

## Pigmentación del cuerpo del camarón *Cryphiops caementarius* (Palaemonidae) con dietas suplementadas con caléndula (*Calendula officinalis*)

### Body pigmentation of shrimp *Cryphiops caementarius* (Palaemonidae) with diets supplemented with marigold (*Calendula officinalis*)

Adelhi Fuentes Muñoz<sup>1</sup>, Lorena Quezada Amaya<sup>1</sup>, Walter Reyes-Avalos<sup>1,2</sup>

#### RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar la pigmentación del cuerpo de *Cryphiops caementarius* con dietas suplementadas con caléndula (*Calendula officinalis*). Se colectaron camarones machos del río Pativilca (Lima, Perú) y en laboratorio se cultivaron en recipientes individuales instalados dentro de ocho acuarios de vidrio (55 L). En cada recipiente individual se sembró un camarón y en cada acuario hubo seis recipientes de cultivo. Los tratamientos fueron dietas suplementadas con 0, 100, 200 y 300 mg/kg de harina de flor de caléndula. Cada dieta tuvo dos repeticiones. La pigmentación de cromatóforos epidérmicos y los carotenoides del cuerpo de los camarones fueron determinados a los 15 y 30 días. La concentración total de carotenoides de camarones del ambiente natural fue de 9.47 mg/kg. Se obtuvo mayor pigmentación del cuerpo del camarón con las dietas suplementadas con caléndula. La mayor concentración (14.83 mg/kg) y acumulación (5.44 mg/kg) de carotenoides fue logrado a los 15 días de alimentación con 300 mg/kg de caléndula en la dieta ( $p < 0.05$ ) en comparación con las dietas con 200 y 100 mg/kg de caléndula (13.82 y 12.22 mg/kg de concentración y 4.60 y 2.60 mg/kg de acumulación, respectivamente). Ningún camarón incrementó el número de cromatóforos, ni hubo dispersión de cromatóforos epidérmicos, pero el color de los cromatóforos fue marrón amarillento con el incremento la concentración de caléndula en las dietas. El cuerpo rojizo del camarón después de la cocción fue obtenido con la mayor suplementación de caléndula en la dieta, por lo que es posible dar valor agregado al camarón antes de realizar la cosecha, la que tendrá importancia comercial y culinaria.

**Palabras clave:** astaxantina, carotenoides, *Cryphiops*, caléndula, pigmentación

<sup>1</sup> Laboratorio de Acuicultura Ornamental, Departamento Académico de Biología, Microbiología y Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional del Santa, Nuevo Chimbote, Perú

<sup>2</sup> E-mail: wreyes@uns.edu.pe

Recibido: 17 de julio de 2020

Aceptado para publicación: 4 de enero de 2021

Publicado: 23 de febrero de 2021

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the body pigmentation of *Cryphiops caementarius* with diets supplemented with marigold (*Calendula officinalis*). Male shrimp were collected from the Pativilca river (Lima, Peru) and cultured in the laboratory in individual containers installed inside eight glass aquariums (55 L). One shrimp was stocked in each individual container and there were six culture containers in each aquarium. The treatments were diets supplemented with 0, 100, 200 and 300 mg/kg of marigold flower flour. Each diet had two repetitions. The pigmentation of epidermal chromatophores and the carotenoids of the shrimp body were determined at 15 and 30 days. The total concentration of carotenoids in shrimp from the natural environment was 9.47 mg/kg. A higher pigmentation of the shrimp body was obtained with diets supplemented with marigold. The highest concentration (14.83 mg/kg) and accumulation (5.44 mg/kg) of carotenoids was achieved after 15 days of feeding with 300 mg/kg of marigold in the diet ( $p < 0.05$ ), compared to diets with 200 and 100 mg/kg of marigold (13.82 and 12.22 mg/kg concentration and 4.60 and 2.60 mg/kg accumulation, respectively). No shrimp increased the number of chromatophores, nor was there dispersion of epidermal chromatophores, but the colour of the chromatophores was yellowish brown with increasing marigold concentration in the diets. The reddish body of the shrimp after cooking was obtained with the highest supplementation of marigold in the diet, so it is possible to give added value to the shrimp before harvesting, which will have commercial and culinary importance.

**Key words:** astaxanthin, carotenoids, *Cryphiops*, marigold, pigmentation

## INTRODUCCIÓN

El camarón *Cryphiops caementarius* es una especie endémica de los ríos de la vertiente occidental de los Andes de Perú y Chile (Moscoso, 2012); sin embargo, las mayores densidades poblacionales se encuentran en los ríos de Arequipa, Perú (Ocoña, Majes-Camaná y Tambo), que en el 2017 se extrajo 996 t (Wasiw y Yépez, 2015; PRODUCE, 2018) para abastecer al mercado de Lima, principalmente. Esta especie de camarón tiene potencialidades para cultivo, por lo que se han llevado a cabo diversos estudios sobre su reproducción (Bazán *et al.*, 2009; Medina *et al.*, 2019), cultivo (Reyes, 2016) y nutrición (Terrones y Reyes, 2018; Cabrera *et al.*, 2019), entre otros.

La flor de caléndula *Calendula officinalis* tiene pétalos amarillos y naranjas intensos, debido a los carotenoides (Pintea *et al.*, 2003; Kishimoto y Ohmiya, 2009). En acuicultura, la caléndula se emplea para mejorar la coloración en peces como *Xiphophorus helleri* (Ezhil *et al.*, 2008) y *Trichogaster trichopterus* (Jorjani *et al.*, 2018). El uso de 100 mg/kg de caléndula en la dieta de *Penaeus semisulcatus* incrementa la pigmentación del cuerpo (Göçer *et al.*, 2006), en tanto que la dieta de *P. monodon* debe contener más de 125 mg/kg de pigmentos naturales para lograr la presencia de astaxantina en los tejidos (Boonyaratpalin *et al.*, 2001) y de 250 mg/kg en *Litopenaeus vannamei* para lograr mayor pigmentación del músculo (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2003).

La coloración del cuerpo de los crustáceos es principalmente dependiente de la presencia de los pigmentos en los cromatóforos epidérmicos y en el exoesqueleto (Tume *et al.*, 2009), aunque también dichos pigmentos se encuentran en los ojos, sangre, huevos, hepatopáncreas y ovarios (Meyers, 2000). La astaxantina es el principal carotenoide encontrado en la mayoría de los tejidos de crustáceos y el responsable del color típico (Jittivadhnaa *et al.*, 2010), además de  $\beta$ -caroteno, equinenona y cantaxantina, que pueden ser de procedencia dietética o derivados por transformación metabólica de algún carotenoide de la dieta (Breithaupt, 2007).

En crustáceos, los carotenoides desencadenan diversos procesos fisiológicos y muy diferentes patrones de comportamiento intraespecífica de comunicación, camuflaje y protección (Tlusty, 2005). Los ejemplares machos de *C. caementarius*, de mayor tamaño que las hembras (Reyes *et al.*, 2018), pierden la coloración del cuerpo cuando son cultivados en cautiverio debido a deficiencia de carotenoides en la dieta (Reyes, 2019), sin embargo, los carotenoides del cuerpo no han sido cuantificados. Por consiguiente, el objetivo fue evaluar la pigmentación del cuerpo de *C. caementarius* con dietas suplementadas con caléndula.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Camarones

Los camarones se colectaron del río Pativilca (10°39' S, 77°40' W), cerca del centro poblado Huayto (Lima, Perú). El transporte de camarones fue realizado en un sistema de vasos de plástico (200 ml) acondicionados dentro de recipientes (45 l) y a 70 camarones por recipiente (Reyes, 2016). El transporte terrestre duró 5 h y no hubo mortalidad de camarones. En laboratorio, la especie *C. caementarius* se reconoció mediante clave taxonómica (Méndez, 1981) y el sexo se verificó por la separación de las coxas del

quinto par de periópodos y por el tamaño y grosor de las quelas (Reyes *et al.*, 2018). Luego, los camarones fueron aclimatados por 10 días en el mismo sistema de transporte y se alimentaron con la dieta basal.

Los camarones fueron mantenidos por 30 días en el sistema de cultivo individual diseñado por Reyes (2016). Los recipientes individuales (19 cm de diámetro, 284 cm<sup>2</sup>) se dispusieron en dos grupos de tres niveles dentro de cada acuario (unidad experimental). Se emplearon ocho acuarios (0.60 m de largo, 0.31 m de ancho, 0.35 m de alto y 55 l), cada uno con un sistema de recirculación de agua tipo *air-water-lift* y filtro biológico percolador (1.5 l/min). En cada recipiente de cultivo fue sembrado al azar un camarón y en cada acuario hubo seis recipientes (32 camarones m<sup>2</sup>). Se emplearon 48 camarones machos ( $6.22 \pm 0.02$  cm de longitud total y  $8.75 \pm 0.08$  g de peso total húmedo), que fueron seleccionados entre aquellos con apéndices cefalotorácicos completos. El peso total de los camarones se determinó con balanza digital ADAM AQT600 ( $\pm 0.1$  g). La longitud total (desde la escotadura post orbital hasta el extremo posterior del telson) se midió con regla graduada ( $\pm 1$  mm) con los camarones posicionados ventralmente.

Los restos de alimentos y los desechos sólidos de excreción acumulados en los acuarios fueron extraídos tres veces por semana con sifón. La calidad del agua de los acuarios fue monitoreada cada semana y se registró oxígeno disuelto y temperatura con el Oxímetro digital Hatch LDO ( $\pm 0.01$  mg/l;  $\pm 0.01$  °C). La dureza total, amonio total y nitritos se determinó con test colorimétricos Nutrafin ( $\pm 0.5$  mg/l).

### Dietas

Los pétalos maduros de caléndula *C. officinalis* (flores naranjas) se colectaron de un campo agrícola del Centro Poblado Cascajal (Santa, Ancash) y transportados en bolsas de papel. En laboratorio, los pétalos se

secaron en estufa (40 °C por 48 h) (Acosta *et al.* 2001), se molieron y tamizaron (250 µm). El rendimiento de harina fue del 2%. La dieta basal (30% de proteína bruta, 8.1% de lípidos totales, 4.6% de fibra bruta, 30% de extracto libre de nitrógeno y 2600 kcal/kg) fue formulada para *C. caementarius* (Reyes, 2016). Para las dietas experimentales, la dieta basal fue molida en mortero, suplementada con 100, 200 y 300 mg/kg de harina de caléndula, peletizado en húmedo con prensa casera. Los filamentos (3 mm de diámetro) de alimento fueron secados al ambiente durante tres días, cortados en alrededor de 5 mm de longitud y almacenados en bolsas de papel. La dieta basal sin caléndula fue el tratamiento control. Cada tratamiento dietario tuvo dos repeticiones. La ración diaria (08:00 y 19:00 h) fue del 6% de la biomasa húmeda, suministrada durante seis días a la semana.

### Cromatóforos Epidérmicos

El color de los cromatóforos epidérmicos se determinó por observación, en estereos-copio (4 X), de la parte dorsal y central del exoesqueleto del segundo segmento abdominal de cuatro camarones vivos por tratamiento. La dispersión de cromatóforos fue determinada según Hogben y Slome (1931). Las fotografías de los cromatóforos se tomaron con cámara digital Kodak (Saibershok de 10 megapíxeles) acoplado a uno de los tubos oculares del estereoscopio.

### Carotenoides

La concentración total de carotenoides fue determinado a los 15 y 30 días de alimentación, según el procedimiento de Arredondo-Figueroa *et al.* (2003) con algunas modificaciones. Para ello, fue seleccionado al azar cuatro camarones de cada tratamiento, los que fueron sumergidos en agua helada (<5 °C) por 5 min para luego diseccionar y extraer solo las vísceras (estómago, hepatopáncreas e intestino). El resto del cuerpo del camarón (cefalotórax, abdomen, apéndices, todos con

su exoesqueleto) fue inmediatamente triturado en mortero, se tomaron 10 g que fueron colocados en matraz (100 ml), se adicionó 50 ml de acetona y se agitó en baño de agua a  $56 \pm 1$  °C durante 10 min. Después, se dejó enfriar sobre agua helada, se diluyó con acetona, fue agitado por 2 min y dejado en reposo por 15 min. De la muestra procesada, 5 ml fueron vertidos en un matraz (50 ml) que contenía 20 ml de acetona y luego se aforó. La lectura se realizó en espectrofotómetro, contra acetona, a una absorbancia de 460 nm. La concentración total de carotenoides (CTC) se calculó con la siguiente ecuación:  $CTC \text{ (mg/kg)} = [(A_{460} \times 0.164 \times DF) / (40 \times W)]$ , donde  $A_{460}$  = Absorbancia a 460 nm, W = Peso de muestra (g), DF = factor de dilución =  $(100 \times 50) / 5$  (Bioquimex-Reka 1998, tomado de Arredondo-Figueroa *et al.*, 2003).

Además, al final de la experiencia, se aplicó el método de la cocción a cuatro camarones por tratamiento. Para esto, se inmovilizó al camarón en agua helada ( $\leq 5$  °C) por 5 min y luego fue llevado a cocción (100 °C) por 2 min (Tume *et al.*, 2009). En este estudio, se tuvo en cuenta la ley peruana vigente (Ley 27265, Ley de protección a los animales domésticos y a los animales silvestres mantenidos en cautiverio) y se ha hecho todo lo posible para minimizar el sufrimiento durante el sacrificio de los camarones.

### Análisis Estadístico

La normalidad de los datos se determinó con la prueba de Shapiro-Wilk. Las diferencias entre las medias de los tratamientos se determinaron por análisis de varianza de una vía y con la prueba pos hoc de Tukey, en todos los casos con significancia del 5%. Los resultados se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar. La relación de la concentración de caléndula de las dietas con el contenido de carotenoides en el cuerpo del camarón fue analizada mediante regresión. El procesamiento estadístico se realizó con el software SPSS v. 23 para Windows.

## RESULTADOS

### Supervivencia

La supervivencia de los camarones alimentados con la dieta sin caléndula y con 100 y 300 mg/kg de caléndula fue de 100%, en tanto que la de aquellos alimentados con 200 mg/kg de caléndula fue de 88%, sin diferencias estadísticas entre tratamientos.

### Cromatóforos

El incremento de la concentración de caléndula en la dieta (hasta 300 mg/kg) no produjo incremento del número de cromatóforos ni dispersión de cromatóforos en el cuerpo de los camarones; sin embargo, el color de los cromatóforos varió entre tratamientos, siendo verde claro, marrón verdoso, marrón claro y marrón amarillento en los camarones alimentados con 0, 100, 200 y 300 mg/kg de caléndula, respectivamente. Los cromatóforos epidérmicos de los camarones de todos los tratamientos se mantuvieron como puntos con ligera dispersión, pero también se observó una aparente pigmentación del integumento (Figura 1a). El color de los cromatóforos epidérmicos de cada tratamiento confirió similar color del cuerpo de los camarones (Figura 1b).

### Carotenoides

La concentración total promedio de carotenoides en el cuerpo de *C. caementarius* al inicio del experimento fue de  $9.47 \pm 0.30$  mg/kg. A los 15 días de alimentación, el incremento de la concentración de caléndula en las dietas ocasionó aumento en la concentración total de carotenoides en el cuerpo del camarón, siendo diferente ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos. El mayor contenido de carotenoides del camarón fue de  $14.83 \pm 0.49$  mg/kg y se obtuvo en aquellos alimentados con 300 mg/kg de caléndula en la dieta, lo que permitió que acumularan  $5.44$  mg/kg de carotenoides en el cuerpo. Esto representó una ganancia de 57.9% en relación con el

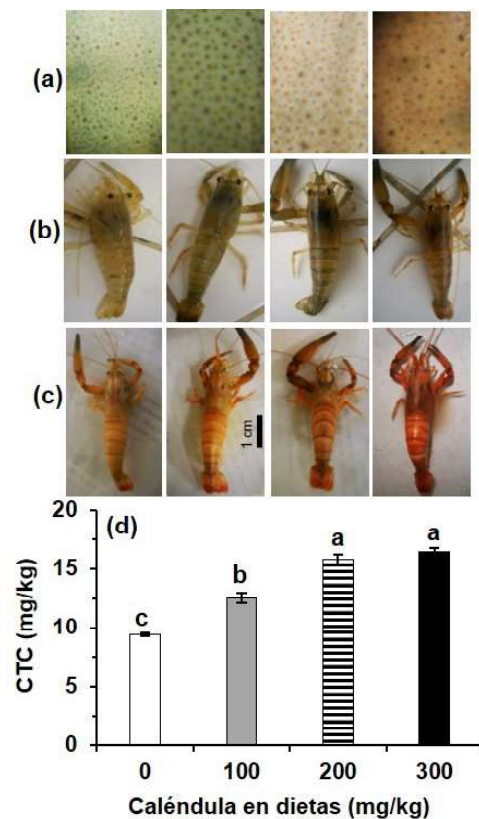


Figura 1. Pigmentación del cuerpo de *Cryphiops caementarius* alimentados durante 30 días con dietas suplementadas con caléndula (*Calendula officinalis*). a) Cromatóforos del segundo segmento abdominal de camarones vivos, observados a 4X. b) Los mismos camarones vivos empleados para fotografiar los cromatóforos. c) Color de camarones cocinados a 100 °C por 2 min. d) Concentración total de carotenoides (CTC). Letras diferentes sobre las barras de la gráfica indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ )

contenido inicial de carotenoides. Los carotenoides de los camarones alimentados con 200 mg/kg fue de  $13.82 \pm 0.45$  mg/kg y acumularon  $4.60$  mg/kg de carotenoides cuya ganancia fue del 49.9%. Los carotenoides de aquellos alimentados con 100 mg/kg de caléndula fue de  $12.22 \pm 0.42$  mg/kg y acumularon  $2.60$  mg/kg de carotenoides cuya ganancia fue del 27.0% (Figura 2a,b). Los carotenoides del cuerpo de los camarones ali-

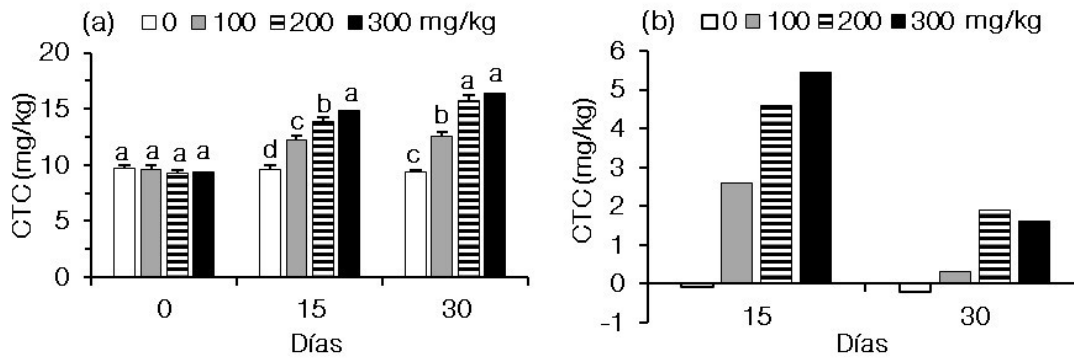


Figura 2. Concentración total de carotenoides (CTC) en el cuerpo de *Cryphiops caementarius* alimentados con dietas suplementadas con caléndula (*Calendula officinalis*). a) Variación de la CTC durante 30 días. b) Incremento de la CTC cada 15 días. Letras diferentes sobre las barras en un periodo indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ )

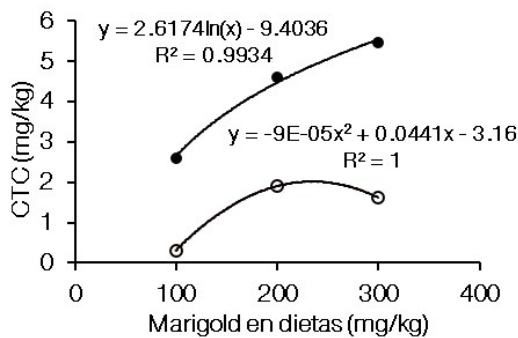


Figura 3. Relación de la concentración de caléndula en las dietas con el promedio de la concentración total de carotenoides (CTC) acumulado en el cuerpo de *Cryphiops caementarius* a los 15 (●) y 30 días (○) de alimentación

mentados con la dieta sin caléndula disminuyeron a los 15 días (-0.07 mg/kg) (Figura 2b).

A los 30 días de alimentación, el color del cuerpo de los camarones después de la cocción fue más intenso conforme se incrementó la concentración de caléndula en

las dietas. El color del cuerpo de los camarones del control y de los alimentados con 100 mg/kg de caléndula fue de un tono anaranjado claro y el de aquellos alimentados con 200 y 300 mg/kg fueron de un tono anaranjado y rojizo, respectivamente (Figura 1c). Durante este periodo, el contenido de carotenoides fue mayor con 300 y 200 mg/kg de caléndula en la dieta ( $16.44 \pm 0.25$  mg/kg y  $15.72 \pm 0.48$  mg/kg, respectivamente), siendo diferentes ( $p < 0.05$ ) de aquellos alimentados con 100 mg/kg ( $12.53 \pm 0.44$  mg/kg) y sin caléndula en la dieta ( $9.37 \pm 0.15$  mg/kg) (Figura 1d, Figura 2a). En este último periodo, los camarones alimentados con 300, 200 y 100 mg kg<sup>-1</sup> de caléndula acumularon en el cuerpo 1.61, 1.90 y 0.31 mg/kg de carotenoides, con ganancias de 10.9, 13.8 y 2.5%, respectivamente (Figura 2a,b). De otra parte, los carotenoides del cuerpo de los camarones alimentados con la dieta sin caléndula disminuyeron a los 30 días (-0.22 mg/kg) (Figura 2b).

La acumulación de carotenoides en el cuerpo del camarón se incrementó de manera logarítmica con relación a la concentración de caléndula en las dietas durante los primeros 15 días de alimentación; en cambio, a los 30 días, dicha relación fue una parábola

cuya ecuación se ajustó a un polinomio (Figura 3).

Los parámetros de calidad del agua de cultivo de *C. caementarius* se mantuvieron similares ( $p > 0.05$ ) 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. El amonio total estuvo entre 0 y 0.01 mg/l, los nitritos entre 0.10 y 0.14 mg/l y la dureza total estuvo entre 124 y 132 mg/l.

## DISCUSIÓN

Las dietas suplementadas con caléndula ocasionaron pigmentación del cuerpo de los camarones machos de *C. caementarius* debido a la acumulación de carotenoides, tal como ocurre en otras especies de crustáceos cuando son alimentados con pigmentos naturales. Por ejemplo, en *Homarus americanus* (Tlustý y Hyland, 2005), *P. semisulcatus* (Göçer *et al.*, 2006), *L. vannamei* (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2003; Aguirre-Hinojosa *et al.*, 2012), *Procambarus fallax* (Kaldre *et al.*, 2015), *Macrobrachium rosenbergii* (Zelaty *et al.*, 2016).

Los camarones *C. caementarius* alimentados con dietas suplementadas con caléndula y con la dieta control no incrementaron el número de cromatóforos ni hubo dispersión de cromatóforos epidérmicos, porque se mantuvieron como puntos con ligera dispersión, que de acuerdo con Hogben y Slome (1931), corresponde al estado 3 de desarrollo. Estos resultados sugieren que la dieta no fue estímulo para que los camarones incrementen el número de cromatóforos ni dispersen los pigmentos de sus cromatóforos epidérmicos, por lo que el cambio de color del cuerpo de la especie en cautiverio y, probablemente, en el ambiente natural sería lento. La dispersión de pigmento en los cromatóforos de crustáceos es desencadenada por cambios en las condiciones de luz y para ello se necesita alta tasa de radiación

(Fuhrmann *et al.*, 2011). Esto explicaría la falta de dispersión de pigmentos de los cromatóforos de *C. caementarius* en el estudio, dado el sistema de manejo empleado, aunque se ha visto que la intensidad de luz en *M. tenellum* no ocasiona aumento del número de cromatóforos epidérmicos (Vega-Villasante *et al.*, 2015). Además, la aparente pigmentación del integumento de *C. caementarius* probablemente sea ocasionada por el color de la capa pigmentada de la cutícula del exoesqueleto del segundo segmento abdominal, así como del resto del cuerpo. Según Meyers (2000), dicha capa pigmentada es la zona donde también se almacenan los pigmentos, además de la hipodermis y de los órganos de los crustáceos.

El contenido total de carotenoides de *C. caementarius* capturados del ambiente natural fue de 9.47 mg/kg, y es el primer registro sobre este tipo de pigmentos en el cuerpo del animal, por lo que no es posible afirmar si corresponde a la concentración normal en la especie. Los carotenoides varían de acuerdo con las condiciones ambientales como en *P. semisulcatus* y *Metapenaeus monoceros* que es mayor en primavera y verano (16 a 15 mg/kg) y menor en otoño e invierno (13 a 11 mg/kg), debido a la calidad y cantidad de microalgas del ambiente natural (Yanar *et al.*, 2004). De otra parte, cuando los camarones fueron alimentados con dietas sin caléndula, los cromatóforos epidérmicos fueron verdes claro y el contenido de carotenoides del cuerpo del animal fue de 9.37 mg/kg, similar al del inicio del experimento (9.47 mg/kg), lo que demuestra que la especie, como todo crustáceo, no sintetiza carotenoides por lo que deben ser ingeridos con la dieta (Meyers, 2000). Esta ligera pérdida de la coloración del cuerpo de *C. caementarius* se presenta cuando se cultiva en cautiverio, lo que es atribuido a deficiencia de pigmentos naturales en la dieta (Reyes, 2019). Por consiguiente, es conveniente incorporar pigmentos naturales en la dieta del camarón cuando se cultiva en cautiverio, para mantener o incrementar el color de los animales.

La mayor concentración de carotenoides de *C. caementarius* a los 15 días de alimentación fue de 14.83 mg/kg logrado con 300 mg/kg de caléndula en la dieta, siendo significativamente mayor que con las dietas suplementadas con 100 y 200 mg/kg de caléndula. Estos resultados demuestran que una dieta con alta concentración de caléndula incrementa rápidamente el contenido de carotenoides totales, y se obtiene por ello un color rojizo en el cuerpo de *C. caementarius*, con el que es posible dar valor agregado al camarón antes de realizar la cosecha. En *P. semisulcatus* alimentados con la dieta que contiene 100 mg/kg de caléndula se logra máxima acumulación de carotenoides (2.89 mg/kg) en los primeros 20 días de alimentación (Göçer *et al.*, 2006).

El contenido de carotenoides en el cuerpo de *C. caementarius* incrementó de manera logarítmica con relación a la concentración de caléndula en la dieta, durante los primeros 15 días de alimentación, resultado que evidencia que los camarones metabolizaron rápidamente los carotenoides naturales. Sin embargo, en los siguientes 15 días de alimentación, los niveles de carotenoides disminuyeron abruptamente, lo que indica que la especie tuvo dificultades en incorporar carotenoides durante este último periodo, probablemente por ser ejemplares adultos cuyo metabolismo llegue a saturarse rápidamente con los carotenoides de la dieta. En *P. japonicus*, la absorción y transporte de astaxantina hacia los tejidos del animal puede ser saturada con 200 a 400 mg/kg de astaxantina (Yamada *et al.*, 1990). En *L. vannamei*, la pigmentación muscular disminuye cuando se utilizan pigmentos naturales o sintéticos en las dietas desde el día 14 hasta el día 28, lo que significa que después de la saturación del tejido muscular con carotenoides de la dieta sigue el agotamiento (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2003); no obstante, en otros estudios se considera que el tiempo requerido para alcanzar la máxima deposición de pigmentos naturales varía entre 14 y 60 días (Tapia-Salazar *et al.*, 2008).

En los camarones alimentados con 100, 200 y 300 mg/kg de caléndula durante 30 días, el color de los cromatóforos del cuerpo de ejemplares vivos fue marrón verdoso, marrón claro y marrón amarillento, y con concentraciones de carotenoides de 12.53, 15.72 y 16.44 mg/kg, respectivamente. Estos resultados evidencian que el camarón asimiló y metabolizó los pigmentos de caléndula para concentrarlos en los cromatóforos y probablemente en la capa pigmentada de la cutícula, lo que fue más intenso conforme se incrementó la concentración de caléndula en las dietas. Los pétalos de la flor de caléndula poseen carotenoides y xantofilas (Pintea *et al.*, 2003), y es probable que la ligera pigmentación amarillenta sea consecuencia de la xantofila de caléndula. En diversos crustáceos, la astaxantina,  $\beta$ -caroteno y cantaxantina que reciben en las dietas son depositados en los tejidos principalmente como ésteres de astaxantina (Yamada *et al.*, 1990; Boonyaratpalin *et al.*, 2001; Breithaupt, 2007). El cuerpo marrón amarillento de *C. caementarius* vivos alimentados con 300 mg/kg de caléndula ya es indicador de que hubo mayor acumulación de pigmentos de caléndula proporcionados con la dieta. En la langosta *H. americanus* la astaxantina libre se acumula más rápido de lo que el carotenoide podría transportarse y unirse a la proteína en la cutícula, cuando es alimentada con 220 mg/kg de astaxantina (Tlustý y Hyland, 2005).

La astaxantina en los crustáceos se encuentra asociada con proteínas formando carotenoproteínas (Meyers, 2000), la misma que puede desnaturalizarse por cocción y observar el color rojo de la astaxantina (Jantakoson *et al.*, 2012). El cuerpo rojizo de *C. caementarius* obtenido después de la cocción permitió hacer evidente la presencia de la astaxantina. En *P. monodon* la coloración del cuerpo depende de la presencia de astaxantina en los tejidos y la dieta debe contener más de 125 mg/kg (Boonyaratpalin *et al.*, 2001). De igual manera, las dietas suplementadas con zeaxantina y luteína de *Tagetes*



*erecta* aumentan las concentraciones de astaxantina y carotenoides totales en *L. vannamei*, lo que confiere coloración rojiza principalmente en el exoesqueleto y el músculo abdominal (Aguirre-Hinojosa *et al.*, 2012).

## CONCLUSIONES

- El cuerpo de los camarones machos de *Cryphiops caementarius* fue pigmentado con las dietas suplementadas con caléndula (*Calendula officinalis*).
- La mayor concentración (14.83 mg/kg) y acumulación (5.44 mg/kg) de carotenoides fue logrado a los 15 días de alimentación con 300 mg/kg de caléndula en la dieta, siendo mayor ( $p < 0.05$ ) que con 200 y 100 mg/kg de caléndula que ocasionaron menor concentración (13.82 y 12.22 mg/kg) y acumulación (4.60 y 2.60 mg/kg) de carotenoides, respectivamente.
- Los camarones no incrementaron el número de cromatóforos ni hubo dispersión de cromatóforos epidérmicos, pero el color de los cromatóforos fue marrón amarillento con el incremento de la concentración de caléndula en las dietas.
- El cuerpo rojizo del camarón obtenido después de la cocción se obtuvo con la mayor suplementación de caléndula en la dieta (300 mg/kg).

## LITERATURA CITADA

- 1 **Acosta L, Rodríguez C, Sánchez E. 2001.** Instructivo técnico de *Calendula officinalis*. Rev Cubana Plant Med 6: 23-27.
- 2 **Aguirre-Hinojosa E, Garza-Aguirre M, Piña-Valdéz P, Montoya-Olvera R, Torres-Quiroga J, Nieves-Soto M. 2012.** Pigmentary and zootechnical responses of juvenile *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) maintained on diets supplemented with xanthophylls of marigold *Tagetes erecta* flowers. Isr J Aquacult-Bamid 64: 795-802.
- 3 **Arredondo-Figueroa, J, Pedroza-Isilas R, Ponce-Palafox J, Vernon-Carter E. 2003.** Pigmentation of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931 with esterified and saponified carotenoids from red chile *Capsicum annuum* in comparison to astaxanthin. Rev Mex Ing Quim 2: 101-108.
- 4 **Bazán M, Gámez S, Reyes A. 2009.** Rendimiento reproductivo de hembras de *Cryphiops caementarius* (Crustacea: Palaemonidae) mantenidas con alimento natural. Rev Peru Biol 16: 191-193. doi: 10.15381/rpb.v16i2.205
- 5 **Boonyaratpalin M, Thongrod S, Supamattaya K, Britton G, Schlipalius LE. 2001.** Effects of  $\beta$ -carotene source, *Dunaliella salina*, and astaxanthin on pigmentation, growth, survival and health of *Penaeus monodon*. Aquac Res 32: 182-190. doi: 10.1046/j.1355-557x.2001.00039.x
- 6 **Breithaupt DE. 2007.** Modern application of xanthophylls in animal feeding - a review. Trends Food Sci Tech 18: 501-506. doi: 10.1016/j.tifs.2007.04.009
- 7 **Cabrera E, Marcelo Z, Reyes W, Azañero C. 2019.** Efecto de dietas con alta concentración de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la proliferación de hemocitos en camarones *Cryphiops caementarius* machos. Rev Inv Vet Perú 30: 1057-1067. doi: 10.15381/rivep.v30i3.16733
- 8 **Ezhil J, Jeyanthi C, Narayanam M. 2008.** Marigold as a carotenoid source on pigmentation and growth of red swordtail, *Xiphophorus helleri*. Turk J Fish Aquat Sc 8: 99-102.
- 9 **Fuhrmann MM, Nygård H, Krapp RH, Berge J, Werner I. 2011.** The adaptive significance of chromatophores in the Arctic under-ice amphipod *Apherusa glacialis*. Polar Biol 34: 823-832. doi: 10.1007/s00300-010-0938-1

- 10 **Göçer M, Yanar M, Kumlu M, Yanar Y. 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.
- 11 **Hogben L, Slome D. 1931.** The pigmentary effector system. VI. The dual character of endocrine coordination in amphibian colour change. P Roy Soc Lond B Bio 108: 10-53. doi: 10.1098/rspb.1931.0020
- 12 **Jantakoson T, Kijroongrojana K, Benjakul S. 2012.** Effect of high pressure and heat treatments on black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) muscle protein. Int Aquat Res 4: 19. doi: 10.1186/2008-6970-4-19
- 13 **Jittivadhnaa K, Flegelb TW, Ruenwongsaa P, Panijpana B. 2010.** Biochemistry in decapod crustaceans. Bioscience 5: 1-11.
- 14 **Jorjani M, Rohani MS, Rostami AM, Ako H, Hwai ATA. 2018.** Pigmentation and growth performance in the blue gourami, *Trichogaster trichopterus*, fed marigold, *Calendula officinalis*, powder, a natural carotenoid source. J World Aquacult Soc 50: 789-799. doi: 10.1111/jwas.12562
- 15 **Kaldre K, Haugjärv K, Liiva M, Gross R. 2015.** The effect of two different feeds on growth, carapace colour, maturation and mortality in marbled crayfish (*Procambarus fallax* f. *virginalis*). Aquacult Int 23: 185-194. doi: 10.1007/s10499-014-9807-1
- 16 **Kishimoto S, Ohmiya A. 2009.** Studies on carotenoids in the petals of compositae plants. J Japan Soc Hort Sci 78: 263-272. doi: 10.2503/jjshs1.-78.263
- 17 **Medina M, Espinoza Y, Reyes W. 2019.** Índices gonadosomático y hepatosomático en relación con la maduración y muda del camarón *Cryphiops caementarius* del río Pativilca (Perú). Rev Inv Vet Perú 30: 1018-1029. doi: 10.15381/rivep.v30i3.16613
- 18 **Méndez 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.
- 19 **Meyers SP. 2000.** Papel del carotenoide astaxantina en nutrición de especies acuáticas. En: Civera-Cerecedo R, Pérez-Estrada CJ, Ricque-Marie D, Cruz-Suárez LE (eds). Avances en nutrición acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. México.
- 20 **Moscoso V. 2012.** Catálogo de crustáceos decápodos y estomatópodos del Perú. Bol Inst Mar Perú 27: 8-207.
- 21 **Pintea A, Constantin B, Andrei S, Socaciu C. 2003.** HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis*. Acta Biol Szegediensis 47: 37-40.
- 22 **PRODUCE. 2018.** Anuario estadístico pesquero y acuícola 2017. La actividad productiva del sector en números. Ministerio de la Producción. [Internet]. Disponible en: [http://ogeiee.produce.gob.pe/images/Anuario/Pesca\\_2017.pdf](http://ogeiee.produce.gob.pe/images/Anuario/Pesca_2017.pdf)
- 23 **Reyes W. 2016.** Effect of culture container on the survival and growth of male *Cryphiops caementarius* in individualized systems. Revista Bio Ciencias 3: 311-325. doi: 10.15741/revbio.03.01.07
- 24 **Reyes W, Ferrer K, Sernaqué J. 2018.** Dimorfismo sexual del camarón *Cryphiops caementarius* (Crustacea: Palaemonidae). En: Reyes WE (ed). Memoria del VIII Congreso Nacional de Estudiantes de Biología. Ancash, Perú.
- 25 **Reyes W. 2019.** Management of the interaction and cannibalism of postlarvae and adults of the freshwater shrimp *Cryphiops caementarius* (Molina, 1782). En: Diarte-Plata G, Escamilla-Montes R (eds). Crustacea. London: IntechOpen. [Internet]. Disponible en: <https://mts.intechopen.com/books/crustacea/management-of-the-interaction-and-cannibalism-of-postlarvae-and-adults-of-the-freshwater-shrimp-em-c>

- 26 **Tapia-Salazar M, Ricque-Marie D, Nieto-López M, Cruz-Suárez LE. 2008.** Uso de pigmentos de flor de compasúchil (*Tagetes erecta*) como aditivos en alimentos para camarón *L. vannamei*. En: Avances en nutrición acuícola. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. Monterrey, México.
- 27 **Terrones S, Reyes W. 2018.** Efecto de dietas con ensilado biológico de residuos de molusco en el crecimiento del camarón *Cryphiops caementarius* y tilapia *Oreochromis niloticus* en co-cultivo intensivo. *Sci Agropec* 9: 167-176. doi: 10.17268/sci.agropecu.2018.02.01
- 28 **Thlusty M. 2005.** Use of digital colour analysis to assess variation within individual adult American lobster (*Homarus americanus*) and the process of addition of colour in white lobster. *New Zeal J Mar Fresh* 39: 571-580. doi: 10.1080/00288330.2005.9517336
- 29 **Thlusty M, Hyland C. 2005.** Astaxanthin deposition in the cuticle of juvenile American lobster (*Homarus americanus*): implications for phenotypic and genotypic coloration. *Mar Biol* 147: 113-119. doi: 10.1007/s00227-005-1558-0
- 30 **Tume RK, Sikes AL, Tabrett S, Smith DM. 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. doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.-08.006
- 31 **Vega-Villasante F, Martínez-Ochoa EF, García-Guerrero MU, Arrona-Ortiz JD. 2015.** Efecto de diferentes intensidades de luz sobre la expresión de cromatóforos, crecimiento y supervivencia en juveniles de *Macrobrachium tenellum*. *Lat Am J Aquat Res* 43: 255-261. doi: 10.3856/vol43-issue1-fulltext-22
- 32 **Wasiw J, Yépez V. 2015.** Evaluación poblacional del camarón *Cryphiops caementarius* en ríos de la costa sur del Perú. *Rev Inv Vet Perú* 26: 166-181. doi: 10.15381/rivep.v26i2.11103
- 33 **Yamada S, Tanaka Y, Sameshima M, Ito Y. 1990.** Pigmentation of prawn (*Penaeus japonicus*) with carotenoids. I. Effect of dietary astaxanthin, beta-carotene and canthaxanthin on pigmentation. *Aquaculture* 87: 323-330. doi: 10.1016/0044-8486(90)90069-Y
- 34 **Yanar Y, Celik M, Yanar M. 2004.** Seasonal changes in total carotenoid contents of wild marine shrimps (*Penaeus semisulcatus* and *Metapenaeus monoceros*) inhabiting the eastern Mediterranean. *Food Chem* 88: 267-269. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.01.037
- 35 **Zelaty AH, Murthy HS, Priyadarshini N, Meshram SJ, Amin A. 2016.** Effect of dietary marigold oleresin on growth performance, survival, body composition and water quality changes during *Macrobrachium rosenbergii* culture. *J Exp Zool* 19: 785-791.