

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Escuela Académico Profesional Biología en Acuicultura**



**EFECTO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE HARINA  
DE *Calendula officinalis* “MARIGOLD” EN LA PIGMENTACIÓN  
DE CAMARONES MACHOS ADULTOS DE *Cryphiops  
caementarius*.**

**AUTORES:**

BACH. ADELHI SOLEDAD FUENTES MUÑOZ

BACH. LORENA JANET QUEZADA AMAYA

**ASESOR:**

DR. WALTER E. REYES ÁVALOS

**NUEVO CHIMBOTE – PERÚ**

**2015**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Escuela Académico Profesional Biología en Acuicultura**



**EFECTO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE HARINA  
DE *Calendula officinalis* “MARIGOLD” EN LA PIGMENTACIÓN  
DE CAMARONES MACHOS ADULTOS DE *Cryphiops  
caementarius*.**

**AUTORES:**

BACH. ADELHI SOLEDAD FUENTESMUÑOZ

BACH. LORENA JANET QUEZADA AMAYA

REVISADO Y APROBADO POR EL ASESOR

---

DR. WALTER E. REYES ÁVALOS

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Escuela Académico Profesional Biología en Acuicultura**



**EFECTO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE HARINA  
DE *Calendula officinalis* “MARIGOLD” EN LA PIGMENTACIÓN  
DE CAMARONES MACHOS ADULTOS DE *Cryphiops*  
*caementarius*.**

**AUTORES:**

**BACH. ADELHI SOLEDAD FUENTESMUÑOZ**

**BACH. LORENA JANET QUEZADA AMAYA**

**APROBADO POR EL JURADO CALIFICADOR INTEGRADO POR LOS SEÑORES  
MIEMBROS**

---

**DR. GUILLERMO SALDAÑA ROJAS**

**PRESIEDENTE**

---

**MS.C. JUAN CARHUAPOMA GARAY**

**MIEMBRO**

---

**DR. WALTER E. REYES ÁVALOS**

**MIEMBRO**

## **PRESENTACIÓN**

### **Señores miembros del Jurado:**

Con la finalidad de cumplir con el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Académico Profesional de Biología en Acuicultura de la Universidad Nacional del Santa. presentamos el siguiente informe de Tesis para optar el Título de Biólogo Acuicultor, titulado:

**EFFECTO DIETARIO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE HARINA DE *Calendula officinalis* “MARIGOLD” EN LA PIGMENTACIÓN DE CAMARONES MACHOS ADULTOS DE *Cryphiops caementarius*.**

El mismo que dejo para su criterio y de esta manera cumplir con las exigencias que contempla el Reglamento, esperamos contar con la aceptación y aprobación del jurado calificador.

Adelhi Soledad Fuentes Muñoz

Lorena Janeth Quezada Amaya

## **DEDICATORIA**

A Dios por bendecirme y cuidarme en cada paso de mi vida,

A mi padre Damian Fuentes Bautista que amo tanto agradezco por sus consejos, apoyo, confianza y motivación en mi desarrollo profesional de hoy en día.

A mi madre María Muñoz Horna por su apoyo, amor y paciencia y a mis hermanos por estar siempre hay apoyándome y a mi familia, amigos y profesores que siempre me brindaron su apoyo.

Adelhi Soledad Fuentes Muñoz

A Dios por cuidarme y bendecirme cada día de mi existir,

A mis padres queridos Orlando Quezada Mendoza y Graciela Amaya Carlos por su confianza y apoyo constante durante toda mi vida,  
y a mis familiares y amigos que siempre me brindaron su apoyo.

Lorena Janeth Quezada Amaya

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional del Santa, por permitirme hacer uso de la infraestructura y de los equipos del Laboratorio de Acuarística de la Facultad de Ciencias y llevar a cabo la presente tesis.

A nuestro asesor el Dr. Walter Eduardo Reyes Avalos por su constante asesoría, consejos y recomendaciones que fueron aportes muy importantes en nuestro trabajo de investigación; así también por brindarnos orientación profesional durante los últimos ciclos de estudios en la Universidad Nacional del Santa, por su apoyo en la realización de la presente tesis de investigación.

A todos los docentes de la Escuela Académico Profesional de Biología en Acuicultura que con sus enseñanzas contribuyeron a nuestra formación académica profesional y personal.

A nuestro compañero José Carranza Luna, quien nos brindó su apoyo en el desarrollo de la presente tesis, además de agradecer sus consejos y amistad.

A nuestra compañera, Vanessa Mogollon Calderón, quien nos brindó su apoyo y consejos durante la realización de la tesis.

A nuestros amigos, que nos brindaron sus consejos y apoyo en la redacción del presente informe de tesis.

**Los Autores**

## RESUMEN

El objetivo fue evaluar el efecto dietario de diferentes concentraciones de harina de Marigold (*Calendula officinalis*) en la pigmentación de camarones machos adultos de *Cryphiops caementarius*. Se utilizaron camarones procedentes del Río Pativilca - Región Lima, de 6,50 cm y 9,23 g. Se emplearon: Dietas con 0, 100, 200, 300 mg kg<sup>-1</sup> de harina de flor de marigold, cada uno con cuatro repeticiones. Se utilizaron 8 acuarios de vidrio 55 L de volumen útil. Se emplearon recipientes individuales de cultivo dentro de los acuarios con sistema de recirculación de agua tipo air-water-lift con filtro biológico de goteo. En cada recipiente individual se sembró un camarón (32 camarones m<sup>-2</sup>). La dieta con 300 mg kg<sup>-1</sup> con harina de flor de marigold ocasionó mayor pigmentación intensa coloración tanto en crudo como en cocido. En el experimento se demostró que la inclusión de harina de marigold en la dieta se logra la pigmentación del camarón *C. caementarius*.

Palabras clave: Marigold, carotenos, pigmentación, camarón, *Cryphiops*.

## ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of different dietary concentrations of flour Marigold (*Calendula officinalis*) in the pigmentation of male adult shrimp *Cryphiops caementarius*. Lima Region, 6,50 cm and 9,23 g shrimp from Pativilca river were used. Were used: diets with 0, 100, 200, 300 mg kg<sup>-1</sup> of marigold flower flour, each with four replicates 55 l glass aquaria useful volume were used. Individual culture vessels were used in aquariums with water recirculation system type Air-water-lift with biological trickling filter. In each individual container a shrimp (32 shrimp m<sup>-2</sup>) was planted. The diet with 300 mg kg<sup>-1</sup> with marigold flower flour pigmentación caused more intense staining both raw and cooked. The experiment showed that marigold meal inclusion in the diet *C. caementarius* pigmentation shrimp is achieved.

Key words: Marigold, carotenes, pigmentation, shrimp, *Cryphiops*.



## INDICE DE CONTENIDOS

	<b>Pág.</b>
<b>PRESENTACIÓN</b> .....	<b>I</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>II</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	<b>III</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>IV</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>6</b>
<b>2.1. Material de estudio</b> .....	<b>6</b>
<b>2.1.1. Población</b> .....	<b>6</b>
<b>2.1.2. Muestra</b> .....	<b>6</b>
<b>2.1.3. Unidad Experimental</b> .....	<b>6</b>
<b>2.2. Método experimental</b> .....	<b>6</b>
<b>2.2.1. Tipo de estudio</b> .....	<b>6</b>
<b>2.2.2. Diseño de investigación</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3. Variables y operativización de variables</b> .....	<b>7</b>
<b>2.3.1. Variable independiente</b> .....	<b>7</b>
<b>2.3.2. Variable dependiente</b> .....	<b>7</b>
<b>2.4. Procedimiento experimental</b> .....	<b>7</b>
<b>2.4.1. Transporte, identificación y aclimatación de camarones</b> .....	<b>7</b>
<b>2.4.2. Selección y siembra de camarones</b> .....	<b>8</b>
<b>2.4.3. Acondicionamiento del sistema de recipientes de crianza individual y             filtros             biológicos</b> .....	<b>8</b>
<b>2.4.4. Instalación de recipientes de crianza individual en acuarios</b> .....	<b>9</b>
<b>2.4.5. Elaboración de harina de flor de “marigold”</b> .....	<b>9</b>
<b>2.4.6. Formulación de las dietas experimental y control</b> .....	<b>10</b>
<b>2.4.7. Frecuencia de alimentación</b> .....	<b>11</b>
<b>2.4.8. Limpieza de las unidades experimentales</b> .....	<b>12</b>
<b>2.5. Muestreos biométrica</b> .....	<b>12</b>

2.6.	Análisis de pigmentación.....	12
2.6.1.	Análisis cualitativo.....	12
A.	Método de captación de imagen e identificación de color.....	12
B.	Método de dispersión de cromatóforos.....	13
C.	Método de la cocción.....	13
2.6.2.	Análisis cuantitativo.....	14
A.	Método de espectrofotometría.....	14
2.7.	Monitoreo de la calidad física y química del agua de crianza.....	15
2.8.	Análisis estadístico.....	15
<b>III.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>16</b>
<b>IV.</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>19</b>
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>21</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>22</b>
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>23</b>
<b>VIII.</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>28</b>

## INDICE DE FIGURAS

	<b>Pág</b>
<b>Fig. 1:</b> Acondicionamiento para el transporte de ejemplares machos del “camarón de río” <i>C. caementarius</i> . A) Cajas de transporte conteniendo los vasos con camarones. B) Camarón dentro de vaso de plástico.....	8
<b>Fig. 2.</b> Caja de transporte para la aclimatación del “camarón de río” <i>C. caementarius</i> 9	9
<b>Fig. 3.</b> Acondicionamiento de acuarios para la crianza del “camarón de río” <i>C. caementarius</i> en acuarios.....	10
<b>Fig.4.</b> Flujograma de la elaboración de la harina de flor de “marigold” <i>Calendula officinalis</i> .....	11
<b>Fig. 5.</b> Circulo cromático.....	14
<b>Fig.6</b> Cartilla de colores estandarizados para salmónidos .....	16
<b>Fig.7.</b> Color del camarón de río <i>C. caementarius</i> según el circulo cromático.....	21
<b>Fig.8.</b> Evaluación subjetiva del color cocido del camarón de río <i>C. caementarius</i> ....	21
<b>Fig.9.</b> Cromatóforos concentrados en el cuerpo del camarón de río <i>C. caementarius</i>	22

## INDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Composición porcentual y proximal del alimento balanceado para machos de camarón <i>C. caementarius</i> .....	12
<b>Tabla 2.</b> Concentración de carotenoides totales (mg kg <sup>-1</sup> ) en el músculo del camarón de río <i>C. caementarius</i> .....	22
<b>Tabla 3.</b> Parámetros físicos-químicos del agua de crianza de <i>C. caementarius</i> con diferentes concentraciones de harina de <i>Calendula officinalis</i> “marigold” durante 30 días .....	23
<b>Tabla 4.</b> Parámetros de crecimiento en peso de <i>C. caementarius</i> alimentados con diferentes concentraciones de harina de <i>C. officinalis</i> marigold en la dieta, durante 30 días.....	23
<b>Tabla 5.</b> Parámetros de crecimiento en longitud de <i>C. caementarius</i> alimentados con diferentes concentraciones de harina de <i>C. officinalis</i> marigold en la dieta, durante 30 días .....	24

## INDICE DE ANEXO

	<b>Pág.</b>
<b>Anexo 1.</b> Ubicación geográfica de captura de camarones machos de <i>C. caementarius</i> , cerca del centro poblado Huayto del río Pativilca.....	40
<b>Anexo 2.</b> Acondicionamiento de acuarios para la crianza del “camarón de río” <i>C. caementarius</i> . Con filtros biológicos y sistemas air-water-lift.....	40
<b>Anexo 3.</b> Disposición de los recipientes de crianza individual.....	41
<b>Anexo 4.</b> Acondicionamiento de los acuarios para la crianza en recipientes individuales y la crianza comunal del “camarón de río” <i>C. caementarius</i> .....	41
<b>Anexo 5.</b> Elaboración de harina de flor de “marigold” <i>C. officinalis</i> . A) Proceso de deshojado. B) secado a estufa. ....	42
<b>Anexo 6.</b> Elaboración de la harina de “marigold” <i>Calendula officinalis</i> . A) Proceso manual de molido. B) tamizado de <i>C. officinalis</i> .....	42
<b>Anexo 7.</b> Muestreo biométrico de <i>C. caementarius</i> A) Peso de <i>C. caementarius</i> , B) Longitud de <i>C. caementarius</i> .....	43
<b>Anexo 8.</b> Elaboración de la dieta con harina de <i>caléndula officinalis</i> ” marigold” A) peletizado del alimento y B) secado del alimento.....	43
<b>Anexo 9.</b> Análisis cuantitativo por el método de espectrofotometría.....	44
<b>Anexo 10.</b> Solución química del análisis cuantitativo A) Tratamiento 4 y B) Tratamiento 3 .....	44

## I. INTRODUCCIÓN

El camarón de río *C. caementarius* (Molina 1782), es una especie endémica de los ríos de la Vertiente Occidental, habita los cuerpos de agua lóticos costeros del Perú al sur del río Chancay-Lambayeque hasta el norte chileno hasta los 32°55' S (Elías, 1966; Bahamonde & Vila, 1971; Meruane, *et al.* 2006).

Las más altas poblaciones de este crustáceo se encuentran en los ríos del departamento de Arequipa, principalmente en Ocoña, Majes-Camaná y Tambo. En su distribución altitudinal ha sido hallado desde el nivel del mar hasta los 1400 msnm, en el río Pativilca. Estos son extraídos y recolectados por las comunidades de pescadores artesanales localizados en toda la costa de las regiones de Ica, Arequipa, Moquegua y Tacna (Zacarías *et al.*, 2008). El análisis de la serie histórica de volúmenes de captura de la región Arequipa ha mostrado en las dos últimas décadas un descenso paulatino de los mismos, especialmente por la explotación clandestina con extracción desmedida del recurso. Esto ha provocado la reducción del tamaño de las poblaciones de este crustáceo y la disminución de la talla de los ejemplares que son extraídos para la comercialización. Existen restricciones en cuanto a la talla mínima de captura, la cual impide extraer ejemplares menores de 70 mm de longitud total (Zacarías *et al.*, 2008). En la Región de Ancash, se conoce de la extracción de *C. caementarius* en los ríos Santa, Lacramarca, Casma y Pativilca desde donde se abastece a los mercados de cada localidad, pero existe control de la extracción y por tanto no se cuenta con registros oficiales que permitan cuantificar su pesquería.

*C. caementarius* es una especie con un valor económico y gastronómico elevado por lo que es reconocida como una especie de importancia comercial en el Perú (Yépez & Bandín 1997). El valor de mercado de camarón es predominante ya que se basa en el color de su cuerpo (Lorenz, 1998). Esta característica hace que esta especie tenga un alto valor comercial y de producción.

Los pigmentos carotenoides están ampliamente distribuidos entre los seres vivos. En los animales, los carotenoides son incorporados a través de la dieta y se almacenan en el tejido adiposo sin transformarse (Meyers *et al.*, 2000). En ocasiones, algunos carotenoides como la astaxantina, se unen a proteínas originando unos compuestos conocidos como carotenoproteínas, lo cual ocurre en ciertos crustáceos. Las carotenoproteínas confieren a estos animales colores verdosos o azulados, si bien cuando estos complejos se desnaturalizan durante el cocinado se pone de manifiesto el color rojo del carotenoide (Meléndez *et al.*, 2004).

Los carotenoides son compuestos responsables de la coloración de gran número de alimentos vegetales y animales (Meléndez *et al.*, 2004) y se sabe que algunos de estos compuestos, como  $\alpha$  y  $\beta$ -caroteno, así como la  $\beta$ -criptoxantina, son provitaminas A (Meyers *et al.*, 2000); además, estudios recientes han puesto de manifiesto las propiedades medicinales de estos pigmentos.

Los carotenoides son los principales pigmentos de muchos animales acuáticos (Torissen, 1989). Sin embargo la coloración del cuerpo de los crustáceos es principalmente dependiente de la presencia de los pigmentos en los cromatóforos epidérmicos y en el exoesqueleto (Meyers, 2000). Por consiguiente, el grado de pigmentación de la carne es un factor preponderante en la determinación del precio de este producto en el mercado, en cualquier forma de presentación; siendo el sitio principal de acumulación el exoesqueleto con un 90 % de astaxantina (Salazar *et al.*, 2000); además, se encuentra en la hipodermis, ojos, sangre, huevos, hepatopáncreas y ovarios (Meyers *et al.*, 2000).

La coloración de los crustáceos se percibe como un atributo clave de calidad por los consumidores (Lorenz, 1998). El color rojizo-anaranjado característico de este organismo es originado por los carotenoides obtenidos a través de sus alimentos con el actual se obtiene un mayor valor agregado al producto, confiriéndole ventajas al momento de su comercialización (Tapia *et al.*, 2008).

El principal carotenoide encontrado en la mayoría de los tejidos de crustáceos y responsable del color típico es la astaxantina (3, 3'-dihidroxi-*i*, *i*-caroteno-4, 4'-diona) (Meyers *et al.*, 1994; Latscha *et al.*, 1989). La astaxantina en los crustáceos decápodos tienen  $\beta$ -caroteno, equineonona y cantaxantina, los cuales pueden ser de procedencia dietética o derivados por transformación metabólica de algún carotenoide de la dieta (Meyers *et al.*, 2000). El interés por estos pigmentos se ha incrementado en los últimos años, por el uso de carotenoides en especies de interés en acuicultura ya que tienen un papel antioxidante y una actividad de provitamina A (Meyers *et al.*, 2000). Además, los pigmentos a menudo desencadenan diversos procesos fisiológicos y muy diferentes patrones de comportamiento inter e intraespecífica de comunicación, cortejo, reproducción, crianza, camuflaje y protección (Latscha *et al.*, 1989), a su vez mejora la respuesta inmune, reproducción, crecimiento maduración y fotoprotección (Lorenz *et al.*, 1998).

Uno de los pigmentos naturales a utilizar es la flor de marigold *Calendula officinalis*, la cual es producida en nuestro país. Esta planta esta alcanza hasta 15 cm de diámetro 1,50 m de altura, se caracteriza por el color amarillo y naranja intenso de sus flores debido a su contenido de carotenoides (Sánchez *et al.*, 2008) y se cultiva en climas de 18 a 25 °C, con alta humedad relativa y luminosidad, cuyas siembras se realizan entre octubre - febrero y la cosecha entre Enero – Mayo (Villar *et al.*, 2007).

Los pétalos de la flor se utilizan para obtener la harina de marigold, la cual proporciona los pigmentos de xantófila que se utilizan como alimento balanceado en aves de corral. Se usa en menor cantidad en la preparación de cosméticos, productos lácteos, productos de panadería y embutidos (villar *et al.*, 2007).

*C. officinalis* posee un extenso número de sustancias químicas, entre las cuales sobresalen los carotenoides, los flavonoides, triterpenos, saponinas, ácidos fenólicos, taninos entre otros (Meléndez *et al.*, 2004). Las variedades de *C. officinalis* amarillas contienen compuestos oxigenados, ricas en xantofilas, mientras que las variedades naranja contienen mayores cantidades de hidrocarburos, con actividad de provitamina A (Pintea *et al.*, 2003). La flor de marigold, se cultivaba en México y Perú, debido a su gran demanda por este insumo en la pigmentación de las aves, en nuestro país su producción anual es un aproximado a 23.644 toneladas al año.

Además, *C. officinalis* es una de las más conocidas y utilizadas como planta medicinal por presentar propiedades farmacológicas como cicatrizante, antibacteriano, antiinflamatorio y antiviral (Lastra *et al.*, 1999), debido a los carotenoides y los flavonoides. Los carotenoides totales principales identificados por Pintea *et al.* (2003) fueron la flavoxantina, luteína, rubixantina,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno,  $\gamma$ -caroteno, licopeno. Lastra *et al.* (1999) menciona que también presentan violaxantina, citroxantina, flavocromo, galenina, licopeno, valentioxantina, auroxantina, microxantina, 5, 6 epoxicaroteno,  $\beta$ -zeacaroteno, mutatoxantina. Los flavonoides poseen efectos positivos debido a su acción antioxidante y eliminadora de radicales libres (Martínez *et al.*, 2002). Los flavonoides totales se encuentran como isorhamnetina 3-O glicósido, isorhamnetina, rutinósido, isorhamnetina neohesperidósido, quercetina glucósido, calendoflosido, calendoflavosido, calendoflavobiosido, narcisina, isoquercetina, quercetina, rutosido y kaemferol, etc (Lastra *et al.*, 1999).

La flor de marigold *C. officinalis* ha sido empleada por la industria pecuaria como fuente de pigmentos para intensificar la coloración de la carne. Tapia *et al.* (2008) evaluarán la inclusión de pigmentos provenientes de esta flor con diferentes concentraciones de carotenoides, diferente distribución relativa de pigmentos, diferentes estados químicos (esterificados o saponificados) y diferentes grados de inclusión en alimentos para camarón.

El uso de la Astaxantina en la industria acuícola es importante no sólo desde el punto de vista de la pigmentación sino también como un nutriente necesario para el adecuado crecimiento y reproducción de especies de valor comercial, sin embargo Ponce *et al.* (2004) indican que este pigmento sintético está siendo restringido en países que consumen grandes cantidades de camarones y salmónidos; debido a que pueden ser tóxicos y también por su elevado costo lo que hace necesario el desarrollo de alternativas para la obtención de pigmentos carotenoides de origen natural. Por ello la inclusión de harina de flor de marigold ha sido empleada en la industria acuícola como fuente de pigmentos para mejorar la coloración de *Litopenaeus vannamei* (Tapia *et al.*, 2008), *P. semisulcatus* (Mustafá *et al.*, 2005), en peces como *Carassius auratus* (Orbe *et al.*, 2010), *Oncorhynchus mykiss* (Ingle *et al.*, 1996) y *Oreochromis niloticus* (Ponce *et al.*, 2004) Es también muy utilizada en la avicultura, con el fin de intensificar la pigmentación amarilla



característica de la piel y tarsos del pollo de engorda, así como la yema de huevo (Villar *et al.*, 2007).

Se reporta que dietas suplementadas con pigmentos de *Tagetes erecta* y de *C. officinalis* se obtienen beneficios en el crecimiento, supervivencia y pigmentación de crustáceos. Mustafá *et al.* (2005) observaron en *P. semisulcatus* máxima acumulación después de 60 días con un dieta suplementada con extractos de flor de *T. erecta*, *C. annuum* y astaxantina sintética. Tapia *et al.*, (2008) observaron similares resultados de pigmentación en *L. vannamei* utilizando *T. erecta*, mejorando el crecimiento y la supervivencia, alimentados con 260 a 378 mg kg<sup>-1</sup> de carotenoides totales provenientes de extracto saponificado de *T. erecta* (Vernon *et al.*, 1996). Otros estudios con *L. vannamei* muestra mayor pigmentación en el exoesqueleto con un contenido de carotenoides totales de 42-108 mg kg<sup>-1</sup> y en el abdomen de 9-16 mg kg<sup>-1</sup> alimentado con *C. annuum* (Arredondo *et al.*, 2003). En *P. monodon* la coloración del cuerpo depende de la presencia de astaxantina en los tejidos, y la dieta debe contener por sobre los 200 mg kg<sup>-1</sup> (Howell & Matthews, 1991; Menasveta *et al.*, 1993; Boonyaratpalin *et al.*, 2001).

Los carotenoides también cumplen un papel muy importante en el metabolismo de los diferentes estadios tempranos del desarrollo de crustáceos. Desy *et al.* (1995) reportan una rápida disminución de la concentración de pigmento inmediatamente después del desove; y la astaxantina libre representa la mayor cantidad de carotenoides en los embriones no eclosionados los estadios de larva, postlarva y juveniles de *Homarus gammarus*.

En *P. japonicus* alimentados con astaxantina sintética, se logra mayor tasa de supervivencia que aquellos alimentados con β-caroteno o con algas (Yew-Hu *et al.*, 1992). Yamada *et al.* (1990) reportan una mayor concentración de carotenoides totales en juveniles de *P. japonicus* alimentados con dietas suplementadas con astaxantina, obteniendo una acumulación de 128 % y un 135 % en el caparazón, epidermis y hepatopáncreas en un periodo que varía de 4 a 8 semanas. Menasveta *et al.* (1993) encontraron altas concentraciones de astaxantina libre en el tejido de *P. monodon* alimentados con dietas suplementadas con astaxantina obteniendo una acumulación del 70-90 %.

La acumulación de pigmentos en crustáceos se ve afectada por múltiples factores como tipo de pigmento, calidad de agua, densidad de siembra, tipo de sustrato, condiciones ambientales; generando así estrés en el organismo. Yew-hu *et al.* (2003) reportaron mejor resistencia al estrés térmico y osmótico en juveniles de *P. monodon* con dieta suplementada con astaxantina.

En *P. monodon*, se reportan una decoloración (enfermedad azul) en los sistemas de cultivo, comparado con el color verdoso oscuro normal del camarón silvestre, y esto es atribuido a una deficiencia nutricional en carotenoides junto con factores ambientales adversos de estrés tales como pobre calidad del agua y del suelo. En camarones, esta deficiencia de carotenoides es

asociada con el crecimiento, la muda, e incapacidad de la síntesis de carotenoides de Novo (Howell & Matthews *et al.*, 1991).

Una de las dificultades, cuando estos organismos se encuentran en cautiverio o en su ambiente natural, es la despigmentación que estos presentan debido a la carencia de carotenoides en el alimento balanceado o en el medio natural por lo que es necesario incorporarlos en la dieta. Por ello que se formula el siguiente problema: ¿Cuál es el efecto de diferentes concentraciones de harina de *Calendula officinalis* marigold en la pigmentación de camarones machos adultos de *Cryphiops caementarius*?

La hipótesis formulada establece que si a los adultos del camarón de río *C. caementarius* alimentamos con dietas conteniendo 100, 200 y 300 mg kg<sup>-1</sup> de harina de marigold (*Calendula officinalis*), entonces se logra mayor pigmentación del camarón con la mayor concentración de harina de marigold.

Como objetivo general se propuso evaluar el efecto dietario de diferentes concentraciones de harina de Marigold (*Calendula officinalis*) en la pigmentación de camarones adultos de *Cryphiops caementarius*. Los objetivos específicos fueron:

- Determinar cualitativamente y cuantitativamente la pigmentación de camarones adultos de *C. caementarius*, alimentados con dietas conteniendo harina de marigold.
- Determinar la concentración de harina de marigold en la dieta que permite mayor pigmentación de camarones adultos de *C. caementarius*.

## II. MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento fue realizado en el Laboratorio de Acuicultura de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional del Santa, Distrito de Nuevo Chimbote, Provincia del Santa, Región Ancash.

## **2.1. Material de estudio**

### **2.1.1. Población**

Los camarones machos de la especie *C. caementarius* procedieron del río Pativilca cerca del Centro Poblado Huayto (10°39'50''S y 77°40'02''O) a 352 msnm, distrito de Pativilca, Provincia de Barranca, Región Lima (Anexo 1).

### **2.1.2. Muestra**

En el experimento, la muestra fue de 48 camarones machos de *C. caementarius*, de  $6,22 \pm 0,02$  cm de longitud total y  $8,75 \pm 0,08$  g de peso total con apéndices cefalotorácicos completos, seleccionados al azar de un lote de 70 ejemplares transportados desde el río Pativilca.

### **2.1.3. Unidad de Análisis**

La unidad de análisis estuvo formada por seis camarones por acuario. En los tratamientos experimentales los seis camarones fueron sembrados individualmente en seis recipientes de crianza, los mismos que estuvieron en dos grupos de tres niveles dentro de un acuario. En el tratamiento control los 6 camarones fueron sembrados de la misma manera que en el tratamiento experimental.

## **2.2. Método experimental**

### **2.2.1. Tipo de estudio**

Investigación experimental.

### **2.2.2. Diseño de investigación**

Se empleó el diseño de estímulo creciente consistente en tres concentraciones de de harina de Marigold que corresponden un tratamiento control (T1) y tres tratamientos experimentales (T2, T3 y T4); cada uno con dos repeticiones:

T<sub>1</sub>: Dieta con 0 mg kg<sup>-1</sup> de harina de *Calendula officinalis* “marigold” (Control)

T<sub>2</sub>: Dieta con 100 mg kg<sup>-1</sup> de harina de *Calendula officinalis* “marigold”.

T<sub>3</sub>: Dieta con 200 mg kg<sup>-1</sup> de harina de *Calendula officinalis* “marigold”

T<sub>4</sub>: Dieta con 300 mg kg<sup>-1</sup> de harina de *Calendula officinalis* “marigold”.

## **2.3. Variables y operativización de variables**

### **2.3.1. Variable independiente**

Dieta con harina de *Calendula officinalis* marigold en diferentes concentraciones (100, 200 y 300 mg kg<sup>-1</sup>).

### 2.3.2. Variable dependiente

Análisis cualitativamente y cuantitativamente la pigmentación de camarones adultos de *C. caementarius*, alimentados con dietas conteniendo harina de marigold.

## 2.4. Procedimiento Experimental

### 2.4.1. Transporte, Identificación y aclimatación de camarones

Para el experimento, los camarones machos fueron capturados del río Pativilca, introducidos individualmente en vasos de plástico de 200 ml, lo que fueron agujereados para permitir el flujo de agua; estos vasos fueron colocados dentro de cajas de plásticos (0,60 m de largo, 0,40 m de ancho y 0,35 m de alto, con volumen efectivo de 45 l) con agua del mismo río y con aireación intermitente provisto por la acción manual de un inflador (Fig. 1).

La densidad de transporte fue de 70 camarones/caja, y el tiempo de transporte fue de 5 horas vía terrestre desde Pativilca hasta el Laboratorio de Acuarística de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional del Santa (Nuevo Chimbote).



Figura. 1: Acondicionamiento para el transporte de ejemplares machos del “camarón de río” *C. caementarius*. A) Cajas de transporte conteniendo los vasos con camarones. B) Camarón dentro de vaso de plástico.

En el Laboratorio, los camarones de la especie *C. caementarius* fueron identificados según Méndez (1981) y el sexo fue determinado observando la separación de las coxas del quinto par de periópodos (Guerra, 1974), además se diferenció por el tamaño de las quelas y la amplitud del abdomen.

Todos los camarones fueron aclimatados durante 10 días. Los camarones machos en los mismos vasos de transporte colocados dentro de las cajas de transporte y en tinas (Fig. 2). Todos los camarones fueron alimentados *Ad Libitum* con balanceado desde el tercer día de aclimatación. Además, cada dos días se realizó recambios del 30 % del agua, limpieza de los restos de alimento y de los desechos sólidos de excreción.



Figura. 2: Aclimatación de *C. caementarius* en caja.

#### 2.4.2. Selección y siembra de camarones

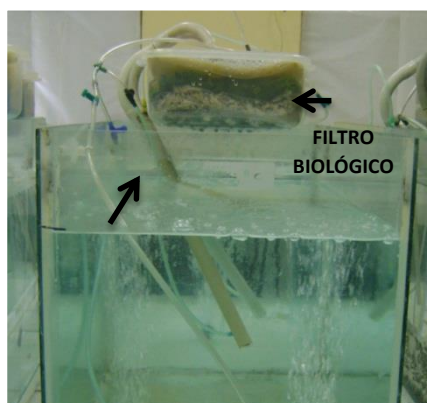
Culminado el período de aclimatación, el sexo de los camarones fue corroborado observando la separación de las coxas del quinto par de periópodos (Guerra, 1974) y seleccionados aquellos con apéndices cefalotorácicos completos.

Los recipientes fueron instalados en dos grupos de tres niveles dentro de un acuario de los tratamientos experimentales; es decir fueron sembrados seis camarones por acuario, que equivale a la densidad de 32 camarones  $m^{-2}$ .

#### 2.4.3. Acondicionamiento del sistema de recipientes de crianza individual y filtros biológicos

El sistema de recipientes individuales se empleó ocho acuarios de vidrio 0,60 m de largo, 0,31 m de ancho u 0,35 m de alto, con área de 0,186  $m^2$  y volumen efectivo de 55 l cada uno con un filtro biológico percolador con flujo de agua de 1,5  $l\ min^{-1}$ , instalado dentro de un sistema de recirculación de agua tipo air-water-lift (Anexo 2).

Cada filtro biológico estuvo constituido por un recipiente de plástico de 4 l conteniendo una capa superior de espuma sintética (1 cm de espesor), una capa intermedia de conchuela triturada (1 kg) y una capa inferior de grava de 10-20 mm de diámetro (1 kg) para permitir el crecimiento bacteriano. La activación de los filtros biológicos se realizó según el protocolo de Daniels et al. (1992 citado por D´Abramo et al., 1995). Además se instaló dos difusores por acuario para circulación y oxigenación de agua. Se empleó agua potable la que será declorada por aireación durante dos días antes de su uso. Para establecer con aire al sistema se empleó blower de 1 HP (Fig. 3).



SISTEMA AIR-  
WATER-LIFT

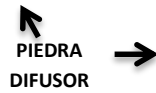


Figura. 3: Acuario con sistema de recirculación en agua con filtro biológico.

#### 2.4.4. Instalación de recipientes de crianza individual en acuarios

Se empleó 8 acuarios, instalando seis recipientes de crianza individual por acuario, los recipientes fueron de material de plástico transparente con tapa de 19 cm de diámetro y 8,0 cm de profundidad con un área de 284 cm<sup>2</sup>. Las paredes de los recipientes tuvieron aberturas de (3 cm de largo por 0.5 cm de ancho) para permitir el flujo de agua. Además en cada recipiente se colocó un tubo de PVC de ½” de diámetro que sobresale el nivel del agua y sirvió para introducir el alimento balanceado en pellets (Anexo 3). A los recipientes de plástico se les colocó una bolsa de malla plástica conteniendo grava para mantener en equilibrio los grupos de recipientes. La distribución de los recipientes en los acuarios fue al azar.

#### 2.4.5. Elaboración de harina de flor de “marigold”

La flor de “marigold” *C. officinalis*, fue obtenida del poblado de Cascajal, (08°53'49”S 78°29'33”W, en la provincia del Santa departamento de Ancash), transportada en una bolsa de papel hasta el laboratorio. Luego se procedió a extraer los pétalos de la flor de “marigold” (Anexo 5A), las cuales se llevó a estufa a 40 °C por 48 h (Acosta *et al.*, 2001) (Anexo 5). Concluido el tiempo de secado se procedió a moler con un molino manual (Anexo 6), siguiendo el proceso se colocó en un tamiz de 250 µm obteniendo finalmente 60 g de 3 kg de la harina de “marigold” *C. officinalis* (Anexo 6).

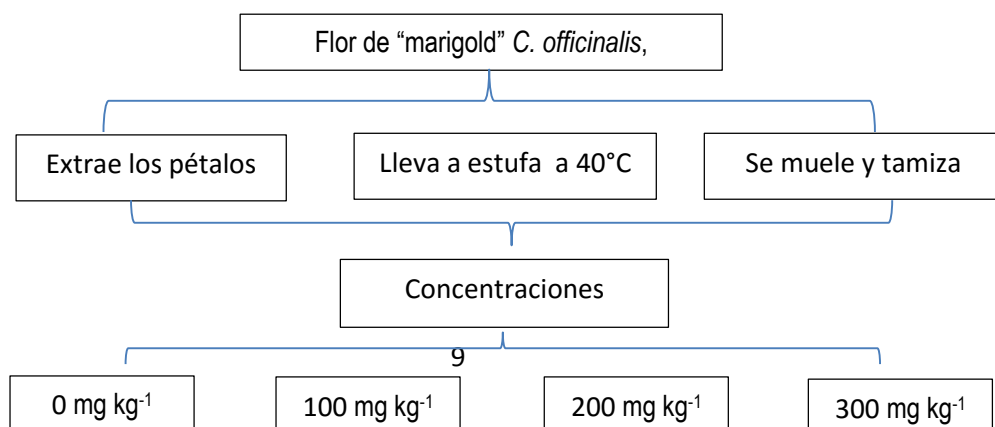


Figura. 4: Flujograma de la elaboración de la harina de flor de “marigold”

#### 2.4.6. Formulación de las dietas experimental y control

Durante el experimento los camarones *C. caementarius* fueron alimentados, con alimento balanceado (30 % de proteína bruta), preparados según la formulación de Reyes (2012) correspondiente a la dieta control (Tabla 1).

Tabla 1: Composición porcentual y proximal<sup>1</sup> del alimento balanceado para machos adultos de camarón *C. caementarius* (Reyes, 2012).

Insumos	%
Harina de pescado	30,00
Harina de soya	21,00
Harina de maíz	16,70

Aceite de pescado			2,00
Aceite de soya			0,50
Aceite de maíz			0,50
Lecitina de soya <sup>2</sup>			1,00
Polvillo de arroz			22,00
Melaza			3,00
Zeolita			2,00
Sal común			1,00
Complexvit <sup>3</sup>			0,30
<hr/>			
Proteína bruta	30,0	Ca mínima	1,00
Lípidos	8,1	Ca máxima	2,00
Fibra bruta	4,6	Cisteína	0,31
ELN (máximo)	30,0	Metionina	0,62
P disponible (mínimo)	0,6	Lisina	1,62
P disponible (máximo)	1,0	W3	0,65
ED (Kcal Kg <sup>-1</sup> )	2600	W6	1,80

<sup>1</sup> La composición proximal fue calculado con el programa informático de Pezzato (1996) teniendo en cuenta el porcentaje de insumos utilizados.

<sup>2</sup> Lecitina de soya purificada comercial (Soya insípida en cápsulas blandas, contenido de fosfatídicos  $\geq 60\%$ ).

<sup>3</sup> Comprende (kg<sup>-1</sup>): Vitaminas A 8g; E 7g; B1 8g; B2 16g; B6 11,6g; B12 0,02g; C 5g; D3 5g; K3 1g; Nicotinamida 10g; Niacina 6g; Biotina 0,3g; DL Metionina 20g; Pantotenato de calcio 47g; Cloruro de sodio 2,7g; Cloruro de potasio 34g; Sulfato de magnesio 7g; Maca 5g; y Excipientes 1,000g.

Los tratamientos tuvieron los mismos insumos utilizados para la preparación de la dieta (tabla 1) la harina de *C. officinalis* “marigold”, será agregado antes de peletizar el alimento en concentraciones ya descritas en el diseño experimental, para cada uno de los tratamientos.

#### 2.4.7. Frecuencia de Alimentación

La ración diaria de alimentación para los tres experimentos fue del 6 % del peso húmedo por camarón. La frecuencia de alimentación fue de dos veces por día (08:00 y 18:00 horas) durante seis días a la semana y distribuyendo el alimento, en iguales proporciones, por los tubos alimentadores.

#### 2.4.8. Limpieza de las unidades experimentales

Durante el desarrollo del experimento, los acuarios y los recipientes fueron limpiados cada dos días, ayudado de una esponja y un paño. La limpieza de los restos de alimentos y de los desechos sólidos de excreción fueron sifoneados con la ayuda de una manguera. Permitiendo así una tasa de renovación de agua del 8 % dia<sup>-1</sup> durante la elaboración del proyecto.

Los desechos sólidos así como también materia inorgánica, que se acumularon en los acuarios y recipientes de crianza, fueron extraídos con sifón (manguera), tres veces por semana.



La capa de espuma sintética del filtro biológico fue limpiada cada semana para evitar taponamientos. Los camarones muertos fueron retirados de los recipientes individuales de crianza para evitar alteración de la calidad del agua, pero fueron reemplazados con otros de similar tamaño y del mismo sexo, en orden de mantener el número constante de animales en los acuarios, pero estos no fueron incluidos en el análisis estadístico.

## **2.5. Muestreos biométricos**

El peso total de los camarones fue determinado en una balanza digital ADAM AQT600 ( $\pm 0,1$  g). La longitud total (LT = Escotadura post orbital hasta el extremo posterior del telson) y la longitud del cefalotórax (Lc = Escotadura post orbital hasta el borde posterior y superior del cefalotórax) fueron medidas con una regla graduada ( $\pm 1$  mm) con los camarones posicionados ventralmente.

## **2.6. Análisis de pigmentación.**

### **2.6.1. Análisis Cualitativo**

#### **A. Método de captación de imagen e identificación de color**

En este método se analizó una muestra de cuatro camarones por cada tratamiento donde se identificó el color del exoesqueleto del camarón con un círculo cromático que se trabajó en Guppy (Scotto, 2011). Para la toma de imágenes, se utilizó una cámara digital kodak (modelo saibershok) de 10 megapíxeles.

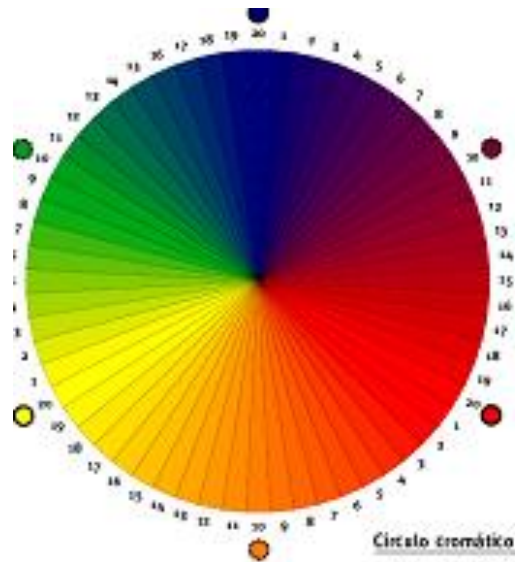


Figura. 5. Círculo cromático (Scotto, 2011).

### **B. Método de dispersión de cromatóforos**

El análisis de la dispersión de cromatóforos se realizó en la parte dorsal del exoesqueleto del camarón, de una muestra de cuatro organismos por tratamiento, colocándolos en una luna de reloj para observar en el estereoscopio a (4 X) de aumento, la toma de imágenes se hizo con una cámara digital kodak (modelo saibershok) de 10 megapíxeles.

### **C. Método de cocción**

El método de cocción se basó en someter a una muestra de cuatro camarones uno por uno de cada tratamiento, y sometidos en agua con hielo por 5 min y luego se llevó a cocción por 2 min (Tume *et al.*, 2009). Luego se comparó con la tabla de colores estandarizados para salmónidos publicada por ROCHE. Esta evaluación se realizó a cuatro organismos por cada tratamiento.



Figura. 6. Cartilla de colores estandarizados para salmónidos, (Hoffman la Roche, 2000).

## 2.6.2. Análisis Cuantitativo

### A. Método de espectrofotometría

Este método determina la concentración de pigmento en el camarón por medio de la absorbancia mediante el método descrito por Arredondo *et al.* (2003). Se llevó a cabo con la selección al azar de cuatro organismos por cada tratamiento, colocándolos en hielo por unos minutos para luego diseccionar y extraer sus vísceras. En un mortero se colocó la muestra (exoesqueleto y musculo) y se hizo un triturado, luego se pesó 10 g y colocó en una matraz de 100 ml, donde se adiciono 50ml de acetona, tapar, y se agitó en baño de agua a  $56 \pm 1^\circ \text{C}$  durante 10 min. Se dejó enfriar el matraz con agua helada. Luego se diluyó el volumen con acetona y se agitó por 2 min. Se dejó en reposo por 15 min. y se pipeteó 5 ml de la muestra y se colocó en un matraz de 50 ml y se adicionó 20 ml de acetona, tapar y agitar luego aforar el matraz. Finalmente llevar al espectrofotómetro y la lectura se realizó a una absorbancia de 460 nm.

Se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{TCC (g/kg)} = (\text{A}_{460} \times 0.164 \times \text{DF}) / (40 \times \text{W})$$

Dónde:

TCC= Concentración Total de Carotenoides

**A460** = Absorbancia A 460 nm

**W** = Peso de muestra en gramos.

**DF** = factor de dilución =  $(100 \times 50) / 5$

**0.164** = ASTA (1986) factor de conversión para la unidad de colores.

**40** = ASTA (1986) factor de conversión a g/Kg.

## **2.7. Calidad del agua de crianza**

Los parámetros de calidad de agua como oxígeno disuelto, temperatura (Oxímetro digital Hatch LDO  $\pm 0,01$  °C), así como amonio total y nitrito (test colorimétricos Nutrafin  $\pm 0,05$  mg l<sup>-1</sup>) fueron determinados semanalmente; en cambio dureza total (Fukushima *et al.*, 1982), fue determinados quincenalmente.

## **2.8. Análisis estadístico**

Se empleó el análisis de varianza con un nivel de significancia del 5 % para determinar el grado de pigmentación entre los tratamiento, siguiendo el diseño completamente al azar, para establecer diferencia entre promedios. De haber diferencias significativas entre tratamientos se aplicó la prueba de Tukey. Todos los datos fueron expresados como media  $\pm$  desviación estándar, los análisis estadísticos se efectuó mediante el programa estadístico SPSS 21.0 de Windows.

Los datos fueron presentados mediante tablas estadísticas de entrada simple con resultados absolutos y relativos; así como con sus respectivos gráficos. Los datos de peso y longitud, crecimiento en peso y longitud, supervivencia, fueron procesados y analizados estadísticamente mediante el diseño estadístico completamente al azar. Las diferencias entre las medias de los tratamientos se determinaron al 99 % por análisis de varianza y la prueba de tuckey, usando el programa estadísticos SPSS versión 21 para Windows.

### III. RESULTADOS

#### Color del cuerpo del camarón según círculo cromático

Al finalizar el experimento se observó que con el incremento de la concentración de harina de flor de marigold se obtuvo mayor color del cuerpo del camarón en 300 mg kg<sup>-1</sup> con una valoración de 14 representado con el círculo cromático (Fig. 7).

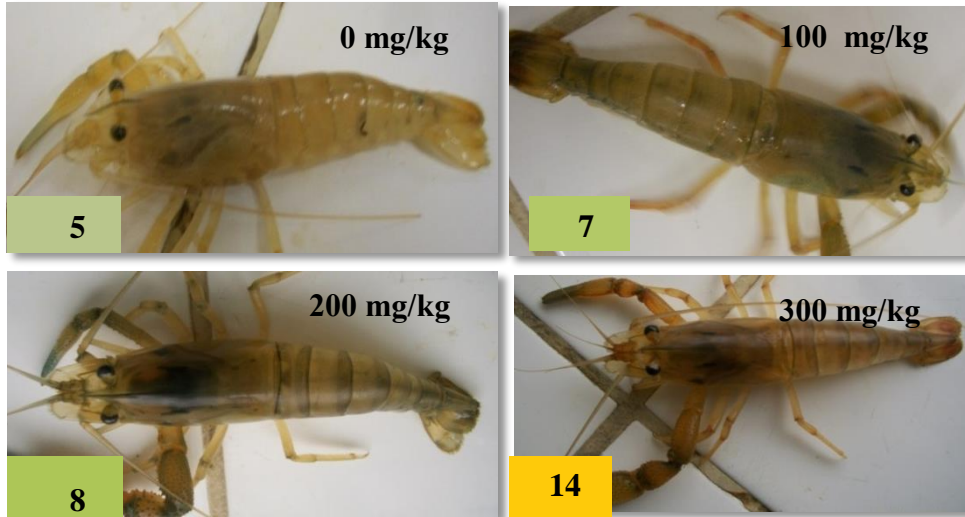


Figura 7. Color del camarón de río *C. caementarius* según el círculo cromático.

#### Color delo cuerpo del camarón según el método de cocción

Al finalizar el experimento se observó que con el incremento de la concentración de harina de flor de marigold en la dieta del camarón, se logró mayor valoración subjetiva en 300 mg kg<sup>-1</sup> con un valor de 33, según la tabla de colores estandarizados para salmónidos publicada por Hoffman la Roche (2000) (Fig. 9).

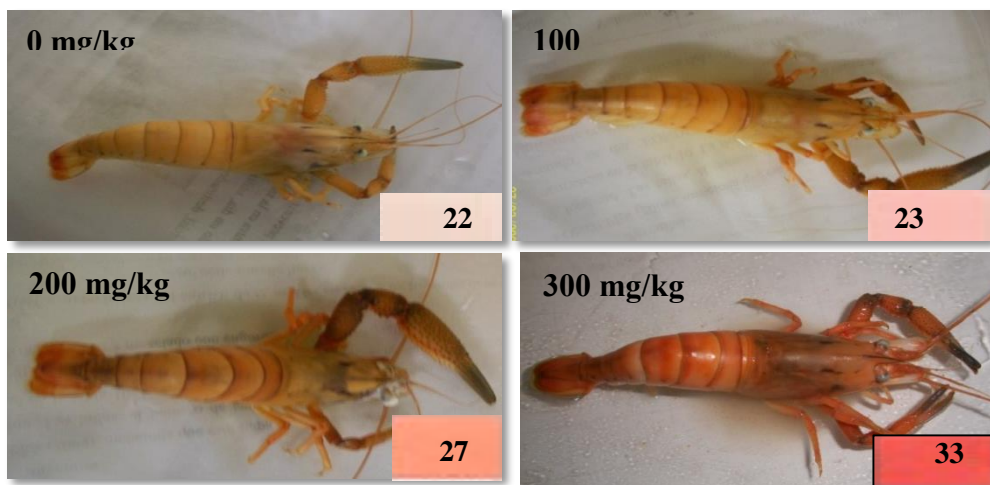


Figura.8. Evaluación subjetiva del color cocido del camarón de río *C. caementarius*

### Cromatóforos en el segundo segmento abdominal

Al finalizar el experimento se observó que con el incremento de la concentración de harina de flor de marigold hubo mayor concentración de cromatóforos pigmentados con 300 mg kg<sup>-1</sup> de harina de flor de marigold (Fig. 8).

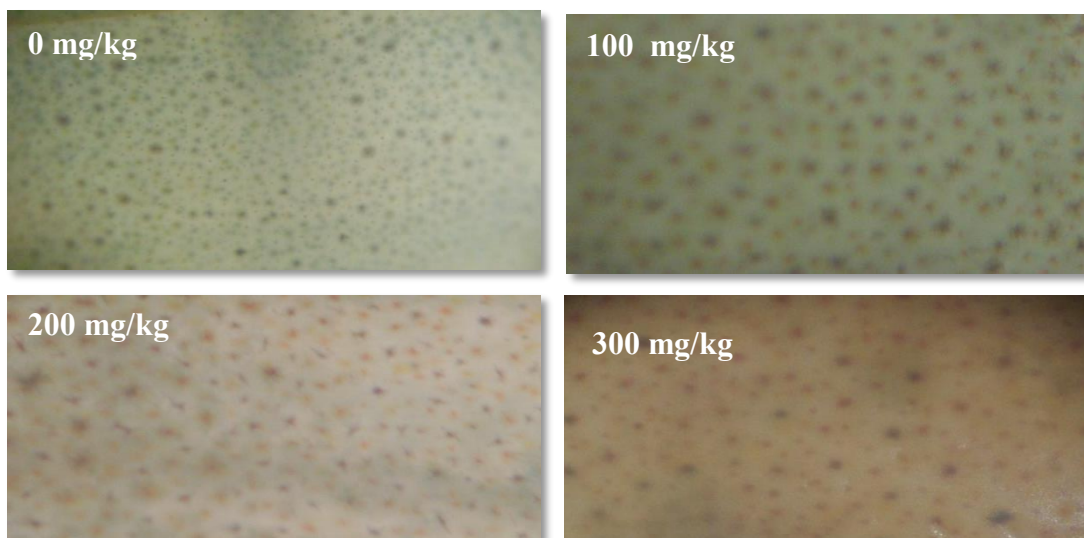


Figura 9. Cromatóforos concentrados en el cuerpo del camarón de río *C. caementarius*.

### Concentración total de carotenoides

A los 15 días de crianza, mayor concentración de carotenoides totales en el músculo de *C. caementarius* fue obtenido en 300 mg kg<sup>-1</sup> siendo significativas ( $P < 0.05$ ) que en los demás tratamientos. En cambio a los 30 días, las mayores y significativas concentraciones se obtuvieron en 200 y 300 mg kg<sup>-1</sup> (Tabla 2).

Tabla 2. Concentración de carotenoides totales (mg kg<sup>-1</sup>) en el músculo del camarón de río *C. caementarius*.

Tiempo (días)	Concentraciones de harina de flor de marigold ( mg kg <sup>-1</sup> )			
	0	100	200	300
0	9,663 ± 0,287 <sup>a</sup>	9,619 ± 0,337 <sup>a</sup>	9,218 ± 0,297 <sup>a</sup>	9,384 ± 0,299 <sup>a</sup>
15	9,594 ± 0,386 <sup>d</sup>	12,219 ± 0,428 <sup>c</sup>	13,817 ± 0,454 <sup>b</sup>	14,831 ± 0,478 <sup>a</sup>
30	9,367 ± 0,157 <sup>c</sup>	12,528 ± 0,455 <sup>b</sup>	15,729 ± 0,486 <sup>a</sup>	16,443 ± 0,256 <sup>a</sup>

### Parámetros físicos y químicos del agua de la crianza de *C. caementarius*

Los parámetros determinados durante la crianza de *C. caementarius* se mantuvieron en rangos aceptables. No hubo diferencias significativas ( $p \geq 0,05$ ) en los parámetros físico químicos del agua en todos los tratamientos. La temperatura se mantuvo entre 20,9 y 21,3°C, la concentración de oxígeno estuvo entre 5,70 y 6,10 mg l<sup>-1</sup>. El amonio total estuvo entre no tuvo diferencias significativas ( $p \geq 0,05$ ) entre los tratamientos, fluctuando entre 0 y 0,01 mg l<sup>-1</sup>, mientras que el nitrito estuvo entre 0,10 y 0,14 mg l<sup>-1</sup>, la dureza total estuvo entre 124 y 132 mg l<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros físicos-químicos del agua de crianza de *C. caementarius* con diferentes concentraciones de harina de *Calendula officinalis* “marigold” durante 30 días.

Parámetros	Concentraciones de harina de flor de marigold ( mg kg <sup>-1</sup> )			
	0	100	200	300
Temperatura (°C)	21,0 ± 0,7 <sup>a</sup>	21,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	21,0 ± 0,8 <sup>a</sup>	20,9 ± 0,6 <sup>a</sup>
Oxígeno (mg l <sup>-1</sup> )	6,10 ± 0,44 <sup>a</sup>	5,73 ± 0,51 <sup>a</sup>	5,88 ± 0,61 <sup>a</sup>	5,70 ± 0,59 <sup>a</sup>
Amonio total (mg l <sup>-1</sup> )	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,03 <sup>a</sup>
Nitrito ( mg l <sup>-1</sup> )	0,10 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,14 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,12 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,13 ± 0,05 <sup>a</sup>
Dureza total ( mg CaCO <sub>2</sub> l <sup>-1</sup> )	132,00 ± 7,00 <sup>a</sup>	131,33 ± 9,00 <sup>a</sup>	126,00 ± 8,00 <sup>a</sup>	124,00 ± 6,00 <sup>a</sup>

Los valores con diferentes letras en cada fila denota una diferencia significativa ( $P < 0,05$ ).

### Supervivencia

Al finalizar la experiencia no hubo diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en la supervivencia de camarones entre tratamientos incluido con el control, obteniéndose 100 % de supervivencia en los camarones criados con 0, 100 y 300 mg kg<sup>-1</sup> y de 88 % en camarones criados con 200 mg kg<sup>-1</sup>.

#### IV. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos, en el presente estudio demuestran que la incorporación de marigold hasta 300 mg kg<sup>-1</sup>, en el alimento de machos de *C. caementarius*, afecta la variación del color del cuerpo. De igual manera, es reportada en el crecimiento de juveniles de *L. vannamei* alimentando con *T. erecta* (Aguirre-Hinojosa *et al.*, 2012).

Del análisis cualitativo de la coloración del cuerpo de *C. caementarius*, se observó que a mayor concentración de harina de marigold en la dieta (300 mg kg<sup>-1</sup>), los camarones adquirieron mayor tonalidad en el color del cuerpo ocasionado por mayor concentración del pigmento en los cromatóforos, lo que indicaría que el pigmento del marigold fue asimilado e incorporados en el cuerpo del camarón, pues la cocción de los camarones permitió hacer más evidente la presencia de estos pigmentos. En *P. monodon* la coloración del cuerpo depende de la presencia de astaxantina en los tejidos, y la dieta debe contener por sobre los 200 mg kg<sup>-1</sup> (Howell & Matthews, 1991; Menasveta *et al.*, 1993; Boonyaratpalin *et al.*, 2001). De igual manera, las dietas suplementadas con zeaxantina y luteína de *T. erecta* aumentó las concentraciones de astaxantina y carotenoides totales en *L. vannamei*, comparadas con las suministradas con astaxantina sintética, observándose principalmente la coloración en el exoesqueleto y el músculo abdominal (Aguirre-Hinojosa *et al.*, 2012).

Los resultados a los 15 días de crianza muestran que la mayor concentración de carotenoides totales (14,83 mg kg<sup>-1</sup>) en el músculo de *C. caementarius* fue obtenido en 300 mg kg<sup>-1</sup> siendo significativamente ( $p < 0,05$ ) mayor que los demás tratamientos. En cambio a los 30 días, las mayores concentraciones (15,73 y 16,44 mg kg<sup>-1</sup>) se obtuvieron en 200 y 300 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente, siendo significativamente ( $P < 0,05$ ) mayor que los otros tratamientos. Estos resultados sugieren que la especie de camarón incorpora rápidamente los pigmentos dentro del cuerpo pero a mayor tiempo de alimentación parecería que llega a estabilizarse la acumulación de estos pigmentos. Similares contenidos de carotenos en el músculo son reportados en *P. semisulcatus* (14,1 mg kg<sup>-1</sup>) y *M. monoceros* (16,9 mg kg<sup>-1</sup>) (Yanar *et al.*, 2004).

Aunque se conoce el mecanismo de absorción de pigmentos, no está claro cómo se incorporan los pigmentos al metabolismo en camarones, existiendo factores que controlan la absorción, transporte y excreción de los pigmentos en peneidos (Boonyaratpalin *et al.*, 2001; Breithaupt, 2007). Sin embargo, en diversos crustáceos la astaxantina,  $\beta$ -caroteno y cantaxantina que reciben en las dietas, son acumulados principalmente como ésteres de astaxantina, independientemente de la ruta metabólica, del mecanismo de absorción y transporte (Yamada *et al.*, 1990; Chien & Jeng, 1992; Liao *et al.*, 1993; Nègre-Sadargues *et al.*, 1993; Boonyaratpalin *et al.*, 2001; Breithaupt, 2007). La pigmentación del cuerpo del camarón obtenida



con dietas conteniendo diferentes concentraciones de harina de marigold sugiere acumulación de pigmentos en los cromatóforos y en la epidermis del camarón.

En los camarones que no fueron alimentados con harina de marigold en la dieta se observó pérdida de la coloración del cuerpo al final de los 30 días de experimentación, lo cual era de esperarse toda vez que se conoce que *C. caementarius* criados en cautiverio, tienden a perder pigmentación del cuerpo atribuido a la deficiencia de pigmentos en la dieta (Reyes, 2012). Similares consecuencias son reportados en langostinos cuando no se usa astaxantina en la dieta (Latscha, 1989). Por consiguiente es conveniente incorporar pigmentos naturales en la dieta del camarón cuando se cultiva en cautiverio.

La calidad del agua en los acuarios estuvieron en niveles aceptables durante el tiempo que duró el experimento, según lo reportado para el ambiente natural de la especie (Zacarías & Yépez, (2008) por lo que estos no afectaron los resultados en el experimento.

La harina de marigold es un insumo disponible en la Región y contiene pigmentos naturales que podría contribuir a mantener o mejorar el color del cuerpo del camarón y con ello a darle un mayor valor comercial. El grado de pigmentación de la carne es un factor preponderante en la determinación del precio del producto en el mercado, en cualquier forma de presentación, pues la coloración del cuerpo hace que esta especie tenga un alto valor comercial y de producción ya que es un atributo clave de calidad por los consumidores.

## V. CONCLUSIONES

- En machos adultos de *C. caementarius*, la dieta con 300 mg kg<sup>-1</sup> con harina de flor de marigold *C. officinalis* ocasionó mayor pigmentación (16,443 mg kg<sup>-1</sup> de carotenos) del cuerpo.
- En el análisis cualitativo de machos adultos de *C. caementarius*, la dieta de 300 mg kg<sup>-1</sup> con harina de flor de marigold *C. officinalis* ocasionó intensa coloración obteniendo una valoración de 14 unidades de color con el círculo cromático.
- Para el caso del análisis de la coloración después de la cocción de machos adultos de *C. caementarius*, la dieta de 300 mg kg<sup>-1</sup> con harina de flor de marigold *C. officinalis* permitió una intensa coloración obteniendo una valoración de 33 unidades de color con la cartilla de colores Roche.
- La inclusión de harina de marigold en la dieta ocasiona pigmentación del cuerpo de *C. caementarius*.

## VI. RECOMENDACIONES

- Determinar las características hemocitarias en *C. caementarius* alimentado con diferentes concentraciones de harina de marigold en la dieta.
- Evaluar el efecto de la harina de marigold en el crecimiento de *C. caementarius*.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta de la Luz L., Rodríguez F. C. & Sánchez G. E., (2001). Instructivo técnico de *Calendula officinalis* en Revista cubana plant med; (1):23-7
- Aguirre-Hinojosa, E.; M. Garza-Aguirre; P. Piña-Valdéz; R. Montoya-Olvera; J. Torres-Quiroga & M. Nieves-Soto. (2012). Pigmentary and zootechnical responses of juvenile *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) maintained on diets supplemented with xanthophylls of marigold *Tagetes erecta* flowers. The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh, IJA: 64.2012.795 8 p.
- Amaya A., (1976). *Especies de camarones de los ríos norteños del Perú y su distribución*. In *Conv. Minist. Pesq.* Universidad Nacional de Trujillo, Ministerio de Pesquería, Lima – Perú.
- Arredondo J., R. Pedroza., J. Ponce & E. Vernon. (2003). Pigmentation of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*, BOONE, 1931 with esterified and saponified carotenoids fom red chile *Capsicum annuum* in comparison to astaxanthin. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 2: 101-108.
- Avila, E.G. (1990). *Anabólicos y aditivos en la producción pecuaria*. Sistemas de Educación Continua en Producción Animal en México, A.C. México, 214.
- Bahamonde N & I. Vila. (1971). Sinopsis sobre la biología del camarón de río del norte en *Revista Biol Pesq.*, 5: 3-60.
- Boonyaratpalin, M.; S. Thongrod; K. Supamattaya; G. Britton & L.E. Schlipalius. (2001). “Effects of  $\beta$ -carotene source, *Dunaliella salina*, and astaxanthin on pigmentation, growth, survival and health of *Penaeus monodon*, *Aquac. Res*, 32:182-190.
- Breithaupt, D.E. (2007). Modern application of xanthophylls in animal feeding - a review. *Trends in Food Science & Technology*. 18:501-506.
- Craik, J.C.A. (1985). Egg quality and pigment content in salmonid fishes. *Aquaculture*. 47:61-88.
- Chien, Y.H. & S.C. Jen (1992). Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes. *Aquaculture* 102: 333–346.
- Chien, Y.H., C.H. Pan & B. Hunter. (2003). The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juvenile fed diets supplemented with astaxanthin. *Aquaculture*, 216: 177–191.
- D’Abramo L. R., W. H. Daniels & M.W. Brunson. (1995). Management practices four culture of freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in temperate climate. *Bulletin* 1030,

Mississippi Agricultural & Forestly Experiment Station Mississippi State University  
Mississippi, USA.

- Desy, M., G. Negre, R. Castillo, & J.P. Trilles. (1995). Evolution of carotenoid metabolic capabilities during the early development of the European lobster *Homarus gammarus* (Lenne 1758). *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 111 (4): 553-558
- El – Sherif M.S. & A. M. Ali. (2009). Effect of rearing systems (mono - and poly - culture) on the performance of fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) juveniles. *Journal of fisheries and Aquatic Science*, 4(3): 117-128.
- Elias J. (1960). Contribución al comportamiento del camarón de río *Cryphiops caementarius* (Molina) Decapoda: Palaemonidae. *Pesca & Caza*. 10: 84-106.
- Fukushima, M., G. Sifuentes, G. Saldaña, G. Castillo, J. Reyes & L. Shimokawa. (1982). Métodos Limnológico. Departamento de ciencias biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.
- Goodwin, T.W. (1984). Biochemistry of the carotenoids. *The Physiology of Crustacea*. Vol. 1. Chapman & Hall, London, 2: 64-96.
- Grung, M.; Y.S. Svendsen & S. Liaaen-Jensen. (1993). The carotenoids of eggs of wild and farmed cod. *Comp. Biochem. Physiol.* 106B:237-242.
- Guerra, A. (1974). Biología reproductiva de *Macrobrachium gallus* Holthuis, 1952 (Decapoda, Palaemonidae). Trabajo de Habilitación. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.
- Hardy, R.W. & R.J. Roberts. (1998). Atlantic Salmon-Species Profile. *International Aqua Feed*. (2):21-23.
- Howell, B.K. & A.D. Matthews. (1991). The carotenoids of wild and blue disease affected farmed tiger shrimp (*Penaeus monodon*, Fabricus). *Comp. Biochem. Physiol.* 98B:375-379.
- Hyban W., G. Martinez, & J. Sweeney. (1997). Adding paprika to *Penaeus vannamei* maturation diet improves nauplio quality, *World Aquaculture*, 28:59 – 62.
- Ingle de la M. G., (1996). Efectos de pigmentación en el musculo de trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* mediante el uso de extractos pigmentantes de flor de cempasúchil *Tagetes erecta* y paprika *Capsicum annuum* incorporados en el alimento balanceado. Tesis Maestria. Universidad Autónoma De Nuevo León.
- Lastra H. & Rosario P. (1999). *Calendula officinalis*. *Rev. Cubana farm*, 33(3):188-94.

- Latscha, T. (1989). The role of astaxanthin in shrimp pigmentation. *Advances in Tropical Aquaculture*, Tahiti, Feb 20 - March 4, 1989. Aquacop Ifremer Actes de Colloque 9:319-325pp.
- Liao, W.L.; S.A. Nur-E-Borhan; S. Okada; T. Matsui & K. Yamagushi. (1993). Pigmentation of cultured black tiger prawn by feeding with Spirulina - supplemented diet. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 59:165-169.
- Lorenz, T. (1998). A review of the carotenoid, Astaxanthin, as a pigment and vitamin source for cultured *Penaeus* prawn. *Natu Rosea Technical Bulletin*, 51: 1-7.
- Martínez, J. González., J. Culebras & M. Tuñón. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp.* XVII (6): 271-278.
- Meléndez J., M. Vicario & J. Heredia (2004). Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. *Arch Latinoam Nutr*, 54 (2): 223-228.
- Menasveta P., T. Latscha & S. Clark. (1993). Correction of black tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricius coloration by astaxanthin. *Aquaculture Engineering*, 12: 203-213.
- Mendez, M. (1981). Claves de identificación y distribución de los langostinos y camarones (Crustacea: Decápoda) del mar y ríos de la costa del Perú. *Bol. Inst. Mar Perú*, 5: 1- 170.
- Meruane J., M. Rivera, C. Morales, C. Galleguillos & H. Hosokawa. (2006). Producción de juveniles en condiciones de laboratorio del camarón de río *Cryphiops caementarius* Decapoda: Palaemonidae) en Coquimbo, Chile. *Guyana* 70(2): 228-236.
- Meruane, J., M. Rivera, M. Morales & C. Galleguillos. (1996). Desarrollo de una tecnología para la producción de larvas y postlarvas del camarón de río del norte *Cryphiops caementarius* (Decápoda: Palaemonidae) en Hatchery. *Acuicultura en Latinoamérica*. A. Silva y G. Merino (Eds.). En: IX Congreso Latinoamericano de Acuicultura. 15-18 de octubre, 1996, Coquimbo, Chile. p. 158.
- Meyers S.P. (1994). Developments in World Aquaculture, feed formulations and role of carotenoids. *Pure and applied Chemistry*, 66(5): 1069-1076.
- Meyers, S. P. (2000). Papel del carotenoide astaxantina en nutrición de especies acuáticas. Civera -Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. & Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) *Avances en Nutrición Acuícola IV*. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 473 - 491.
- Mustafa G., M. Yanar, M. Kumlu & Y. Yanar. (2006). The effects of red pepper, marigold flower, and synthetic astaxanthin on pigmentation, growth, and proximate composition of *Penaeus semisulcatus*. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 30: 359-365.

- Nègre G., R. Castillo, H. Petit, S. Sance, M.R. Gomez, G.J.C. Milicua, G. Choubert & J.P. Trilles. (1993). Utilization of synthetic carotenoids by the prawn *Penaeus japonicus* reared under laboratory conditions. *Aquaculture*, 110: 151-159.
- New, M.B. (2002). Farming freshwater prawn. A manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). FAO, Roma, Italia. Fish. Tech. Pap. 428:1-212.
- O'Halloran, M.J. (1990). Color control in shrimp. Tested studies for laboratory teaching. 11: 15-26. Proceedings of the Eleventh Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE), 195p.
- Orbe R, P. Vanegas & V. Pérez., (2010). Efecto de carotenoides de cempaxúchil (*Tagetes erecta*) en la pigmentación de la piel de *Carassius auratus*. VII Congreso del Noroeste y III Nacional de encías Alimentarias y Biotecnología Centro de las Artes, Universidad de Sonora Hermosillo, Sonora.
- Pezzato, A.C. (1996). Balanceamiento de raciones para peces tropicales. Programa ALITE versión 1.10B.
- Pintea A., B. Constantin, S. Andrei, C. Socaciu. (2003). HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis*. *Acta Biologica Szegediensis*, 47(1-4):37-40.
- Ponce P, J. Arredondo, E. J. Vernon., (2004). Pigmentación de la tilapia (*Oreochromis niloticus*) con carotenoides de flor de cempasúchil (*Tagetes Erecta*) en comparación con la astaxantina. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 3(2): 219-225.
- Ponce-Palafox, J.; J. Arredondo-Figueroa & E. Vernon-Carter. (2006). Carotenoids from plants used in diets for the culture of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 5:157-165.
- Rao, K.R. (1985). Pigmentary effectors. In: Bliss, D.E., Mantel, L.H. (Eds.), in *Integuments, Pigments and Hormonal Processes*. , vol. 9. Academic Press, New York, U.S.A. 395-462pp.
- Reyes, W.E. (2012). *Crecimiento y supervivencia de adultos del camarón de río *Cryphiops caementarius* criados en sistema de recipientes individuales con recirculación de agua*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.
- Salazar M. (2000). *Carotenoides: distribución en el mundo vegetal y animal*. *Contactos*, 37: 60-68.
- Sánchez O.P. (2008). *Efecto de la época de transplante sobre la acumulación de luteína en inflorescencias de cempaxúchil (*Tagetes erecta*)*. Tesis de Maestría. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos – LP.N. Yautepec, Morelos

(Disponible:[http://itzamna.bnct.ipn.mx:8080/dspace/bitstream/123456789/7637/1/EFE\\_CTOEPOCA.pdf](http://itzamna.bnct.ipn.mx:8080/dspace/bitstream/123456789/7637/1/EFE_CTOEPOCA.pdf)).

- Scotto C. E. (2011). Obtención de un patrón cromático digital para ser utilizado en la mejora genética por selección masal de la variedad half black- blue o diamante del pez ornamental guppy (*Poecilia reticulata*; Peters, 1859). *Scientia Agropecuaria* 2: 139 – 148.
- Siriamornpun, S.; O. kaisoon & N. Meeso. (2012). Changes in colour, antioxidant activities and carotenoids (lycopene, b-carotene, lutein) of marigold flower (*Tagetes erecta* L.) resulting from different drying processes. *Journal of Functional Foods*. 4:757-766.
- Sosa, A. (2004). Proceso productivo de camarón gigante de malasia *Macrobrachium rosenbergii* en la camaronera. Carlos Fon L. en la Provincia de Virú La Libertad - Perú. Informe de experiencia profesional para título Biólogo Acuicultor. Universidad Nacional Del Santa.
- Tapia. M., D. M. Ricque, Nieto & L. Cruz. (2008). Uso de pigmentos de Flor de Cempasúchil *Tagetes erecta* como aditivos en alimentos para camarón *L. vannamei*. Edit. L. E. Cruz, D. Ricque, M. Tapia, M. Nieto, D. Villarreal & M. Teresa, 492- 513.
- Torrissen, O.J. (1989). Pigmentation of salmonids: Interactions of astaxanthin and canthaxanthin on pigment deposition in rainbow trout. *Aquaculture*, 79 (1–4):363–374.
- Torrissen, O.J. (1990). Biological activities of carotenoids in fishes”. *The current status of fish nutrients in aquaculture*. 387-399pp. In: Proceedings of the third international symposium on feeding and nutrition in fish. Eds. M. Takeda and T. Watanabe. Tokyo University of Fisheries, Tokyo, Japan.
- Tume R.K., A.L Sikes, S. Tabrett & D.M. Smith. (2009). Effect of background colour on the distribution of astaxanthin in black tiger prawn (*Penaeus monodon*); effective method for improvement of cooked colour. *Aquaculture* 296:129–135
- Vernon E., J. Ponce & R. Pedroza. (1996). Pigmentation of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* using Aztec marigold *Tagetes erecta* extracts as the carotenoid source. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 46: 243-246.
- Villar. M. A, M. Serrato, A. Solano., M. Arenas., J. Sánchez., S. Lozano., A Jiménez., F. García & P. Vanegas. (2007), Carotenoides en *Tagetes erecta*. la modificación genética como alternativa. *Revista Fitotecnia Mexicana*, abril-junio, 30(2):109-118.
- Yamada, S., Y. Tanaka, M. Sameshima & Y. Ito. (1990). Pigmentation of prawn (*Penaeus japonicus*) with carotenoids. I. Effect of dietary astaxanthin, beta-carotene and canthaxanthin on pigmentation. *Aquaculture*, 87: 323-330.



- Yanar, Y.; M. Celik & M. Yanar. (2004). Seasonal changes in total carotenoid contents of wild marine shrimps (*Penaeus semisulcatus* and *Metapenaeus monoceros*) inhabiting the eastern Mediterranean. *Food Chemistry*. 88:267-269.
- Yépez V. & R. Bandín. (1997). *Evaluación del recurso camarón de río Cryphiops caementarius en los ríos Ocoña, Majes-Camaná y Tambo*, Octubre 1997. Inf. Prog. Inst. Mar Perú, 77:3-25.
- Zacarías R & V. Yépez., (2008). Monitoreo poblacional de camarón de río estimación de abundancia de adultos en ríos de la costa centro sur. *Informe Anual 2007*. IMARPE.(Disponible:[http://www.imarpe.gob.pe/imarpe/archivos/informes/imarpe\\_26\\_informe\\_2007\\_camaron\\_de\\_rio\\_web.pdf](http://www.imarpe.gob.pe/imarpe/archivos/informes/imarpe_26_informe_2007_camaron_de_rio_web.pdf).)

# **VIII. ANEXOS**

**Anexo 1.** Ubicación geográfica de captura de camarones machos de *C. caementarius*, cerca del centro poblado Huayto del río Pativilca.



**Anexo 2.** Acondicionamiento de acuarios para la crianza del camarón de río *C. caementarius*, con filtros biológicos y sistemas air-water-lift



**Anexo 3.** Disposición de los recipientes de crianza individual.



**Anexo 4.** Acondicionamiento de los acuarios para la crianza en recipientes individuales y la crianza comunal del “camarón de río” *C. caementarius*.



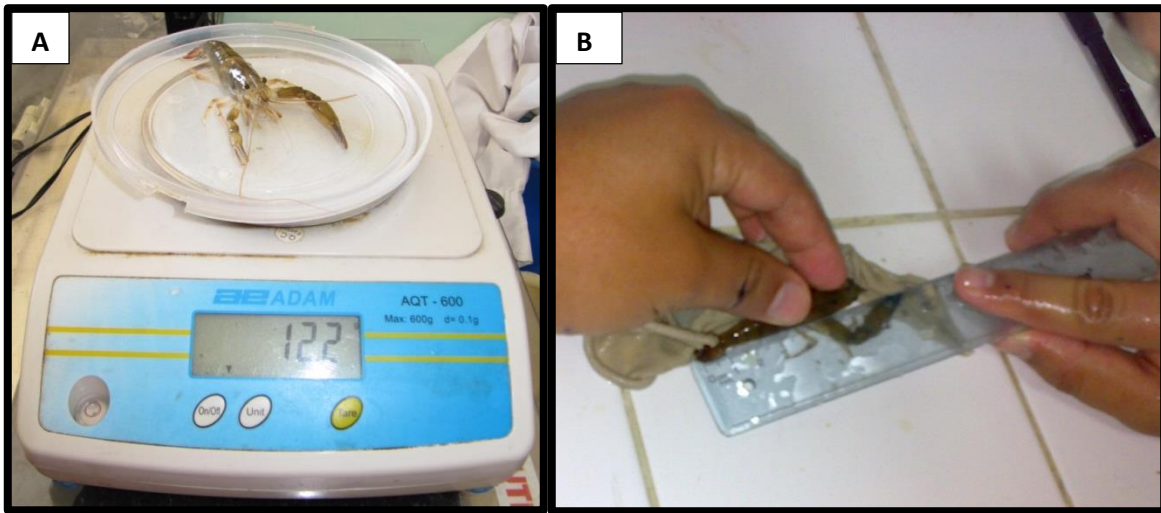
**Anexo 5.** Elaboración de harina de flor de “marigold” *C. officinalis*. A) Proceso de deshojado. B) secado a estufa.



**Anexo 6.** Elaboración de la harina de “marigold” *Calendula officinalis*. A) Proceso manual de molido. B) tamizado de *C.officinalis*.



**Anexo 7.** Muestreo biométrico de *C. caementarius* A) Peso de *C. caementarius*, B) Longitud de *C. caementarius*.



**Anexo 8.** Elaboración de la dieta con harina de caléndula officinalis” marigold” A) Peletizado del alimento y B) secado del alimento.



**Anexo 9.** Análisis Cuantitativo por el Método de Espectrofotometría.



**Anexo 10.** Solución química del análisis cuantitativo A) Tratamiento 4 y B) Tratamiento 3.

