

**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua**

**UNAN-León**

**Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinaria**

**Departamento de Acuícola**

**Carrera de Ingeniería Acuícola**



**Tesis para optar al título de Ing. Acuícola**

**Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei***

**Presentado por:**

**Br. Carlos José Rizo Silva**

**Br. Luis Alberto Tercero Medina**

**Br. Yeyzom Javier Velásquez López**

**Tutores**

**Dr. Ariel José Aguilar**

**Lic. Katherinne Osorio**

**Asesor**

**Ing. Francisco José Santamaría**

**León, 2017**

**“A la libertad por la universidad”**



## Certificación

ARIEL JOSÉ AGUILAR y KATHERINNE DEL ROSARIO OSORIO URTECHO, Profesores del Departamento de Acuícola, Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinaria de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León, (UNAN-León).

CERTIFICAN:

Que la presente memoria titulada “*Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva, hemolinfa y músculo de camarones Litopenaeus vannamei*” presentada por los Brs. Carlos José Rizo Silva, Luis Alberto Tercero Medina y Yeyzom Javier Velásquez López para optar al grado de Ingeniero Acuícola por la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León, ha sido realizada bajo nuestra dirección y que hallándose concluida autorizamos su presentación para que pueda ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, firmamos el presente en León, a 27 de junio de 2017.

Lic. Katherinne Osorio Urtecho

Dr. Ariel José Aguilar



## Financiación

La presente Tesis de grado fue realizada en el Laboratorio de Fisiología Animal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, bajo la dirección del Doctor Ariel José Aguilar y la Lic. Katherinne del Rosario Osorio Urtecho. La investigación desarrollada en esta Tesis, fue subvencionada por los proyectos:

1. Del PRESANCA II-CSUCA a través del proyecto “Relación entre la regulación de la ingesta de alimento en Tilapias (*Oreochromis niloticus*) por factores metabólicos y neuroendocrinos y el estrés producido por factores ambientales” (código: C5) a cargo del Dr. Ariel José Aguilar.
2. Del CONICYT-Nicaragua a través del proyecto “Inducción a la reproducción del pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) en condiciones de laboratorio” a cargo del Dr. Ariel José Aguilar.



## Dedicatoria

**Primeramente, a Dios** nuestro padre celestial por haberme brindado la vida, salud, inteligencia, sabiduría y mucha perseverancia en todo este recorrido que he emprendido como estudiante y sobre todo poder realizar con éxito mi tesis desde su inicio hasta el final.

A mi madre **Ana María Silva**, porque con su amor y dedicación me dieron fuerza, valores, consejos, en mi vida gracias a ella logré la finalización de mis estudios universitarios, por su apoyo incondicional en todo momento tanto de manera moral como económica al alentarme para perseverar y coronar una carrera universitaria y poder ser un profesional de bien y ver cumplido el sueño que tanto anhelo de que me convirtiera en lo que ella soñó verme.

A mi abuelo **Carlos Uriel Rizo Calderón**, que a pesar que no esté en vida sé que estaría muy orgulloso de este gran logro que eh conseguido con mucho esfuerzo y que siempre llevare en mi mente.

**Br. Carlos José Rizo Silva**



## Dedicatoria

Dedico este trabajo investigativo a DIOS nuestro señor, por darme la fortaleza de seguir con mis estudios a pesar del sin número de obstáculos que se me han presentado y por permitirme ser la persona que hoy en día soy.

Con mucho cariño a mi madre **Amalia Medina Urbina**, que gracias a sus sacrificios, apoyo incondicional y entrega hacia mi persona ella ha formado un hombre de bien. También por siempre estar ahí cuando he tenido un problema y ser madre, padre y una amiga incondicional con la que siempre contare.

A mi hermano Salomón por ser un hermano tan grandioso y al resto de mis hermanos José, Bermand, Aracely, y Damary Tercero Medina por ayudar a mi mamá y apoyarla para mi formación y ser una persona de bien.

**Br. Luis Alberto Tercero Medina**



## Dedicatoria

Dedico la culminación del presente trabajo a Dios, mi padre celestial por ser quien me ha dado la fe, las fuerzas y la sabiduría para seguir adelante, haciéndole frente a todas las dificultades de la vida.

Hago honor a mis dos señoras madres **Mirian Pastora López Calderón y Reyna Azucena López Calderón**, por haber sido el pilar fundamental y la base para que yo lograra culminar mis estudios, por hacer de mí un hombre de buenos principios y valores. Gracias al esfuerzo de su trabajo, he logrado alcanzar algunas de mis metas.

A mis hermanos y primos que siempre me han motivado a seguir adelante, para que luche por lo que quiero y dándome ese apoyo moral que tanto necesité, a todos ellos, ¡GRACIAS!

**Br. Yeyzom Javier Velásquez López**



## Agradecimiento

A Dios nuestro señor por ser una inagotable fuente de inspiración y consuelo cuando estábamos pasando por momentos difíciles y por permitirnos finalizar este trabajo investigativo.

Al Ing. Francisco José Santamaría y Lic. Katherine Osorio siendo nuestros tutores de esta investigación y otros grandes guías en el transcurso de nuestra carrera, por estar ahí aconsejándonos y disponible cuando era necesario.

Al Dr. Ariel Aguilar por su dedicación y su amplio apoyo tanto en sus conocimientos como en la disponibilidad de equipos de laboratorios y de campos que nos permitieron culminar con éxito la realización de este trabajo.

Dr. Evenor Martínez González y a la MSc. Claudia Herrera Sirias los cuales han sido las personas que más nos han apoyado y por ser excelentes maestros que siempre estuvieron ahí cuando los necesitábamos, aconsejándonos como nuestros padres.

A los demás maestros por ser las personas que me prepararon en estos 5 años de nuestros estudios universitarios y por darnos los conocimientos y las herramientas adecuadas para enfrentarme a un mundo laboral.

Y a todas aquellas personas que de alguna forma brindaron su ayuda y han contribuido con la ejecución de esta investigación.

**Br. Carlos José Rizo Silva**

**Br. Luis Alberto Tercero Medina**

**Br. Yeyzom Javier Velásquez López**



## Abreviaturas

**aa:** Aminoácidos.

**AG:** Ácidos grasos.

**ADP:** Adenosín difosfato.

**ANOVA:** Análisis de varianza con un factor.

**ATP:** Adenosín trifosfato.

**CO<sub>2</sub>:** Dióxido de carbono.

**°C:** Grados centígrados.

**C:** Carbono.

**C/u:** Cada uno.

**E.E.M.:** Error Estándar de la Media.

**FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

**FAD:** Dinucleótido de flavina y adenina.

**GDH:** Glutamato deshidrogenasa.

**gr:** Gramos.

**H:** Hidrógeno.

**HDL:** Lipoproteínas de alta densidad.

**HP:** Caballos de fuerzas.

**Ha:** Hectáreas.



**H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>**: Ácido carbónico.

**H<sub>2</sub>O**: Agua.

**KHCO<sub>3</sub>**: Bicarbonato de potasio.

**mM**: Milimolar.

**mL**: Mililitros.

**mg/L**: Miligramos por litros.

**mm**: Milímetro.

**m<sup>2</sup>**: Metros cuadrados.

**Min**: Minuto.

**n**: Número de organismos.

**N**: Normalidad.

**nm**: Nanómetros.

**NH<sub>3</sub>**: Amonio no ionizado.

**NAD**: Dinucleótido de nicotinamida y adenina.

**NH<sub>4</sub><sup>+</sup>**: Amonio ionizado.

**O**: Oxígeno.

**O<sub>2</sub>**: Oxígeno molecular.

**OD**: Oxígeno disuelto.

**L.**: *Litopenaeus*.



**L:** Litros.

**LCAT:** Colesterol acil transferasa.

**PC:** Fosfatidilcolina.

**PCA:** Ácido perclórico.

**PECPK:** Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa.

**ppm:** Partes por mil.

**pH:** El pH se define como el logaritmo negativo de la base 10 de la actividad de los iones de hidrógenos.

**PL:** Post-larvas.

**R-COH:** Grupo aldehído.

**rpm:** Revoluciones por minutos.

**μmol:** Micromol.

**UV:** Rayos ultravioletas.

**VHDL:** Lipoproteínas de muy alta densidad.

**3D:** Tres dimensiones.



## Índice

Certificación.....	I
Financiación .....	II
Dedicatoria.....	III
Agradecimiento .....	VI
Abreviaturas .....	VII
Índice.....	X
Lista de tablas .....	XV
Lista de figuras.....	XVI
Abstract.....	XVII
Resumen .....	XVIII
1. Introducción .....	1
2. Objetivos .....	2
3. Marco teórico .....	3
3.1. Biología del camarón.....	3
3.1.1. <i>Clasificación taxonómica</i> .....	4
3.1.2. <i>Ciclo de vida</i> .....	5
3.1.3. <i>Morfología externa del camarón L. vannamei</i> .....	6
3.1.4. <i>Morfología interna del camarón L. vannamei</i> .....	7



<b>3.2. Sistema digestivo .....</b>	<b>7</b>
<b>3.2.1. Aspectos fisiológicos del sistema digestivo del camarón blanco .....</b>	<b>7</b>
<b>3.2.2. Principales enzimas digestivas .....</b>	<b>10</b>
<b>3.2.2.1. Proteasas .....</b>	<b>10</b>
<b>3.2.2.2. Carbohidrasas.....</b>	<b>10</b>
<b>3.2.2.3. Lipasas .....</b>	<b>11</b>
<b>3.3. Carbohidratos .....</b>	<b>11</b>
<b>3.3.1. Metabolismo de la glucosa .....</b>	<b>12</b>
<b>3.3.2. Síntesis de glucosa .....</b>	<b>13</b>
<b>3.3.2.1. Gluconeogénesis.....</b>	<b>13</b>
<b>3.4. Lípidos .....</b>	<b>15</b>
<b>3.4.1. Metabolismo de lípidos .....</b>	<b>16</b>
<b>3.4.2. Síntesis de lípidos .....</b>	<b>17</b>
<b>3.5. Proteínas .....</b>	<b>17</b>
<b>3.5.1. Clasificación de las proteínas .....</b>	<b>18</b>
<b>3.5.2. Estructura de las proteínas.....</b>	<b>19</b>
<b>3.5.3. Determinación de las proteínas.....</b>	<b>20</b>
<b>3.5.4. Metabolismo de proteína.....</b>	<b>20</b>
<b>3.5.4.1. Catabolismo de proteínas.....</b>	<b>20</b>



<b>3.5.4.2. Anabolismo de proteínas</b> .....	<b>23</b>
<b>3.5.4.2.1. Síntesis de aminoácidos</b> .....	<b>25</b>
<b>3.6. Aminoácidos</b> .....	<b>25</b>
<b>3.6.1. Aminoácidos esenciales para camarones</b> .....	<b>26</b>
<b>3.7. Alimentación en camarones</b> .....	<b>26</b>
<b>3.7.1. Requerimientos nutricionales</b> .....	<b>27</b>
<b>3.7.2. Alimentación artificial</b> .....	<b>28</b>
<b>3.8. Factores físico-químicos</b> .....	<b>28</b>
<b>3.8.1. Oxígeno disuelto</b> .....	<b>28</b>
<b>3.8.2. Temperatura</b> .....	<b>29</b>
<b>3.8.3. Salinidad</b> .....	<b>29</b>
<b>3.8.4. pH</b> .....	<b>30</b>
<b>3.9. Técnicas de Análisis</b> .....	<b>30</b>
<b>3.9.1. Técnica de espectrofotometría</b> .....	<b>30</b>
<b>3.9.2. Ninhidrina</b> .....	<b>31</b>
<b>3.9.3. Reacción de la ninhidrina</b> .....	<b>31</b>
<b>4. Materiales y métodos</b> .....	<b>33</b>
<b>4.1. Animales de experimentación</b> .....	<b>33</b>
<b>4.2. Diseño experimental</b> .....	<b>33</b>



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

<b>4.3. Toma de muestras .....</b>	<b>35</b>
<b>4.3.1. Extracción de hemolinfa .....</b>	<b>35</b>
<b>4.3.2. Extracción de hepatopáncreas y músculo .....</b>	<b>35</b>
<b>4.4. Análisis de muestras .....</b>	<b>36</b>
<b>4.4.1. Obtención de plasma .....</b>	<b>36</b>
<b>4.4.2. Preparación de muestras de hepatopáncreas y músculo.....</b>	<b>36</b>
<b>4.4.3. Análisis de las muestras de hepatopáncreas, hemolinfa y músculo .</b>	<b>36</b>
<b>4.5. Análisis de datos .....</b>	<b>37</b>
<b>5. Resultados.....</b>	<b>38</b>
<b>5.1. Niveles de aminoácidos en hepatopáncreas tras la ingesta de alimento ..</b> <b>.....</b>	<b>38</b>
<b>5.2. Niveles de aminoácidos en la hemolinfa tras ingesta de alimento .....</b>	<b>39</b>
<b>5.3. Niveles de aminoácidos en músculo tras ingesta de alimento.....</b>	<b>40</b>
<b>5.4. Niveles de aminoácidos en hepatopáncreas y músculo durante el</b> <b>tiempo (0, 2, 4, 6, 8 y 10 horas) .....</b>	<b>41</b>
<b>5.5. Correlación de los niveles de aminoácidos presentes entre</b> <b>hepatopáncreas, hemolinfa, y músculo .....</b>	<b>43</b>
<b>6. Discusión.....</b>	<b>44</b>
<b>6.1. Caracterización preliminar del estudio .....</b>	<b>44</b>
<b>6.2. Comportamiento de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos..</b>	<b>44</b>



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

<b>6.2.1. Hepatopáncreas</b> .....	<b>44</b>
<b>6.2.2. Hemolinfa</b> .....	<b>46</b>
<b>6.2.3. Músculo</b> .....	<b>47</b>
<b>6.3. Relación del comportamiento de las concentraciones de aminoácidos en tejido y hemolinfa</b> .....	<b>48</b>
<b>7. Conclusiones</b> .....	<b>50</b>
<b>8. Recomendaciones</b> .....	<b>51</b>
<b>9. Bibliografía</b> .....	<b>52</b>



## Lista de tablas

N° de tabla		N° pág.
N° 1	Taxonomía del camarón <i>L. vannamei</i>	4
N° 2	Distribución de tiempo de los tanques durante el experimento	34
N° 3	Correlación de los niveles de aminoácidos en hepatopáncreas, hemolinfa y músculo tras ingesta de alimento hasta las 8 horas	43
N° 4	Correlación de los niveles de aminoácidos en hepatopáncreas, hemolinfa y músculo tras ingesta de alimento hasta las 10 horas	43



## Lista de figuras

Nº de Figura		Nº pág.
Nº1	Morfología externa en camarón <i>L. vannamei</i>	6
Nº2	Anatomía del sistema digestivo del camarón	9
Nº3	Esquema general del metabolismo energético en camarón blanco	13
Nº4	Reacción en cadena de la enzima PECPK en camarones a partir del fosfoenolpiruvato hasta la formación de glucosa	14
Nº5	Ruta metabólica de la gluconeogénesis	15
Nº6	Vía metabólica que siguen los aminoácidos para la producción de amonio durante la transaminación en músculo y branquias en crustáceos	21
Nº7	Excreción de amonio a nivel de branquias	23
Nº8	Reacción química para la formación de glutamato	24
Nº9	Imagen de la transformación del glutamato a glutamina	24
Nº10.	Procesos de la síntesis de los diferentes aminoácidos	25
Nº11	Los 5 elementos principales para realizar la medición de absorción y transmitancia de una disolución en un espectrofotómetro	30
Nº12	Reacción de la Ninhidrina	32
Nº13	Distribución de los dispositivos experimentales durante la realización del trabajo investigativo	34
Nº14	Niveles de aminoácidos en hepatopáncreas tras la ingesta de alimento	38
Nº15	Niveles de aminoácidos en la hemolinfa tras ingesta de alimento	39
Nº16	Niveles de aminoácidos en músculo tras ingesta de alimento	40
Nº17	Niveles de aminoácidos en hepatopáncreas y músculo durante el tiempo (0, 2, 4, 6, 8 y 10 horas)	42



## Abstract

The aim of this study was to evaluate the relationship between the fluctuation of amino acid levels in the digestive gland, hemolymph and shrimp muscle of *Litopenaeus vannamei*, after food intake. The shrimp were donated by the FARALLON AQUACULTURE S.A Laboratory. They were placed in concrete tanks of the Marine and Aquaculture Research Laboratory (LIMA) for 3 months, until they reached 8.9 gr on average. Samples were extracted from the digestive gland, hemolymph and muscle, which were transferred to the animal physiology laboratory for analysis. In the digestive gland, the concentration of amino acids increases significantly in the first 2 hours of ingestion, between 4-8 hours decreases at baseline and at 10 hours increases significantly, similar to that observed at 2 hours after food intake. In hemolymph, the concentration of amino acids increases significantly at 4 hours, at 6 hours reaches the maximum level that is maintained until 10 hours. In muscle, the concentration of amino acids increases significantly at 2 hours, remains constant until 6 hours and then returns to the basal level; There is a positive correlation ( $P < 0.05$ ) of the fluctuation of amino acid levels between muscle and digestive gland.



## Resumen

El objetivo de esta investigación consistió en evaluar la relación entre la fluctuación de los niveles de aminoácidos (aa) en la glándula digestiva, hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei* (*L. vannamei*), tras la ingesta de alimento. Los camarones fueron donados por el Laboratorio de FARALLON AQUICULTURE S.A. Se ubicaron en tanques de concreto del Laboratorio de Investigaciones Marinas y Acuícolas (LIMA) durante 3 meses, hasta que alcanzaron los 8.9 gramos (gr) de peso promedio. Luego se trasladaron a un dispositivo experimental conformado por 6 recipientes con aireación constante a razón de 10 camarones por tanques. Se extrajeron muestras de la glándula digestiva, hemolinfa y músculo, las cuales se trasladaron al laboratorio de fisiología animal para su análisis. En la glándula digestiva, la concentración de aa incrementa significativamente en las primeras 2 horas de haber ingerido alimento, entre las 4-8 horas decrece al nivel basal y a las 10 horas incrementa significativamente, similar al observado a las 2 horas tras la ingesta de alimento. En hemolinfa, la concentración de aa incrementa significativamente a las 4 horas, a las 6 horas alcanza el máximo nivel que se mantiene hasta las 10 horas. En músculo, la concentración de aa incrementa significativamente a las 2 horas, se mantiene constante hasta las 6 horas y posteriormente retorna al nivel basal; Existe correlación positiva ( $P < 0.05$ ) de la fluctuación de los niveles de aa entre músculo y glándula digestiva.



## 1. Introducción

La acuicultura inició en Nicaragua a partir de la década de los 80 como acuicultura rural integrada. En la década de los 90, en un nuevo marco de la economía de mercado y frente al auge de la actividad registrada a nivel mundial; inversionistas nacionales y extranjeros iniciaron el cultivo de camarón en la zona nor-occidental de Nicaragua. Desde esa fecha, el cultivo de camarón ha ido creciendo constantemente hasta tener en el 2004, aproximadamente 10,330 hectáreas (Ha) en producción (FAO, 2005).

En consecuencia, el cultivo de camarón es una de las actividades que genera gran cantidad de fuentes de empleos directos-indirectos e ingresos a los camaroneros artesanales, propiciando un aporte significativo al producto interno bruto de Nicaragua. Bajo ese contexto, y sabiendo que el alimento es uno de los rubros que genera más costos en la actividad productiva del camarón, muchos investigadores han realizado trabajos dirigidos a conocer las características nutricionales de los camarones, su fisiología digestiva, elaboración de alimento con alto contenido nutricional, tipos de enzimas liberadas por la glándula digestiva y su afinidad hacia la degradación de diferentes tipos de proteínas contenidas en el alimento, para disminuir costos de alimentación. No obstante, hasta la fecha, en Nicaragua no existen estudios fisiológicos sobre la capacidad digestiva y tiempo de absorción de los nutrientes en *L. vannamei*, que permita establecer tiempos idóneos de alimentación bajo las condiciones ambientales donde se realiza la actividad camaronera (Andrews y Sick, 1972; Brock y Kevan, 1974; Al Mohama y Nott, 1987; Akiyama y Dominy, 1989; Akiyama et al., 1991; Clifford III, 1992).



## 2. Objetivos

### Objetivo general

- Evaluar las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos en hepatopáncreas, hemolinfa y músculo de *Litopenaeus vannamei*, tras la ingesta de alimento.

### Objetivos específicos

- Determinar el comportamiento de la curva de aminoácidos en hepatopáncreas, hemolinfa y músculo de *Litopenaeus vannamei*, tras la ingesta de alimento.
- Relacionar el comportamiento de los niveles de aminoácidos en hepatopáncreas, hemolinfa y músculo de *Litopenaeus vannamei*, tras la ingesta de alimento.



### 3. Marco teórico

#### 3.1. Biología del camarón

El camarón blanco es originario de la costa oriental del Océano Pacífico, desde Sonora, México al Norte, hacia Centro y Sudamérica hasta Tumbes en Perú, en aguas donde la temperatura es naturalmente mayor a 20 grados centígrados (°C). Durante todo el año. *L. vannamei* se encuentran en hábitats marinos tropicales (Villalón, 1991; Llosa, 2003; Hill et al., 2004). Los adultos viven y se aparean en mar abierto, mientras que las post-larvas (PL) migran a las costas a pasar la etapa juvenil y pre-adulta en los estuarios, lagunas costeras y manglares. Los machos maduran a partir de los 20 gr y las hembras a partir de los 28 gr en una edad de entre 6 y 7 meses (Van Olst y Carlberg, 1972; Wenner y Beatty, 1993). Cuando las hembras de los *L. vannamei* alcanzan un peso cercano a 30 y 45 gr liberan entre 100,000 y 250,000 huevos, con un diámetro aproximadamente de 0.22 milímetro (mm) de diámetro. La incubación ocurre alrededor de las 16 horas después de la fertilización y el desove (Morales, 1990).

En la primera etapa, la larva, denominada nauplio, nada intermitentemente y presenta foto-tropismo positivo. Los nauplios no requieren alimentación, sino que se nutren de su reserva embrionaria. Las siguientes etapas larvarias (protozoa, mysis y PL temprana respectivamente) continúan siendo planctónicas por algún tiempo, se alimentan del fitoplancton y del zooplancton, y son transportados a la costa por las corrientes mareales. Las PL cambian sus hábitos planctónicos unos 5 días después de su metamorfosis a PL, y se trasladan a la costa para empezar a alimentarse de detritos bénticos, gusanos, bivalvos y crustáceos (Soluap, 1998; Hill et al., 2004; FAO, 2006).



### 3.1.1. Clasificación taxonómica

Tabla N°1. Taxonomía del camarón *L. vannamei*. Tomado de Suarez (2008).

<b>Reino:</b>	<b>Animalia.</b>
<b>Phylum:</b>	Arthropoda.
<b>Clase:</b>	Crustácea
<b>Sub clase:</b>	Malacostraca
<b>Series:</b>	Eumalacostraca
<b>Súper orden:</b>	Eucarida
<b>Orden:</b>	Decápoda
<b>Sub orden:</b>	Dendrobranchiata
<b>Sección:</b>	Penaeida
<b>Familia:</b>	Penaeidae
<b>Género:</b>	<i>Litopenaeus</i>
<b>Especies:</b>	<i>vannamei</i>



### 3.1.2. Ciclo de vida

El ciclo de vida del camarón se divide en dos fases: marina y estuarina. La reproducción del camarón empieza en aguas alejadas de la costa, una vez que el macho deposita en la hembra un paquete de esperma que fertiliza los huevos a medida que son desovados. Las hembras maduras son reconocidas fácilmente por sus ovarios verdes, visibles a través del caparazón (Morales, 1990; Villalón, 1991; Bolaño, 2004).

Los huevos maduran y pasan a través de una serie de estadios larvales: nauplio, zoea y mysis, posteriormente alcanzan el estadio de PL, que asemeja a un camarón adulto (Hill et al., 2004); luego las PL se movilizan en dirección a la costa hacia los estuarios de los ríos, donde se desarrollan rápidamente, pues encuentran una mayor disponibilidad de alimento, menor salinidad, mayores temperaturas y protección contra los depredadores (Chapa, 1980; Teshima et al., 1986; Haws et al., 2001).

Después de sucesivas mudas, las PL se transforman en juveniles manteniéndose en los estuarios de los ríos durante un lapso de 3 a 4 meses, posteriormente, comienzan a migrar al mar donde su crecimiento es más rápido (Kitani y Alvarado, 1982; CITUS, 1986).

Las hembras son sexualmente inmaduras cuando salen de los estuarios, éstas no maduraran hasta que lleguen a los campos de apareamiento, los cuales se encuentran lejos de la costa a profundidades de 12 a 18 metros (Teshima et al., 1986; RFI, 1989); mientras que los machos por naturaleza maduran antes que las hembras (Van Olst y Carlberg, 1972; Bolaño, 2004). Para que ocurra el apareamiento, la hembra debe de haber mudado y encontrarse en un estado característico, con el exoesqueleto blando. Por otro lado, el macho debe tener su exoesqueleto duro (Arce, 1989; Villalón, 1991).



### 3.1.3. Morfología externa del camarón *L. vannamei*

El cuerpo de los camarones normalmente se divide en tres regiones: cefalotórax, abdomen, telson (Kitani y Alvarado, 1982; Lee y Wickins, 1992; Escoto, 1993). En el cefalotórax los apéndices son las anténulas, antenas, mandíbulas, maxilas, maxilípedos y pereiópodos; mientras que, el abdomen está formado por seis segmentos y 5 pares de apéndices llamadas pleópodos, cuya función es natatoria; y por último en el telson se encuentran los urópodos, que sirven también para la natación (Lockwood, 1956; Escoto, 1993). El exoesqueleto, que está en la región del cefalotórax, presenta espinas, surcos, suturas, cuya forma, tamaño y distribución es característica para cada especie (Martínez, 1999b).

En particular la familia *Penaeidae*, se caracteriza por tener el cuerpo poco o considerablemente comprimido, con un rostro bien desarrollado y lateralmente cerrado; además, presentan un par de pedúnculos oculares moderados a muy alargados, anténulas con dos flagelos, mandíbula con un proceso incisivo y él palpo con uno o dos artejos (Arce, 1989; Lee y Wickins, 1992); en cambio, los primeros tres pares de apéndices son similares, quelados, planos, incrementándose en longitud y posteriormente, el cuarto y quinto par de apéndices están bien desarrollados (Lockwood, 1956; Escoto, 1993).

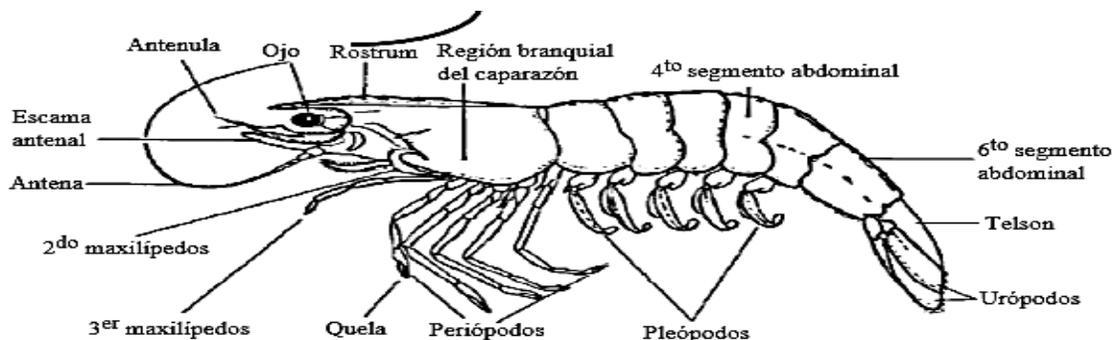


Figura N° 1. Morfología externa en camarón *L. vannamei*. Tomado de Lee y Wickins (1992).



### 3.1.4. *Morfología interna del camarón L. vannamei*

La mayoría de los órganos se encuentran en la región del cefalotórax en camarones (Villalón, 1991; Escoto, 1993; Martínez, 1999a). El cerebro es trilobulado, presenta un ganglio supraesofágico, mientras que el sistema nervioso es ventral en el tórax y en el abdomen, con los ganglios metamerizados. El corazón es ventral y se conecta directamente con el hemoceloma, a través de las arterias abdominales ventral y dorsal (Kitani y Alvarado, 1982; Teshima et al., 1986); en cambio el sistema digestivo se compone de boca, esófago estómago (pilórico y cardíaco) y hepatopáncrea situado en el cefalotórax; además presenta un intestino, una glándula intestinal en el abdomen, y el ano situado centralmente donde inicia el telson (Teshima et al., 1986; Martínez, 1999a).

## 3.2. Sistema digestivo

### 3.2.1. *Aspectos fisiológicos del sistema digestivo del camarón blanco*

El tracto digestivo de los crustáceos, en especial de los *peneidos* cumple con las siguientes funciones: transporte de nutrientes, ingestión, digestión mecánica, hidrólisis química y bioquímica, absorción celular, almacenamiento de nutrientes y expulsión del hilo fecal (Dall et al., 1990; Ceccaldi, 1998; Martínez, 1999b).

Cabe mencionar que, las preferencias alimenticias de los camarones cambian con la edad y estado fisiológico; también se logró encontrar actividad enzimática en diferentes regiones (estómago, intestino anterior, posterior, y hepatopáncreas) del *Penaeus setiferus* desde larva hasta PL, en lo cual se basaron para demostrar las etapas de carnívoro y herbívoro del camarón (Lovett y Felder, 1990).

En el cefalotórax, los tres primeros pares de apéndices están relacionados con la manipulación y la toma de alimento (maxilípedos); mientras que, algunos pares de maxilípedos pueden tener una pinza terminal (quela) (Martínez, 1999a). En contexto los camarones son masticadores externos, lo cual quiere decir que



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

mastican el alimento fuera de su boca, ya que ellos rompen los pellets y comen partículas diminutas (Ceccaldi, 1998).

Se ha observado que una vez que el alimento ha sido triturado e ingerido pasa por el esófago, llegando al estómago cardíaco que sirve de receptáculo de los alimentos consumidos (Dall et al., 1990; Lovett y Felder, 1990). En su parte posterior se encuentran una serie de piezas calcáreas, cerdas, espinas y filtros, así como unos pliegues por los que atraviesa el alimento en el recorrido de las sucesivas molindas a que es sometido (Ceccaldi, 1986; Al Mohama y Nott, 1987). Varios estudios han coincidido que el estómago está compuesto por elementos denominados osículos, con su función de moler el alimento ingerido; se originan en el interior a un diente dorsal medio y dos laterales, uno a cada lado del diente medio. Estos tres dientes se localizan internamente en la región posterior de la cámara cardíaca, y estructuran el molino gástrico, ya que este se encarga de degradar el alimento mecánicamente (Al Mohama y Nott, 1987; Ceccaldi, 1998).

Mientras los alimentos viajan por el tubo digestivo, las partículas de gran tamaño son retenidas en la región cardíaca y son digeridas por contracciones musculares hacia la parte dorsal de dicho estómago para ser trituradas por el molino gástrico (Lee et al., 1980; Dall et al., 1990).

Luego las partículas pequeñas de alimento son transportadas al estómago pilórico, para finalmente ser filtradas por las cerdas pilóricas; para que el alimento sea degradado en la glándula del intestino medio (Ceccaldi, 1986; Martínez, 1999a). El estómago pilórico está dividido en una porción dorsal y una ventral denominada filtro glandular bilobulado, o ámpula. Ambas porciones están a su vez separadas por una hilera de dentículos pares con función es interrumpir el paso de partículas alimenticias de gran tamaño (que nunca entran al filtro glandular y menos al hepatopáncreas) que son consumidas finalmente en el intestino. Estas son recubiertas por una capa mucopolisacárida, para evitar quemaduras en el ano por fricción. En el estómago los alimentos se transforman en una papilla líquida previo a iniciar su digestión química (Lee et al., 1980; Ceccaldi, 1986).



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

En crustáceos específicamente en camarones, el hepatopáncreas es un órgano compacto que ocupa gran parte de la cavidad cefálica posterior y la cavidad cardíaca del estómago; presenta dos lóbulos separados y compuestos por hileras de túbulos ciegos que vierten, por el extremo abierto, sus productos de secreción al estómago (Lee et al., 1980; Bautista et al., 1994). Cada lóbulo está conectado ventralmente con el tubo digestivo en la unión del estómago pilórico y la parte anterior del intestino, en cambio las paredes de los túbulos están constituidas por células de varios tipos: células de absorción y de acumulación, células secretoras, células embrionarias y células fibrilares (Dall et al., 1990; Ceccaldi, 1998).

La función del hepatopáncreas es:

- ✚ Secretar y producir enzimas digestivas.
- ✚ Retener de manera temporal y cíclica las reservas alimenticias.
- ✚ Absorber los nutrientes y los productos de la digestión (Guevara, 2003).

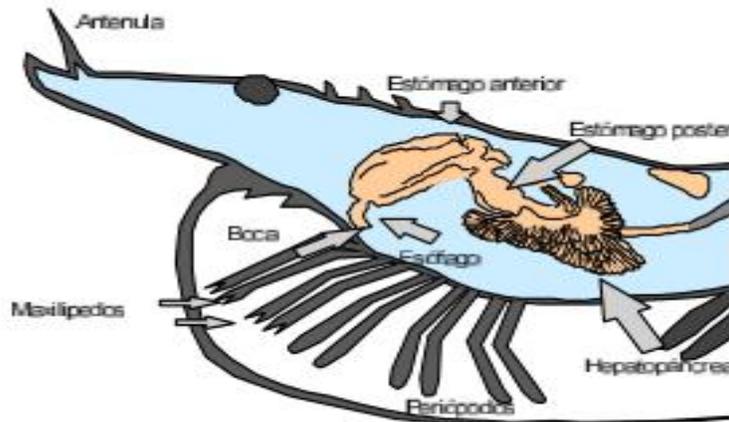


Figura N°2. Anatomía del sistema digestivo del camarón. Tomado de Ceccaldi (1986).



### 3.2.2. Principales enzimas digestivas

#### 3.2.2.1. Proteasas

En numerosas investigación de carácter científicos, muchos autores han confirmado la presencia de un conjunto de enzimas proteolíticas que se constituye en dos grupos: endopeptidasas, que cortan los enlaces peptídicos en el interior de las cadenas proteicas y las exopeptidasas, que cortan los enlaces peptídicos amino terminales, carboxiterminales y los dipeptidos (De Villez, 1965; De Villez et al., 1967; Cruz-Suarez et al., 1994; Celis-Guerrero et al., 2004). En los crustáceos la digestión química de las proteínas comienza en la cavidad cardíaca del estómago y sigue en los túbulos del hepatopáncreas; además sea ratificado un modelo de degradación de proteínas que es semejante al de los vertebrados, el cual consiste en la ruptura de las proteínas absorbidas a través de las endopeptidasas y la degradación de los péptidos por las exopeptidasas, para luego ser absorbido por células especializadas del hepatopáncreas (Kurmaly et al., 1989; Rodríguez et al., 1994; Cousin, 1995). Sin embargo, hay diferencias importantes que modifican ese modelo general como son: ausencia de acidificación del medio estomacal durante la digestión, poca actividad quimotripsica, ausencia de elastasa, existencia de una colagenasa digestiva, y de una proteasa de bajo peso molecular (Gates y Travis, 1969; Galgani, 1985; Vega-Villasante et al., 1993).

#### 3.2.2.2. Carbohidrasas

En glúcidos, las enzimas que se encargan de su digestión son:  $\alpha$ -amilasas, maltasas, sacarasas, algunas veces celulasas (Trellu y Ceccaldi, 1977; Van Wormhoudt, 1980). En *Palemon serratus* se han encontrado la  $\beta$ -glucosaminidasa, la  $\beta$ -glucosidasa, la  $\alpha$ -manosidasa, la  $\beta$ -fructofuranosidasa, la  $\alpha$ -fucosidasa, y tres glucuronidasas (Gates y Travis, 1973; Vega-Villasante et al., 1993).



Existen además quitinasas las cuales, permiten la digestión del exoesqueleto de los artrópodos y otolitos de los cuales se alimentan; cabe resaltar que la mayoría de los crustáceos consumen su propia quitina (Van Wormhoudt, 1980). De manera general se sabe que los peces y los crustáceos tienen una baja capacidad para utilizar los glúcidos (Trellu y Ceccaldi, 1977; Van Wormhoudt, 1980).

### 3.2.2.3. Lipasas

Para la digestión de los lípidos es necesaria la presencia de lipasas y estererasas; además los lípidos alimenticios sufren dos tipos de transformaciones para que puedan ser absorbidos: una emulsificación, que conduce a una micro-emulsión y una hidrólisis (Cruz-Suarez et al., 1994; Martínez y Barreto, 2011). Las lipasas actúan sobre los lípidos emulsionados y las estererasas siguen la digestión enzimática sobre los productos hidrosolubles que se obtienen; en los crustáceos los compuestos emulsificantes que desempeñan el mismo papel que la bilis de los mamíferos, es decir, la de dispersar las grasas antes de su digestión; son derivados de la taurina y de los ácidos cólico y desoxicólico (Vega-Villasante et al., 1993; Córdova-Murrueta et al., 2003).

### 3.3. **Carbohidratos**

Son utilizados metabólicamente como fuente de energía, en la síntesis de quitina, en la formación de esteroides y de ácidos grasos (AG). La principal forma de almacenamiento de carbohidratos en crustáceos es el glucógeno (Akiyama et al, 1991; Jobling, 1993).

Los carbohidratos son generalmente la fuente más barata de energía en los alimentos, pero su utilización por el camarón es muy limitada (Akiyama y Dominy, 1989). Sin embargo, en la ausencia de carbohidratos, el camarón utiliza las



proteínas para mantener sus necesidades de energía (Kanazawa et al., 1971; Akiyama et al., 1991).

### 3.3.1. *Metabolismo de la glucosa*

La energía contenida en una molécula de glucosa es transformada en energía de adenosín trifosfato (ATP) útil para la célula, si en la cadena respiratoria se utiliza el Dinucleótido de flavina y adenina (FAD), se producen 36 ATP y si se utiliza el Dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD), se producen 38 ATP, cuando la glucosa es oxidada en condiciones aeróbicas se produce dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y agua (H<sub>2</sub>O) como producto final (Karp, 1996; Berg et al., 2008; Espinoza, 2011).



La oxidación de la glucosa dentro de la célula en condiciones aeróbicas, se da por 4 procesos (Karp, 1996; Davis, 2007):

La **glicólisis**, es el camino metabólico por medio del cual se oxidan los azúcares produciendo piruvato y equivalentes reducidos como el NAD. La **transformación del acetil-coenzima A**, proveniente de la descarboxilación del piruvato o de la β-oxidación de los AG, en CO<sub>2</sub> y equivalentes reducidos, proporciona las moléculas necesarias para el funcionamiento del ciclo de los ácidos tri-carboxílicos o “**Ciclo de Krebs**”. Esta serie de reacciones tiene como principal función la transferencia de electrones, de los equivalentes reducidos, hacia el oxígeno molecular (O<sub>2</sub>); durante este proceso se sintetizan las moléculas de ATP. A esta cadena de reacciones se la llama **cadena de transporte de electrones o fosforilación oxidativa** el cual, está formado por un conjunto de enzimas complejas que catalizan varias reacciones de óxido-reducción, donde el oxígeno (O) es el aceptor final de electrones (Figura 3). La magnitud con la que los camarones utilizan el O



como último aceptor de electrones de la cadena respiratoria puede ser obtenida a través de mediciones del consumo de O (Rosas et al., 1996).

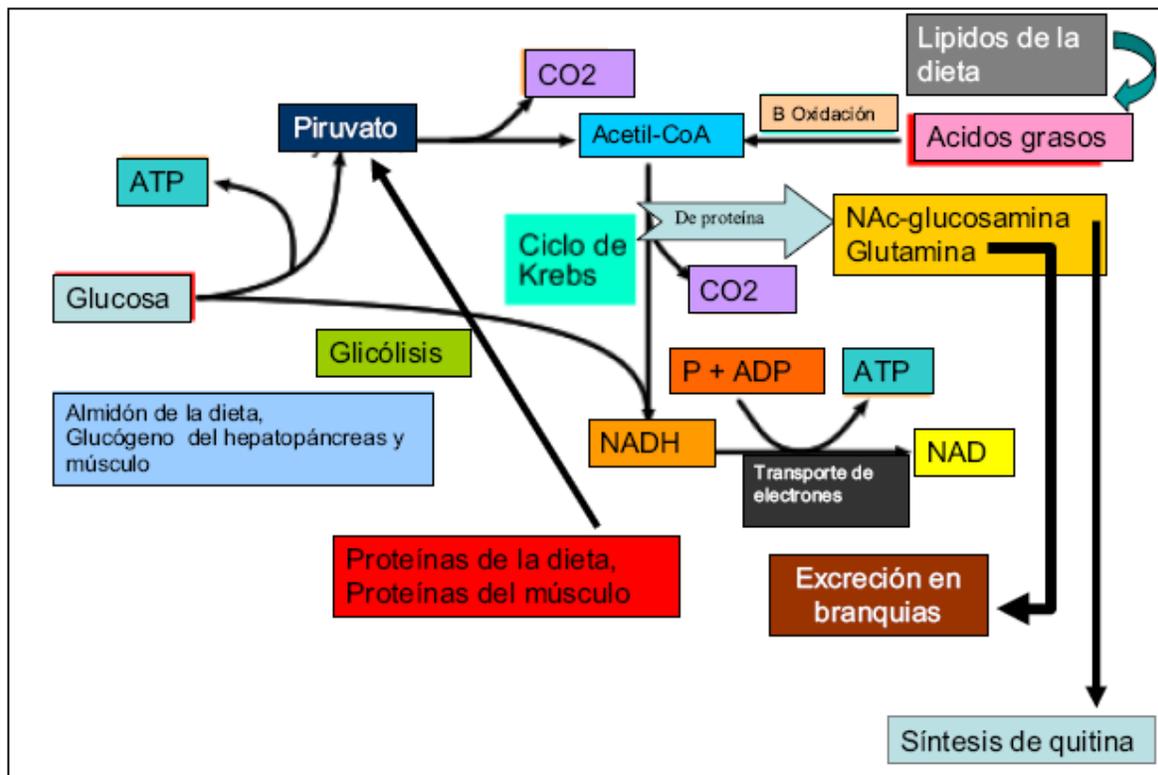


Figura N° 3. Esquema general del metabolismo energético en camarón blanco. Tomado de Rosas et al. (1996).

### 3.3.2. Síntesis de glucosa

#### 3.3.2.1. Gluconeogénesis

La gluconeogénesis es una vía que se da a partir de 2 moléculas de piruvato (de 3 carbono (C) c/u) que, luego sintetiza una molécula de glucosa (Davis, 2007; Espinoza, 2011). En las células esta vía se da en dos sitios celulares diferentes, ya que las reacciones inician en la mitocondria y finalizan en el citosol (Boticario y Angosto, 2012).



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

La fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PECPK) es la enzima clave, en la regulación de la gluconeogénesis pues cataliza la conversión del oxalacetato a fosfoenolpiruvato, dando inicio a la cadena de reacciones que terminarán con la formación de glucosa (Lallier y Walsh, 1991; Racotta y Hernández, 2000; Rosas et al., 2000; Rosas et al., 2001a). Esta enzima ha sido reportada en la glándula digestiva de diferentes especies y fue recientemente secuenciada en peneidos (Lallier y Walsh, 1991).

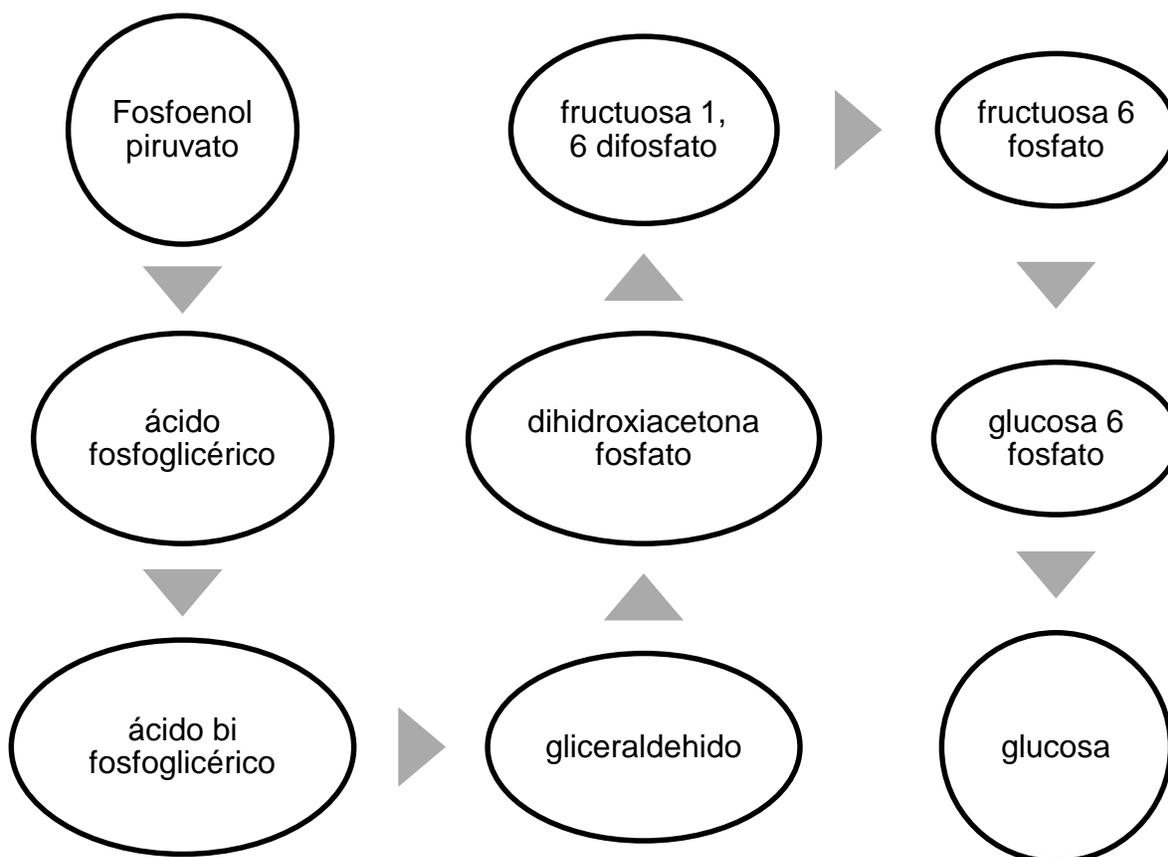


Figura N° 4. Reacción en cadena de la enzima PECPK en camarones a partir del fosfoenolpiruvato hasta la formación de glucosa. Tomado de Lallier y Walsh (1991); Racotta y Hernández (2000); Rosas et al. (2000); Rosas et al. (2001a).



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

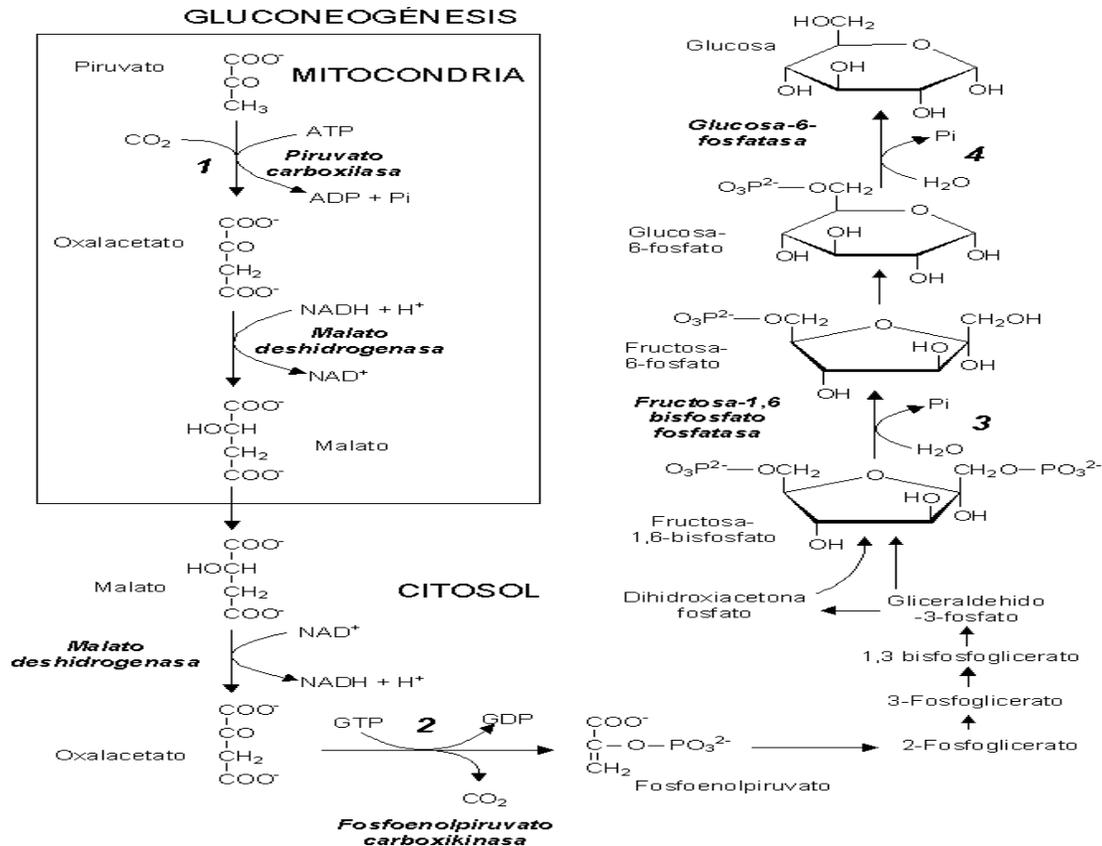


Figura N° 5. Ruta metabólica de la gluconeogénesis. Tomado de German et al. (2002); Murray et al. (2010).

### 3.4. Lípidos

Son fuentes concentradas de energía y de AG esenciales para el adecuado desarrollo y supervivencia del camarón. El nivel óptimo en la dieta de *L. vannamei* oscila entre 6 y 10% (Akiyama et al., 1991).

La función principal de los AG esenciales, es ser el componente principal en los fosfolípidos (Akiyama et al., 1991). Los camarones no pueden sintetizar colesterol, muchos esteroides y componentes esenciales como hormonas, ácidos biliares y vitamina D, es por tal motivo que son sintetizados a partir del colesterol (Kanazawa et al., 1971); estos compuestos mantienen la flexibilidad y permeabilidad de las membranas celulares y participan en la activación de ciertas enzimas (Akiyama et al, 1991).



### 3.4.1. Metabolismo de lípidos

En hepatopáncreas se lleva a cabo la digestión de lípidos, los que, posteriormente son absorbidos a través de las membranas de las células de absorción de este órgano por un proceso pasivo y se convierten en triacilglicéridos los que se empaquetan en forma de lipoproteínas; la cual es liberada hacia la hemolinfa para descargar los lípidos a los tejidos periféricos (Lee y Puppione, 1978; Yepiz-Plasencia et al., 2000). En los crustáceos, los lípidos se transportan en el plasma por las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y por las lipoproteínas de muy alta densidad (VHDL) que representan las principales lipoproteínas encontradas en estas especies (Chen et al., 2014).

Probablemente, uno de los aspectos en que se han detectado más diferencias entre crustáceos y otras especies de animales es en el transporte de lípidos, debido a las diferentes lipoproteínas, y al papel de los fosfolípidos en el transporte de colesterol (Mankura et al., 1980).

La fosfatidilcolina (PC) es un componente esencial de las lipoproteínas y también actúa como donante de grupos acilo para el colesterol acil transferasa (LCAT); esta enzima actúa en la conversión de colesterol en ésteres de colesterol (Mankura et al., 1980; Teshima y Kanazawa, 1987). La actividad de la LCAT de los camarones es relativamente baja comparada con la del plasma humano (Mankura et al., 1980). Los fosfolípidos de la dieta pueden servir como fuentes de colina, inositol, AG esenciales y energía, ya que los fosfolípidos pueden mejorar la eficiencia de aprovechamiento de los AG esenciales que se suministran en el alimento debido a que ayudan de manera eficiente en el transporte y movilización de éstos entre el hepatopáncreas, la hemolinfa, órganos y otros tejidos; por consiguiente trae como resultado una mejor disposición de lípidos y por consiguiente, un aumento en la disponibilidad de energía para el crecimiento (Teshima et al., 1986).



### 3.4.2. Síntesis de lípidos

La biosíntesis y asimilación de lípidos sucede fundamentalmente en el hepatopáncreas (Dall et al., 1993); ya que, este órgano también es su principal sitio de almacenamiento (Teshima y Kanazawa, 1980). Se han realizado muchas investigaciones demostrando que, mediante el uso de compuestos marcados radiactivamente, que el colesterol y otros lípidos del alimento aparecen primero en el intestino, después en el hepatopáncreas, músculo y otros tejidos (Teshima et al., 1986; Teshima y Kanazawa, 1987).

Los AG son biosíntetizados a partir de la condensación de unidades de dos C, este sendero difiere en relación con la oxidación de ácido de los degradativos y biosintéticos, ya que ambos están regulados de forma independiente bajo las mismas condiciones fisiológicas (Teshima y Kanazawa, 1980).

La  $\beta$ -oxidación de los AG se produce en la mitocondria y utiliza acil-CoA-ésteres de AG. La biosíntesis se produce en el citosol y en este caso los AG se esterifican a una proteína transportadora de grupos acilo (Akiyama et al., 1991).

### 3.5. Proteínas

Las proteínas son sustancias orgánicas nitrogenadas complejas que se pueden encontrar en las células animales y vegetales. Son polímeros lineales en los que las unidades monoméricas son los aa que se pliegan en una notable diversidad de formas tridimensionales (Pertierra y Tejión, 2006; Berg et al., 2008); y tienen una función fundamental en casi todos los procesos biológicos (Chang, 2007); el rol que estos desempeñan en el organismo es de dos tipos: una de tipo estructural y la otra de tipo funcional, ya que por hidrólisis todas las proteínas rinden en aa como productos finales (Lehninger, 1979).



### 3.5.1. Clasificación de las proteínas

Las proteínas pueden dividirse en dos clases principales, basándose en su composición: proteínas simples y proteínas conjugadas.

Las **proteínas simples** son aquellas que por hidrolisis producen solamente aa, sin ningún otro producto, orgánico e inorgánico, de hidrolisis (Karp, 1996; Garrett y Grisham, 2004); mientras que las **proteínas conjugadas** son aquellas que por hidrolisis no producen solamente aa, sino también otros componentes orgánicos e inorgánicos ((Glicoproteínas (carbohidratos), Lipoproteínas (grasas), Nucleoproteínas (ácido ribonucleico), Fosfoproteínas (ésteres de fosfato), Metaloproteínas (hierro)) (Stryer, 1995; Pertierra y Tejión, 2006).

Las moléculas de las proteínas presentan sucesivos restos de aa, los cuales están unidos covalentemente mediante enlaces peptídico, formando largas cadenas no ramificadas; por lo tanto, las proteínas también se clasifican de acuerdo al número de subunidades en (Davis, 2007; Espinoza, 2011):

**Monoméricas:** La proteína consta de una sola cadena polipeptídica (lisozima).

**Oligoméricas:** 2 o más cadenas polipeptídicas, generalmente un número par.

Las proteínas también pueden dividirse en dos grandes clases, basándose en sus características físicas: proteínas globulares y proteínas fibrosas (Lehninger, 1979; Stryer, 1995).

**Proteínas globulares:** Son solubles en los sistemas acuosos y se difunden con facilidad. Su cadena o cadenas polipeptídicas, se hallan plegadas estrechamente y adoptan formas compactas globulares o esféricas. Las proteínas globulares desempeñan habitualmente una función móvil o dinámica (insulina, mioglobina, ribonucleasa) (Garrett y Grisham, 2004; Espinoza, 2011).



**Proteínas fibrosas:** Son insolubles en H<sub>2</sub>O y físicamente firmes, ya que actúan como elementos estructurales o protectores en el organismo, como son el colágeno, queratina y elastina (Stryer, 1995; Berg et al., 2008).

De acuerdo con la función biológica que desempeñan, existen diferentes tipos de proteínas:

- ❖ Proteínas con actividad catalítica.
- ❖ Proteínas de transporte.
- ❖ Proteínas de reserva.
- ❖ Proteínas contráctiles.
- ❖ Proteínas estructurales.
- ❖ Proteínas de defensa.
- ❖ Proteínas reguladoras de diversos procesos biológicos (Toporek, 1977; Lehninger, 1979; Coon y Stumpf, 1990).

### 3.5.2. Estructura de las proteínas

**Primaria:** Secuencia de aa en el esqueleto covalente de una proteína.

**Secundaria:** Es la orientación relativa de los átomos del esqueleto (que forman en enlace peptídico). Depende de la región plana en cada enlace peptídico, la formación de puentes de hidrógeno (H), separación adecuada de los grupos R.

**Terciaria:** Describe el enrollamiento de toda la proteína en una forma tridimensional (3D). Está determinada por las interacciones hidrófobas de las cadenas laterales, puentes disulfuro, puentes de H y grupos prostéticos.

**Cuaternaria:** Describe como se unen las moléculas de proteínas diferentes en grandes estructuras agregadas (Toporek, 1977; Lehninger, 1979; Coon y Stumpf, 1990; Garrett y Grisham, 2004).



### 3.5.3. *Determinación de las proteínas*

Existen diferentes métodos para la cuantificación de proteínas. Muchos de estos métodos se basan en:

- a) La propiedad intrínseca de las proteínas para absorber luz en los rayos ultra violeta (UV).
- b) Para la formación de derivados químicos.
- c) La capacidad que tienen las proteínas de unir ciertos colorantes (Lowry et al., 1951; Bradford, 1976; Fujimoto et al., 1985).

### 3.5.4. *Metabolismo de proteína*

#### 3.5.4.1. Catabolismo de proteínas

Diversos estudios han demostrado que, la actividad de las proteasas en la glándula digestiva de los camarones lo utilizan para aprovechar diferentes tipos de alimento (Córdova-Murrueta et al., 2003).

Estudios en juveniles tempranos de *L. setiferus* aseveran que la actividad de las proteasas totales es máxima en animales alimentados con 40% de proteínas, nivel que produjo un mayor crecimiento de las PL (De Villez, 1965; De Villez et al., 1967). Junto con los otros nutrientes del alimento la hidrólisis de las proteínas se lleva a cabo en la glándula digestiva donde los péptidos y los aa son absorbidos; en su paso hacia la hemolinfa muchos de estos componentes proteicos son aprovechados para la síntesis de diversas moléculas de importancia fisiológica y nutricional entre las cuales se encuentran la hemocianina, las enzimas digestivas, y algunas más de importancia (Gellissen et al., 1991; Ezquerro et al., 1998; Lehnert y Johnson, 2002). Además, por su cercanía con el tejido hematopoyético se cree que la glándula digestiva también participa en la síntesis de las células



sanguíneas y todo el aparato inmunológico contenido en éstas (Senkbeil y Wriston, 1981; Gellissen et al., 1991; Pascual et al., 2004).

Luego los aa son catalizados y degradados por la vía del piruvato, con el amonio como principal producto de desecho (Figura N°6); se da la conversión de aa libres en  $\alpha$ -cetoglutarato, a través de la transaminación donde, se transfieren el grupo amino de un aminoácido a un cetoácidos para producir el aa glutamato; luego el glutamato por el proceso de desaminación oxidativa, libera el grupo amino del glutamato en forma de amonio ionizado ( $\text{NH}_4^+$ ), para formar el cetoácido llamado  $\alpha$ -cetoglutarato, catalizado por la enzima glutamato deshidrogenasa (GDH), utilizando así el glutarato como sustrato; en cambio el amonio producido en la desaminación es el principal producto de desecho. Posteriormente, el glutarato se incorpora al ciclo de Krebs a través de la enzima  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa y por último los NAD y FAD producidos son utilizados en la cadena respiratoria para producir ATP (Hagerman y Szaniawska, 1994). Los camarones, al igual que muchos crustáceos son amoniotélicos aunque también excretan pequeñas cantidades de urea, ácido úrico y aa (Regnault, 1981b; Regnault et al., 1992; Regnault, 1993).

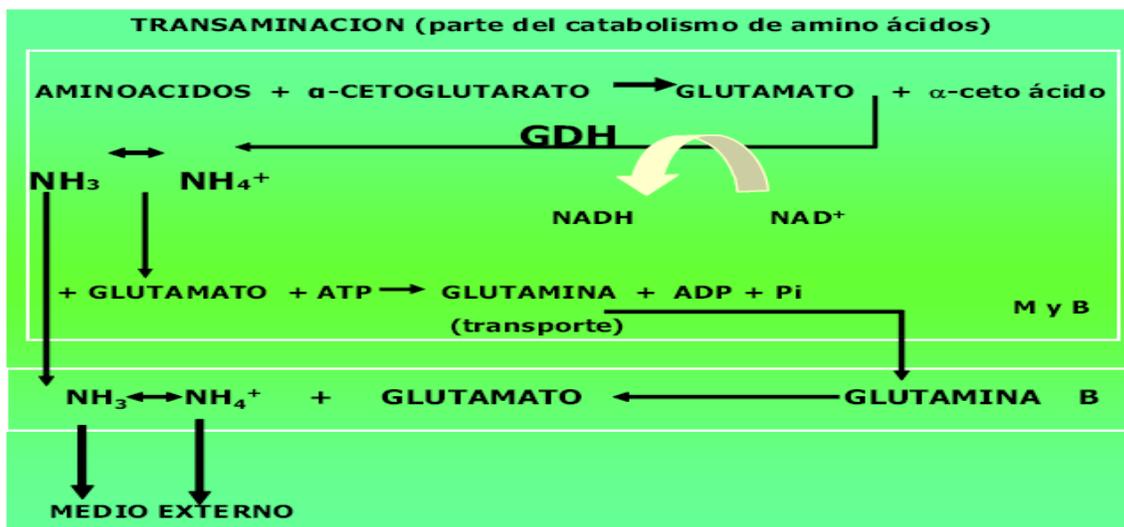


Figura N° 6. Vía metabólica que siguen los aminoácidos para la producción de amonio durante la transaminación en músculo y branquias en crustáceos. Tomado de Hagerman y Szaniawska (1994).



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

El amonio es un elemento tóxico que interfiere en la permeabilidad de las membranas de las branquias y en la capacidad acarreadora de O de la hemocianina (Chen y Lin, 1992; Alcaraz et al., 1999). Existen a la fecha tres mecanismos propuestos para la excreción de amonio: 1) puede ser transportado a las branquias como glutamina, 2) circular disuelto en la sangre o 3) ser transportado en aa no utilizados los cuales son catabolizados directamente en las branquias (Figura N°6) (Claybrook, 1983). En este proceso participan varias enzimas entre, las cuales se encuentra la GDH (Figura N°5) (Roustiau et al., 1985; Willett y Burton, 2003).

Estudios realizados en diversas especies de cangrejos y camarones han demostrado que está enzima es muy abundante en las branquias, aunque también se encuentra en la glándula digestiva, el corazón y el músculo (Regnault, 1979; Regnault, 1981a; Claybrook, 1983; Regnault, et al., 1992; Regnault, 1993; Rosas et al., 2002). La actividad de la GDH se incrementa con el aumento de las proteínas en el alimento, indicando que éste tiene una influencia importante en los procesos de formación de amonio (Figura N° 6) (Rosas et al., 2002).

El amonio es excretado principalmente a través del epitelio branquial como se puede apreciar en la figura N° 7 (Dall y Smith, 1986). El amonio puede llegar a la branquia como amonio libre (amonio no ionizados ( $\text{NH}_3$ ), ( $\text{NH}_4^+$ )), formando glutamina y contenido en los aa; como ya se mencionó, la vía del catabolismo de aa está bien representada en las branquias (Regnault, 1979); ahí el amonio es producido directamente en las células y liberado, por difusión al medio externo a través de un transporte activo (Regnault, 1981b); por tanto, este mecanismo requiere de la participación de dos enzimas transportadoras: la  $\text{Na}^+-\text{NH}_4^+-\text{ATPasa}$  y la  $\text{Cl}-\text{HCO}_3-\text{ATPasa}$  (Frías-Espericueta et al., 1999; Hurtado et al., 2007). Tal y como se muestra en la figura N° 7, el  $\text{NH}_4^+$  es obtenido de la combinación entre  $\text{NH}_3 + \text{H}^+$ , ya que el protón es obtenido de la descomposición del ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), a través de la anhidrasa carbónica. Es importante recalcar que, el  $\text{CO}_2$



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

disuelto en la sangre se encuentra en equilibrio dependiendo del pH (Regnault, 1979; Claybrook, 1983; Li et al., 2007).

Debido a que la sangre es ligeramente más ácida que el medio interno celular, por consiguiente favorece la formación de  $H_2CO_3$  el cual es entonces, sustrato de la anhidrasa carbónica. Aunque este mecanismo contribuye en la secreción de dos elementos tóxicos para el organismo, se ha observado que, este tipo de transporte activo es más favorecido cuando los animales se encuentran en ambientes diluidos donde, además de requerir eliminar desechos, se requiere la captación activa de iones (Regnault, 1979; Claybrook, 1983; Li et al., 2007).

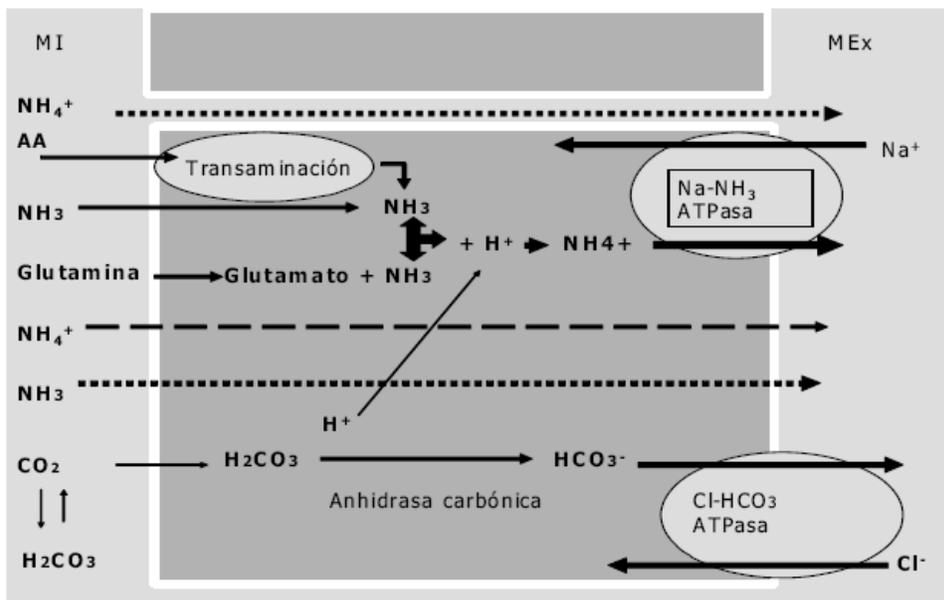


Figura N° 7. Excreción de amonio a nivel de branquias. Tomado de Regnault (1979).

### 3.5.4.2. Anabolismo de proteínas

El  $NH_3$  es utilizado para la síntesis de proteínas, el cual se obtiene cuando es liberado por la oxidación de los aa (en la **desaminación** oxidativa), para luego ser incorporado como grupo amino a los aa glutamato y glutamina (Lowry et al., 1951; Garrett y Grisham, 2004).



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

**a) Incorporación al glutamato:** el  $\text{NH}_3$  se une a un cetoácido llamado  $\alpha$ -cetoglutarato para formar al aa glutamato con energía de  $\text{NADPH} + \text{H}^+$ . En esta reacción participa la enzima GDH (Davis, 2007; Espinoza, 2011).

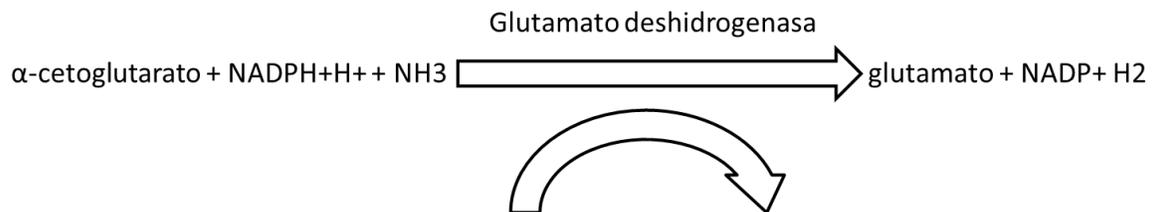


Figura N° 8. Reacción química para la formación de glutamato. Tomado de Espinoza (2011).

Luego el glutamato por transaminación dona su grupo amino para la síntesis de otros aa Ej.: arginina, prolina etc. (Fujimoto et al., 1985).

**b) Incorporación a la glutamina:** El glutamato al aceptar un segundo  $\text{NH}_3$  se transforma en glutamina, catalizado por la enzima glutamina sintetasa (Davis, 2007).

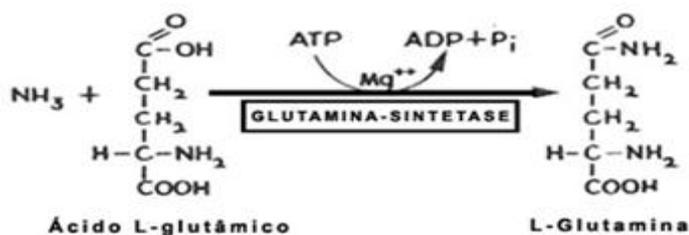


Figura N° 9. Imagen de la transformación del glutamato a glutamina. Tomado de Murray et al. (2010).

Luego dona la glutamina sus nitrógenos de la estructura del grupo R del aa o cadena lateral, para la síntesis de otros compuestos nitrogenados como las bases nitrogenadas (Garrett y Grisham, 2004; Murray et al., 2010).



### 3.5.4.2.1. Síntesis de aminoácidos

Los 20 aa proteicos se sintetizan a partir de uno de estos 6 compuestos intermediarios (3 fosfoglicerato, fosfoenolpiruvato, piruvato estos proviene de la glucolisis; Oxalacetato,  $\alpha$ -cetoglutarato estos provienen del ciclo de Krebs y ribosa 5 fosfato proveniente de las pentosas fosfato) que, provienen de 3 vías metabólicas distintas (Davis, 2007):

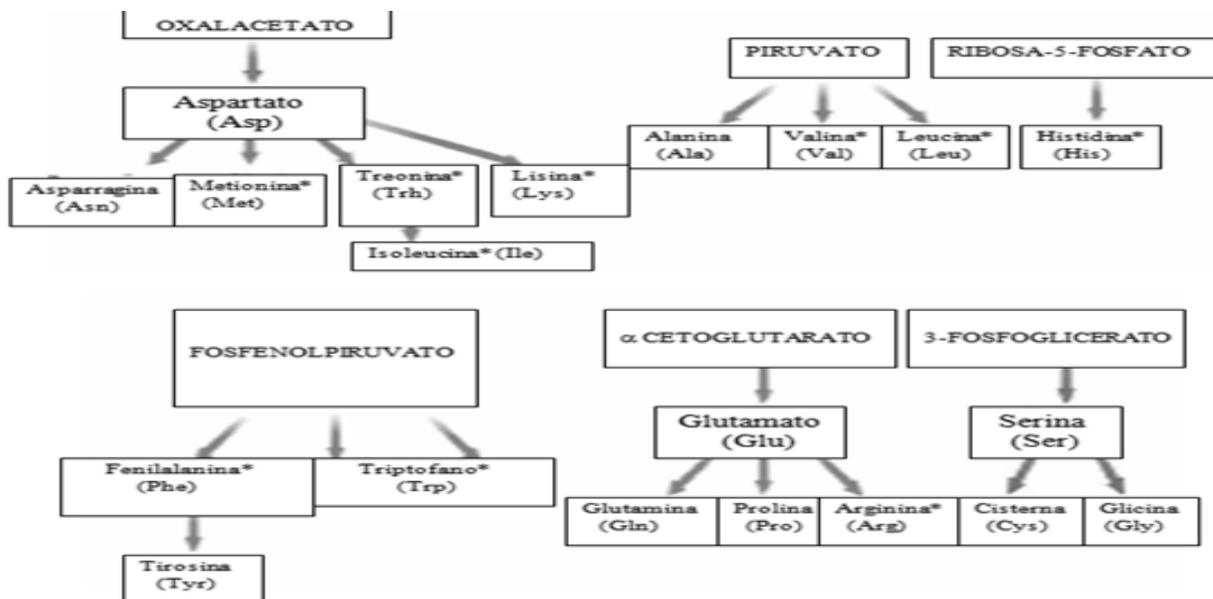


Figura N° 10. Procesos de la síntesis de los diferentes aminoácidos. Tomado de Murray et al. (2010).

## 3.6. Aminoácidos

Los aa son moléculas orgánicas que funcionan como unidades estructurales de las proteínas (Karp, 1996; Pertierra y Tejión, 2006; Chang, 2007); poseen un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R situados sobre el átomo de C. Los grupos R varían en su estructura, en tamaño y en su tendencia a las interacciones con el H<sub>2</sub>O, lo cual constituye un reflejo de su polaridad (Lehninger, 1979/2009).



### 3.6.1. Aminoácidos esenciales para camarones

En camarones *Penaeus* los aa más esenciales son: Metionina, Treonina, Valina, Isoleucina, Leucina, Fenilalanina, Histidina, Lisina, Triptófano y Arginina (Teshima et al., 1986; Divakaran, 1994). La más importante de todas estas es la **arginina** ya que, éste representa el 20% de los aa totales dentro de los camarones *Penaeus* y una de las funciones importantes de la arginina en el músculo es como fosfo-arginina, la cual es utilizada como fuente de energía muscular (Claybrook, 1983; Akiyama et al., 1991; Ezquerro et al., 1998).

La **isoleucina** es necesaria para lograr un crecimiento óptimo, equilibrio de nitrógeno en el cuerpo y en la síntesis de otros aa no esenciales; mientras que, la **leucina** permite aumentar los niveles musculares de energía; en cambio, la **lisina** ayuda a la construcción de anticuerpos de la hemolinfa que fortalece el sistema circulatorio y mantiene un crecimiento normal de las células. La **Metionina** lipotrópicos vitales (metabolizadora de grasas y lípidos) aminoácido que mantiene la salud del hepatopáncreas; mientras que la **fenilalanina** estimula el metabolismo, así como también la **treonina** mejora la capacidad intestinal y la asimilación digestiva, en cambio el **triptófano** aumenta la utilización de vitaminas B y la **valina** estimula la coordinación muscular (Pamulapati y Behera, 2013).

### 3.7. Alimentación en camarones

La alimentación es un aspecto importante porque, llega a constituir hasta un 60% de los costos de producción de camarón; en la acuicultura, la optimización debe estar enfocada a la selección y el manejo adecuado de los alimentos balanceados que se suministran (Saborío, 2003; López et al., 2015).

Generalmente, el costo relacionado con el alimento se puede reducir potencialmente por: el uso de alimentos apropiados, la determinación de la ración



más efectiva en costo, y la reducción del desperdicio del alimento (López et al., 2015).

### 3.7.1. *Requerimientos nutricionales*

Los requerimientos nutricionales de los camarones Peneidos están prácticamente conocidos, pero el conocimiento generado es muy variado debido a diferencias en la metodología de investigación y a la ausencia de una dieta experimental estándar; variables como: especie, edad, fuente y estado fisiológico del camarón, condiciones ambientales, diseño experimental, instalaciones experimentales y forma, composición y procesamiento de las dietas a menudo hacen inválidas las comparaciones (Andrews y Sick, 1972; Cruz-Suarez et al., 1994).

Los aspectos nutricionales deben estar determinados para cualquier tipo de alimento balanceado y debe contener los siguientes nutrientes principales tales como:

Las proteínas son usualmente el elemento más costoso y el rango de contenido proteico (referido como proteína cruda) en los alimentos va desde 18% hasta 45%. Mientras que en la especie de *L. vannamei* se le debe suministrar alimentos con bajos niveles de proteína (30-35%) (Teshima y Kanazawa, 1984).

En tanto, los carbohidratos pueden usarse como fuente de energía, como reserva de glucógeno, en la síntesis de quitina, ácidos nucleicos y en la formación de esteroides y de AG. Se ha demostrado en Peneidos que, la glucosa obtenida de digestión de polisacáridos es mejor asimilada que la glucosa pura (Cruz-Suarez et al., 1994). Los niveles de carbohidratos en la dieta para camarones pueden oscilar entre el 5-25 % (Guevara, 2003).

Y en lípidos se sabe que, los crustáceos usan generalmente bien las grasas como fuente de energía y como una fuente de AG esenciales, necesarios para el crecimiento normal y la sobrevivencia de los animales. Los requerimientos



cuantitativos de lípidos no están bien determinados y varían según la especie, pero en general la mayoría de los autores dan valores entre 6.5 y 16.5% de la dieta (Teshima y Kanazawa, 1984). Se ha observado, para diferentes especies de camarón que, un contenido mayor del 15% de lípidos en la dieta produce un retardo en el crecimiento (Bocca, 1994; Briggs et al., 1994; Shiau, 1998).

### 3.7.2. Alimentación artificial

El alimento balanceado es esencial para lograr una buena cosecha, tanto en términos de calidad como cantidad; es por esto que, muchas de las granjas han desarrollado diferentes sistemas de manejo para optimizar su aplicación y reducir su conversión. Estos métodos van desde el cálculo semanal de la ración diaria a partir de tablas más o menos teóricas de crecimiento, sobrevivencia y alimentación, asociado a una distribución al voleo que, ciertos autores llaman “blind feeding” o alimentación a ciegas, hasta la distribución exclusiva en bandejas, o charolas, repartidas regularmente en toda la piscina, con un ajuste permanente de la ración en función del consumo (Donovan, 1997; Boyd, 1998; Cleoceri et al., 1998).

## 3.8. Factores físico-químicos

### 3.8.1. Oxígeno disuelto

El **oxígeno disuelto (OD)** es la variable más crítica para la calidad del H<sub>2</sub>O en un estanque, siendo los principales factores que afectan las concentraciones del OD en el H<sub>2</sub>O la temperatura y salinidad. Las variaciones de estas concentraciones de OD, repercuten directamente sobre el funcionamiento fisiológico de los animales cultivados. Al encontrarse bajas concentraciones de O, disminuye el crecimiento y eficiencia de conversión de alimento; debido a que no se encuentra disponible la cantidad suficiente de O para el metabolismo oxidativo de los nutrientes, ni para obtener la cantidad de energía necesaria para cubrir todas las necesidades



fisiológicas, y por lo tanto el metabolismo de rutina y mantenimiento se vuelve prioridad antes que el crecimiento de los camarones. Por lo tanto, las concentraciones de OD deben ser **mayor de 5 miligramos por litros (mg/L)** (Snow y Jones, 1959; Queiroz y Boyd, 1998; Martínez, 1999b).

### 3.8.2. *Temperatura*

La **temperatura** tiene alto impacto en los procesos químicos y biológicos. Los procesos biológicos como crecimiento y respiración se duplican, en general, por cada 10 °C que aumenta la temperatura. Esto significa que el camarón crece dos veces más rápido y consume el doble de O a 30 °C que a 20 °C, por lo que el requerimiento de OD debe ir de la mano en el aumento de la temperatura. Rangos: mantener entre **25°C a 32°C** (Martínez, 1999a; Chamberlain, 2001; Chávez-Sánchez y Higuera-Ciapara, 2003).

### 3.8.3. *Salinidad*

La **salinidad** es la concentración total de los iones disueltos, dependiendo básicamente de siete iones, cuyo valor promedio de concentración en el H<sub>2</sub>O de mar es: Sodio, 10,500 mg/L; Magnesio, 1,450 mg/L; Calcio, 400 mg/L; Potasio, 370 mg/L; Cloruro, 19,000 mg/L; Sulfato, 2,700 mg/L; Bicarbonato, 142 mg/L. La salinidad promedio del H<sub>2</sub>O de mar es 34.5 partes por mil (ppm). Aunque el *L. vannamei* y *Penaeus monodon* y otras especies pueden ser cultivados exitosamente en estanques costeros con salinidad entre 1 y 40 ppm, se produce mejor con una salinidad superior a 5 ppm y la mayoría de granjeros la prefieren entre **20 y 25 ppm** (Cleoceri et al., 1998; Martínez, 1999b).



### 3.8.4. pH

El **pH** se define como el logaritmo negativo de la concentración de iones de H<sup>+</sup>:  $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$ .

El pH indica cuán ácida o básica es el H<sub>2</sub>O. La escala de pH es de 0 a 14, mientras más lejano sea el pH de 7 el H<sub>2</sub>O es más ácida o más básica. Los estanques de H<sub>2</sub>O salobre generalmente tienen un pH de 7 u 8 por la mañana, pero en la tarde generalmente suben a 8 ó 9. Rango óptimo es de **6-9** (Martínez, 1999a; Chávez-Sánchez y Higuera-Ciapara, 2003).

## 3.9. Técnicas de Análisis

### 3.9.1. Técnica de espectrofotometría

La espectrofotometría se basa en la medición de la cantidad de energía radiante absorbida por las moléculas de una muestra en función de las longitudes de onda, de acuerdo con la (ley de Bouguer-Lambert-Beer). Cada componente de una solución tiene un patrón de absorción de luz característico cuyo rango es 400-700 nanómetros (nm). Comparando la longitud de onda y la intensidad del máximo de absorción de luz de una muestra contra soluciones estándar, es posible determinar la identidad y la concentración de componentes disueltos en la muestra (Paz y Pint, 2002; Galicia et al., 2011).

Para la medición de absorción y transmitancia de una disolución se utilizan espectrofotómetro UV - Visible, el cual está compuesto por cinco elementos principales (Figura N° 11):

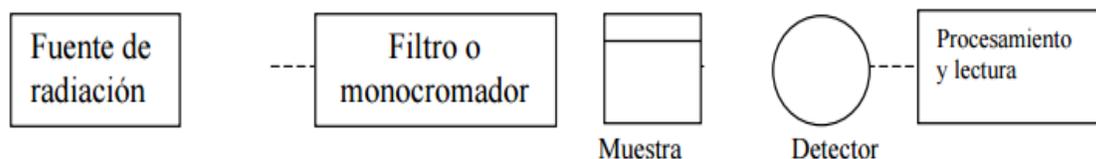


Figura N° 11. Los 5 elementos principales para realizar la medición de absorción y transmitancia de una disolución en un espectrofotómetro. Tomado de Paz y Pint (2002).



La curva de calibración es la representación gráfica de una señal que se mide en función de la concentración de un analito, este proceso de calibración incluye la selección de un modelo para poder estimar los parámetros que permitan obtener la linealidad de esa curva y por consecuencia, la capacidad de un método analítico para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración de un compuesto en una muestra (Danzer y Currie, 1998).

### 3.9.2. *Ninhidrina*

La ninhidrina (hidrato de tricetohidrindeno) es un oxidante energético que por una desaminación oxidativa de los aa conduce a la formación del aldehído correspondiente, con liberación de amoniac y gas carbónico y formación de la ninhidrina reducida o hidrindrantina (Berezov y Korovkin, 1992).

### 3.9.3. *Reacción de la ninhidrina*

Para la valoración cuantitativa de cantidades muy pequeñas de aa se hace uso de la reacción de la ninhidrina; el primero en realizar estudios de análisis de aa fue Moore y Stein, (1948), quien se enfocó en el desarrollo del reactivo de ninhidrina para realizar la determinación de aa, y este encontró que la presencia de ninhidrina reducida en la solución es importante si se puede obtener el color púrpura (Moore y Stein, 1948/1954; Spackman et al., 1958; Bidlingmeyer et al., 1984). Y que puede ser leído espectrofotométricamente a longitud de ondas de 570–440 nm (Moore y Stein, 1948/1954; Moore, 1968).

En dicha reacción cada aminoácido reacciona con 2 moléculas de Ninhidrina (que actúan como agente y oxidantes). La primera Ninhidrina oxida al aminoácido y forma  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$ , grupo aldehído (R-COH) y Ninhidrina reducida (Hidrindantina). La segunda Ninhidrina reacciona con el  $\text{NH}_3$  y la Ninhidrina reducida para formar el complejo coloreado púrpura (Ruhemann, 1910a y 1910b /1911a y 1911b;



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

Abderhalden y Schmidt, 1913; Harding y Warenford, 1916; Grassmann y Von Arnim, 1934; Van Slyke y Hamilton, 1943; Morrell, 1944; MacFadyen, 1950; MacFadyen y Fowler, 1950; Troll y Cannan, 1953; Yemm y Cocking, 1955; West, 1965; Friedman, 2004).

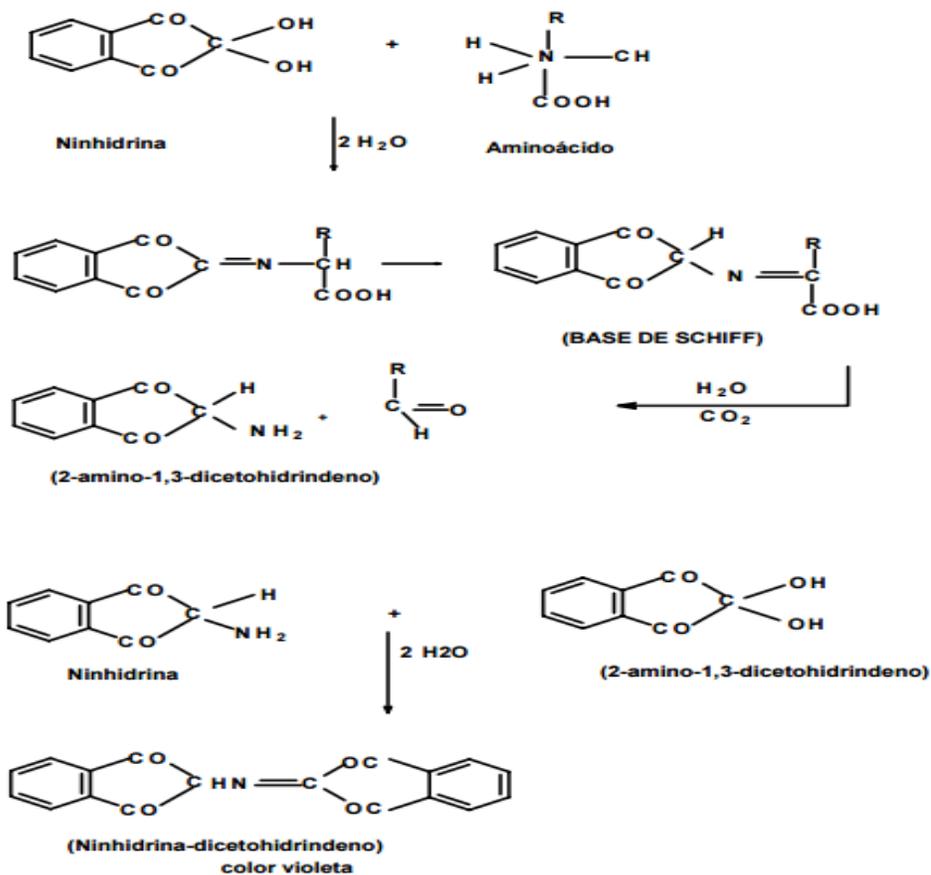


Figura N° 12. Reacción de la Ninhidrina. Tomado de Van Holde (2004).



## 4. Materiales y métodos

### 4.1. Animales de experimentación

Para el experimento se usaron camarones *L. vannamei*, donados al Laboratorio de Investigaciones Marinas y Acuícolas (LIMA) del Departamento de Acuícola por la empresa FARALLON AQUACULTURE S.A. de la ciudad de León, Nicaragua el 4 de julio del año 2016, en edad de PL12.

Se cultivaron en pilas de concreto de 20.43 metros cuadrados ( $m^2$ ), a una densidad de siembra de 39 organismos/ $m^2$ , se les proporcionó aireación constante y alimento artificial (Bio-camaronina 25% de proteína) hasta llevarlos a un peso entre 8-10 gr para la experimentación.

### 4.2. Diseño experimental

Para la realización de esta investigación se extrajo agua en la zona de Las Peñitas, León, con una bomba axial (Marca JHHG-53HL de 5 caballos de fuerzas (HP)). Se usó un filtro de arena sílica para retener partículas mayores a 100 micras, y luego el agua fue depositada en el reservorio principal. Posteriormente, el agua se trasladó a un reservorio secundario con capacidad de 500 litros (L) para distribuirla a los dispositivos experimentales. A todos los dispositivos experimentales se les realizó recambios de agua del 100% diario y se mantuvieron con aireación constante.



Figura N° 13. Distribución de los dispositivos experimentales durante la realización del trabajo investigativo.

Los camarones se distribuyeron en 6 tanques plásticos de 0.40 m<sup>2</sup> (n=10) y se mantuvieron por un período de 1 semana para lograr su aclimatación. Cada tanque se correspondía de la siguiente manera:

Tabla N° 2. Distribución de tiempo de los tanques durante el experimento.

Hora	Tanques experimentales	Observaciones
00:00	Tanque control	Camarones en ayuno, con niveles basales de aminoácidos.
02:00	T1	Camarones alimentados 2 horas previas a la toma de muestra.
04:00	T2	Camarones alimentados 4 horas previas a la toma de muestra.
06:00	T3	Camarones alimentados 6 horas previas a la toma de muestra.
08:00	T4	Camarones alimentados 8 horas previas a la toma de muestra.
10:00	T5	Camarones alimentados 10 horas previas a la toma de muestra.



### 4.3. Toma de muestras

Para la extracción de las muestras a todos los camarones se les dejó por un período de 12 horas en ayuno. Se tomaron las muestras al grupo control y al mismo tiempo se alimentaron los tanques (T1, T2, T3, T4 y T5) por un lapso de 30 minutos (min). Posteriormente cada 2 horas se realizó la toma de muestra a los tanques hasta llegar a las 10 horas de muestreo.

#### 4.3.1. Extracción de hemolinfa

Los camarones *L. vannamei* fueron suavemente extraídos de los tanques experimentales y colocados en una toalla con el fin de eliminar el agua en exceso, se pesaron y se extrajo la hemolinfa usando una jeringa heparinizada de un 1 mililitros (mL) en la base del quinto par de pereiópodos, evitando que la muestra se mezcle con el aire durante la succión. A todas las muestras de hemolinfa se conservaron sobre hielo a 4°C, hasta su posterior análisis en laboratorio.

#### 4.3.2. Extracción de hepatopáncreas y músculo

A cada camarón se le hizo un corte superficial lateral a nivel del cefalotórax, se extrajo el hepatopáncreas y se depositó en un vial Eppendorf y se refrigeró a 4°C. Seguido, se hizo un corte del segundo segmento abdominal, se colocó en un vial Eppendorf y se colocó en hielo a 4°C.

Posteriormente las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Fisiología Animal, las muestras de hemolinfa fueron procesadas inmediatamente y el hepatopáncreas y músculo se guardaron a -30°C, hasta su posterior análisis.

De las muestras de hepatopáncreas, hemolinfa y músculo se tomaron submuestras para la determinación de los niveles de aa libres.



#### **4.4. Análisis de muestras**

##### **4.4.1. Obtención de plasma**

La hemolinfa se desproteinizó con ácido perclórico (PCA) 0.6 normalidad (N), con el objetivo de inhibir el proceso enzimático que puede generar el consumo de glucosa y aa para la generación de energía y se neutralizaron con bicarbonato de potasio ( $\text{KHCO}_3$ ) 1 N. Luego se homogenizó cada vial en el vortex FISHER SCIENTIFIC modelo 945404 por unos 5 segundos, se centrifugó a 8,000 revoluciones por minutos (rpm) durante 10 min para precipitar los cuerpos celulares. Se tomó el sobrenadante y se volvió a centrifugar a 13000 rpm durante 4 min para la precipitación de las proteínas. Posteriormente, se tomó el sobrenadante para su análisis.

##### **4.4.2. Preparación de muestras de hepatopáncreas y músculo**

Se tomó la muestra, se realizó un corte y se homogenizó con el sonicador UP200H con PCA 0.6 N, tras la sonicación se añadió  $\text{KHCO}_3$  1 N. Se tomaron las muestras y se centrifugaron a máxima velocidad 13,000 rpm durante 4 min, se obtuvo el sobrenadante para luego realizar su respectivo análisis.

##### **4.4.3. Análisis de las muestras de hepatopáncreas, hemolinfa y músculo**

Una vez que las muestras fueron preparadas, se procedió a realizar el análisis de los niveles de aa libres en plasma, usando el método colorimétrico de la Ninhidrina (Moore, 1968).

Para desarrollar la curva estándar se usó L-alanina. Previo a las lecturas de absorbancia, la microplaca se agitó por 5 min y se procedió a colocarla en la estufa J.P Selecta, modelo DIGITHEAT 150 L por 30 min a temperatura de 75 °C.



Seguido se introdujo en el lector de microplacas (Bio Tek ELx 800) para obtener la lectura de absorbancia a 570 nm.

En cada ensayo experimental las muestras siempre se analizaron en paralelo con la curva de calibración dentro de la microplaca; a partir de la cual se extrapolaron los valores de concentraciones de las muestras.

#### **4.5. Análisis de datos**

Los datos obtenidos durante la realización del experimento se muestran como media de  $\pm$  Error Estándar de la Media (E.E.M.) de cada grupo y las diferencias entre ellos se evaluaron mediante un Análisis de varianza con un factor (ANOVA) de una vía. Tras los análisis de varianza se realizó, el test de comparaciones múltiples de Student Newman Keuls. En todos los casos el nivel de significación se estableció con un valor de  $P < 0.05$ . Previamente a estas pruebas estadísticas, se analizaron los datos mediante una prueba de normalidad (Shapiro-Wilks) y de homogeneidad de varianzas (prueba C de Cochran). Para determinar la relación de las fluctuaciones de los niveles de aa en hemolinfa y los dos tejidos muestreados se utilizó el estadístico de correlación de Pearson.



## 5. Resultados

### 5.1. Niveles de aminoácidos en hepatopáncreas tras la ingesta de alimento

En la Figura N° 14 se observan los niveles de aminoácidos en hepatopáncreas. Los niveles más altos se presentaron a las 2 y 10 horas (52.18 milimolar (mM) y 58.37 mM, respectivamente)) mientras que los niveles más bajos se observaron en el grupo control (en ayuna) y 8 horas (39.92 mM y 34.84 mM, respectivamente), tras la ingesta de alimento.

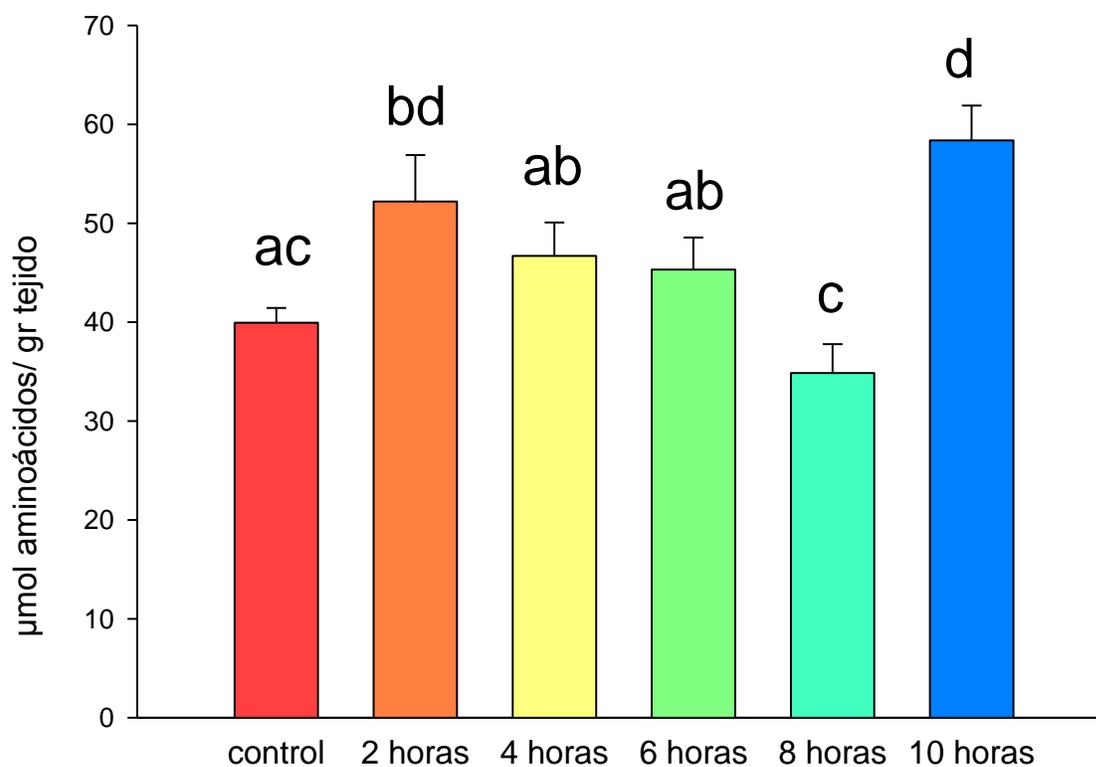


Figura N° 14. Niveles de aminoácidos en hepatopáncreas tras ingesta de alimento en camarones *L. vannamei*. Cada valor se corresponde a la media  $\pm$  E.E.M., n=10. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre grupos.



## 5.2. Niveles de aminoácidos en la hemolinfa tras ingesta de alimento

De manera general, los niveles de aminoácidos muestran tendencia creciente de la concentración en el tiempo. A las 4 horas se observan diferencias significativas con respecto al grupo control, posteriormente, a las 6 horas se observa un incremento significativo que se mantiene hasta la finalización del experimento (Figura N° 15).

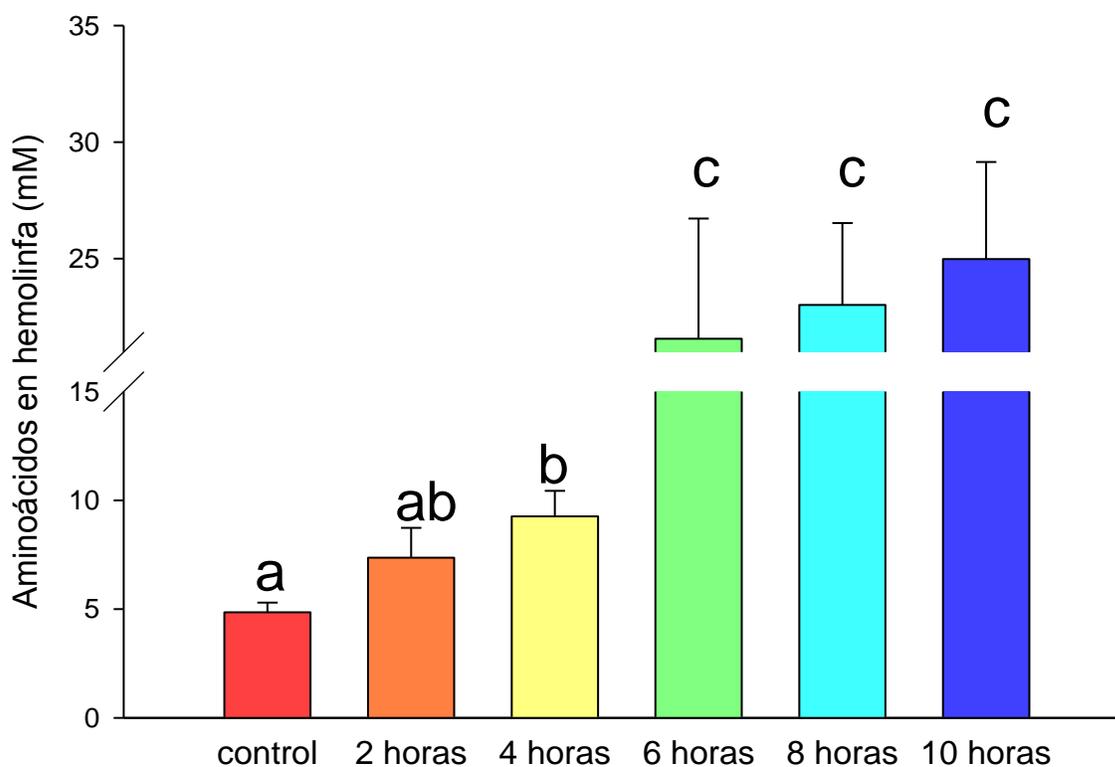


Figura N°15. Niveles de aminoácidos en la hemolinfa tras ingesta de alimento en camarones *L. vannamei*. Cada valor se corresponde a la media  $\pm$  E.E.M., n=10. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre grupos.



### 5.3. Niveles de aminoácidos en músculo tras ingesta de alimento

De manera similar a lo observado en hepatopáncreas, en músculo los niveles de aminoácidos incrementan significativamente en las primeras 2 horas tras la ingesta de alimento. Sin embargo, a diferencia del comportamiento observado en hepatopáncreas, en este tejido la concentración de aminoácidos permanece constante hasta las 6 horas tras ingesta, decreciendo al nivel del grupo control a las 8 horas (Figura N° 16).

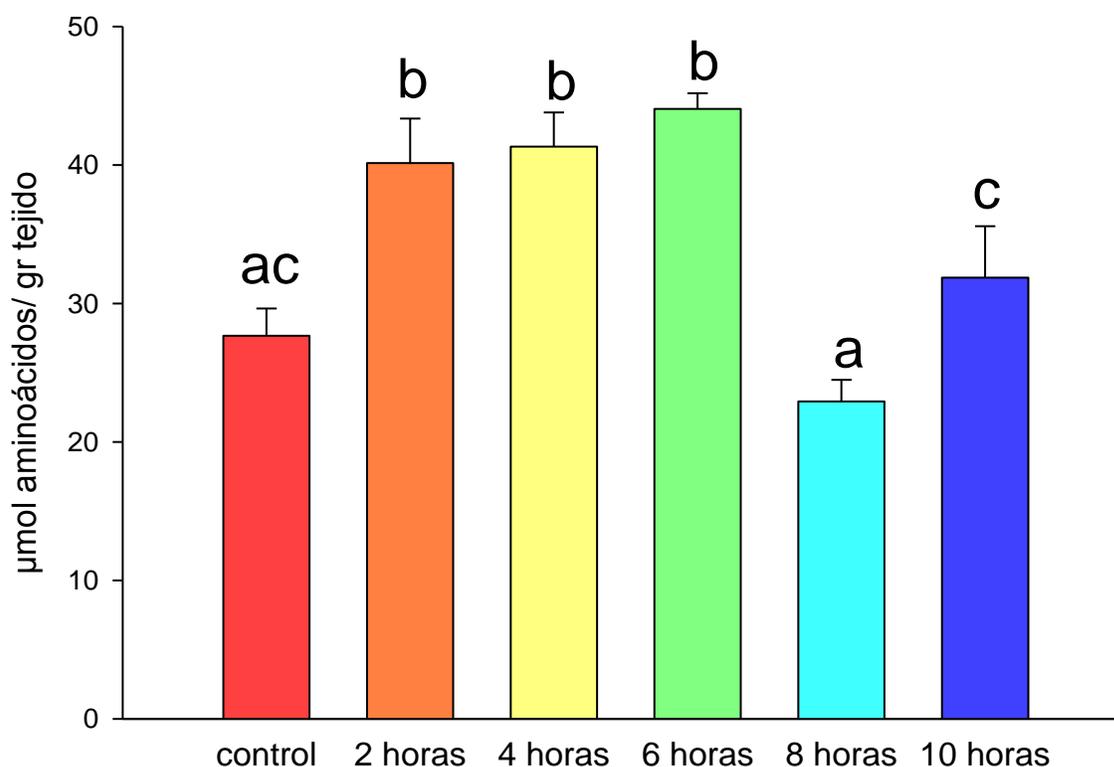


Figura N° 16. Niveles de aminoácidos en músculo tras ingesta de alimento en camarones *L. vannamei*. Cada valor se corresponde a la media  $\pm$  E.E.M., n=10. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre grupos.



#### **5.4. Niveles de aminoácidos en hepatopáncreas y músculo durante el tiempo (0, 2, 4, 6, 8 y 10 horas)**

Antes de la ingesta de alimento, el tejido hepatopáncreático presenta mayor concentración de aa por gr de tejido que el tejido muscular, a las 2 horas de haber ingerido alimento se observa un incremento de la concentración de aa en ambos tejidos. Sin embargo, la pendiente de crecimiento en el tejido muscular es mayor que la observada en la glándula digestiva, lo que permite que a las 4 horas los niveles de aa sean similares en ambos tejidos.

Entre las 4-6 horas se observa una ligera tendencia de decrecimiento-crecimiento de los niveles de aa hepatopáncreas-músculo que conlleva no observar diferencias significativas de las concentraciones en ambos tejidos.

A las 8 horas de la ingestión, ambos tejidos presentan disminución de la concentración de aa libres, destacando el tejido muscular con un ritmo mayor de decrecimiento que el tejido hepático, lo que propicia que, en ese período de tiempo, la concentración de aa libres en músculo sea significativamente menor que la observada en hepatopáncreas.

Posteriormente, a las 10 horas se observa tendencia creciente de las concentraciones en ambos tejidos; destacando el tejido hepático con una pendiente de crecimiento mayor que el tejido muscular, lo que permite mantener diferencias significativas de la concentración de aa libres entre ambos tejidos (Figura N° 17).



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

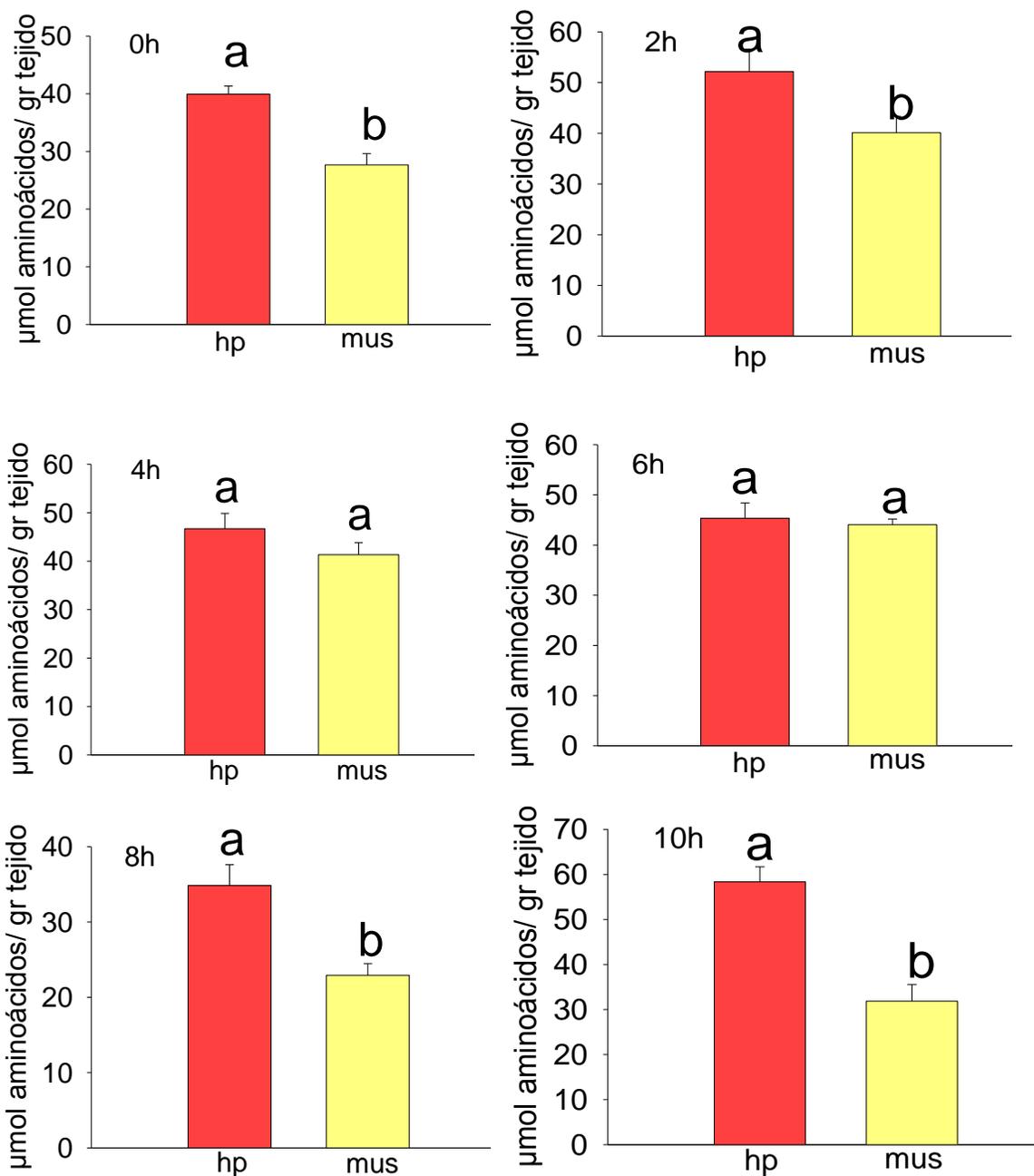


Figura N° 17. Niveles de aminoácidos en hepatopáncreas (hp) y músculo (mus) durante el tiempo (0, 2, 4, 6, 8 y 10 horas). Cada valor se corresponde a la media  $\pm$  E.E.M.,  $n=10$ . Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P<0.05$ ) entre grupos. Cada número seguido de la letra "h" indica tiempo en horas.



## 5.5. Correlación de los niveles de aminoácidos presentes entre hepatopáncreas, hemolinfa, y músculo

De manera general se observa correlación positiva con un nivel de significancia de  $P < 0.05$  entre el tejido hepatopáncreático y muscular, no observándose. Correlación de la fluctuación de los niveles de aa libres entre la hemolinfa y ambos tejidos. Al analizar los valores de correlación entre los tejidos hepatopáncreas-músculo en las primeras 8 horas se observa mayor valor de correlación (Tabla 3) que al analizar la tendencia a las 10 horas de duración del experimento (Tabla 4).

Tabla N° 3. Correlación de los niveles de aminoácidos en hepatopáncreas, hemolinfa y músculo tras ingesta de alimento hasta las 8 horas.

	<b>Músculo</b>	<b>Hemolinfa</b>
Hepatopáncreas	R <sup>2</sup> : 0.594 (Coeficiente de Correlación) P= 0.0000109 (Valor de P) N= 47 (Número de Pruebas)	R <sup>2</sup> : -0.0692 P= 0.640 N= 48
Músculo		R <sup>2</sup> : -0.0900 P= 0.547 N= 47

Tabla N° 4. Correlación de los niveles de aminoácidos en hepatopáncreas, hemolinfa y músculo tras ingesta de alimento hasta las 10 horas.

	<b>Músculo</b>	<b>Hemolinfa</b>
Hepatopáncreas	R <sup>2</sup> : 0.462 P= 0.000381 N= 55	R <sup>2</sup> : 0.0790 P= 0.555 N= 58
Músculo		R <sup>2</sup> : -0.0770 P= 0.576 N= 55



## 6. Discusión

### 6.1. Caracterización preliminar del estudio

El camarón *L. vannamei* (Boone, 1931) es considerado uno de los más importantes organismos usados en la acuicultura de América (Ogle et al., 1992). Por tal razón, el objetivo de la presente investigación fue determinar la curva de aa tras la ingesta de alimento. Debido a que los camarones requieren de dietas con un alto contenido de proteínas para realizar la mayoría de funciones metabólicas (Brito et al., 2001; Cuzon et al., 2004). La obtención de las reservas energéticas a través del alimento y la efectiva distribución de los requerimientos nutricionales, esenciales para el mantenimiento y crecimiento de los *peneidos* es una habilidad que depende de la incidencia de los factores fisiológicos y ambientales (Rosas et al., 2001b). Varios investigadores han realizados trabajos sobre la digestibilidad del alimento en *L. vannamei* y la capacidad de liberar enzimas digestivas idóneas para degradar las macromoléculas proteínicas en aa libres, en el intestino medio del camarón (Smith et al., 1985; Akiyama et al., 1991). Bajo ese contexto, el experimento se diseñó para obtener evidencias (bajo nuestras condiciones experimentales) sobre la dinámica fluctuante de las concentraciones de aa en hepatopáncreas, hemolinfa y músculo, en un período de 10 horas tras la ingesta de alimento.

### 6.2. Comportamiento de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos

#### 6.2.1. Hepatopáncreas

Nuestros resultados muestran que, a las 2 horas de haber ingerido alimento, el camarón presenta un incremento significativo de los niveles de aa en el hepatopáncreas, con respecto al grupo control, lo que coincide con la especificidad de la glándula digestiva de los crustáceos decápodos de ejercer las funciones de secretar enzimas digestivas y absorber nutrientes del alimento digerido en el intestino medio (Rosas et al., 1995). Bajo nuestras condiciones



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

experimentales las proteasas, tripsina y quimiotripsina pudiesen estar liberando de manera normal, específicamente la enzima tripsina que juega un papel central en la digestión de proteína en la mayoría de los crustáceos (Muramatsu y Morita, 1981; Johnston, 2003; Celis-Guerrero et al., 2004; Perera et al., 2008). Varios autores han sugerido que la actividad de la tripsina podría aumentar como consecuencia de un mecanismo de ajuste al bajo contenido de proteínas de la dieta o de la baja disponibilidad de proteína dietética debido a la digestibilidad relativamente pobre, así como por la estimulación directa por parte de algún componente activo presente en las algas (Muramatsu y Morita, 1981; Le Vay et al., 1993; Rodríguez et al., 1994; Kumlu y Jones, 1995; Lemos y Rodríguez, 1998).

A partir de las 4 horas, se observa una tendencia decreciente de los niveles de aa en la glándula digestiva que permanece hasta las 8 horas, situación que sugiere la actividad de absorción-liberación debido a que, en primera instancia, este órgano absorbe los nutrientes y los distribuye a los diferentes tejidos, a través de la hemolinfa (Rosa et al., 1995; Perera et al., 2010). En consecuencia, a las 8 horas después de la ingesta, los niveles de aa son similares a la concentración observada en el grupo control, denotando que el hepatopáncreas, aunque está absorbiendo, no retiene en su totalidad los nutrientes sino que los asimila o libera a la hemolinfa para el funcionamiento metabólico de todas las células (Cuzon et al., 2004).

Pasadas las 8 horas, nuestros resultados muestran un incremento de los niveles de aa en hepatopáncreas que difieren significativamente del grupo control, correspondiéndose con lo observado en la hemolinfa, donde los niveles de aa presentan su máxima concentración entre las 6-10 horas. En consecuencia, en ese período de tiempo, la liberación de aa del hepatopáncreas incrementa los niveles en hemolinfa debido a que el tejido muscular podría estar presentando poca demanda de ese metabolito energético, lo cual favorece que los aa absorbidos por la glándula digestiva queden retenidos para la formación de otras



moléculas (Seitz et al., 1980; Moon, 1988; Lallier y Walsh, 1991; Van Wormhoudt y Sellos, 1996).

Nuestros resultados coinciden con lo encontrado por otros investigadores sobre el comportamiento fisiológico de la glándula digestiva, usando técnicas respirométricas. Sus reportes indican que la actividad de asimilación de la glándula digestiva inicia 6 horas después de la actividad alimentaria en *Penaeus semisulcatus* (Al Mohama y Nott, 1987; Rosas et al., 1995). Por tanto, dado que nuestros resultados son compatibles con lo observado en esos estudios, podemos sugerir que la mayor concentración de aa en la glándula digestiva, tras las 8 horas de la ingesta de alimento, podría deberse a la poca demanda en los diferentes tejidos. Es más, hay evidencias que sugieren que el tiempo transcurrido podría reflejar una actividad respiratoria más alta en la glándula digestiva y que la asimilación habiendo comenzado 2 horas después de la ingesta de alimentos podría alcanzar el pico 6 horas después de la alimentación (Rosas et al., 1995).

### 6.2.2. Hemolinfa

Nuestros resultados coinciden con otros estudios donde se reporta el incremento de la concentración de metabolitos energéticos tras una hora de ingesta y que el incremento de aa libre en decápodos es comparable al de los vertebrados (Dall, 1975; Chen et al., 1994). De manera similar, los datos obtenidos en hemolinfa muestran un incremento de la concentración en el tiempo, a diferencia de lo observado en hepatopáncreas. Se nota claramente que los niveles de aa muestran una ligera tendencia a incrementar con respecto al grupo control a las 2 horas de haber ingerido el alimento, sugiriendo que, aunque el hepatopáncreas este liberando aa hacia la hemolinfa, esta no los retiene y los pasa directamente a todas las células de los diferentes tejidos, y es hasta que se satisfacen las necesidades de los tejidos, que inicia (a las 4 horas) la acumulación de este metabolito energético, similar a lo observado por Gellissen y Spindler, (1991);



Wieser et al., (1992); Lehnert y Johnson, (2002). Comportamiento que denota el papel fundamental de la hemolinfa en la distribución de los metabolitos energéticos (Miller et al., 1973; Kormanik y Cameron, 1981a y 1981b; Claybrook, 1983) o como efectores auxiliares en la regulación de la presión osmótica (Rodríguez, 1981; Díaz-Herrera et al., 1992; Díaz-Herrera et al., 2001; Lemaire et al., 2002).

### 6.2.3. Músculo

El metabolito energético principal para el funcionamiento nutricional de los crustáceos, es el aa (Smith et al., 1985; Ezquerro et al., 1997; Akiyama et al., 1991; Chen, 1998; Lemos et al., 2000). Sin embargo, cuando el organismo se encuentra en situaciones de estrés utiliza glucosa como combustible principal producto de la degradación del glucógeno hepatopancreático (Kanazawa et al., 1971; Akiyama et al., 1991; Jobling, 1993). El uso de glucosa también puede estar condicionado por la desaminación de los aa a piruvato y seguir la ruta gluconeogénica (Claybrook, 1983; King et al., 1985; Regnault, 1986; Coon y Stumpf, 1990) vía Oxalacetato-PECPK-glucosa (Racotta y Hernández, 2000; Rosas et al., 2000; Rosas et al., 2001a).

Nuestros resultados muestran que *L. vannamei* incrementa significativamente los niveles de aa en músculo tras las primeras 2 horas de ingesta de alimento, coincidiendo con lo observado en la mayoría de especies de crustáceos y teleósteos (Bedford y Leader, 1977; Camien et al., 1951; Wieser et al., 1992). Por lo tanto, es de considerar el funcionamiento de liberación de enzimas y absorción de aa por la glándula digestiva (Rosas et al., 1995; Johnston, 2003); y la rápida distribución de los aa hacia los tejidos musculares vía hepatopáncreas-hemolinfa-músculo. (Hirsch y Jacobs, 1930; Gibson y Barker, 1979; Dall et al., 1990; Rosas et al., 1995; Ceccaldi, 1998).



#### Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

De manera similar a lo observado en el comportamiento de la curva de glucemia en músculo de *L. vannamei* (datos no publicados por nuestro laboratorio) la curva de aa presenta un incremento significativo con respecto al control en las primeras 2 horas y se mantiene hasta las 6 horas de haber ingerido alimento.

En músculo, los niveles de aa presentan un comportamiento similar al de hepatopáncreas debido a que después de la digestión-absorción-liberación en el intestino medio, son distribuidos directamente al tejido muscular para sustentar las demandas energéticas (Gellissen y Spindler, 1991; Lehnert y Johnson, 2002).

En ese sentido nuestro trabajo concuerda con los resultados obtenidos por Shaw, (1958); Robertson, (1961); Stimpson, (1965); Butler, (1968); Narasimhan y Sundararaj, (1971); Machado et al., (1988) con respecto al comportamiento de la dinámica fluctuante de los niveles de aa en el tejido muscular de los *peneidos*.

### **6.3. Relación del comportamiento de las concentraciones de aminoácidos en tejido y hemolinfa**

Considerando que la ruta metabólica de los aa (digestión-absorción-liberación) es llevada a cabo por la glándula digestiva de *L. vannamei* (Al Mohama y Nott, 1987; Beamish y Trippel, 1990; Ceccaldi, 1998) y que la hemolinfa distribuye los nutrientes a todos los tejidos, incluido el músculo, nos dispusimos a evaluar la fluctuación de los niveles de aa en un período de 10 horas tras la ingesta de alimento.

Nuestros resultados indican que existe correlación positiva entre la fluctuación de los niveles de aa en hepatopáncreas y músculo con  $P < 0.05$ , lo cual denota la relación entre ambos tejidos. Por consiguiente, el presente estudio concuerda con lo reportado por otros autores sobre el funcionamiento de la glándula digestiva y la capacidad de acumulación de los aa en el tejido muscular (King et al., 1985; Regnault, 1986; Al Mohama y Nott, 1987; Beamish y Trippel, 1990; Lovett y Felder,



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*



1990; Bautista et al., 1994; Rosas et al., 1995; Ceccaldi, 1998; Cuzon et al., 2004). En el músculo de *L. vannamei* la pendiente de crecimiento de la concentración de aa, en las primeras 6 h, es mayor a la observada en el hepatopáncreas, y una vez que los niveles de aa en hepatopáncreas y músculo presentan similares concentraciones, en el tejido muscular se observa un descenso significativo de la concentración de aa libres con respecto a la glándula digestiva. Situación que resulta lógica debido a que el hepatopáncreas en su primera etapa libera proteasas-absorbe nutrientes-libera nutrientes y posteriormente el fenómeno es absorción de nutrientes-acumulación (Pierce, 1982; Beamish y Trippel, 1990; Du-Preez et al., 1992; Chakraborty et al., 1992; Lignot et al., 1999; Rosas et al., 2002; Pascual et al., 2004). La correlación entre el comportamiento de la concentración de aa en músculo-hepatopáncreas es mayor entre 0-8 horas que entre 0-10 horas, coincidiendo con lo reportado por otros autores sobre la especificidad de la glándula digestiva de acumular altas concentraciones de aa (Seitz et al., 1980; Moon, 1988; Lallier y Walsh, 1991; Van Wormhoudt y Sellos, 1996).



## 7. Conclusiones

En la glándula digestiva, hemolinfa y músculo de *L. vannamei* los niveles de aa presentan una tendencia de incremento y correlación de los niveles de aa, tras la ingesta de alimento, de la siguiente manera:

- 1) En hepatopáncreas la concentración de aa se incrementa significativamente en las primeras 2 horas de haber ingerido alimento, a las 4 horas retorna al nivel basal y se mantiene hasta las 8 horas. Posteriormente, a las 10 horas experimenta un crecimiento significativo de la concentración de aa similar al observado a las 2 horas tras la ingesta de alimento.
- 2) En hemolinfa la concentración de aa incrementa significativamente a las 4 horas de haber ingerido alimento. Posteriormente, a las 6 horas experimenta un incremento significativo mayor a la concentración de aa observada a las 4 horas que se mantiene hasta las 10 horas.
- 3) En músculo, tras la ingesta de alimento, la concentración de aa presenta un incremento significativo a las 2 horas, se mantiene constante hasta las 6 horas y posteriormente retorna al nivel basal.
- 4) Existe correlación positiva ( $P < 0.05$ ) de la fluctuación de los niveles de aa entre músculo y hepatopáncreas. El índice de correlación es ligeramente mayor en el período de cero a ocho horas que de cero a diez horas, situación debida al incremento significativo de la concentración de aa que ocurre en el hepatopáncreas tras 10 horas de la ingesta de alimento.
- 5) No se observó correlación con nivel de significancia ( $P < 0.05$ ) entre hemolinfa y los tejidos de estudio.



## 8. Recomendaciones

- Realizar estudio con mayor cantidad de tiempo para determinar el período en que la concentración de aa llega a los niveles basales en hepatopáncreas, hemolinfa y músculo del camarón *L. vannamei*. Esto permitirá conocer un poco más el proceso fisiológico del camarón, bajo nuestras condiciones ambientales, para su aplicación en la práctica acuícola.
- Promover temas relacionados a nuestro estudio, en años tempranos de la carrera de ingeniería acuícola para que fortalezcan más el conocimiento sobre la fisiología de especies acuícolas, en este caso camarones.
- Hacer foros con las empresas acuícolas de Nicaragua para explicar la importancia de este tipo de estudio; para así dar un seguimiento más específico y especializado que nos pueda brindar resultados más sólidos y que le permitan a las empresas tener mejores rendimientos productivos.



## 9. Bibliografía

- Abderhalden, E. y Schmidt, H. (1913). Some observations and experiments with triketohydrindenhydrate (Ruhemann) (in German). *Z. Physiology Chemistry*, 85, 143-147.
- Andrews, J. y Sick, L. (1972). Studies on the nutritional requeriments of *Penaeid* shrimp. *Proc. World Mariculture*, pp. 403-414.
- Alcaraz, G.; Espinosa, V. y Vanegas, C. (1999). Acute effect of ammonia and nitrite on respiration of *Penaeus setiferus* post-larvae under different oxygen levels. *Journal of the World Aquaculture Society*, 30, 98-106.
- Al Mohama, S. y Nott, J. (1987). R Cells and the digestive cyde en *Panaeus semisukatus* *Marine Biodiversity*, pp. 129-137.
- Akiyama, D.; Dominy, W. y Lawrence, A. (1991). *Penaeid* shrimp nutrition for the commercial feed industry. *American Soybean Association, Aquaculture*, pp. 32-35.
- Akiyama, D. y Dominy, W. (1989). *Penaeid* shrimp nutrition for the commercial feed industry. *American Soybean Association*, 15/1/89 Vol. 3 *Aquaculture*, 18, 50-58.
- Arce, R. (1989). Cultivo de camarones *Peneidos*. Reporte interno. Centro de Investigaciones Biológicas, La paz, B.C.S. México, pp. 82.
- Bautista, M.; Lavilla-Pitogo, C.; Subosa, P.; Begino, E. (1994). Aflatoxin B1 contamination of shrimp feeds and its effect on growth and hepatopáncreas of preadult *Penaeus monodon*. *Journal Science Food Agriculture*, 65, 5-11.
- Beamish, F. y Trippel, E. (1990). Heat increment: a static or dynamic dimension in bioenergetic models? *Transactions of the American Fisheries Society*, 119, 649-661.
- Bedford, J. y Leader, J. (1977). The composition of the hemolymph and muscle tissue of the shore crab, *Hemigrapsus edwardsi* exposed to different salinities. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 57A, 341-345.
- Berezov, T. y Korovkin, B. (1992). "Chemistry of Proteins". En Berezov TT, Korovkin BF (eds): *Biochemistry*, 1ª Ed. Editorial Mir Publishers Moscow (Moscú, Rusia), pp. 19-64.
- Berg, J.; Tymoczko, J. y Stryer, L. (2008). *Bioquímica*. Barcelona, España, editorial reverté, S.A.



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

- Bidlingmeyer, B.; Cohen, S. y Tarvin, T. (1984). Rapid analysis of amino acids using precolumn derivatization. *Journal Chromatography*, 336, 93-104.
- Boyd, C. (1998). Water quality for pond aquaculture. Research and Development Series 43 Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn, Alabama.
- Boticario, C. y Angosto, M. (2012). Digestión y metabolismo energético de los nutrientes. Plasencia. Artes gráficas Batanero, S .L. P.E., pp. 48-57.
- Bocca, L. (1994). Reporte sobre experiencias en alimentación de camarones.
- Bolaño, M. (2004). Buenas prácticas de manejo en el cultivo del camarón cultivado. Fondo Mundial para la Naturaleza (WWF) – PROARCA. San José, Costa Rica.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Briggs, M.; Brown, J. y Fox, C. (1994). The effect of dietary lipid and lecithin levels on the growth, survival, feeding, efficiency, production and carcass composition of post-larval *Penaeus monodon* Fabricius. *Aquaculture and Fisheries Management*, 25, 279-294.
- Brito, R.; Rosas, C.; Chimal, M. y Gaxiola, G. (2001). Effect of different diets on growth and digestive enzyme activity in *L. vannamei* (Boone, 1931) early post-larvae. *Aquaculture Nutrition*, 32, 257-266.
- Brock, J. y Kevan, L. (1974). A guide to the common problems and diseases of cultured *L. vannamei*. *World Aquaculture Society*, Baton Rouge, Louisiana, USA, pp. 242.
- Butler, D. (1968). Hormonal control of gluconeogenesis in the North American eel (*Anguilla rostrata*). *General and Comparative Endocrinology*, 10, 85-91.
- Camien, M.; Sarlet, H.; Duchateau, G. y Florin, M. (1951). Nonprotein amino acids in muscle and blood of some marine and freshwater crustacea. *Journal Biological Chemistry*, 193, 881-885.
- Ceccaldi, H. (1986). Digestion et sécrétions digestives chez les Crustacés. *Oceanis*, Vol. 12, Fasc. 1, pp.31-49.
- Ceccaldi, H. (1998). A synopsis of the morphology and physiology of the digestive system of some crustacean species studied in France. *Fisheries Science*, 6, 13-36.



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

- Celis-Guerrero, L.; García-Carreño, F. y Navarrete del Toro, M. (2004). Characterization of proteases in the digestive system of spiny lobster (*Panulirus interruptus*). *Marine Biotechnology*, 6, 262-269.
- Chakraborty, S.; Ross, L. y Ross, B. (1992). Specific dynamic action and feeding metabolism in common carp, *Cyprinus carpio* *Levels Comparative Biochemistry and Physiology*, 103A, 809-815.
- Chang, R. (2007). Química. México: The McGraw-Hill Interamericana.
- Chapa, S. (1980). "LA Biología y el Cultivo de Camarón". SEP.
- Chen, J. y Lin, C. (1992). Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* juveniles exposed to ambient ammonia at different salinity *Levels Comparative Biochemistry and Physiology*, 102C, 287-291.
- Chen, H.; Wu, F. y Tang, S. (1994). Sensitivity of transketolase to the thiamin status of juvenile marine shrimp (*Penaeus monodon*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 109A, 655-659.
- Chen, H. (1998). Nutritional requirements of the black tiger shrimp: *Penaeus monodon*. *Reviews Fisheries Science*, 6, 79-80.
- Chen, K.; Li, E.; Gan, L.; Wang, X.; Xu, C.; Lin, H.; Jian, G. y Chen, L. (2014). Growth and Lipid Metabolism of the Pacific White Shrimp *L. vannamei* at Different Salinities. *Journal of Shell fish Research*, 33(3), 825-32. doi:10.2983/035.033.0317.
- Chamberlain, G. (2001). Cultivo sostenible de camarón: mitos y realidades. Global Aquaculture Alliance, Presentación en la Conferencia SHRIMP 2001, realizada en Chennai, India del 28 al 30 de setiembre del 2001.
- Chávez-Sánchez, M. y Higuera-Ciapara, I. (2003). Manual de Buenas Prácticas de Producción Acuícola de Camarón para la Inocuidad Alimentaria. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) [Por encargo de SENASICA], A.C. México, pp. 30-31.
- CITUS. (1986). El cultivo de camarón azul (*Penaeus stylirostris* Stimpson). Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora. Hermosillo Sonora, pp. 126.
- Claybrook, D. (1983). Nitrogen metabolism. In Mantel L.H. (edi). The biology of Crustacea Vol 5. Internal Anatomy and physiological regulation. Academic Press, New York, pp. 163-213.
- Cleoceri, L.; Greenburg, A. y Eaton, A. (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association,



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

American Water Works Association, and Water Environment Association, Washington, D.C., USA.

- Clifford III, H. (1992). Marine Shrimp Pond Management: A Review. In: Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming. (Ed. J. Wyban). *World Aquaculture Society*, pp. 1-29.
- Coon, E. y Stumpf, P. (1990). *Bioquímica fundamental*. (3ra Ed). México: Limusa.
- Cousin, M. (1995). Contribution à l'étude de l'utilisation des glucides et du rapport protéine/énergie chez *P. vannamei* et *P. stylirostris*. Institut National Agronomique Paris-Grignon, pp. 181-201.
- Córdova-Murrueta, J.; García-Carreño, F. y Navarrete del Toro, M. (2003). Digestive enzymes present in crustacean feces as a tool for biochemical, physiological, and ecological studies. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 297, 43-56.
- Cruz-Suarez, L.; Ricque-Marie, D.; Pinal-Mansilla, J.; Wesche-Ebellling, D. (1994). Effect of different carbohydrate sources on the growth of *L. vannamei*; economical impact. *Aquaculture*, 123, 349-360.
- Cuzon, G.; Lawrence, A.; Gaxiola, G.; Rosas, C. y Guillaume, J. (2004). Nutrition of *L. vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture*, 235(1), 513-551.
- Dall, W. (1975). The role of ninhydrin-positive substances in osmoregulation in the western rock lobster *Panulirus longipes* Milne Edwards. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 19, 43-58.
- Dall, W. y Smith, D. (1986). Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawns *Penaeus esculentus* Haswell. *Aquaculture*, 55, 23-33.
- Dall, W.; Hill, P.; Rothlisberg, C. y Sharples, D. (1990). The biology of the penaeidae. In: Blaxter, J., Southward, A. (Eds.), *Advances in Marine Biology*, Vol. 27. Academic Press, London, pp. 489.
- Dall, D.; Sriskantha, A.; Vera, A.; Lai-fook, J. y Symonds, T. (1993). A gene encoding a highly expressed spindle body of *Heliothis armigera* entomopoxvirus. *Journal of General Virology*, 74, 1811-1818.
- Danzer, K. y Currie, L. (1998). "Guidelines for calibration in analytical chemistry Part I. Fundamentals and single component calibration", IUPAC Pure & Appl. Chemistry, Vol.70, No.4, pp. 993-1014.
- Davis, C. (2007) Nutritional interactions: credentialing of molecular targets for cancer prevention. *Experimental Biology Medicine*, 232, 176-183.



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

- De Villez, E. (1965). Isolation of the proteolytic enzymes from the gastric juice of the crayfish *Orconectes virilis* (Hagen). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 14, 577-586.
- De Villez, E. y Buschlen, K. (1967). Survey of tryptic digestive enzyme in various species of crustacea. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 21, 541-546.
- Divakaran, S. (1994). An evaluation of polyamino acids as an improved amino acid source in marine shrimp *L. vannamei* feeds. *Aquaculture*, 128, 363-36.
- Díaz-Herrera, F.; Pérez-Cruz, E.; Luna-Figueroa, J.; Tapia-Gamas, A. y Rosas-Vázquez, C. (1992). Oxygen consumption, ammonia excretion and osmoregulation of *Callinectes similis* juveniles (Crustacea: *Portunidae*) exposed to fluctuating salinities. *Science Marine*, 18, 93-104.
- Díaz, F.; Farfán, C.; Sierra, E. y Re, A. (2001). Effects of temperature and salinity fluctuation on the ammonium excretion and osmoregulation of juveniles of *L. vannamei*, Boone. *Marine Freshwater behaviour Physiology*, 34, 93-104.
- Donovan, D. (1997). Environmental code of practice for Australian prawn farmers. Kuruma, Australia Pty. Ltd., East Brisbane, Australia, pp. 37.
- Du-Preez, H.; Chen, H. y Hsieh, C. (1992). Apparent specific dynamic action of food in the grass shrimp, *Penaeus monodon*. *Fa-bricius. Comparative Biochemistry Physiology*, 103A, 173-178.
- Escoto, R. (1993). Anotaciones sobre la Biología de los Camarones Peneidos, Proyecto NORAD NIC. 001, Centro de Investigaciones de Recursos 65 Hidrológicos. Managua, Nicaragua, pp. 16.
- Espinoza, F. (2011). Bioquímica metabolismo de proteína. Universidad católica agropecuaria del trópico seco. Recuperado el 14 de diciembre de 2016. Disponible en: <https://ricarducatse.files.wordpress.com/2011/02/folleto-5-metabolismo-de-proteinas.pdf>.
- Ezquerria, J.; Garcia-Carreno, F.; Civera, R. y Haard, N. (1997). pH-stat method to predict protein digestibility in white shrimp *L. vannamei*. *Aquaculture*, 157, 249-260.
- Ezquerria, J.; Garcia-Carreno, F. y Carrillo, O. (1998). In vitro digestibility of dietary protein sources for white shrimp (*L. vannamei*). *Aquaculture*, 163, 123-136.
- FAO. (2006). Programa de información de especies acuáticas. *Penaeus vannamei*. Programa de información de especies acuáticas. Texto de Briggs, M. In: *Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO*. Consultado el 25 de



abril. Disponible en:  
[http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus\\_vannamei/es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/es).

- FAO. (2005). Visión general del sector acuícola nacional-Nicaragua. National Aquaculture Sector Overview Fact Sheets. Consultado el 23 de abril de 2016. Disponible en: [http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso\\_nicaragua/es](http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_nicaragua/es).
- Frías-Espericueta, M.; Harfush-Melendez, M.; Osuna-López, J. y Páez-Osuna, F. (1999). Acute toxicity of ammonia to juvenile shrimp *L. vannamei* Boone. *Bulletin Environmental Contamination Toxicology*, 62, 646-652.
- Fujimoto, E.; Goeke, N.; Olson, B. y Klenk, D. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*, 150, 76-85.
- Friedman, M. (2004). Applications of the Ninhydrin Reaction for Analysis of Amino Acids, Peptides, and Proteins to Agricultural and Biomedical Sciences. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 52, 385-406.
- Galicia, A.; Rosas, L.; García, C. y Arrieta, J. (2011). La espectrofotometría como práctica social de modelación del ingeniero bioquímico. Comunicación presentada en el XIII Congreso Internacional de Investigación y Desarrollo Educativo en Educación Superior Tecnológica, Santiago de Querétaro, Querétaro.
- Galgani, F. (1985). Etude des Proteases Digestives de Crevettes *Peneides* (Crustacea Decapoda).
- Gates, B. y Travis, J. (1969). Isolation and comparative properties of shrimp trypsin. *Biochemistry*, 8(11), 4483-4489.
- Gates, B. y Travis, J. (1973). Purification and characterization of carboxypeptidases A & B from the white shrimp *L. setiferus*. *Biochemistry*, 12(10), 1867-1874.
- Garrett, R. y Grisham, C. (2004). *Biochemistry* Brooks Cole Publisher. Charlottesville, VA, USA.
- Gellissen, G. y Spindler, K. (1991). The site of synthesis of hemocyanin in the crayfish *Astacus leptodactylus*. *Experientia*, 47, 194-195.
- Gellissen, G.; Janowicz, Z.; Merckelbach, A.; Piontek, M.; Keup, P.; Weydemann, U.; Hollenberg, C. y Strasser, A. (1991). Heterologous gene expression in *Hansenula polymorpha*: efficient secretion of glucoamylase. *Bio/Technology*, 9, 291-295.



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

- German, J.; Roberts, M.; Fay, L. y Watinks, S. (2002) Metabolomics and individual metabolic assessment: The next great challenge for nutrition. *Journal Nutrition*, 132, 2486-2487.
- Gibson, R. y Barker, P. (1979). The decapod hepatopancreas. *Oceanogr. Marine Biological Annual Review*, 17, 285-346.
- Guevara, W. (2003). Formulación y elaboración de dietas para peces y crustáceos. Universidad nacional Jorge Basadre Grohmann. Consultado el 26 de abril de 2016. Disponible en: <http://www.unjbg.edu.pe/coin2/pdf/01040800303.pdf>.
- Grassmann, W. y Von Arnim, K. (1934). On the reaction of ninhydrin and isatin with proline and hydroxyproline (in German). *Analytical Biochemistry*, 6, 288-303.
- Hagerman, L. y Szaniawska, A. (1994). Haemolymph nitrogen compounds and ammonia efflux rates under anoxia in the brackish water isopod *Saduria Entomon*. *Marine Ecology Progress Series*, 103, 285-289.
- Harding, V. y Warenford, F. (1916). The ninhydrin reaction with aminoacids and ammonium salts. *Journal Biological Chemistry*, 25, 319-335.
- Haws, M.; Boyd, C. y Green, B. (2001). Buenas prácticas de manejo en el cultivo de camarón en Honduras. Asociación Nacional de Acuicultores de Honduras (ANDAH). Centro de Recursos Costeros de la Universidad de Rhode Island. Universidad Auburn, Departamento de Pesquerías y Acuicultura.
- Hill, R.; Wyse, G. y Anderson, M., (2004). Fisiología animal. Madrid, España. Editorial medica panamericana S.A., pp. 143-183.
- Hirsch, G. y Jacobs, W. (1930). Der Arbeitsrhythmus der mittel-darmdrtse von *Aztacus leploductylus* 2. Teil: Wachstum als primarer faktor des rhythmus eines polyphasischen organigen skretionssystems. *Z. Vergl. Physiology*, 12, 524-558.
- Hurtado, M.; Racotta, I.; Civera, R.; Ibarra, L.; Hernandez-Rodriguez, M. y Palacios, E. (2007). Effect of hypo and hypersaline conditions on osmolality and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity in juvenile shrimp (*L. vannamei*) fed low and high-HUFA diets. *Comparative Biochemistry Physiology*, 147A, 703-710.
- Jobling, M. (1993). Bioenergetics: feed intake and energy partitioning. IN: Fish Ecophysiology. Rankin, J.C. & F.B. Jensen (ed.), Chapman & Hall Press, London, pp. 1-44.
- Johnston, D. (2003). Ontogenetic changes in digestive enzyme activity of the spiny lobster, *Jasus edwardsii* (Decapoda, *Palinuridae*). *Marine Biological*, 143, 1071-1082.



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

- Kanazawa, A.; Tanaka, N.; Teshima, S. y Kashiwada, K. (1971). Nutritional requirements of prawn-II. Requirements for sterols. *Bulletin Japanese Society Science Fisheries*, 36(9), 949-954.
- Karp, G. (1996). *Biología celular y molecular*; McGraw-Hill Interamericana, Vol. 1.
- Kitani, H. y Alvarado, J. (1982). The larval development of the pacific brown shrimp *Penaeus californiensis* Holmes reared in the laboratory. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 48(3), 375-389.
- King, F.; Cucci, T. y Brigidare, R. (1985). A pathway of nitrogen metabolism in marine decapod crabs. *Comparative Biochemistry Physiology*, 80B, 401-403.
- Kormanik, G. y Cameron, J. (1981a). Ammonia excretion in the sea-water blue crab (*Callinectes sapidus*) occurs by diffusion and not  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$  exchange. *Journal Comparative Physiology*, 141, 457-462.
- Kormanik, G. y Cameron, J. (1981b). Ammonia excretion in animals that breath water: A review. *Marine Biology Letters*, 2, 11-23.
- Kurmaly, K.; Yule, A. y Jones, D. (1989). Effects of body size and temperature on the metabolic rate of *Penaeus monodon*. *Marine Biology*, 103, 25-30.
- Kumlu, M. y Jones, D. (1995). The effect of live and artificial diets on growth, survival, and trypsin activity in larvae of *Penaeus indicus*. *Journal of World Aquaculture Society*, 26, 406-415.
- Lallier, F. y Walsh, P. (1991). Metabolic potential in tissues of the blue crab *Callinectes sapidus*. *Bulletin Marine Science*, 48, 665-669.
- Lee, D. y Wickins, J. (1992). *Crustacean farming*. Oxford, Great Britain, pp. 392.
- Lee, R. y Puppione, D. (1978). Serum lipoproteins in the spiny lobster, *Panulirus interruptus*. *Comparative Biochemistry Physiology*, 59B, 239-243.
- Lee, P.; Blake, N. y Rodrick, G. (1980). A quantitative analysis of digestive enzymes for the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Proc. World Mariculture Society*, 11, 392-402.
- Lehninger, A. (1979). *Curso breve de bioquímica*. Barcelona: Ediciones Omega, S.A.
- Lehninger, A. (2009). *Principles of Biochemistry*. (5ta Ed). Freeman. Recuperado de: <http://www.whfreeman.com/Lehninger/>.



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

- Lehnert, S. y Johnson, S. (2002). Expression of hemocyanin and digestive enzyme messenger RNAs in the hepatopancreas of the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Comparative Biochemistry Physiology*, 133B, 163-171.
- Lemaire, P.; Bernard, E.; Martinez-Paz, J. y Chim, L. (2002). Combined effect of temperature and salinity on osmoregulation of juvenile and subadult *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture*, 209, 307-317.
- Lemos, D. y Rodriguez, A. (1998) Nutritional effects on body composition, energy content and trypsin activity of *Penaeus japonicus* during early post-larval development. *Aquaculture*, 160, 103-116.
- Lemos, D.; Ezquerro, J. y García-Careño, F. (2000). Protein digestion in *peneidos* shrimp: digestive proteinases, proteinase inhibitors and feed digestibility. *Aquaculture*, 186, 89-105.
- Le Vay, L.; Rodriguez, A.; Kamarudin, M. y Jones, D. (1993) Influence of live and artificial diets on tissue composition and trypsin activity in *Penaeus japonicus* larvae. *Aquaculture*, 118, 287-297.
- Li, E.; Chen, L.; Zeng, C.; Chen, X.; Yu, N.; Lai, Q. y Qin, J. (2007). Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *L. vannamei*, at different salinities. *Aquaculture*, 265, 385-390.
- Lignot, J.; Cochard, J.; Soyeux, C.; Lemaire, P. y Charmantier, G. (1999). Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *L. stylirostris*. *Aquaculture*, 170, 79-92.
- Llosa, Z. (2003). Zoología general. San José, Costa Rica. Editorial Universidad estatal a distancia, pp. 339-350.
- Lockwood, A. (1956). Aspects of the physicalogy of Crustacea. Aberdeen University Press, pp. 88.
- López, L.; Arteaga, M.; Roque, M.; Herrera, C. y Martínez, E. (2015). Crecimiento de los camarones *L. vannamei* en etapa de juveniles en dos sistema de alimentación: 1.- Dieta comercial combinada con melaza y 2.- Dieta comercial mezclada con semolina y melaza. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León. Consultado el 25 de abril de 2016. Disponible en: [http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:bHczlKY8Yj4J:revisita.unanleon.edu.ni/index.php/universitas/article/download/110/pdf\\_23+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ni](http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:bHczlKY8Yj4J:revisita.unanleon.edu.ni/index.php/universitas/article/download/110/pdf_23+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ni).



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

- Lovett, D. y Felder, D. (1990) Ontogenetic change in digestive enzyme activity of larval and post-larval white shrimp *L. setiferus*. *Biological Bulletin*, 178, 144-159. doi:10.2307/1541973.
- Lowry, O.; Rosebrough, N.; Farr, A. y Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Machado, C.; Garofalo, M.; Roselino, J.; Kettelhut, I. y Migliorini, R. (1988). Effects of starvation, refeeding, and insulin on energy-linked metabolic processes in catfish (*Rhamdia hilarii*) adapted to a carbohydrate-rich diet. *Gen. Comparative Endocrinology*, 71(3), 429-437.
- MacFadyen, D. y Fowler, N. (1950). On the mechanism of the reaction of ninhydrin with R-amino acids. II. A spectrophotometric study of hydrindantin reactions. *Journal Biological Chemistry*, 150, 13-22.
- MacFadyen, D. (1950). On the mechanism of the reaction of ninhydrin with R-amino acids. I. Absorption spectra of ninhydrin and certain derivatives. *Journal Biological Chemistry*, 150, 1-12.
- Mankura, M.; Dalimunthe, D. y Kayama, M. (1980). Comparative biochemical studies on plasma cholesterol-II. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 46, 583-586.
- Martínez, C. (1999a). Cultivo de camarones *peneidos*: Principios y prácticas. Edit. Editor, pp. 283.
- Martínez, E. y Barreto, A. (2011). Ecofisiología de los organismos acuícolas UNAN-León, pp. 15.
- Martínez, R. (1999b). Cultivo de camarones *peneidos*. Principios y prácticas. México. AGT editor, S.A, pp. 2-6.
- Miller, R.; Leaf, G.; y Usherwood, P. (1973). Blood glutamate in arthropods. *Comparative Biochemistry Physiology*, 44A, 991-996.
- Morales, V. (1990). Levantamiento larvario de camarones *Peneidos*. Cartilla Pradepesca, pp. 1.
- Moon, T. (1988). Adaptation, constraint and the function of gluconeogenic pathway. *Canadian Journal of Zoology*, 66, 1059-1068.
- Moore, S. y Stein, W. (1948). Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. *Journal Biological Chemistry*, 176, 367-388.



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

- Moore, S. y Stein, W. (1954). A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compound. *Journal Biological Chemistry*, 211, 907-913.
- Moore, S. (1968). Amino Acid Analysis: Aqueous Dimethyl Sulfoxide As Solvent for the Ninhydrin Reaction. *Journal Biological Chemistry*, 243(23), 4283-6281.
- Morrell, R. (1944). Siegfried Ruhemann. *Journal Chemical Society American*, pp. 46-48.
- Muramatsu, T. y Morita, T. (1981). Anionic trypsin-like enzymes from the crab *Enriocheir japonicus* De Haan, active in more acidic media. *Comparative Biochemistry Physiology*, 70B, 527-533.
- Murray, R.; Bender, D.; Botham, K. Kennelly, P.; Rodwell, W. y Weil, P. (2010). Edición HARPER Bioquímica ilustrada. Primera edición en español, por MCGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V. A subsidiary of The McGraw-Hill Companies, Inc. Prolongación Paseo de la Reforma 1015, Torre A, Piso 17, Col. Desarrollo Santa Fe, Delegación Álvaro Obregón C.P. 01376, México, D.F. Miembro de la Cámara Nacional de la Industria Editorial Mexicana, Reg., pp. 736.
- Narasimhan, P. y Sundararaj, B. (1971). Effects of stress on carbohydrate metabolism in the teleost *Notopterus notopterus* (Pallas). *Journal Fish Biology*, 3, 441-447.
- Ogle, J.; Beaugez, K. y Lotz, J. (1992). Effects of salinity on survival and growth of post-larval *L. vannamei*. *Gulf Research Reports*, 8, 415-421.
- Pamulapati, S. y Behera, P. (2013). Propiedades dietéticas multifuncionales de la espirulina y su aplicación en acuicultura. Panorama acuícola. Círculo vicioso Disponible en: [http://www.panoramaacuicola.com/noticias/2013/04/29/propiedades\\_dieteticas\\_multifuncionales\\_de\\_la\\_espirulina\\_y\\_su\\_aplicacion\\_en\\_acuicultura.html](http://www.panoramaacuicola.com/noticias/2013/04/29/propiedades_dieteticas_multifuncionales_de_la_espirulina_y_su_aplicacion_en_acuicultura.html).
- Pascual, C.; Zenteno, E.; Cuzon, G.; Sánchez, A.; Gaxiola, G.; Taboada, G.; Suárez, J.; Maldonado, T. y Rosas, C. (2004). *L. vannamei* juveniles energetic balance and immunological response to dietary protein. *Aquaculture*, 236, 431-450.
- Paz, I. y Pinto, G. (2002). Spectroscopic study about the kinetics of the anthocyanin pigments extraction during the maceration of cherries in liquor. *Spectroscopy Letters*, 35(3), 357-368.
- Pertierra, A. y Teji3n, J. (2006). Fundamentos de Bioquímica Estructural (2da Ed.). Madrid: Editorial TEBAR, S.L.



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

- Perera, E.; Moyano, F.; Díaz, M.; Perdomo-Morales, R.; Montero-Alejo, V.; Alonso, E.; Carrillo, O. y Galich, G. (2008). Polymorphism and partial characterization of digestive enzymes in the spiny lobster *Panulirus argus*. *Comparative Biochemistry Physiology*, 150B, 247-254.
- Perera, E.; Moyano, F.; Rodríguez-Viera, L.; Cervantes, A.; Martínez-Rodríguez, G. y Mancera, J. (2010). In vitro digestion of protein sources by crude enzyme extracts of the spiny lobster *Panulirus argus* (Latreille, 1804) hepatopáncreas with different trypsin isoenzyme patterns. *Aquaculture*, 310, 178-185.
- Pierce, S. (1982). Invertebrate cell volume control mechanism: a coordinated use of intracellular amino acids and inorganic ions as osmotic solute. *Biological Bulletin Marine Biological Laboratory Woods Hole*, 163, 405-419.
- Queiroz, J. y Boyd, C. (1998). Evaluation of a kit for estimating organic matter concentrations in bottom soils of aquaculture ponds. *Journal of the World Aquaculture Society*, 29, 230-233.
- Racotta, I.; y Hernández-Herrera, R. (2000). Metabolic response of the white shrimp, *L. vannamei*, to ambient ammonia. *Comparative Biochemistry Physiology*, 125A, 437-443.
- Regnault, M. (1979). Ammonia excretion of the sand shrimp *Crangon crangon* (L.) during the moult cycle. *Journal Comparative Physiology*, 133, 199-214.
- Regnault, M. (1981a). Respiration and ammonia excretion of the shrimp *Crangon crangon* L. metabolic response to prolonged starvation. *Journal Comparative Physiology*, 141, 549-555.
- Regnault, M. (1981b). Respiration and ammonia excretion of the shrimp *Crangon crangon* L.: Metabolic responses to prolonged starvation. *Journal Comparative Physiology*, 141, 549-555.
- Regnault, M. (1986). Excretion d'azote chez les crustacés influence de l'état physiologique. *Cahiers de Biologie Marine*, 27, 361-377.
- Regnault, V.; Costa, P.; Teixeira, A.; Rivat, C.; Stoltz, J.; Saraiva, M. y Costa, P. (1992). Specific removal of transthyretin from plasma of patients with familial amyloidotic polyneuropathy: optimization of an immunoadsorption procedure. *International Journal Artificial Organs*, 15, 249-255.
- Regnault, M. (1993). Effect of severe hypoxia on some aspects of nitrogen metabolism in the crab *Cancer pagurus*. *Marine Behaviour Physiology*, 22, 131-140.
- RFI. (1989). *Penaeid Technology Short Course*, CE. Cet del Mar La Paz Mexico.



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

- Robertson, J. (1961). Studies on the chemical composition of muscle tissue-II. The abdominal flexor muscles of the lobster *Nephrops norvegicus* (L.). *Journal Experimental Biology*, 38, 707-728.
- Rodríguez, G. (1981). Osmoregulation and total serum proteins of two species of *penaeide* an shrimps from the Pacific coast of Mexico. *Journal Crustacean Biology*, 1, 392-400.
- Rodríguez, A.; Le Vay, L.; Mourente, G. y Jones, D. (1994). Biochemical composition and digestive enzyme activity in larvae and post-larvae of *L. japonicus* during herbivorous and carnivorous feeding. *Marine Biology*, 118, 45-51.
- Rosas, C.; Bolongaro-Crevenna, A.; Sánchez, A.; Goriola, G.; Soto, L. y Escobar, E. (1995). Role of digestive gland in energetic metabolism of *L. setiferus*. *Biological Bulletin*, 189, 168-174.
- Rosas, C.; Sanchez, A.; Díaz, E.; Soto, L.; Gaxiola, G. y Brito, R. (1996). Effect of dietary protein level on apparent heat increment and post-prandial nitrogen excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* post-larvae. *Journal of The World Aquaculture Society*, 27, 92-102.
- Rosas, C.; Cuzon, G.; Gaxiola, G.; Arena, L.; Lemaire, P.; Soyez, C. y Van Wormhoudt, A. (2000). Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juvenile *L. stylirostris*. *Journal Experimental Marine Biology and Ecology*, 249, 181-198.
- Rosas, C.; Cuzon, G.; Taboada, G.; Pascual, C.; Gaxiola, G. y Van Wormhoudt, A. (2001a). Effect of dietary protein and energy levels (P/E) on growth, oxygen consumption, hemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *L. vannamei* and *L. setiferus* juveniles (Crustacea, Decapoda; *Penaeidae*). *Aquaculture Research*. in press.
- Rosas, C.; Cuzon, G.; Gaxiola, G.; Priol, Y.; Pascual, C.; Rossignol, J.; Contreras, F.; Sánchez, A. y Wormhoudt, A. (2001b). Metabolism and growth of juveniles of *L. vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 259, 1-22.
- Rosas, C.; Cuzon, G.; Gaxiola, G.; Pascual, C.; Taboada, G.; Arena, L. y Wormhoudt, A. (2002). An energetic and conceptual model of the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *L. vannamei* juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 268, 47-67.
- Roustiau, S.; Batrel, Y.; Bernicard-Peron, A. y Le Gal, Y. (1985). Effect of thermal acclimation on subunit cooperativity in *Palaemon serratus* glutamate dehydrogenase. *Biochemical Systematics Ecology*, 13, 45-50.



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

- Ruhemann, S. (1910a). Cyclic di- and tri-ketones. *Transactions Chemical Society*, 97, 1438-1449.
- Ruhemann, S. (1910b). Triketohydrindene hydrate. *Transactions Chemical Society*, 97, 2025-2031.
- Ruhemann, S. (1911a). Triketohydrindene hydrate. IV. Hydrindantin and its analogues. *Transactions Chemical Society*, 99, 1306-1310.
- Ruhemann, S. (1911b). Triketohydrindene. Part V. The analogues of uramil and purpuric acid. *Transactions Chemical Society*, 99, 1486-1492.
- Saborío, A. (2003). Buenas prácticas de manejo en granjas de cultivo de camarón marino. CIDEA UCA, Managua, Nicaragua.
- Senkbeil, E. y Wriston, C. (1981). Hemocyanin synthesis in the American lobster, *Homarus americanus*. *Comparative Biochemistry Physiology*, 68B, 163-171.
- Seitz, H.; Tiedgen, M. y Tarnowski, W. (1980). Regulation of hepatic PEPCK GTP: role of dietary protein and amino acid in vitro and in the isolated perfused rat liver? *Biochimica Biophysica Acta*, 632, 473-478.
- Shiau, S. (1998). Nutrient requirements of *penaeid* shrimp. *Aquaculture*, 164, 77-93.
- Shaw, J. (1958). Osmoregulation in the muscle fibers of *Carcinus maenas*. *Journal Experimental Biology*, 35, 920-929.
- Snow, J. y Jones, R. (1959). Some effects of lime applications to warmwater hatchery ponds. Proceedings of the Annual Conference of the Southeastern. *Association of the Game and Fish Commission*, 13, 95-101.
- Smith, L.; Lee, P.; Lawrence, A. y Strawn, K. (1985). Growth and digestibility of three sizes of *L. vannamei* Boone: effects of dietary protein level and protein source. *Aquaculture*, 46(2), 85-96.
- Soluap, E. (1998). Alternativas de cultivo acuícolas. Tomo I. Guayaquil, Ecuador, pp. 42.
- Spackman, D.; Stein, W.; y Moore, S. (1958). Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Analytical Biochemistry*, 30(7), 1190-1206.
- Stimpson, J. (1965). Comparative aspects of the control of glycogen utilization in vertebrate liver. *Comparative Biochemistry Physiology*, 15, 187-197.
- Stryer, L. (1995). Bioquímica, Cuarta ed.; Editorial Reverté S.A. Barcelona, Vol.2.



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

- Suarez, C. (2008). Cuantificación y caracterización de bacterias de hemolinfa de camarones *L. vannamei*. Pontificia Universidad Javeriana, facultad de ciencias. Carrera de microbiología industrial. Bogotá, Colombia, pp.18-33.
- Teshima, S. y Kanazawa, A. (1980). Lipid constituents of serum lipoproteins in the prawn. *Bulletin Japanese Society Science Fisheries*, 46, 57-62.
- Teshima, S. y Kanazawa, A. (1984). Effects of protein, lipid and carbohydrate levels in purified diets on growth and survival rates of the prawn larvae. *Bulletin Japanese Society Science Fisheries*, 50(10), 1709-1715.
- Teshima, S.; Kanazawa, A. y Yamashita, M. (1986). Dietary value of several proteins and supplemental aminoacids for larvae of the prawn *L. japonicus*. *Aquaculture*, 51, 225-235.
- Teshima, S. y Kanazawa, A. (1987). Turnover of dietary cholesterol and  $\beta$ -sitosterol in the prawn. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53, 601-607.
- Toporek, M. (1977). Bioquímica. (2da Ed). México: Interamericana.
- Trellu, J. y Ceccaldi, H. (1977). Variation des activités enzymatiques del hepatopáncreas et du muscle de *Palaemon serratus* au cours du cycle dintermue. *Comptes Rendus Society Biology*, 171(1), 115-121.
- Troll, W. y Cannan, R. (1953). A modified photometric ninhydrin method for the analysis of amino and amino acids. *Journal Biological Chemistry*, 200, 803-811.
- Van Holde, M. (2004) Bioquímica. 3 Ed Pearson. España.
- Van Olst, J. y Calberg, J. (1972). Shrimp farming. Aquaculture systems international. Sorrento valley road. San Diego California.
- Van Slyke, D. y Hamilton, P. (1943). The synthesis and properties of ninhydrin ureide. *Journal Biological Chemistry*, 150, 471-476.
- Van Wormhoudt, A. (1980). Régulation del.activité del alfa-amylase a différentes températures d.adaptation en fonction del.ablation des pédoncules oculaires et du stade de mue chez *Palaemon serratus*. *Biology Systems Ecology*, 8, 193-203.
- Van Wormhoudt, A. y Sellos, D. (1996). Cloning and sequencing analysis of three AmylaseDNAC in the shrimp *L. vannamei* Crustacea Decapoda: evolutionary aspects. *Journal of Marine Evolution*, 42, 543-551. Zar, J.H., 1974. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliff, pp. 413.



Relación de las fluctuaciones de los niveles de aminoácidos tras la ingesta de alimento en la glándula digestiva (hepatopáncreas), hemolinfa y músculo de camarones *Litopenaeus vannamei*

- Vega-villasante, F.; Nolasco, H. y Rivera, C. (1993). The digestive enzymes of the Pacific brown shrimp *Penaeus californiensis* .I – Properties of amylase activity in the digestive tract. *Journal Comparative Biochemistry Physiology*, 106B, 547-550.
- Villalón, J. (1991). Manual práctico para la producción comercial semi-intensiva de camarón marino. Texas A&M University Sea Grant College Program Publication # 91-50, pp. 104.
- Wenner, E. y Beatty, R. (1993). Utilization of shallow estuarine habitats in South Carolina, USA, by PL and juvenile stages of *Penaeus* spp. (decapoda, *penaeidae*). *Journal of Crustacean Biology*, 13, 280-295.
- West, R. (1965). Siegfried Ruhemann and the discovery of ninhydrin. *Journal Chemical Education*, 42, 386-388.
- Wieser, W.; Krumschnabel, G. y Ojwang-Okwor, J. (1992). The energetics of starvation and growth after refeeding in juveniles of three *cyprinid* species. *Environmental Biology Fishes*, 33, 63-71.
- Willett, C. y Burton, R. (2003). Characterization of the glutamate dehydrogenase gene and its regulation in a euryhaline copepod. *Comparative Biochemistry Physiology*, 135B, 639-649.
- Yemm, E. y Cocking, E. (1955). The Determination of Amino-acids with Ninhydrin. Department of Botany, University Of Bristol.
- Yepiz-Plascencia, G.; Vargas-Albores, F. y Higuera-Ciapara, I. (2000). *Penaeid* shrimp hemolymph lipoproteins. *Aquaculture*, 191, 177-189.