormente se incubaron a 24 ± 2 °C durante 10 min, y se registró la absorbancia a 490 nm utilizando un lector de microplacas (BIO-RAD model 550). La concentración de acilglicéridos (mg/ml) se calculó con una curva patrón utilizando el estándar del kit.

Determinación de proteínas

La concentración de proteínas plasmáticas se determinó de acuerdo al método de Bradford (1976). En la microplaca se colocaron por triplicado 10 μ l de plasma diluido (1:101 con agua destilada) y se adicionaron 200 μ l de solución reactiva (Biorad, Cat. 500-0006). Las muestras se incubaron a 24 ± 2 °C por 5 min, se registró la

absorbancia a 595 nm. La concentración de proteína (mg/ml) se calculó con una curva patrón utilizando el estándar comercial de albúmina bovina (Pierce Cat.23209).

Caracterización microscópica de los estadios de muda

Se determinó el estadio de muda mediante la caracterización de los cambios estructurales en la epidermis de los urópodos, clasificándolos en: Postmuda (A, B), Intermuda (C) y Premuda (D₀, D₁ y D₂, D₃) (Drach y Tchernigovtzeff, 1967). Solo los organismos en intermuda (C) fueron considerados para el análisis estadístico debido a la estabilidad metabólica que caracteriza esta fase del proceso de muda (Figura V).

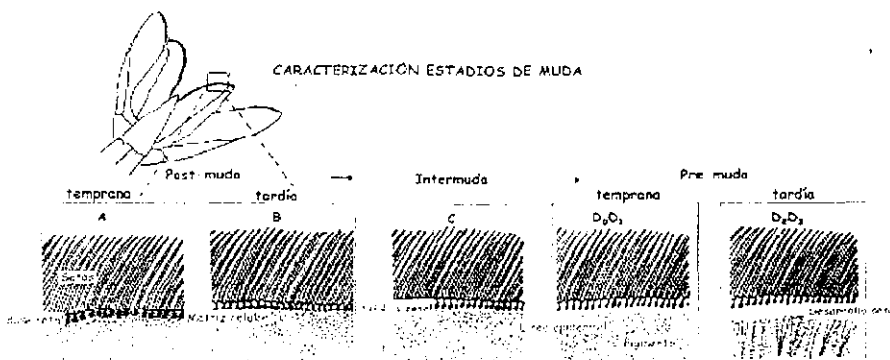


Figura V. Caracterización microscópica de los estadios de muda

Post-muda A y B

Temprana (A): el organismo está recién mudado y, por lo tanto, menos quitinizado. La matriz celular llena completamente las bases setales.

Tardía (B): la matriz celular se retrae, observándose un espacio entre las bases setales y esta retracción.

Intermuda C

La matriz celular está completamente ausente de las bases setales y la línea pigmentaria forma una especie de línea en la base de los nódulos setales.

Pre-muda D₀, D₁ y D₂, D₃

Temprana (D₀, D₁): la línea pigmentaria se aleja completamente de las bases de los nódulos setales, dejando la vieja cutícula.

Tardía (D₂, D₃): la retracción de la línea pigmentaria permite observar el desarrollo de las nuevas setas.

Reservas energéticas

Glucógeno en la glándula digestiva

Se utilizó la técnica de Dubois *et al.* (1965), para ello se extrajo la glándula digestiva y se pesó en una balanza analítica (Modelo: TE214S, Sartorius), una sección de aproximadamente 0.025 g fue pesada y homogeneizada con ácido tricloroacético (TCA, 5 %), se centrifugó por 6 minutos a 8000 g (Micro Centrifuge Eppendorf 5415). Se utilizó un volumen de sobrenadante por 5 volúmenes de etanol al 95 % (100:500 µl). Las muestras se incubaron por 3 horas a una temperatura de 37 °C, posteriormente se centrifugaron a 3340 g por 15 minutos, se desechó el sobrenadante y se agregó 1 ml de ácido sulfúrico y 200 µl de fenol (5%). Se resuspendió la muestra y se obtuvieron tres submuestras de 200 µl que fueron colocadas en una microplaca. Se registró la absorbancia a 490 nm utilizando un lector de microplacas (Biorad 550).

Lípidos en la glándula digestiva

Se extrajeron aproximadamente 0.5 g de la glándula digestiva que se colocaron en un tubo eppendorf para congelarlo en nitrógeno líquido y mantenerlo a -40 °C en un ultracongelador con el fin de mantener la muestra hasta el día de la evaluación.

Para la evaluación se pesó el tubo con tejido, posteriormente se colocó el tejido en el tubo de vidrio del homogenizador, en este momento se pesó el tubo sin tejido, después se le agregó un poco de cloroformo-metanol para posteriormente

homogenizar (macerar), una vez homogenizado se vació a un vaso erlenmeyer de 50 ml y se agregó cloroformo-metanol hasta un volumen final de 20 ml, se cubrió el vaso con papel parafilm y se colocó en el agitador a 97 rpm por un periodo de 15 minutos. Posteriormente la muestra se filtró a 42 micrómetros (Cat No.1442090, Whatman) utilizando una bomba de vacío (GE, Motors & Industrial Systems. MOD 5KH33DN16HX, HP 1/6). La solución obtenida fue colocada en un embudo de separación, al cual se le agregó 1/3 del volumen de agua-metanol (60 ml.). Se agitó el embudo manualmente y se puso a reposar aproximadamente una hora, hasta que se observa claramente la separación de la fracción de lípidos, la cual es colectada en un frasco previamente pesado. La muestra se puso a evaporar en el desecador. Una vez evaporada la muestra se peso nuevamente el frasco y la diferencia de los pesos indica la cantidad de los lípidos, los cuales son expresados en mg/g de tejido. (Folch *et al.*, 1957) (Figura VI).

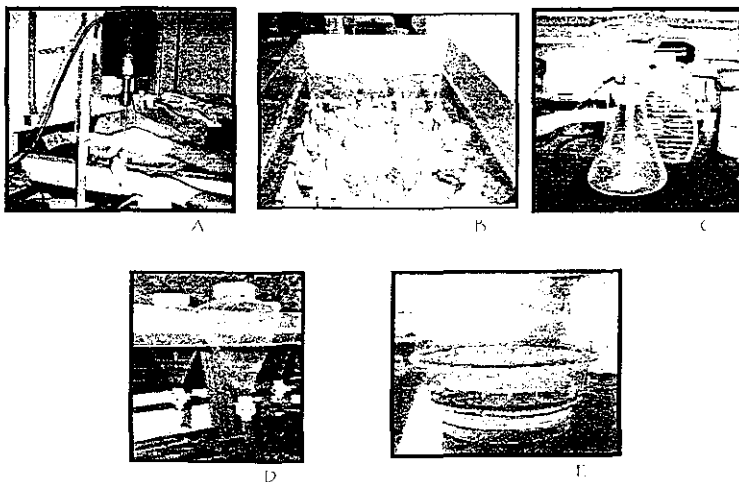


Figura VI. Proceso de obtención de lípidos en la glándula digestiva A) Homogenizado de la glándula digestiva, B) Muestras agitándose, C) Filtrado de la solución D) Muestra en embudo de separación y E) Frascos con lípidos en la desecadora.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para comparar si los valores de las dietas experimentales son significativamente distintos en cada una de las evaluaciones bioquímicas y fisiológicas. Para verificar la normalidad de los datos se utilizó la prueba de Levene. Se empleó la prueba de rangos múltiples de Newman-Keuls para ponderar las diferencias entre los promedios. Se trabajó con 95% de confianza para determinar diferencias significativas ($P < 0.05$) (Zar, 1974). Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el programa STATISTICA versión 6.

RESULTADOS

Características Fisicoquímicas

A lo largo del experimento las características fisicoquímicas del agua se mantuvieron constantes y dentro de los rangos recomendados para el mantenimiento de camarones peneidos en condiciones de cautiverio (Tabla 3). El promedio de la temperatura fue 26.4 °C, el oxígeno de 6.2 mg/l, salinidad de 25.4 UPS, y del pH fue de 8.32. En tanto que la concentración promedio de los productos nitrogenados fue de 0.6 mg/l de amonio, 53.3 mg/l de nitratos y 1.8 mg/l de nitritos.

Tabla 3. Valores de las características fisicoquímicas.

		T R A T A M I E N T O S		
		Control	Vitaminas	Péptidos
Temperatura (°C)	Promedio	26.5	26.4	26.4
	Máximo	29.9	29.2	30.4
	Mínimo	24.1	24.5	24.2
O ₂ (mg/l)	Promedio	5.9	6.0	6.4
	Máximo	8.44	7.97	7.81
	Mínimo	3.68	4	4.04
Salinidad (UPS)	Promedio	25.2	25.4	25.6
	Máximo	26	27	28
	Mínimo	24	25	25
pH	Promedio	8.33	8.33	8.31
	Máximo	8.19	8.28	8.11
	Mínimo	8.48	8.41	8.46

Sobrevivencia

La sobrevivencia de los camarones a lo largo del experimento fue alta en los tres tratamientos. En los camarones alimentados con la dieta control la sobrevivencia fue de 97 % y en los tratamientos con inmunomoduladores fue de 95 % (Figura VII).

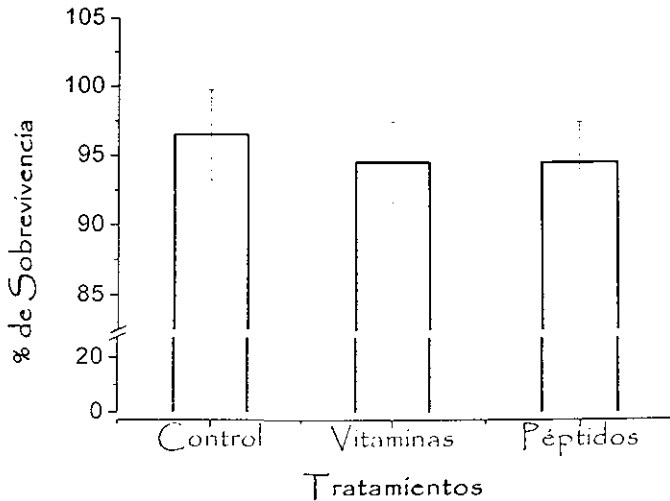


Figura VII. Sobrevivencia de juveniles de *L. setiferus* mantenidos durante 30 días y alimentados con dos inmunomoduladores comerciales: vitaminas C, E y astaxantina y otra con péptidos derivados de la leche. Valores dados como promedio \pm E. S.

Crecimiento en Peso

El peso húmedo en los tres tratamientos fue similar al término del experimento (6.5 g) (Tabla 4). La incorporación de biomasa durante el bioensayo fue baja en los tres tratamientos y menor a 0.5 g. Los tratamientos con inmunomoduladores de vitaminas y péptidos mostraron la mayor ganancia de peso, siendo de 0.311 ± 0.031 g y 0.103 ± 0.078 g respectivamente, en tanto que la menor ganancia se observó en el tratamiento control con 0.011 ± 0.034 g.

Tabla 4. Peso húmedo inicial, final de juveniles de *L. setiferus* alimentados con tres diferentes dietas experimentales: control, una adicionada con vitaminas C, E y astaxantina y otro con péptidos derivados de la leche. Valores dados como promedio \pm E. S.

	Tratamientos	Replicas	Media	Error Estándar
Peso Inicial	Control	4	6.594	0.195
	Vitaminas	5	6.454	0.204
	Péptidos	5	6.487	0.043
Peso Final	Control	4	6.605	0.215
	Vitaminas	5	6.785	0.116
	Péptidos	5	6.590	0.104

Respuestas Bioquímicas

Los metabolitos sanguíneos de los organismos alimentados con las tres dietas experimentales fueron muy similares ($P > 0.05$). En la Tabla 5 se presentan los valores por tratamiento y el resultado del análisis de varianza en la concentración plasmática de colesterol, acilglicéridos, lactato, glucosa y proteínas.

Tabla 5. Metabolitos sanguíneos evaluados en los juveniles de *L. setiferus* alimentados con tres dietas diferentes (control, vitaminas y péptidos). Valores dados como promedio \pm E. S.

	Tratamientos	N	Promedio	Error estándar	P
Colesterol, mg/ml	Control	21	0.242	0.024	0.256
	Vitaminas	26	0.249	0.022	
	Péptido	30	0.203	0.020	
Acilglicéridos, mg/ml	Control	21	0.337	0.037	0.925
	Vitaminas	27	0.355	0.032	
	Péptido	28	0.343	0.032	
Lactato, mg/ml	Control	20	0.041	0.007	0.952
	Vitaminas	24	0.038	0.007	
	Péptido	29	0.040	0.006	
Glucosa, mg/ml	Control	21	0.460	0.048	0.347
	Vitaminas	26	0.497	0.043	
	Péptido	29	0.411	0.041	
Proteínas, mg/ml	Control	21	281.883	9.382	0.413
	Vitaminas	27	275.768	8.274	
	Péptido	30	265.990	7.849	

Respuestas Fisiológicas

La concentración de hemocianina (mMol/Kg), la Presión Osmótica del organismo, Presión Osmótica del medio y la Capacidad Osmótica no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0.05$), en la Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos en este experimento.

Tabla 6. Resultados obtenidos en los valores de hemocianina, presión osmótica y capacidad osmótica en juveniles de *L. setiferus* alimentados con tres diferentes dietas experimentales (control, vitaminas y péptidos). Valores dados como promedio \pm E. S.

		Tratamientos				
		s	N	Media	Error estándar	P
Hemocianina, mMol/l	Control	22	1.874	0.056	0.189	
	Vitaminas	27	1.932	0.051		
	Péptido	32	1.805	0.047		
P. O. del organismo, mOsm/kg	Control	10	856.300	10.966	0.185	
	Vitaminas	14	875.643	9.268		
	Péptido	21	854.095	7.567		
P. O. del medio, mOsm/kg	Control	10	810.600	6.451	0.056	
	Vitaminas	14	797.071	5.452		
	Péptido	21	791.143	4.451		
Capacidad Osmótica, mOsm/kg	Control	10	45.700	13.597	0.192	
	Vitaminas	14	78.571	11.491		
	Péptido	21	62.952	9.383		

Reservas energéticas

Glucógeno en Glándula Digestiva

La concentración de glucógeno (mg/g) en la glándula digestiva no presento diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0.05$). Los resultados obtenidos en el presente estudio se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Concentración de glucógeno en la glándula digestiva de juveniles de *L. setiferus* alimentados con tres diferentes dietas experimentales (control, vitaminas y péptidos). Valores dados como promedio \pm E. S.

Tratamientos		N	Media	Error estándar	P
Glucógeno mg/g	Control	23	5.777	0.370	0.444
	Vitaminas	26	5.129	0.348	
	Péptidos	31	5.485	0.319	

Lípidos en Glándula Digestiva

La concentración de lípidos totales en la glándula digestiva se vio afectada por el tipo de inmunomodulador ($P < 0.05$). Los juveniles alimentados con péptidos presentaron una concentración de lípidos significativamente menor a la concentración observada en los juveniles alimentados con la dieta control y el tratamiento de vitaminas más pigmento. La concentración promedio fue de 179.165 ± 17.680 mg/g para el tratamiento con péptidos, en tanto que los tratamientos vitaminas y control presentaron valores de 245.326 ± 18.279 mg/g y 261.432 ± 20.987 mg/g respectivamente (Figura VIII).

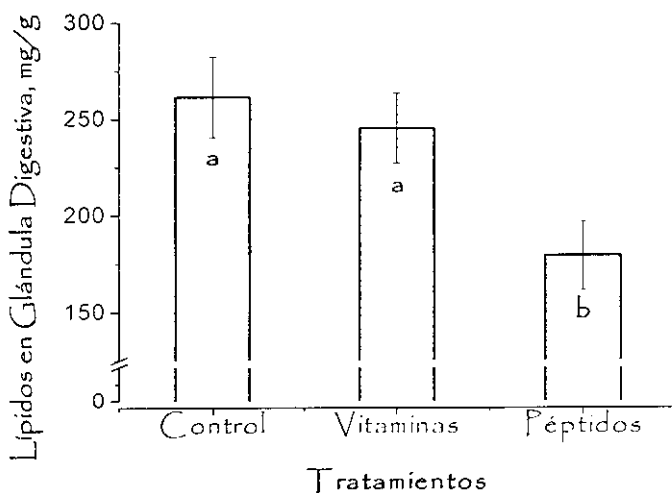


Figura VIII. Lípidos en la glándula digestiva en los juveniles de *L. setiferus* alimentados con tres diferentes dietas experimentales: control, una adicionada con vitaminas C, E y astaxantina y otro con péptidos derivados de la leche. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Valores dados como promedio \pm E. S.

Peso de la Glándula Digestiva

El peso de la glándula digestiva (GD) fue diferente entre los tratamientos ($P < 0.05$). Los juveniles de camarón alimentados con vitaminas más pigmento presentaron una

glándula significativamente mayor a la de los juveniles alimentados con la dieta control y la dieta adicionada con péptidos, los pesos promedios para la glándula digestiva fueron de 0.28 ± 0.008 g, 0.25 ± 0.009 g y 0.24 ± 0.007 g respectivamente (Figura IX).

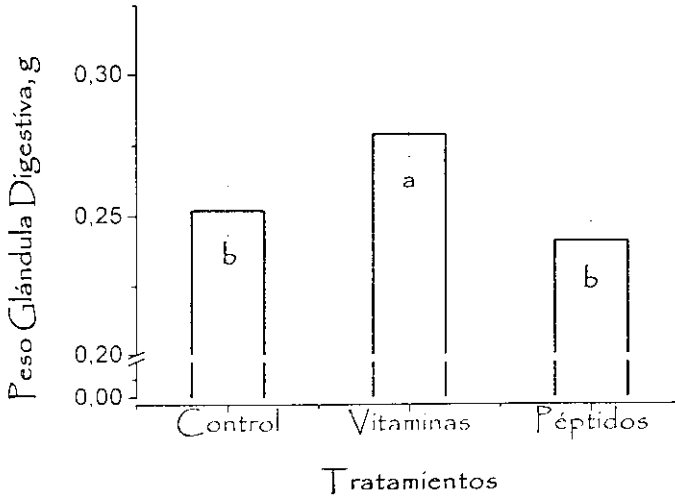


Figura IX. Peso de la glándula digestiva de los juveniles de *L. setiferus* alimentados con tres diferentes dietas experimentales: control, una adicionada con dosis alta de vitaminas C, E y astaxantina y otro con péptidos derivados de la leche. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Valores dados como promedio \pm E. S.

Índice Hepatosomático %

Se observó una diferencia significativa en el índice hepatosomático de los juveniles alimentados con los distintos tratamientos ($P < 0.05$). Los organismos alimentados con la dieta adicionada con péptidos presentaron el menor índice hepatosomático, siendo de 3.70 ± 0.1 %, en tanto que los organismos alimentados con el tratamiento control y vitaminas presentaron un mayor índice hepatosomático, 4.11 ± 0.11 % y 4.38 ± 0.11 % respectivamente (Figura X).

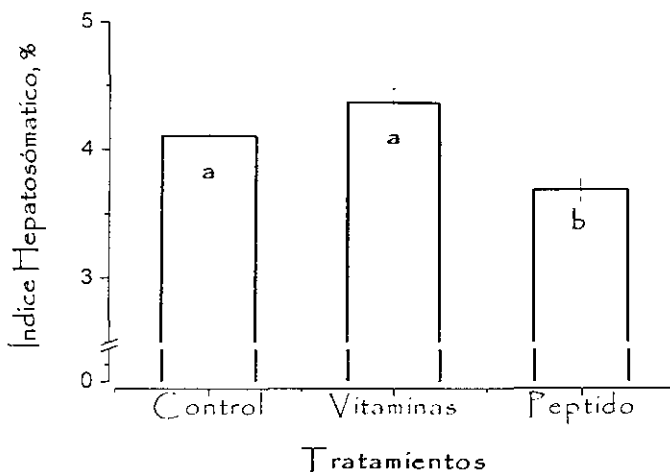


Figura X. Índice Hepatosomático en juveniles de *L. setiferus* alimentados con tres diferentes dietas experimentales: control, una adicionada con dosis alta de vitaminas C, E y astaxantina y otro con péptidos derivados de la leche. Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$). Valores dados como promedio \pm E. S.

DISCUSION

Durante el experimento las características fisicoquímicas del agua se mantuvieron dentro de los rangos recomendados para camarones peneidos en cautiverio. El pH promedio fue de 8.32 y se encuentra dentro del intervalo considerado adecuado para el cultivo de camarones, el cual debe de encontrarse entre 6.5 y 9 (FAO, 1998).

Diversas investigaciones han demostrado la capacidad de los peneidos para tolerar amplios intervalos de salinidad (Cuzon, *et al.* 2006). La salinidad óptima para el crecimiento de los camarones varía entre las especies, dependiendo si presentan una distribución más oceánica o más costera. Sin embargo, las etapas tempranas de desarrollo de diversas especies comparten un punto isosmótico de 25 UPS lo cual refleja la adaptación de los juveniles para aprovechar las áreas de crianza en las lagunas costeras (Brito, *et al.*, 2000). *L. setiferus* presenta un mejor crecimiento a bajas salinidades, por lo cual en el presente trabajo se utilizó agua de mar filtrada la cual fue mezclada con agua dulce para mantener la salinidad a 25 UPS.

Litopenaeus setiferus es una especie expuesta a fluctuaciones ambientales que son características de los sistemas costeros (Renaud, 1986; Rosas, *et al* 1999). Rosas, *et al.*, 1998 determinaron el nivel crítico de oxígeno disuelto para juveniles de *L. setiferus* en 4 mg/l. Concentraciones por debajo de 2 mg/l afectan el metabolismo y pueden disminuir el crecimiento en camarones juveniles de *L. vannamei* y *Penaeus monodon* (Seidman y Lawrence, 1985). El promedio del oxígeno disuelto en el presente experimento fue de 6.2 mg/l el cual es adecuado para la especie.

Como parte de los desechos metabólicos se encuentran los productos nitrogenados. En el ambiente acuático la acumulación de amonio, nitritos y nitratos puede alcanzar niveles tóxicos para los camarones. Para los juveniles de peneidos los niveles deben de mantenerse debajo de 2.5 mg/l para amonio, 100 mg/l para nitrato y 8 mg/l para nitrito. A lo largo del experimento el promedio de amonio fue de 0.6 mg/l, nitratos de 53.3 mg/l y para nitritos de 1.8 mg/ml. Estos resultados señalan que los filtros de

arena y los espumadores utilizados en el dispositivo experimental fueron adecuados para mantener la calidad del agua en un circuito semi-cerrado (Consultoría en cultivo de camarón, FAO, 1988).

La sobrevivencia durante el experimento fue alta en los tres tratamientos, con la dieta control fue del 97 %, y de 95 % para los tratamientos de vitaminas y péptidos. Estos resultados concuerdan con una sobrevivencia mayor a 90 % reportado en la literatura en condiciones de cautiverio (Sandifer, *et al.*, 1993, Pascual, *et al.*, 2003).

El crecimiento observado en los juveniles de *L. setiferus* alimentados con los tres tratamientos fue similar y relativamente bajo a comparación de otros reportes, que señalan un crecimiento de 0.7 a 1.2 gramos por semana (Sánchez, *et al.*, 2001; Rosas, *et al.*, 2001). El bajo crecimiento observado corresponde con la temperatura del experimento, la cual esta dentro del intervalo de tolerancia de la especie, pero que corresponde a la temporada de invierno. Experimentos con postlarvas de camarón, *Farfantepenaeus aztecus* y *Litopenaeus setiferus* sobre crecimiento y supervivencia, mostraron que ambas especies toleran un amplio margen de temperatura y salinidad, sin embargo existen diferencias entre ambas. *F. aztecus* tolera temperaturas mas bajas (15 °C o más bajas) mientras que *L. setiferus*, tolera temperaturas más altas (30 °C a 35 °C). *L. setiferus* en temperaturas que varían entre 15 °C y 25 °C registraron un incremento constante en la tasa de crecimiento, y disminuye a temperaturas entre 32.5 °C y 35 °C (Zein-Eldin y Griffith, MS). En organismos poiquiloterms la temperatura del medio gobierna la actividad metabólica y diversas funciones de gran importancia como el crecimiento y la reproducción. Durante el desarrollo del experimento se utilizaron calentadores eléctricos para contrarrestar a los frentes fríos, no obstante se registraron temperaturas de 24 °C, lo cual pudo disminuir la tasa metabólica y con ello la tasa de ingestión, lo cual explica un bajo crecimiento.

En condiciones de cultivo las bajas temperaturas tienen un efecto negativo sobre la tasa de crecimiento y sobrevivencia durante una parte del año en países como China, Hawai, Honduras, México, Panamá y otros lugares, en estos ambientes los

organismos son incluso más susceptibles a las enfermedades que en otras épocas del año (Ponce *et al.*, 1997). Desde este punto de vista realizar el estudio sobre el efecto de los inmunomoduladores con una temperatura de invierno pudiera aportar elemento para condiciones productivas.

El crecimiento de los organismos de los tres tratamientos experimentales fue similar ($P>0.05$), estos resultados concuerdan con la conformación de la dieta basal. En los tres tratamientos se mantuvieron constantes la concentración de macronutrientes, siendo de 37 % de proteínas, 9 % de lípidos y 35 % de carbohidratos, aportando así la misma cantidad de energía para las diferentes funciones que requiere el organismo. Los micronutrientes, es decir, la premezcla básica de vitaminas y minerales también se mantuvo constante en las tres dietas. La diferencia de las dietas fueron los inmunoaditivos comerciales los cuales fueron incorporados en la concentración recomendada por los fabricantes, y representan el 0.5 % en el caso de las vitaminas más pigmento y de 0.0025 % para el tratamiento con péptidos. Los resultados obtenidos reflejan que la incorporación de estos inmunomoduladores suministrados durante 30 días no afectó significativamente la incorporación de biomasa.

Se realizó un análisis del peso final considerando el estadio de muda, se utilizó para ello solamente el peso húmedo de los organismos en intermuda con la intención de disminuir la interferencia de la absorción de agua que acompaña a los subestadios previos a la muda, y verificar en este sentido la incorporación de biomasa. El resultado obtenido indica que el crecimiento de los organismos fue similar en los tres tratamientos ($P>0.05$), no obstante, se observa un patrón de comportamiento en donde los tratamientos con inmunomoduladores presentan una mayor ganancia en peso húmedo a comparación del tratamiento control (Tabla 8). Este patrón concuerda con lo reportado en otros estudios con inmunoaditivos que señalan que los tratamientos con inmunoestimulantes e inmunomoduladores pueden generar mejores crecimientos a comparación de los camarones alimentados con las dietas control sin aditivos (Arango, 1996; López, *et al.*, 2003).

Tabla 8. Ganancia de peso de juveniles de *L. setiferus*, alimentados con tres diferentes dietas experimentales: control, una adicionada con dosis alta de vitaminas C, E y astaxantina y otro con péptidos derivados de la leche. Valores dados como promedio \pm E. S.

Tratamientos	N	Replicas	Media	Error Estándar	P
Ganancia de Peso					0.181
Control	58	4	0.011	0.034	
Vitaminas	68	5	0.311	0.031	
Péptidos	72	5	0.103	0.078	

La evaluación de los metabolitos sanguíneos en camarones ha sido ampliamente utilizada como indicadores de la condición nutricional y el estado fisiológico de los juveniles y reproductores de camarones. Palacios (2000) uso acilglicéridos, glucosa, colesterol y proteínas para monitorear la condición fisiológica en hembras de *Litopenaeus vannamei* de poblaciones silvestres y cultivadas. Sánchez, *et al.*, 2001 observaron que los machos de *L. setiferus* presentan concentraciones significativamente mayores de glucosa y lactato en la hemolinfa cuando fueron expuestos a 31 °C a comparación de los organismos mantenidos a 27 °C. En un estudio posterior se utilizó la temperatura extrema de 33 °C para determinar los ajustes metabólicos asociados al proceso degenerativo del tracto reproductivo a través de los componentes de la hemolinfa (Pascual, *et al.* 2003a). En el presente estudio los metabolitos sanguíneos fueron muy similares en los juveniles de *L. setiferus* alimentados con las tres dietas experimentales ($P > 0.05$). Los valores obtenidos en los indicadores sanguíneos coinciden con los resultados de crecimiento y de sobrevivencia, y reflejan en su conjunto que la condición nutricional de los organismos de los tres tratamientos fue muy similar.

Los valores promedio de colesterol fueron de 0.242 ± 0.024 mg/ml ($n=21$), 0.249 ± 0.022 mg/ml ($n=26$) y 0.203 ± 0.020 mg/ml ($n=30$) para el tratamiento control, vitaminas y péptidos, respectivamente. Estos resultados concuerdan con lo reportado para juveniles *L. setiferus* silvestres, la concentración de 0.37 ± 0.02 mg/ml fue obtenida con 248 organismos en estado de intermuda (Rosas, *et al.*, 2004). La concentración de colesterol en la hemolinfa refleja el metabolismo de este nutriente, el cual es esencial para los camarones debido a que no lo sintetizan *de novo* (Gong,

et al., 2000). El colesterol juega un importante rol en el metabolismo de los crustáceos por ser un elemento estructural de las membranas celulares contribuyendo a la estabilidad de la membrana. Además, es precursor de hormonas como la ecdisona durante el proceso de la muda y participa en la síntesis de colágeno. Si el colesterol en la dieta no se administra o hay una inadecuada absorción por falta de fosfolípidos, la mortalidad aumenta debido a que los camarones juveniles no pueden completar la muda o ecdisis (Martínez, 2002).

Los acilglicéridos en la sangre están directamente relacionados con el tipo de alimento y la condición reproductiva de los organismos (Palacios 2000; Palacios *et al.*, 1999; Pascual, *et al.*, 2003a). Los acilglicéridos son de gran importancia fisiológica, ya que proveen de energía al organismo durante la reproducción y el crecimiento (Martínez, 2002). En juveniles de *L. vannamei* han sido reportadas concentraciones sanguíneas de acilglicéridos que van de 1.34 ± 0.70 mg/ml a 0.4 mg/ml ($n=367$) (Rosas *et al.*, 2002). En poblaciones silvestres de *L. setiferus* Rosas, *et al.*, (2004) reportaron una concentración promedio de 0.44 ± 0.02 mg/ml ($n=247$) en todos los estadios, estos resultados concuerdan con la concentraciones promedio obtenidas en el presente estudio de 0.345 mg/ml ($n=76$). Los metabolitos en la sangre reflejan el aprovechamiento de los nutrientes del alimento, en este estudio los lípidos de la dieta constituyeron el 9 % en las tres dietas experimentales, la concentración de lípidos en la hemolinfa reflejan una buena condición nutricional en lo que respecta a este nutriente.

La concentración de lactato en la hemolinfa está relacionada directamente con el metabolismo de los carbohidratos. En condiciones de estrés los camarones utilizan carbohidratos como principal fuente de energía, por lo cual la concentración de lactato y glucosa han sido propuestos como indicadores de estrés en crustáceos (Paterson, 1993; Sánchez, *et al.*, 2001). Durante el metabolismo, los CHO son degradados y transformados en azúcares simples, la enzima encargada de catalizar el almidón es la amilasa para formar la glucosa (Pillay, 1997). En condiciones metabólicas anaerobias la glucosa es descompuesta en dos moléculas de ácido láctico (lactato) a través de la fermentación o glucólisis. El comportamiento de

escape de los camarones esta acompañado de fuertes contracciones musculares en un corto lapso de tiempo, lo cual deriva en un aumento en la concentración plasmática de glucosa y lactato. Valores mayores a 0.5 mg/ml de lactato indican que los organismos estuvieron expuestos a una condición de estrés (Racotta y Palacios, 1998; López, *et al.*, 2003). El valor de referencia de lactato reportado para juveniles de *L. vannamei* es de 0.14 ± 0.001 mg/ml ($n=532$). En los juveniles silvestres de *L. setiferus*, Rosas *et al.*, (2004) reportaron una concentración promedio de 0.11 ± 0.001 mg/ml ($n=44$). En el presente estudio se registraron valores promedio de 0.041 ± 0.007 mg/ml para la dieta control ($n=20$), 0.038 ± 0.006 mg/ml para la dieta con vitaminas más pigmento ($n=24$) y 0.040 ± 0.007 mg/ml para la dieta con péptidos ($n=29$). Estos resultados indican que los organismos no se encontraron bajo un estrés ambiental.

Los niveles de glucosa en la hemolinfa de los camarones varía de manera directa con el nivel de inclusión de carbohidratos (CHO) en la dieta (Rosas, *et al.*, 2001). El promedio de glucosa plasmática en el presente experimento fue de 0.456 ± 0.044 mg/ml ($n=76$), en tanto que para juveniles de *L. setiferus* en poblaciones silvestres Rosas *et al.*, (2004) reportaron un valor 0.20 ± 0.01 mg/ml ($n=248$). Una mayor concentración de glucosa en la hemolinfa concuerda con la concentración de CHO en la dieta de 35 %, en tanto que en los camarones silvestres el alimento que consumen contiene niveles más bajos de carbohidratos. Donaldson (1976), demostró que las proteínas son las moléculas más abundantes en los ecosistemas bentónicos y que fluctúan entre 46-72 %, la concentración de CHO evaluado en el mismo sitio estuvo entre 1-2.5 %. Esto señala que los camarones están bien adaptados a sintetizar carbohidratos a partir del metabolismo proteico.

La hemocianina es una proteína que se encuentra en la sangre de los camarones, es una molécula de gran tamaño a la cual se le han señalado diversas funciones fisiológicas, entre las que destacan, el transporte del oxígeno y actividades relacionadas con el sistema inmunológico a través de sus componentes fungiestáticos (Destoumieux, *et al.*, 2001) y con actividad similar a la fenoloxidasas (Adachi, *et al.*, 2003). La hemocianina representa de 60 al 90 % de las proteínas de

la sangre, por lo cual se considera que puede ser un importante almacén de proteínas en la sangre (Rosas *et al.*, 2001b; Rosas *et al.*, 2002). La concentración de hemocianina ha sido propuesta como un indicador del estado de salud de los crustáceos por ser una molécula tan dinámica y de gran importancia metabólica (Spicer y Baden, 2000; Rosas y Carrillo, 2006). Rosas *et al* (2002) reportaron valores de referencia de los componentes de la hemolinfa en *L. vannamei* mantenidos en cautiverio, el promedio de hemocianina fue de 1.85 mmol/l ($n=714$). En juveniles silvestres de *L. setiferus* la concentración promedio de 1.28 \pm 0.39 mmol/l ($n=102$). En el presente estudio se obtuvieron valores de 1.874 \pm 0.056 mmol/l ($n=22$) para la dieta control, 1.932 \pm 0.051 mmol/l ($n=27$) para la dieta con vitaminas más pigmento y 1.805 \pm 0.047 mmol/l ($n=32$) para los juveniles alimentados con el tratamiento con péptidos. Estos valores reflejan una buena calidad del alimento, la inclusión de proteínas en la dieta fue de 37 % en los tres tratamientos, y concuerdan con lo reportado como óptimo para juveniles de peneidos alimentados con niveles de proteína dietética de 30 a 40 % (Rosas, *et al.*, 2001; Pascual, *et al*, 2004).

Las proteínas son muy importantes en la nutrición de los camarones peneidos debido a que son la base para la formación de enzimas, hormonas, hemocianina, además que ayudan en la construcción, reparación y mantenimiento de tejidos. También son fuente de energía en el catabolismo y esenciales en el metabolismo de carbohidratos y lípidos (Pascual, *et al.*, 2003). Diversos estudios han demostrado que algunas de las proteínas de la hemolinfa tienen funciones inmunológicas como las peneidinas, y las involucradas en el sistema profenoloxidasas, entre otras. En este sentido, la concentración de proteínas en la hemolinfa ha sido propuesta como un indicador del estado de salud de los camarones, puesto que la concentración en la hemolinfa está directamente relacionada con la calidad de la dieta y la concentración de proteínas en la misma (Rosas, *et al.*, 2000; Pascual, *et al*, 2004). En especies como *P. monodon* (Chen y Cheng, 1995) y *Marsupenaeus japonicus* (Chen y Cheng, 1993) se ha observado un incremento en el contenido de proteínas en la hemolinfa relacionado con un aumento en la concentración de la hemocianina, lo cual refleja el papel como reserva proteica de esta molécula.

Los camarones cultivados están bien adaptados para usar proteínas como fuente de energía y como moléculas para crecimiento; mantener la homeo-osmoticidad y producir glucógeno y glucosa a través de la ruta gluconeogénica (Sánchez, 2001; Rosas, *et al.*, 2002). El valor promedio de proteínas en juveniles de *L. setiferus* silvestres es de 173.07 ± 3.63 mg/ml con una *n* poblacional de 348 organismos. En el presente estudio el valor promedio fue de 274.547 ± 8.50 ($n=78$) mg/ml. Tanto la concentración de hemocianina como la concentración de proteínas en este estudio indican una buena condición nutricional de los organismos, la concentración proteica de las dietas fue de 37 %, la cual es un poco superior a los niveles óptimos señalados para esta especie. Lee y Lawrence, 1985 y Taboada *et al.* 1998 mencionan que la inclusión de proteínas en la dieta esta en el orden del 30 % para los juveniles de *L. setiferus*.

La capacidad osmótica (CO) es la diferencia entre la presión osmótica de la hemolinfa y la presión osmótica del agua. Es considerada como indicador fisiológico ya que puede reflejar una deficiencia en los mecanismos de regulación celular (Charmantier, *et al.*, 1994). La CO ha sido usada como indicador de estrés en camarones sometidos a ambientes alterados como pueden ser contaminantes, patógenos o deficiencias nutricionales (Lignot, 2000). La CO en el presente estudio no mostró diferencias significativas entre los juveniles alimentados con los tres tratamientos ($P>0.05$). Rosas, *et al.*, (2004) reportaron para juveniles de *L. setiferus* en poblaciones silvestres la línea base de 224.19 ± 90.75 mOsm/kg ($n=100$), para este experimento se obtuvo un valor promedio de 62.4 mOsm/kg ($n=45$). La diferencia en los valores de CO están relacionados con la salinidad del medio, en el caso de los juveniles silvestres la salinidad de la Laguna de Términos, Campeche, donde fueron capturados fue de 11 ± 1 UPS, mientras que en el presente estudio la salinidad se mantuvo en 25 UPS.

La glándula digestiva representa un órgano clave para estudiar el metabolismo de los crustáceos, ya que en este tejido se centran una gran variedad de funciones fisiológicas como la absorción de los nutrientes, la actividad digestiva, la generación

de reservas, reutilización de minerales y sustancias orgánicas, así como, la síntesis de enzimas digestivas e importantes moléculas como la hemocianina. (Gellisen, 1991; Rosas, *et al.*, 2000). En el presente estudio se evaluó la concentración de glucógeno en la glándula digestiva, los resultados señalan que los juveniles alimentados con los tres tratamientos presentaron valores muy similares ($P>0.05$). Las reservas de glucógeno en los camarones está directamente relacionado con el metabolismo de CBH, y también con el de proteínas a través de la ruta gluconeogénica. Rosas, *et al.*, (2002) utilizaron una dieta con una inclusión del 20 % de CBH y reportan un valor mediano de 2.69 ± 2.64 mg/ml para juveniles de *L. vannamei* (n=736). En juveniles silvestres de *L. setiferus* se obtuvo un valor promedio de 3.10 ± 6.13 mg/ml (n=82) (Rosas, *et al.*, 2004). En el presente estudio se obtuvo un valor promedio de 5.463 ± 0.345 mg/ml (n=80), lo cual concuerda con un mayor porcentaje de CBH en las dietas (35 %).

Estudios realizados en condiciones de inanición señalan que el glucógeno y los lípidos de la glándula digestiva son utilizados durante los primeros días para abastecer de energía y mantener las funciones de mantenimiento. Los camarones periódicamente están expuestos a cortos lapsos de inanición ya que poco antes de mudar los organismos dejan de comer. Desde esta perspectiva las reservas energéticas representan un papel de suma importancia para mantener la integridad de los camarones. El glucógeno a su vez, es utilizado como materia prima para la formación de quitina de la cual se forma la cutícula o exoesqueleto. La quitina llega a representar hasta el 35% del peso seco en los camarones (Abdel-Rahman, 1979; Loret, 1993; Rosas, *et al.*, 1995; Sánchez, 1991; Van Handel, 1965; Rosas, *et al.*, 2000).

La glándula digestiva (GD) también juega un papel de suma importancia considerando a las reservas de tipo lipídicas. En el presente estudio el efecto de los inmunomoduladores sobre el metabolismo de los juveniles de *L. setiferus* se observó a través de la concentración de lípidos en la GD ($P<0.05$). Los juveniles alimentados con el péptido presentaron una concentración significativamente menor a la

observada en los juveniles alimentados con la dieta control y la dieta con vitaminas. La concentración promedio fue de 179.165 ± 17.680 mg/g (n=31) para el tratamiento con péptidos, en tanto que los tratamientos vitaminas y control presentaron valores de 245.326 ± 18.279 mg/g (n=29) y 261.432 ± 20.987 mg/g (n=22) respectivamente.

Se realizó un análisis de la concentración de lipidos totales considerando el peso de la glándula digestiva. En este análisis se incluyeron a todos los estadios de muda, con la finalidad de discutir la concentración de las reservas lipídicas incluyendo fases que comprometen la movilización de las reservas, como en la fase premuda tardía (Tabla 9). Los resultados señalan que los juveniles alimentados con la dieta vitaminas más pigmento presentan 9.5 % más de lipidos totales en la GD que los organismos de la dieta control. Los organismos alimentados con péptidos presentaron 35 % menos que la dieta control. Una menor peroxidación de lipidos y una mayor estabilidad de la membrana celular explican los resultados obtenidos en cuanto a la concentración de lipidos en la GD, el peso de la misma y una mayor proporción considerando que representa ésta en el tejido de la biomasa total.

Tabla 9. Concentración de lipidos mg/GD de juveniles de *L. setiferus*, alimentados con tres diferentes dietas experimentales: control, una adicionada con dosis alta de vitaminas C, E y astaxantina y otro con péptidos derivados de la leche. Valores dados como promedio \pm E. S.

Tratamientos	N	Replicas	Media	Error Estándar	% de Lípidos
Lípidos mg/GD					
Control	43	4	67.825	4.727	100
Vitaminas	44	5	74.282	4.673	109.5
Péptidos	45	5	44.096	4.621	65

El análisis del índice hepatosomático indica que la glándula digestiva de los organismos alimentados con péptidos representa el 3.7 % del peso del organismo, lo cual es significativamente menor a los valores encontrados en los organismos del control y de vitaminas más pigmento, cuyos valores fueron de 4.11 ± 0.1 % y 4.38 ± 0.1 %, respectivamente.

El peso final de los organismos alimentados con las tres dietas fue muy similar, pero el peso de la glándula digestiva presentó diferencias significativas. Los organismos

alimentados con el tratamiento de vitaminas más pigmento presentaron glándulas digestivas significativamente más grandes que los organismos del control y del tratamiento con péptidos ($P < 0.05$), presentando una concentración promedio de 0.279 ± 0.008 g, 0.252 ± 0.009 g y 0.240 ± 0.007 g respectivamente.

Estos resultados concuerdan con otras investigaciones que señalan que las vitaminas y los carotenoides son antioxidantes que protegen a las membranas celulares del proceso oxidativo de los radicales libres de oxígeno causados por el metabolismo o por el ambiente. La dieta de vitaminas más pigmento contiene dosis elevadas de vitaminas C y E, y también contiene astaxantina. La vitamina E es un potente antioxidante biológico intracelular que contribuye a la estabilidad de la membrana protegiendo los productos reactivos de la peroxidación de lípidos (Arango, 1996). La vitamina C también es antioxidante y constituye un micro nutriente esencial para los camarones debido a que no poseen la capacidad de sintetizar las cantidades necesarias para el crecimiento y la reproducción (Lee, MH., Shiau, SY., 2004). La astaxantina es considerada como principal componente pigmentante en diferentes especies de peneidos ya que es su actividad antioxidante es aproximadamente 10 veces más fuerte que los β -carotenos y 100 veces mejor que el α -tocoferol (vitamina E) (Shimidzu, *et al.*, 1996), mostrando también una fuerte actividad como un inhibidor de la peroxidación de lípidos (Chien y Jeng, 1992; Yamada *et al.*, 1990; Arango, 1996).

La síntesis y asimilación de los lípidos se realiza en la GD (Dall, *et al.*, 1993). Los lípidos constituyen elementos esenciales en la estructura y función de las células, por lo cual la acción protectora de los antioxidantes beneficia a las membranas celulares de los radicales libres y de la peroxidación de los lípidos aumentando así la vida media de las células de la glándula digestiva y las células circulatorias o hemocitos. Esto concuerda con los resultados obtenidos en una tesis complementaria al presente estudio, donde se abordó el efecto de los inmunoaditivos comerciales sobre el estado inmunológico de los juveniles de *L. setiferus*, los resultados obtenidos indican que los juveniles alimentados con vitaminas más pigmento presentaron una

concentración significativamente mayor de hemocitos en relación al control y al tratamiento con péptidos ($P<0.05$) (Arana, 2007).

La caracterización morfológica de los hemocitos permite distinguir dos grandes subtipos, granulares y hialinas. La concentración de hemocitos granulares fue afectada por el tipo de inmunoaditivo, los juveniles alimentados con vitaminas más pigmento presentaron una concentración significativamente mayor ($P<0.05$). Estos resultados concuerdan con lo observado en juveniles de *L. vannamei* alimentados con una dosis elevada de vitamina, C, 0.2g Kg⁻¹ ácido ascórbico 2-mono fosfato. En ese estudio los juveniles de *L. vannamei* fueron expuesto a un cambio brusco de salinidad, en los organismos alimentados sin vitaminas en exceso los hemocitos disminuyeron en menos de 24 h, mientras que los que fueron alimentados con una sobre dosis de vitamina C las células sanguíneas se recuperaron antes de las 24 h, estos resultados reflejan que la vitamina C auxilia al sistema inmunológico protegiendo a las células sanguíneas bajo condiciones de estrés (López, *et al.*, 2003). Lee y Shiau, (2004), realizaron estudios con *P. monodon* y demostraron que con un exceso de vitamina C se reducen los niveles de peroxido de hidrogeno (H₂O₂) durante la fagocitosis, lo cual representa una vida media mayor y una mejor capacidad para combatir a patógenos.

Torrissen (1990) y Shimidzu *et al.*, (1996) señalan que por su importante papel antioxidante la astaxantina puede ser utilizada en la acuicultura para contrarrestar el aumento de la susceptibilidad ante infecciones que suele presentarse con alteraciones ambientales importantes como el estrés salino (Darachai *et al.*, 1998; Merchie *et al.*, 1998; Chien, *et al.*, 2003), estrés termal (Chien, *et al.*, 2003) y estrés por abatimiento en la concentración del oxígeno disuelto (Chien, *et al.*, 1999). Los retos que enfrenta la camaronicultura actualmente están directamente relacionados con el control de las enfermedades durante el cultivo. Los inmunoaditivos, en este sentido, representan una de las alternativas más prometedoras en busca de tratamientos profilácticos que permitan aumentar la resistencia ante enfermedades. El conocimiento del efecto metabólico que generan los diversos tipos de

inmunoactivos es indispensable para lograr formular dietas funcionales que generen un mejor estado de salud.

La aparición de una enfermedad infecciosa esta relacionada con el rompimiento del equilibrio entre el hospedero, el patógeno y el ambiente, por lo cual una mayor resistencia ante un patógeno específico dependerá de la compensación fisiológica que desplieguen los organismos ante condiciones específicas de cultivo. Las importantes variaciones en las características fisicoquímicas del medio de cultivo, como son bajas temperaturas o disminución del oxígeno disuelto, suelen anteceder a importantes epizootias, desde esta perspectiva las reservas energéticas son de gran importancia para llevar a cabo los mecanismos homeostáticos sin comprometer el estado de salud de los organismos.

Los resultados de la presente investigación indican que la inclusión de 0.5 % de sobre dosis de vitamina C y E más astaxantina generó en los organismos una acción protectora a nivel de la glándula digestiva, viéndose reflejado en la concentración lipídica y el índice hepatosomático. Actualmente hay muy poca información acerca del efecto metabólico que causan los inmunomoduladores, bajo esta perspectiva los resultados obtenidos en esta investigación ofrecen datos relevantes en busca de alimentos funcionales para el cultivo de camarones, y con respecto a la especie significa el primer reporte de esta naturaleza.

CONCLUSIONES

Los valores observados en la concentración de los metabolitos sanguíneos, los niveles de hemocianina y la capacidad osmótica de los juveniles de *Litopenaeus setiferus* indican una buena condición nutricional y un adecuado estado fisiológico en los juveniles alimentados en los tres tratamientos.

El glucógeno en la glándula digestiva de los juveniles de *Litopenaeus setiferus* no fue afectada por los inmunomoduladores. La concentración promedio fue mayor a la reportada como línea base para los juveniles silvestres de esta especie, y está directamente relacionada con el nivel de carbohidratos en la dieta.

La condición nutricional de los juveniles de *Litopenaeus setiferus* fue afectada positivamente por el tratamiento de dosis alta de vitaminas C y E más pigmento, el índice hepatosomático de estos organismos fue significativamente mayores que el de los juveniles del control y del tratamiento con péptidos ($P > 0.05$).

La concentración de lípidos en la glándula digestiva de los juveniles alimentados con dosis alta de vitaminas más pigmento fue mayor (9.5 %) a los organismos del control. Los camarones alimentados con péptidos presentaron una concentración significativamente menor a los otros dos tratamientos, señalando que la incorporación de péptidos tiene un efecto negativo sobre las reservas lipídicas de los juveniles de *Litopenaeus setiferus*.

La tasa de crecimiento fue relativamente baja y estuvo asociada con la temperatura del agua (26.4 °C).

Los resultados obtenidos reflejan que el tratamiento con sobre dosis de vitaminas C y E más pigmento podría ser una alternativa de manejo durante la estación de invierno para mejorar la condición nutricional de los juveniles de *L. setiferus*.

LITERATURA CITADA

- Abdel-Rahman, S. H., Kanazawa, A., Teshima, S., 1979. Effects of dietary carbohydrate on the growth and the level of the hepatopancreatic glycogen and serum glucose of prawn. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish 45, 1491-1494
- Adachi, K., Hirata, T., Nishioka, T., Sakaguchi, M. 2003 Hemocyte components in crustaceans convert hemocyanin into a phenoloxidase- like enzyme. Comp. Biochem. Physiol. 134b 135-141
- Akiyama, D., W. Dominy and A. Lawrence. 1991. Penaeid Shrimp nutrition for the commercial feed industry: revised. In proceeding of Aquaculture feed processing and Nutrition Workshop. Akiyama and Ronnie (eds). Thailand and Indonesia, 80-98
- Alpuche, Juan., Agundis, Concepción., Solórzano, Carlos., Pereyra, Ali. Lectina en *L. setiferus* "Una alternativa en cultivo ante enfermedades que afectan al cultivo de camarones". Revista electrónica de veterinaria REDVET ®, ISSN 1695-7504, Vol. VI, No. 12, Diciembre/2005
- Andrews, J. W., L. Sick., G. Baptist, 1972. The influence of dietary protein and energy level on growth and survival of penaeid shrimp. Aquaculture 1: 341-347.
- Arana, R., 2007. Evaluación de dos inmunomoduladores comerciales sobre el estado inmunológico de los juveniles de *L. setiferus* (Linneo, 1767). Tesis de Licenciatura
- Arango G., José Ignacio. 1993. Evaluación comercial del uso de la Astaxantina en alimento para camarones (*Litopenaeus vannamei*). Primer Seminario Internacional Roche de Acuicultura. Proyecto Carophyll Pink en Camarones.

Propellets-Promarisco-Aquanova- Ecuaroche. San Antonio, Provincia de Guayas. 18 de Octubre de 1996. Restaurante el Cantones, Guayaquil. Ecuador.

Arango, G. Resumen de la evaluación sobre la utilización de astaxantina en nutrición de camarones. Avances en Nutrición acuicola III. (1996) pp 423-425

Arango, G. Evaluación de premezclas vitamínicas en dietas para camarones *Penaeus vannamei*. Avances en Nutrición acuicola III. (1996) pp 651-661

Arango G., José Ignacio, Mora O y Zuñiga A. 1994. Evaluación del uso de Astaxantina (Carophyll Pink 8%) en la alimentación de camarones, *Litopenaeus vannamei*. Primer Seminario Internacional Roche de Acuicultura. Proyecto Carophyll Pink en Camarones. Alimentos-Camaronera Deli-Roche Ecuador. 18 de Octubre de 1996. Restaurante el Cantones, Guayaquil. Ecuador.

Arango G., José Ignacio, Mora O y Zuñiga A. 1995. Evaluación de niveles crecientes de Astaxantina (0, 50, 100, 150 ppm) en dietas para camarones, *Litopenaeus vannamei*. Primer Seminario Internacional Roche de Acuicultura. Proyecto Carophyll Pink en Camarones. Alimentos-Camaronera Deli-Roche Ecuador. Isla Puna. Ecuador. 18 de Octubre de 1996. Restaurante el Cantones, Guayaquil. Ecuador.

Ashida, M. y Söderhäll, K. (1984). Genética Moderna. Barcelona Edic. Omega p 836

Bachère, E., 2000. Shrimp immunity and disease control. Aquaculture 191. pp 3-11

Bédier, E., Cochard, J. C., Le Moullac, G. y Patrois, J. Aquacop., 1998. Selective breeding and pathology in penaeid shrimp culture: The genetic approach to pathogen resistance. World Aquaculture. 29, p 6-51

Bendich, A. (1989). Carotenoids and the immune response. *J. Nutrition* 119, 112-115

- Bradford, M. M. (1976). A refined and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, p 248
- Brito, (2000) R., Chimal, M., Rosas, C. Effect of salinity in survival, growth and osmotic capacity of early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* (decapoda: penaeidae). *Journal Experimental Marine Biology and Ecology* 244, 253-263
- Browdy, C. (1992). A review of the reproductive biology of penaeus species: perspectives on controlled shrimp maturation system for high quality nauplii production. In *Proceeding of the special session on shrimp farming.* (ed. J. Wyban). World Aquaculture Society, LA, USA.
- Cámara de Productores de camarón, (CPC). 1989. Libro blanco del camarón.
- Catacutan, M. R., Lavilla-Pigoto, C. R. 1994. L-ascorbyl-2-monophosphate Mg as a source of vitamin C for juvenile *Penaeus monodon*. *Isr. J. Aquac-Bamidgeh* 46, 40-47
- Carrillo, O., Vega-Villasante, F., Nolasco, H., Gallardo, N., 2000. Aditivos alimentarios como estimuladores del crecimiento de camarón. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola.* 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, México. p 91
- Charmantier, G., Soyes, C. y Aquacop. (1994). Effect of moult stage and hypoxia on osmoregulatory capacity in the penaeid shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J. Exp. Mar. Ecol.* 178, pp 223-246
- Chen, J. C., Cheng, S. Y. 1993. Hemolymph PCO₂ hemocyanin, protein level and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquat. Toxicol.* 27, 281-292

- Chen, J. C., Cheng, S. Y. 1993. Studies in hemocyanin and hemolymph protein levels of *Marsupenaeus japonicus* based on sex, size and moulting cycle. Comp. Biochem. Physiol. 106B, 293-296
- Chen, J. C., Cheng, S. Y. 1995. Hemolymph oxygen content, oxyhemocyanin, protein levels and ammonia excretion in the shrimp *Penaeus monodon* exposed to ambient nitrite. J. Comp. Physiol. 164B, 530-535
- Chien, Y. H., and Jeng, S. C. 1992. Pigmentation of Kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus* Bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes. Aquaculture 102: 112-115
- Chien, Y. H., Chen, I. M., Pan, C. H., Kurmaly, K., 1999. Oxygen depletion stress on mortality and lethal course of juvenile tiger prawn *Penaeus monodon* fed high level of dietary astaxanthin. J. Fish. Soc. Taiwan 26, 85 – 93
- Chien, Y.H., Pan, C.H., Hunter, B., 2003. The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin. Aquaculture 216, 177–191
- Chotigeat, W., Tongsupa, S., Supamataya, K., Phongdara, A. Effect of fucoidan on Disease Resistente of Black Tigre Shrimp. Acuaculture 223. 2004. pp23-30
- Cousin, M. 1995 Contribution á l'étude de l'utilisation des glucides et du rapport proteine/énergie chez *L. vannamei* et *P. stylirostris*. Tesis INA/PG. Paris. pp 201
- Crece producción de camarón en México: en el 2000 se obtenían 95 mil tons, para este año se proyectan 134 mil tons. (2005)
www.sagarpa.gob.mx/cgcs/boletines/2005/noviembre/B329.pdf
- Cuzon, G., Gaxiola, G., Rosas, C., Capitulo II. Requerimientos Nutricionales. 5. Energía. México D. F. 2006. Estado actual y perspectivas de la nutrición de los

camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. Subprograma II. Acuicultura.
Red temática II. pp 198-228

D., Abramo, L. R. Y Castel, J. D. "Metodología para la investigación nutricional".
Memorias del II Simposium Internacional de Nutrición Acuícola del 7-9 de
Noviembre de 1994, Monterrey, México. Ed.: Mendoza, R., Cruz, E., Ricque, M.
pp 103-121

Davis, D. A. and Arnold C. R., 1993. Evaluation of five carbohydrate sources for *L.*
vannamei. *Aquaculture* 114: 285-292

Dall, W., Chandumpai, A. and Smith, D. M. 1993. The fate of some 14C-labelled
dietary lipids in the tigre Prat *Penaeus esculentus*. *Mar Biol.* 115: 39-45

Darachai, J., Piyatiratitivorakul, S., Kittakoop, P., Nitithamyong, C., Menasveta, P.,
1998. Effects of Astaxanthin on larval growth and survival of the giant tiger
prawn, *Penaeus monodon*. In: Flegel, T.W. (Ed.), *Advances in Shrimp
Biotechnology*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology,
Bangkok, pp 117 – 121

Dehasque, M., Assche V., Deberse, B. Evaluación de los efectos de la administración
oral de inmunoestimulantes en las enfermedades de especies para acuicultura.
Avances en Nutrición acuícola III. (1996) p 404

Depósito de documentos de la FAO. La acuicultura en América Latina. Volumen 2.
Biología de los crustáceos cultivables en América Latina.
(www.fao.org/docrep/005/AC867S/AC867S07.htm)

Depósito de documentos de la FAO. Consultoría en el cultivo de camarón. (1988)
(www.fao.org/docrep/field/003/AC397S/AC397S05.htm)

- Destoumieux, D., Saulnier, D., Garnier, J., Jouffrey, C. Bulet, P., Bachere, E. (2001). Antifungal peptides are generated from from the C terminus of shrimp hemocyanin in response to microbial challenge. *J. Biol. Chem* 276: pp 47070-47077
- Donaldson, HA (1976). Chemical composition of sergestid shrimp (Decapada: Natantia) collected near Bermuda. *Mar Biol.* 38:51-58
- Drach, P., Tchernigovtzeff, C. 1967. Sur le méthod de détermination des stades d'intermue et son application générale aux crustacès
- Dubois, M. K., Lilles, L. A., Hamilton, J. C., Rebers, P. A., Smith, F. (1965). Chlorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: pp 350-356
- Fenucci, Jorge Lino & Analia Fernández Jiménez. 2004. Acción de las vitaminas en la Dieta de camarones Penaeoideos. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marine, D., Nieto Lopez, M. G., Villareal, D., Scholz, U. y Gonzalez, M. 2004. Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16-19 de Noviembre del 2004. Hermosillo, Sonora, México. pp 126-139
- Fenucci, Jorge L. y Harán Nora L. Capitulo II. Requerimientos Nutricionales. . Acción de los Lípidos en Crustáceos Penaeoideos. México D. F. 2006. Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. Subprograma II. Acuicultura. Red temática II. pp 154-181
- Folch, J., Less, M., Sloane, G., Stanley, H. 1957. A simplified method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.* 226, 497-509
- Gallardo, P. (1994). Alimentación de Larvas de *Litopenaeus Setiferus* (LINNEO, 1767): *Chaetoceros ceratosporum*, *Tetraselmis chui* y *Artemia franciscana*.

(CRUSTACEA: PENAEIDAE). Tesis de Licenciatura. UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MEXICO. Facultad de Ciencias. pp 54

- García-Galano, Tsai Capítulo II. Requerimientos Nutricionales. 1. Proteínas. México D. F. 2006. Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. Subprograma II. Acuicultura. Red temática II. pp 128-142
- Gellisen, G. Hennecke, R., Splindler, K. D., 1991. The site of synthesis of hemocyanin in the crayfish *Astacus leptodactylus*. *Experientia* 47, p 194-195
- Gong, H., Lawrence, A. L., Jiang, Dong-Huo., Castille, F. L., Gatlin III D. M. Lipid nutrition of juvenile *Litopenaeus vannamei* I. Dietary cholesterol and de-oiled soy lecithin requirements and their interaction. *Aquaculture* 190. (2000) pp 305-324
- Gutiérrez, R., 2002 Calidad nutricional de dos productos a base de langostilla (*Pleuroncodes planipes*) como fuente de proteína o aditivo alimentario en alimentos balanceados para juveniles de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Tesis de grado
- Guzmán- Murillo, A., Ochoa, J. L. y Vragas-Albores, F. (1993). The hemolytic activity in the haemolymph from brown shrimp (*Farfantepenaeus californiensis* Holmes). *Comp. Biochem. Physiol.* 106A pp 271-275
- Heinen, J. M. 1984. Nutritional studies on the giant asian prawn, *Macrobrachium rosenbergii* PHD dissertation. Boston University, Boston, Massachusetts, USA.
- Hendrickx, M. E. (1995). Camarones. In: Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W. Sommer, C., Carpenter, K. E., y Niem, V. H. (Eds.). Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-oriental. Vol. 1. Plantas e invertebrados. F.A.O. Roma, Italia. p. 417-537

- Hergenbahn, H. G., Hall, M. y Söderhäll, K (1988). Purification and characterization of and alfa-2-macroglobulin like proteinasa inhibitor from plasma of the crayfish *Pacifatacus leniusculus*. Biochem. Journal. 255, p801-806
- Hernández-López , J. y Vargas-Albores, F. 1996. Implementación de un método de microplaca para la determinación de glucosa, colesterol, acilglicéridos, lactato y proteínas totales de la hemolinfa de camarón. CIB-NOR, La Paz, BC
- Hidalgo, Z. M. 1997. Efecto de la composición nutricional de la *Artemia* enriquecida en la reproducción de *Penaeus vannamei*. Tesis de grado. pp 97
- High Mark. 1995. El efecto de la astaxantina en la maduración del camarón *Litopenaeus vannamei*. Tercer Congreso Ecuatoriano de Acuicultura. Octubre 27 a 1 Noviembre 1995. Poster
- Hunter, B., Magarelli, Jr. P. C., Lighthner, D. V. and Colvin, L. B. 1979. Ascorbic acid dependent collagen formation in penaeid shrimp. Comp. Biochem. Physiol. 64B: 381-385
- IT IS Report. Taxonomic Hierarchy
www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=551680
- Kanazawa, A. 1996. Review of shrimp Nutrition Conference. Kagoshima. In: Proceedings of the 1996 World Aquaculture Society meeting, Bangkok, Thailand, 222ª
- Kurmaly K. 1994. Mode of operation of Carophyll Pink (Astaxanthin). Aquaculture News. Vol. 3 (1) :1
- Kurmaly K. 1995. Astaxanthin: principal aspects in use of Astaxanthin in Shrimp Nutrition. In Vitamina C y Astaxantina en la Nutrición de Camarones. 23 de Marzo de 1995, Salón Los Candelabros, Hotel Continental. Guayaquil, Ecuador.

- Kurmaly K and Latscha T. 1993. Health and nutrition complete with astaxanthin Part. I. Physiological function. *Aquaculture News* 1 (1): 3
- Latscha T. 1989. The role of Astaxanthin in shrimp pigmentation. *Advances in tropical aquaculture. Aquacop. IFREMER. Actes de Colleeue.* 9: 319-325
- Latscha T. 1991. Crustacean pigments. *Crustacean Nutrition Newsletter.* 7 (1): 53-60
- Latscha T. 1991A. Carotenoids in aquatic animal nutrition. *Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop.* D. M. Akiyama and R. K. H. Tan Eds. American Soybean Association. pp 68-79
- Lee, MH., Shiau, SY. Vitamin E requirements of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on non-specific immune responses. *Fish & Shellfish Immunology.* 2004. pp 475-485
- Lee, P. G. and A. L. Lawrence 1985. Effect of diet and size on growth, feed digestibility and digestive enzyme activities of the marine shrimp *Litopenaeus setiferus*. *Proc. World Maricult. Soc.* 16:275-287.
- Le Moullac, G., De Laborie, L., Saulnier, D., Goarant, C. y Dehasque, M. (1998a). Principles and problems involved in the evaluation of immunostimulants on juvenil shrimp. IV Simposium Internacional de Nutrición Acuicola, Noviembre, 15-18, La Paz, México.
- Le Moullac, G., Haffner, P., 2000. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. *Aquaculture* 191, pp 121-131
- LeMoullac, G., LeGroumellec, M.L., Ansquer, D., Froissard, S., Levy, P., AQUACOP, 1997. Hematological and phenoloxidase activity changes in the shrimp *Penaeus stylirostris* in relation with the moult cycle: protection against vibriosis. *Fish Shellfish Immunol.* 7, pp 227-234.

- Le Moullac, G., Soyez, C., Saulnier, D., Ansquer, D., Avarre, J. y Levy, P. (1998b). Effect of hipoxic stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Fish & Shellfish Immunology*. 8, pp 621-629
- Lignot, J. H., Cochard, J. C., Soyez, C., Lemaire, P., Charmantier, G. (1999). Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Litopenaeus stylirostris*. *Aquaculture*. 170, pp 79-92
- Lignot, J. H., C. Spanings-Pierrot, G. Charmantier (2000). Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture*. 191, pp 209-245
- Lighthner, D. V., Hunter, B., Magarelli, Jr. P. C. and Colvin, L. B. 1979. Ascorbic acid: nutritional requirement and role in wound repair in penaeid shrimp. *Proc. World Maricult Soc.* 10: 513-528
- López, N., Cuzon, G., Gaxiola, G., Taboada, G., Valenzuela, M., Pascual, C., Sánchez, A., Rosas, C. Physiological, nutritional, and immunological role of dietary β 1-3 glucan and ascorbic acid 2-monophosphate in *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 62405 (2003) In press. pp 1-21
- Loret, S. M. 1993. Hemocyte differentiation in the shore crab (*Carcinus maenas*) could be accompanied by a loss of glycogenosynthesis capability. *The journal of experimental zoology* 267, 548-555
- Manual básico sobre el cultivo extensivo y semiintensivo de camarón, CENAIM, ESPOL, VVOB, 2001, pp 13-1
- Manual para la cría de camarones peneidos, FAO, 1988.
<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB466S/AB66S00.htm#TOC>

- Martínez, C., L. R. Camaronicultura. Avances y tendencias. AGT Editores S. A., México 2002 pp 1-167
- Menasveta, P., W. Worawattanamateekul, T. Latscha and J. S. Clark. 1993. Correction of Black Tiger Prawn (*Penaeus monodon*, Fabricius) coloration by Astaxanthin. Aquaculture Engineering. 12 (4): 203-213
- Merchie, G., Kontara, E. K., Lavens, P., Robles, R., Kurmaly, K. y Sorgeloos, P. 1998. Effect of vitamin C and astaxanthin on stresses and disease resistance of postlarval tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius). Aquaculture Research 29: pp 579-585
- Miki W. 1991. Biological functions and activities of animal carotenoids. Pure. Appl. Chem. 63 (1): 141-146
- Molina-Poveda, C., Escobar, V., Gamboa-Delgado, J., Cadena, E., Orellana, F., Piña, R., 2002. Estrategia de alimentación de acuerdo a la demanda fisiológica del juvenil *Litopenaeus vannamei* (Boone). In: cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marine, d., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M., Simoes, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México. pp 98-113
- Montoya, N., Molina, C., 1995. Optimum supplemental level of L-ascorbyl-2-phosphate-Mg to diet for white shrimp *Penaeus vannamei*. Fish. Sci. 61, 1045-1046
- Morales, V. 1990. Levantamiento larvario de camarones peneidos. Cartilla Pradepesca. pp 1
- Negre-Sadargues G., Castillo R., Petit H., Sance S., Martínez R. G. Milicua J. C. Choubert G. and Trilles Jean- Paul. 1993. Utilitation of sintetic carotenoids by prawn, *Marsupenaeus japonicus* reared under laboratory condition. Aquaculture. 11: 151-159

- Palacios, E. Ibarra, M. E., Ramírez, J. L., Portillo, G. y Racotta, E. (1998). Biochemical composition of egg nauplii in white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in relation to physiological condition of spawners in a comercial hatchery. *Aquaculture Research*, 29: 183-189.
- Palacios, E. (2000). Tissue biochemical composition in relation to multiple spawning in wild and pond-reared *Litopenaeus vannamei* broodstock. *Aquaculture* 185: 353-371
- Palacios, E., Pérez-Rostro, C. I., Rámirez, J. L., Ibarra, A. M. Y Racotta, I. S. (1999). Reproductive exhaustion, survival and growth (*Litopenaeus vannamei*) reflected in larval biochemical composition, survival and growth. *Aquaculture* 171, pp 309-321
- Pascual, C. 2005. Aspectos de la fisiología de la adaptación de los juveniles de *Litopenaeus vannamei*: una perspectiva inmunológica. Tesis Doctoral
- Pascual, C., Arena, L., Cuzon, G., Gaxiola, G., Taboada, G., Valenzuela, M., Rosas, C., (2004) Effect of a size- based selection program on blood metabolites and immune response of *Litopenaeus vannamei* juveniles fed different dietary carbohydrate levels. *Aquaculture* 230: 405-416
- Pascual, C., Rodriguez, T., Rosas, C. E. Capitulo V. Nutrición e Inmunomodulación. 1. Inmunidad y Nutrición. México D. F. 2006b. Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. Subprograma II. Acuicultura. Red temática II. pp 294- 318
- Pascual, C., Sánchez, A., Sánchez, A., Rosas, C., 2003. Manual de métodos para la evaluación de componentes sanguíneos de camarones peneidos. Laboratorio de Ecología y Biología Marina Experimental. Fac. de Ciencias UNAM. Cd. del Carmen, Campeche Pp. 1-26

- Pascual, C., Sánchez, A., Sánchez, A., Vargas-Albores, F., LeMoullac, G., Rosas, C., 2003a. Haemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of an extreme temperature. *Aquaculture* 218, 637-650
- Pascual, C., Sánchez, A., Zenteno, E., Cuzon, G., Gaxiola, G., Brito, R., Gelabert, R., Hidalgo, E., Rosas, C., Biochemical, physiological, and immunological changes during starvation in juveniles of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 251 (2006) p 416-429
- Paterson, B. D. 1993. The rise in inosine monophosphate and L- lactate concentrations in muscle of live penaeid prawns (*Marsupenaeus japonicus*, *Penaeus monodon*) stressed by storage out of water. *Comp. Biochem. Physiol.* 106B, 395-400
- Pedraza, L., J. C., Rey H. Y Arango G. Jose I. 1996. Efecto de la astaxantina en la producción de camarones, *Litopenaeus vannamei* a dos densidades de siembra. In. Proyecto Carophyll Pink en Camarones. Océanos-Productos Roche Colombia-Roche Ecuador. Cartagena. Colombia
- Petriella, A. M., Magdaleno, R. and Fenucci J. L. 2002. Effect of dietary ascorbic acid on the growth of argentine prawn *Artemesia longinaris* Bate (Crustacea, Decapoda). *Journal of Aquaculture in the Tropics* 17 (2):135-144
- Pillay, T. V. R. 1997. Acuacultura Principios y Prácticas. ED. LIMUSA NORIEGA EDITORES. pp 125-188
- Ponce, J. Martinez, C. and L. Ross. 1997. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei* . Boone, 1931. *Aquaculture* 157. pp 107-115.

Primavera, J. 1978. A review of maturation and reproduction in closed thelycum penaeids. First International Conference of the culture of the Penaeid Prawn/Shrimp. Iloilo City, Philippines.

Producciones y mercados Acuícolas (2007)

(www.panoramaacuicola.com/ediciones/pdf_PAM_12-2/72-74.pdf)

Raa, J., 1996. The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming. Reviews in Fisheries Science, 4(3): 229-288

Raa, J., 2000. The use of immune-stimulants in fish and shell-fish feeds. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). Avances en nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, México. pp 47-54

Racotta, I. S. y Palacios, E. (1998). Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Litopenaeus vannamei*. Journal World Aquaculture Society 29, pp 351, 356

Renauld, M. L. 1986. Detecting and avoiding oxygen deficient sea water by brown shrimp *Farfantepenaeus aztecus* (Ives) and white shrimp *Litopenaeus setiferus* (Linneo). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 98, 283-292

Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S., Menasaveta, P. 1998 Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Acuicultura 167, 301- 313

Rodriguez, J., Cedeño, R., Molina, C., Otero, V., Valenzuela, E., Sotomayor, M. A. 2000. "Efecto de la calidad de la dieta sobre la respuesta inmune de camarón" (*Penaeus vannamei*). In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marine, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M. A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). Avances en Nutrición

69

Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 19-22 de Noviembre del 2000. Mérida, Yucatán, México. p 57-58

Rosas, C., Carrillo, O. Capítulo I. DIGESTIÓN, ABSORCIÓN Y UTILIZACIÓN DE NUTRIENTES. 3. Principales rutas metabólicas. Utilización de la energía. México D. F. 2006. Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. Subprograma II. Acuicultura. Red temática II. pp 61- 106

Rosas, C., Bolongaro-Crevenna, A., Sanchez, A., Gaxiola, G., Soto, L. y Escobar, E. (1995). Role of the digestive gland in the energetic metabolism of *Litopenaeus setiferus*. Biol. Bull. 189, pp 168-174

Rosas, C., Cooper, E. L., Pascual, C., Brito, R., Gelabert, R., Moreno, T., Miranda, G., Sánchez, A. Indicators of physiological and immunological status of *Litopenaeus setiferus* wild populations (Crustacea, Penaeidae). Marine Biology (2004) 145. pp 401-413

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., LePriol, Y., Pascual, C., Rossignol, J., Contreras, F., Sánchez, A., Van Wormhoudt, A. (2001) Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. J. Exp Mar Biol Ecol 259: 1-22

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Brito, R., Chimal, M. and Van Wormhoudt, A. 2000. El Metabolismo de los Carbohidratos de *L. setiferus*, *Lvannaei* y *L. stylirostris* In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). Avances en nutrición Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, México. pp 340-359

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Taboada, G., Arena, L., VanWormhoudt, A. 2002. An energetic and conceptual model of the

physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 268. pp 47-67

- Rosas, C., Cuzon, G., Taboada, G., Pascual, C., Gaxiola, G., Van Wormhoudt, A. 2001b. Effect of dietary protein and energy levels (P/E) on growth, oxygen consumption hemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* and *Litopenaeus setiferus* juveniles (Crustacea, decapada; Penaeidae). Aquac. Res. 32, 1-20
- Rosas, C. y Ramirez, P. (1993) Effect of chromium and cadmium on the thermal tolerance of the Prawn *Macrobrachium rosenbergii* exposed to hard and soft water. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 51, pp 568-574
- Rosas C., Ocampo L., Gaxiola G., Sánchez A., Soto LA. 1999. Effect of salinity on survival, growth and oxygen consumption of postlarvas (PL10-PL21) of *Penaeus setiferus*. J Crustac Biol 19:67-75
- Sánchez, A., Pascual, C., Sánchez, A., Vargas-Albores, F., Le Moullac, G., Rosas, C. Hemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of acclimation. Aquaculture 198. (2001) p 13-28
- Sánchez, A., Rosas, C., Escobar, E., Soto, L. A. 1991. Skeleton weight free oxygen consumption related to adaptations to environment and habits of six crustacean species. Comp. Biochem. Physiol. 100A 69-73
- Sandifer, P. A., Hopkins, S. J., Stokes, A. D., Browdy, C. L. 1993. Preliminary comparisons of the native *Litopenaeus setiferus* and pacific *Litopenaeus vannamei* white shrimp for the pond culture in South Carolina, USA. J. World Aqua. Soc. 24, 295-303
- Sakai, M. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture 172. (1999) p 63-92

- Scholz, U., Diaz, G.G., Ricque, D., Cruz Suarez, L.E.C., Albores, F.V., Latchford, J., 1999. Enhancement of vibriosis resistance in juvenile *Penaeus vannamei* by supplementation of diets with different yeast products. *Aquaculture* 176, 271-283.
- Seidman, E. and Lawrence, A. 1985. Growth, feed digestibility, and proximate body composition of juvenile *Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon* grown at different dissolved oxygen levels. *Journal World Mariculture. Society* 16. pp 333-346
- SEMARNAP. (2000). Anuario estadístico de pesca. Secretaria de Medio Ambiente, Recursos Naturales Y Pesca. México D.F., pp. 17-22.
- Shimidzu, N., Goto, M., Miki, W., 1996. Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms. *Fish. Sci.* 62, pp 134–137.
- Smith, V. J. y Johnston, P. A. (1992). Differential haemotoxic effect of PCB congeners in the common shrimp, *Crangon crangon*. *Comp. Biochem. Physiol.* 101C, pp 641-649
- Smith, V. J., Brown, J. H., Hauton, C. 2003. Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection? *Fish and Shellfish Immunology* 15: 71-90
- Söderhäll, K. (1982). Prophenoloxidase activating system and melanization: a recognition system of arthropods? A review. *Dev. Comp. Immunol.* 6, pp 601-611
- Söderhäll, K. (1992). Biochemical and molecular aspects of cellular communication in arthropods. *Boll. Zool.* 59, pp 141-151
- Söderhäll, K., Aspán, A. y Duvic, B. (1990). The proPO system and associated proteins role in cellular communication in arthropods. *Res. Immunol.* 141, pp 896-907

- Söderhäll, K., Rögner, W., Söderhäll, I., Newton, R. P. y Ratcliffe, N. A. (1988). The properties and purification of a *Blaberus cranifer* plasma protein which enhances the activation of hemocyte prophenoloxidase by a β -1,3-glucan. *Insect Biochem.* 18, pp 323-330
- Söderhäll, K., Vey, A. y Ramstedt, M. (1984). Hemocyte lysate enhancement of fungal spore encapsulation by crayfish hemocytes. *Develop. Comp. Immunol.* 8, pp 23-29
- Song, Y. L. y Hsieh, Y. T. (1994). Immunostimulation of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) hemocytes for generation of microbicidal subsistence: analysis of reactive oxygen species. *Delevop. Comp. Immunol.* 18, pp 201-209
- Spicer JI, Baden SP (2000) Natural variation in the concentrations of haemocyanin from three decapod crustaceans, *Nephrops norvegicus*, *Liocarcinus depurator* and *Hyas araneus*. *Mar Biol* 136:55–61
- Sun, Y., Yang, Q., Cui, Y., Li, J. 1996. Study of oxygen demand of newborn feed remains y its change during shrimp culture. *J. Fish. China/Zhongguo Shuichan Kexue* 3, 52-59
- Taboada, G., Gaxiola, G., García T., Pedroza, R., Soto, L. y Rosas, C. (1998). Oxygen consumption and ammonia-N excretion related to protein requirements for growth of white shrimp *Litopenaeus setiferus*. *Aquaculture Research* 29, pp 1-11
- Tacon, A. G. J. 1990. *Standard Methods for the nutrition and feeding in farmed fish and shrimp*. Argent Laboratories Press. Redmonth, Washington.
- Tacon, A. G. J., Dominy, W. G., Pruder, G. D., 1998. Global trends and challenges in aquafeeds for marine shrimp. *Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, La Paz, México.

- Takahashi, Y., Kondo, M., Itami, T., Honda, T., Inagawa, H., Nishizawa, T., Soma, G. and Yokomizo, Y. Enhancement of disease resistance against penaeid acute viraemia and induction of virus-inactivating activity in haemolymph of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, by oral administration of *Pantoea agglomerans* lipopolysaccharide (LPS). *Fish and Shellfish immunology* (2000) 10, 555-558
- Torres- Llanez, M., Vallejo- Córdoba, B. y Gonzáles-Córdoba, A. Péptidos bioactivos derivados de las proteínas de la leche. ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE UNTRICION. Vol. 55 no. 2, 2005
- Torrissen, O. J. 1990 Biological activities of carotenoids in fishes. The current status of fish nutrients in aqua-culture. In: Takeda, M., Watanabe, T. (Eds.), Proceedings of The Third International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish. Tokyo University of Fisheries, Tokyo, Japan, pp 387 – 399.
- Van Olst, J.C & Calberg J. M. 1972. Shrimp Farming. Aquaculture Systems International. Sorrento Valley Road. San Diego California.
- Van Handel, E. 1965. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. *Analytical biochemistry*. 11: 256-265
- Van Wormhoudt, A., Bellon-Humbert, C. 1996 Bases biológicas del cultivo de crustáceos. Muda. In: Barnabé, G. (ed) Bases biológicas y ecológicas de la acuicultura. Editorial Acribia. pp 237-249
- Vargas Albores. F., Herramientas para determinar inmunoestimulación. In: cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marine, d., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M., Simoes, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México. p 43

- Vargas Albores, F. The defense system of brown shrimp (*Farfantepenaeus californiensis*): Humoral recognition and cellular responses. J. Mar. Biotechnol. 3. 1995. pp 153-156
- Vargas-Albores, F., Higuera- Ciapara, I., Jiménez- Vega, F., Hernandez-López, J., Gollas- Galván, T., Yepiz Placencia, G., Posibilidades de inmunoestimulación del camarón a través del alimento. Avances en Nutrición acuícola III. (1996) p 434
- Vargas-Albores, F., Jiménez- Vega, F. y Yepiz- Plascencia, G. (1997). Purification and comparison of β -1,3-glucan binding protein from white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Comp. Biochem. Physiol. 116B, p 453-458
- Villalon, J. 1991. Practical manual for semi-intensive commercial production of marine shrimp. p 104
- Weidner, D., Revord, T. and R. Well. 1992. World Shrimp Culture. Vol. 2. Latin America U.S. National Marine Fisheries Service. Silver Spring. Maryland. p 682
- Wiglesworth, J. M., and Griffith, D. R. W. 1994. Carbohydrate digestion in *Penaeus monodon*. Marine Biology, 120: 571-578
- Yamada S. Y. Tanaka., M. Sameshima and Y. Ito. 1990. Pigmentation of prawns (*Marsopenaeus japonicus*) with carotenoids. I. Efectt of detary astaxanthin, beta-carotene and canthaxanthin pigmentation. Aquaculture. 87: 323-330
- Zar, J. H. 1974. Biostatistical Analysis. Prentice Hall, Englewood Cliffs, p 41
- Zein-Eldin, Z.P. and G.W. Griffith, MS Growth and survival of postlarval *Litopenaeu setiferus* under controlled conditions of temperature and salinity. p 24