

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS



Formulación de dietas con distintos niveles de metionina, proteína y arginina para el estudio de la fisiología de crecimiento del camarón, *Litopenaeus vannamei*.

T E S I S

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS  
NECESARIOS PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA**

PRESENTA

ANDREA ZULEMA MANRIQUEZ PATIÑO

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO. AGOSTO 2022

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS  
POSGRADO EN ECOLOGÍA MOLECULAR y BIOTECNOLOGÍA

Formulación de dietas con distintos niveles de metionina, proteína y arginina para el estudio de la fisiología de crecimiento del camarón,  
*Litopenaeus vannamei*.

T E S I S

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA  
OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

PRESENTA

ANDREA ZULEMA MANRIQUEZ PATIÑO

Aprobada por:

---

Dra. María Teresa Viana Castrillón  
Directora de tesis

---

Dr. Oscar Basilio del Río Zaragoza  
Sinodal

---

Dr. Miguel Cervantes Ramírez  
Sinodal

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a CONACyT por el apoyo económico brindado durante la realización de este proyecto.

A mi directora de tesis la Dra. María Teresa Viana Castrillón, por aceptarme como su estudiante y por todo el apoyo brindado dentro y fuera del laboratorio.

A mis sinodales, por su ayuda y contribución durante el progreso de este trabajo.

Al Instituto de Investigaciones Oceanológicas y el laboratorio de Nutrición y Fisiología por haberme otorgado la oportunidad de trabajar en sus instalaciones.

A mi familia en especial a mis papás, por los consejos, el amor, la confianza y apoyo incondicional, de nuevo éste logro es en gran parte gracias a ustedes.

A todos los técnicos y compañeros del laboratorio de Nutrición y Fisiología, en especial a Aurora y Alonso por su apoyo a lo largo de todo el experimento, por su invaluable amistad, por todo el esfuerzo y el trabajo en equipo realizado.

A Guillermo, gracias todas las risas, comidas, amor y apoyo incondicional durante toda la maestría.

A mis amigos Adilene y Noe, por estar al pendiente y apoyarme desde lejos.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	5
LISTA DE CUADROS.....	6
INTRODUCCIÓN.....	7
OBJETIVOS.....	11
CAPÍTULO I.....	12
HIPÓTESIS.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
RESULTADOS.....	18
DISCUSIÓN.....	20
CAPÍTULO II.....	23
HIPÓTESIS.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
RESULTADOS.....	29
DISCUSIÓN.....	31
CAPÍTULO III.....	34
HIPÓTESIS.....	34
MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
RESULTADOS.....	40
DISCUSIÓN.....	42
DISCUSIÓN GENERAL.....	47
BIBLIOGRAFÍA.....	49

## RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo el utilizar a la metionina, proteína y arginina para delinear la relación de los procesos metabólicos a distintos niveles de alimentación, utilizando al *Litopenaeus vannamei* ( $1.48 \pm 0.27$  g) como modelo de estudio. Para el primer experimento se formularon cuatro dietas isoprotéicas (40 %) e isolipídicas (9 %), donde el porcentaje de metionina fue aumentando. Se utilizó la harina de soya en un alto porcentaje debido a su bajo porcentaje de metionina junto con una menor cantidad de harinas de subproductos de bovino y ave. Al término de 8 semanas, la tasa de crecimiento específica no mostró diferencias significativas, pero se observó que el tratamiento con 0.68 % (T2) de metionina mostró un valor mayor ( $1.72 \text{ \% día}^{-1}$ ) a lo observado en los otros tratamientos. Se concluyó, que la causa de no observar diferencias significativas en los índices biológicos, pudo deberse a la elevada cantidad de soya y sus efectos anti nutricionales, enmascarando el efecto positivo de la metionina a pesar de contar con los requerimientos nutricionales del camarón.

En el segundo experimento se formularon cuatro dietas distintas isolipídicas (9 %) para alimentar *L. vannamei* ( $1.88 \pm 0.48$  g) donde el porcentaje de proteína fue aumentando (22.7, 30, 37.8 y 45.1 %). Después de 36 días de alimentación no se observaron diferencias significativas en los índices biológicos. La tasa de crecimiento específico no mostró diferencias significativas pero el valor de la dieta T41 ( $1.97 \text{ \% día}^{-1}$ ) fue mayor que las otras dietas (T20: 1.51; T34: 1.34; T37:  $1.64 \text{ \% día}^{-1}$ ). Las dietas se formularon con harina de pescado para poder observar el concentrado proteico y su efecto sobre el crecimiento. Sin embargo, al haberse formulado isolipídicas, se concluye que probablemente el porcentaje de lípidos pudo influir el consumo de alimento y por ende, el crecimiento.

En el tercer experimento se estudió el efecto de la arginina a altas temperaturas de la normal de 28 °C. Con este objetivo, se formularon cuatro dietas isoprotéicas (38 %) e isolipídicas (9 %) con distintas cantidades de arginina en cada tratamiento (0, 0.5, 1 y 1.5%) para alimentar camarones de  $14.08 \pm 0.27$  g promedio. Los camarones en grupos en triplicado fueron alimentados durante 36 días con una temperatura de 32 °C. Al término de la experimentación, no se encontraron diferencias significativas en crecimiento, ni supervivencia, aunque los tratamientos T0 (40 %) y T1.5 (56.67 %) se pudo observar que el tratamiento con mayor cantidad de arginina tuvo una mayor tasa de supervivencia. Se concluye que es posible que los camarones tengan cierta resistencia las variaciones de temperatura en periodo corto de tiempo y se recomienda un estudio a largo plazo.

Por otro lado, cabe resaltar que en cada uno de los tres experimentos realizados no se pudo analizar la expresión de los genes de estrés. En conclusión, se recomienda analizar la expresión génica de las muestras para determinar y corroborar las causas de las faltas de diferencias significativas en los experimentos y sus tratamientos.

## LISTA DE CUADROS

Cuadro I.....	14
Cuadro II.....	16
Cuadro III.....	18
Cuadro IV.....	19
Cuadro V.....	19
Cuadro VI.....	24
Cuadro VII.....	26
Cuadro VIII.....	29
Cuadro IX.....	30
Cuadro X.....	30
Cuadro XI.....	35
Cuadro XII.....	37
Cuadro XIII.....	40
Cuadro XIV.....	41
Cuadro XV.....	41

## 1. INTRODUCCIÓN

El camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei* es una de las especies de acuicultura marina más importantes desde el punto de vista de volumen y valor económico. Desempeña un papel importante en el cumplimiento de producción y consumo de proteínas animales de alta calidad. México es el segundo mayor productor mundial de camarón en América Latina (COMEPESCA, 2018). En 2021 la producción de camarón se estimó en 227 mil toneladas métricas (3.7% más que el 2020), en donde el 78% correspondió a producción acuícola (Veterinaria Digital, 2022). Para sostener e incrementar su producción, altas cantidades de proteína son necesarias para la elaboración de sus alimentos. Sin embargo, para lograr la sostenibilidad de su producción, deberán buscarse ingredientes, que no sólo compitan con el consumo humano, sino que sean amigables con el medio ambiente. Como ejemplo, está la harina de pescado, la cual en su mayoría proviene de peces pelágicos pequeños, erróneamente llamados forrajeros. Entre éstos, se encuentra la sardina, anchoveta, capelin, entre otros. A pesar de que su utilización en dietas ha sido disminuida de manera drástica, aún cerca de un 15 % de la razón alimenticia la conforma la harina de pescado (Luna *et al.*, 2019).

Para la elaboración de harina de pescado, considerando el contenido de agua del organismo, se necesitan de cuatro a cinco toneladas de pescado fresco para producir una tonelada de harina de pescado (FAO, 2018). Razón por la cual la producción de camarón es insostenible si la sardina es incorporada en su dieta. Sin embargo, muchos esfuerzos se han hecho para elaborar dietas sin harina de pescado utilizando ingredientes no tradicionales. Para que esto ocurra es importante conocer la fisiología del crecimiento del camarón, de tal manera que podamos formular con mayor precisión sus dietas. Además, se espera que el consumo de camarón continúe

umentando, por lo que es de vital importancia desarrollar ingredientes alternativos sostenibles para sus dietas, así como conocer a fondo su fisiología de crecimiento para apoyar la expansión de la industria del camarón (Achupallas *et al.*, 2016).

Durante la última década, se han realizado grandes esfuerzos para mejorar los atributos económicos clave, incluidos las características de crecimiento y la resistencia a las enfermedades (Argue *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2011; Andriantahina *et al.*, 2013). Entre estas características, el crecimiento es siempre el foco de los criadores porque contribuye directamente a la producción de camarón. A mayor crecimiento, menor tiempo en el estanque, menor gasto en personal y mano de obra.

Desde un punto de vista nutricional, la popularidad del camarón blanco del Pacífico se debe a su adaptabilidad a una variedad de dietas, tolerancia a alimentos de origen vegetal y capacidad para utilizar la productividad natural, dependiendo del sistema de producción. Actualmente, una mezcla de proteínas vegetales más baratas y de alta calidad (p. ej., harina de soya extraída con disolventes, proteína de soya especializada, concentrado de proteína de maíz solubles de grano de destilería, harina de chícharo, entre otros), o fuentes de proteínas animales terrestres (p. ej., harinas de subproductos avícolas, de hueso y sangre) para reemplazar con éxito la harina de pescado en alimentos para camarones sin comprometer el crecimiento o la supervivencia (Sookying *et al.*, 2013).

La proteína es el componente más importante de cualquier célula viviente, es esencial en el núcleo celular por lo que forma el grueso del tejido muscular, órganos internos, cerebro, piel, etc. Son compuestos orgánicos que cuentan en su estructura básica normalmente de carbono, hidrógeno y oxígeno, además una de sus principales funciones es que se suministra al organismo mediante la dieta y puede ser catabolizada, lo cual permite su aprovechamiento como fuente de energía. La



importancia de la formulación proteica ideal se entiende como al estudio de una dieta donde se tenga la máxima retención proteica y todos los aminoácidos son igualmente limitantes para el rendimiento del crecimiento (Aguillón *et al.*, 2020).

Los aminoácidos se consideran importantes en los procesos de regulación de genes, el mantenimiento de la homeostasis y el metabolismo de nutrientes. Por lo anterior, la investigación en identificar la esencialidad de algunos aminoácidos influye en el estudio de la formulación de proteína ideal. Por lo general, se utilizan técnicas para la medición de los niveles de expresión de los genes para poder estudiar de mejor forma las rutas metabólicas ya que en organismos acuáticos, según Kaushik y Seilez (2010), aún no hay una distinción clara entre los aminoácidos necesarios para el mantenimiento o crecimiento.

Uno de los principales aminoácidos esenciales en la nutrición de los peces es la metionina ya que se le conoce por su papel en el metabolismo de los lípidos (Oda, 2006) y su participación en la síntesis de compuestos como la taurina y otros procesos fisiológicos clave. La restricción de metionina en las dietas ha demostrado una disminución en la deposición de ácidos grasos en el hígado y tejidos en varias especies como ratas, cerdos y humanos (Zhou *et al.*, 2016). La metionina es generalmente el primer aminoácido esencial limitante ya que se ha observado una reducción en el rendimiento del crecimiento y utilización del alimento en varias especies de peces alimentadas con dietas deficientes de este aminoácido (Liao *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2016). Se ha reportado (Torres-Velarde *et al.*, 2018) que se han diseñado experimentos para medir el crecimiento variando los niveles de metionina, entre ellos destacan la expresión del factor de crecimiento de la insulina 1 (IGF1) para mostrar la estimulación del crecimiento, mientras que el receptor de rapamicina (mTor) se reporta como coordinador del crecimiento (Vélez *et al.*, 2017).

Para la nutrición acuícola siempre ha sido importante obtener una mezcla de ingredientes balanceados nutricionalmente para lograr una buena calidad de carne y salud en los cultivos a un costo razonable. Sin embargo, el crecimiento depende de varios factores, como la calidad de los ingredientes de la dieta formulada, capacidad de digerir el alimento (digestibilidad), que los nutrientes absorbidos sean conducidos con eficiencia a funciones del crecimiento. Sin embargo, si un cultivo está amenazado por factores de estrés ambiental, parte de esa energía dedicada al crecimiento será derivada al sistema inmune y de defensa, el cual será priorizado en vez del crecimiento.

Por lo anterior, el presente trabajo pretende utilizar la metionina, proteína y arginina para delinear la relación de los procesos metabólicos a distintos niveles de alimentación, desde la subalimentación hasta la sobre alimentación utilizando al *Litopenaeus vannamei* como modelo de estudio.

### *Objetivo general*

Explicar la fisiología del crecimiento a nivel molecular en el camarón, *Litopenaeus vannamei* utilizando a la metionina, proteína y la arginina a distintos niveles de concentración en las dietas formuladas.

### *Objetivos específicos*

- Analizar el desempeño del camarón blanco utilizando distintos niveles de metionina, desde la subalimentación hasta el exceso.
- Estudiar la diferencia de crecimiento y rendimiento del camarón blanco alimentado con cuatro distintos niveles de proteína.
- Observar el efecto de la arginina en el camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, expuesto a distintas temperaturas.

## 2. CAPÍTULO I

### EFFECTO DE LA METIONINA SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CAMARÓN

#### *Litopenaeus vannamei*

### 2.1 HIPÓTESIS

La concentración de 1% de metionina en la dieta resultará en un mayor crecimiento y desempeño, mientras que en la dieta con un porcentaje menor tendrá una reducción en crecimiento y desempeño en el camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*.

### 2.2 MATERIALES Y MÉTODOLÓGÍA

#### 2.2.1 Preparación de alimento y análisis

Se formularon cuatro dietas isoprotéicas e isolipídicas (Cuadro I), en donde el porcentaje de metionina fue aumentando, con un contenido de proteína cruda (PC) de 40 % y 9 % de lípidos crudos (CL) para camarones con una talla < 1 g de peso. La cantidad de proteína a ofrecer fue ligeramente inferior al recomendado para la talla, para asegurar que la proteína no estuviera en exceso y los niveles de metionina pudieran ser detectados con facilidad por los organismos. Todos los alimentos experimentales fueron elaborados en el Laboratorio de Nutrición y Fisiología Digestiva (Laboratorio FEED-AQUA, Universidad Autónoma de Baja California (UABC), Ensenada B.C., México).

Los macro ingredientes fueron pulverizados (Pulvex 2000) y tamizados para ser mezclados en el cortador/mezclador vertical (Kemutek-Gardner K300) hasta obtener una masa homogénea. Los micro ingredientes se mezclaron y fueron incorporados a la mezcla junto con los ingredientes líquidos (gelatina y aceites), se

mezclaron hasta lograr la textura deseada. Las dietas se granularon usando un molinillo de alimentos de grado comercial (Robot Coupe R-60) y se secaron a temperatura ambiente hasta que se alcance >90 % de humedad y se almacenaron en refrigeración a 4°C.

**Cuadro I.** Composición teórica de las dietas según el tratamiento, con diferentes porcentajes de metionina

Ingredientes	Dieta T1	Dieta T2	Dieta T3	Dieta T4
Harina de Soya 42%	40	40	40	40
Harina de carne y hueso de res	10	10	10	10
Harina de ave 65%	10	10	10	10
Aceite de pescado	2.5	2.5	2.5	2.5
Aceite de soya	2.5	2.5	2.5	2.5
Proplex	3	3	3	3
Gluten de maiz	1	1	1	1
Stay C	0.1	0.1	0.1	0.1
Rovimix	1.5	1.5	1.5	1.5
Feed 77	3	3	3	3
Colesterol	0.2	0.2	0.2	0.2
Benzoato de sodio	0.1	0.1	0.1	0.1
Gelatina	6	6	6	6
Fosfolípidos	1	1	1	1
Maicena	17	16.6	16.2	15.9
BHT	0.1	0.1	0.1	0.1
Taurina	1	1	1	1
Lisina	1	1	1	1
<b>Metionina</b>		<b>0.4</b>	<b>0.8</b>	<b>1.12</b>
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Composición proximal (% de materia seca)</b>				
Proteína cruda (%)	40.07	40.07	40.07	40.07
Lípidos (%)	9.13	9.13	9.13	9.13
<b>Perfil de aminoácidos (%)</b>				
Metionina	0.28	0.68	1.08	1.40
Metionina+Cisteina	0.42	0.42	0.42	0.42
Cisteina	0.19	0.19	0.19	0.19
Lisina	2.00	1.01	1.01	1.01
Taurina	1.00	1.00	1.00	1.00
Treonina	0.63	0.63	0.63	0.63
Valina	0.82	0.82	0.82	0.82
Arginina	1.30	1.30	1.30	1.30
Triptófano	0.14	0.14	0.14	0.14
Isoleucina	0.64	0.64	0.64	0.64
Leucina	1.15	1.15	1.15	1.15
Fenilalanina	0.70	0.70	0.70	0.70
Tirosina	0.42	0.42	0.42	0.42

Harina de soya COLPAX SA de CV (42% PC); Harina de carne y hueso de res Scoular USA; Harina de ave de NRA, México (65% PC); Aceite de sardina de Guaymas; Aceite de soya Kirkland; Proplex Subproducto de levadura, donado por ADM de México; Gluten de maíz de Ingredion; Stay C, vitamina C de DSM; ROVIMIX, mezcla de vitaminas y minerales de DSM; Feed 77, subproducto de levadura con 77% de proteína; Colesterol de Mitsui & CO.; Benzoato de sodio de Future Foods SA de CV; Gelatina de grado comercial con 85% de PC; Fosfolípidos de Future Foods SA de CV; Maicena de Ingredion; BHT de Future Foods SA de CV; Taurina de Future Foods SA de CV; Lisina de Future Foods SA de CV; Metionina de Future Foods SA de CV

### 2.2.2 Diseño experimental y prueba de alimentación

Se prepararon 12 estanques de 500 L cada uno, conectados en un sistema de recirculación con un biofiltro (POLYGEYSER® DF-3, PG 6000), utilizando piedras aireadoras en cada uno de los estanques. Los camarones (*L. vannamei*) se distribuyeron aleatoriamente, 25 camarones en cada estanque, con un peso promedio de 1.48 g. Los camarones fueron obtenidos de un laboratorio comercial (FitMar, Mazatlán, Sinaloa, México). Se aclimataron con una microdieta hecha en el laboratorio (50 % de PC y 11 % de lípidos) durante cuatro semanas. Cada dieta se ofreció en una distribución al azar por triplicado (Cuadro II). El tratamiento T1 (Control negativo) donde no se agregó un porcentaje de metionina, T2B (baja metionina); T3M (medio en metionina) y T4A (alto en metionina).

Se dividieron los 12 estanques al azar por triplicado, para alimentarlos con las dietas de acuerdo con su peso (6-8 %) Se utilizaron tablas de alimentación para definir el porcentaje de alimento diario, el cual fue dividido entre 4 a 3 raciones diarias dependiendo de la talla. Cada dos semanas se hizo una biometría parcial tomando un número de organismos para ajustar la ración alimenticia de acuerdo las tablas de alimentación respecto a su biomasa.

Los niveles de oxígeno, salinidad y temperatura de los estanques se midieron diariamente (YSI-55, YSI Inc., Yellow Springs, OH, USA). Los niveles totales de nitritos y amonio se midieron dos veces por semana (API test kits, Mars Fishcare Inc., Chalfont, PA, USA). La temperatura se mantuvo a 28 °C, salinidad a 34-35 ppt y el nivel de oxígeno a 6-8 mg  $L^{-1}$ .

**Cuadro II.** Distribución de dietas por cada estanque, aleatoriamente.

TRATAMIENTO	ESTANQUES	TRATAMIENTO	ESTANQUES
	1		2
T1	4	T3	6
	8		10
	3		5
T2	7	T4	9
	11		12

### 2.2.3 Análisis proximal, extracción de lípidos

Todas las dietas experimentales, así mismo los tejidos, se analizaron por triplicado para confirmar la composición proximal. La humedad y las cenizas se determinaron gravimétricamente secando muestras molidas a 60 °C durante 24 horas y calentando la muestra molida en un horno de mufla a 550 °C durante 6 horas, respectivamente. La proteína cruda se determinó por el método de Kjeldahl (KJELDATHERM® / VAPODEST®). El contenido de lípidos se extrajo mediante el método de Soxhlet usando éter como disolvente de arrastre y luego se estimó gravimétricamente (AOAC, 1995).

### 2.2.4. Crecimiento y recolección de muestras

Después de ocho semanas de alimentación (56 días), se contaron los camarones y se pesaron por estanque para evaluar:

Tasa de crecimiento específico (TCE)

$$(1)TCE = \frac{\ln \text{Peso final} - \ln \text{Peso inicial}}{\text{Días}} * 100$$



### Coeficiente térmico de crecimiento (CTC)

Para calcular el coeficiente de crecimiento de unidades térmicas, se utilizó la siguiente fórmula con los datos obtenidos de las biometrías.

$$(2) CTC = 1000 * \frac{Peso\ final^{1/3} - Peso\ inicial^{1/3}}{\Sigma (días * °C)}$$

### Ganancia de peso (GP)

$$(3) \%GP = \left[ \frac{(Promedio\ peso\ final - Promedio\ peso\ inicial) * 100}{Promedio\ peso\ inicial} \right]$$

Los camarones se manipularon con cuidado para evitar el estrés excesivo. Se sacrificaron por hipotermia bajo el protocolo del laboratorio para evitar sufrimiento.

Los camarones fueron pesados para obtener los parámetros morfométricos:

### Índice hepatosomático (IHS)

$$(4) IHS = 100 * \left( \frac{Peso\ del\ hígado}{Peso\ corporal\ total} \right)$$

### 2.2.5 Análisis estadístico

Las pruebas estadísticas se realizaron con el programa STATISTICA® (StatSoft, Inc. USA), utilizando una prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía, con un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$ . En aquellos casos en que se encontraron diferencias significativas entre las medias se utilizó la prueba post hoc de Tukey.

## 2.3 RESULTADOS

Después de 56 días de experimentación, al realizarse un ANOVA se observó que no se obtuvieron diferencias significativas en peso final, así como tampoco en la TCE, CTC e IHS (Cuadro III). La TCE no mostró diferencias significativas pero se observó que el tratamiento con 0.68 % (T2) de metionina mostró un valor mayor (1.72 % día<sup>-1</sup>) a los demás tratamientos.

Con relación a la composición proximal del músculo del camarón (Cuadro V), no se observaron diferencias significativas y se reportaron valores de 83-85 % de PC y un 4.7% de LC.

**Cuadro III.** Índices biológicos de camarones alimentados con cuatro dietas distintas por 56 días (media  $\pm$  desviación estándar, DE). Valores en la misma fila con superíndice distinto fueron significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

Índices biológicos	Tratamientos				p
	D1	D2	D3	D4	
Peso inicial (g)	1.50 $\pm$ 0.10	1.45 $\pm$ 0.08	1.48 $\pm$ 0.05	1.48 $\pm$ 0.02	0.88
Peso final (g)	3.35 $\pm$ 0.13	3.55 $\pm$ 0.20	3.49 $\pm$ 0.14	3.32 $\pm$ 0.43	0.73
TCE (% día <sup>-1</sup> )	1.55 $\pm$ 0.19	1.72 $\pm$ 0.18	1.66 $\pm$ 0.11	1.58 $\pm$ 0.24	0.68
CTC	0.43 $\pm$ 0.05	0.49 $\pm$ 0.06	0.47 $\pm$ 0.04	0.44 $\pm$ 0.10	0.69
Ganancia de peso (g)	1.85 $\pm$ 0.21	2.10 $\pm$ 0.24	2.03 $\pm$ 0.16	1.90 $\pm$ 0.42	0.69
IHS	4.77 $\pm$ 0.59	4.76 $\pm$ 0.15	5.21 $\pm$ 0.30	4.71 $\pm$ 0.38	0.41

TCE=Tasa de crecimiento específico; CTC=Coeficiente térmico de crecimiento; IHS=índice hepatosomático.

**Cuadro IV.** Composición proximal (%) de las 4 dietas. Los valores representan la media $\pm$ DE.

	Tratamientos			
	D1	D2	D3	D4
Lípidos	8.83 $\pm$ 0.32	8.75 $\pm$ 0.67	8.71 $\pm$ 0.16	8.20 $\pm$ 0.01
Proteínas	41.22 $\pm$ 0.46	42.16 $\pm$ 0.06	43.23 $\pm$ 0.49	43.16 $\pm$ 0.31
Cenizas	9.76 $\pm$ 0.02	9.92 $\pm$ 0.01	9.69 $\pm$ 0.24	9.84 $\pm$ 0.04
Humedad	8.29 $\pm$ 0.07	9.38 $\pm$ 0.06	6.70 $\pm$ 0.05	3.87 $\pm$ 0.08

**Cuadro V.** Composición proximal (%) de los músculos de los camarones alimentados con las 4 dietas distintas. Los valores representan la media  $\pm$  DE. Valores en la misma fila con superíndice distinto fueron significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

	Tratamientos				<i>p</i>
	D1	D2	D3	D4	
Lípidos	4.76 $\pm$ 0.93	4.62 $\pm$ 0.76	4.74 $\pm$ 1.13	4.71 $\pm$ 0.87	0.94
Proteínas	83.58 $\pm$ 1.61	83.64 $\pm$ 0.93	84.44 $\pm$ 0.67	85.09 $\pm$ 0.33	0.23
Humedad	73.84 $\pm$ 0.88	73.47 $\pm$ 1.14	73.48 $\pm$ 1.39	73.04 $\pm$ 1.72	0.90

## 2.4 DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluó el efecto de distintos niveles de metionina total en dietas para camarón, desde un porcentaje mínimo hasta el exceso de acuerdo con trabajos publicados (Davis *et al.*, 2017). Las dietas acuícolas en la actualidad se formulan con poca harina de pescado (HP) debido al costo y baja disponibilidad. Como es bien sabido, las proteínas vegetales utilizadas generalmente para sustituir a la HP contienen bajos niveles de metionina, por lo que su sustitución es necesaria. Si bien un gran número de trabajos existen sobre el tema, el objetivo de la presente investigación era el poder determinar la fisiología del crecimiento. Sobre todo, en cuestión de la expresión de genes, aspecto que no pudo lograrse debido al tiempo y cuestiones fuera del control de esta tesis.

Sin embargo, al no observar diferencias significativas entre tratamientos (TCE: 0.68, CTC: 0.69, IHS: 0.41)), podría uno suponer que, aun contando con la posibilidad de haber contado con los análisis de la expresión génica, éstos podrían haber sido enmascarados. La razón por esta disparidad no puede ser atribuida a un error en el diseño experimental. Sin embargo, al haber diseñado las dietas con niveles bajos de metionina, se tuvo que recurrir a un elevado contenido de harina de soya, misma que pudo haber causado problemas inflamatorios. La dieta que calculó que tendría el nivel óptimo, fue la dieta con 1.08 % de metionina total en la dieta, correspondiendo a la tercera, y así poder elaborar otras tres dietas con porcentajes menores o mayores de metionina total (T1: 0.28 %, T2: 0.68 %, T3: 1.08 % y T4: 1.40 %) y con un porcentaje fijo de proteína y lípidos (PC: 40 % y LC: 9 %).

Divarkan *et al.* (2000), demostraron que la digestibilidad aparente de la proteína en la harina de soya es de al menos 89 % en *L. vannamei*, provee un equilibrio de aminoácidos adecuado y se considera una de las harinas más

adecuadas entre las proteínas vegetales, aunque es baja en metionina, Forster *et al.* (2002), realizaron 2 ensayos donde se encontró que el concentrado de proteína de soya (CPS) podía reemplazar hasta el 75 % de la HP, aunque la suplementación con metionina mejoró el rendimiento general de los camarones al 25 y 50 % de reemplazo de la HP y el resultado de este trabajo indica el alto valor nutricional del CPS.

Sin embargo, Suárez *et al.* (2009), demostraron una reducción del 80 % en la utilización de HP en las dietas de *L. vannamei* cuando se utilizaron HS y aceite de canola sin observar reducción del crecimiento. Por otro lado, Paripatananont *et al.* (2001), encontraron que el consumo de alimento por parte de los camarones no fue diferente a los niveles de sustitución de HP de 0.25 o 50 % por soya, pero disminuyó significativamente a niveles de sustitución de 75 y 100 %. Las ganancias de peso corporal de los camarones alimentados con dietas con 0.25 o 50 % de sustitución de HP fueron significativamente mejores que las dietas alimentadas con 75 o 100 % de sustitución de HP. Una sustitución del 100 % de HP por HS de la dieta tuvo un efecto negativo severo en la ganancia de peso corporal y llegaron a la conclusión de que una inclusión del 17.5 % de CPS en la dieta de *Penaeus monodon* puede respaldar el crecimiento normal de los camarones con el potencial de sustituir la HP.

Es importante mencionar que existen muchas presentaciones de HS lo cual resulta un tanto complejo la comparación directa entre las mismas. Por ejemplo, existe la pasta cruda de soya, la cual puede ofrecer el efecto más negativo en su inclusión, mientras que hay otras que aseguran la inactivación de componentes antinutricionales (factor antitrófico) (Elizalde, 2009). O bien, existen concentrados de soya que alcanzan el 65% de PC y aseguran no contener factores antinutricionales, o bien, los aislados de soya que alcanzan hasta el 85-90 % de PC e igualmente

ofrecen ser más inocuos. Sea el tipo que sea, su respuesta podrá variar, pero se siguen observando respuestas pobres en crecimiento (Dersjant-Li, 2002).

Lo que se observó en el presente trabajo, utilizando una harina de soya con calidad para consumo humano (COLPAC SA de CV), podría entonces estar relacionada con el efecto anti nutricional para el camarón. No obstante, el material genético está guardado para hacer los análisis requeridos una vez que el laboratorio esté en condiciones de continuar con esta parte final.

En el presente capítulo se concluye, que, si bien la metionina tiene un efecto positivo en el crecimiento, la elevada cantidad de soya y sus efectos anti nutricionales pudieron haber enmascarado el efecto mismo de la inclusión de metionina a pesar de contar con todas las características deseables para un buen crecimiento de acuerdo con el resto de los aminoácidos presentes.

### 3. CAPÍTULO II

## EFFECTO DE LA CANTIDAD DE PROTEÍNA EN LA DIETA SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei*

### 3.1 HIPÓTESIS

A medida de que se incremente la proteína, será mayor el crecimiento y desempeño del camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*.

### 3.2 MATERIALES Y METODOLOGÍA

#### 3.2.1 Preparación de alimento y análisis

Se formularon cuatro dietas distintas isolipídicas (Cuadro VI), en donde el porcentaje de proteína fue aumentando, las dietas se formularon con 20, 34, 37 y 41 % de proteína cruda (CP) y 9 % de lípidos crudos (CL) para camarones con una talla < 1 g de peso. Todos los alimentos experimentales fueron elaborados en el Laboratorio de Nutrición y Fisiología Digestiva (Laboratorio FEED-AQUA, Universidad Autónoma de Baja California (UABC), Ensenada B.C., México).

Los macro ingredientes se pulverizaron y tamizaron (Pulvex 2000, Kemutek-Gardner K300). Se mezclaron en el cortador/mezclador vertical hasta que se obtuvo una masa homogénea. Los micro ingredientes se mezclaron y fueron incorporados a la mezcla junto con los ingredientes líquidos (gelatina y aceites), se mezclaron hasta lograr la textura deseada. Las dietas se granularon usando un molinillo de alimentos de grado comercial (Robot Coupe R-60) y se secaron a temperatura ambiente hasta que se alcanzara >90% de humedad.

**Cuadro VI.** Composición de las dietas según el tratamiento, con el aumento del porcentaje de proteína

Ingredientes	Dieta T20	Dieta T34	Dieta T37	Dieta T41
Harina de Soya 42%	7	7	7	7
Harina de pescado 67%	11	22	32	45
Aceite de pescado	7.3	6.5	5.9	5.2
Harina blanca de trigo	30	30	30	30
Stay C	0.1	0.1	0.1	0.1
Rovimix	1.5	1.5	1.5	1.5
Feed 77	3	3	3	3
Colesterol	0.2	0.2	0.2	0.2
Benzoato de sodio	0.1	0.1	0.1	0.1
Gelatina	6	6	6	6
Fosfolípidos	1	1	1	1
Maicena cruda	14.8	4.6	-	-
Maicena cosida	17	17	17	17
BHT	0.1	0.1	0.1	0.1
Taurina	1	1	1	1
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Composición proximal (% de materia seca)</b>				
<b>Proteína cruda (%)</b>	<b>20.47</b>	<b>34.06</b>	<b>37.84</b>	<b>41.55</b>
Lípidos (%)	9.73	9.70	9.72	9.73
<b>Perfil de aminoácidos (%)</b>				
Metionina	0.21	0.26	0.35	0.47
Metionina+Cisteina	0.04	0.04	0.04	0.04
Cisteina	0.06	0.09	0.12	0.15
Lisina	0.61	0.88	1.13	1.45
Taurina	1.02	1.04	1.06	1.09
Treonina	0.35	0.51	0.66	0.84
Valina	0.45	0.65	0.83	1.05
Arginina	0.78	1.05	1.30	1.60
Triptófano	0.07	0.11	0.15	0.19
Isoleucina	0.32	0.47	0.60	0.77
Leucina	0.61	0.88	1.12	1.42
Fenilalanina	0.36	0.50	0.63	0.79
Tirosina	0.21	0.33	0.43	0.57

Harina de soya COLPAX SA de CV (42% PC); Harina de sardina ED&F MAN (67% PC); Aceite de sardina de Guaymas; Harina blanca de trigo de Molinera del Valle SA de CV; Proplex Subproducto de levadura, donado por ADM de México; Gluten de maíz de Ingredion; Stay C, vitamina C de DSM; ROVIMIX, mezcla de vitaminas y minerales de DSM; Feed 77, subproducto de levadura con 77% de proteína; Colesterol de Mitsui & CO.; Benzoato de sodio de Future Foods SA de CV; Gelatina de grado comercial con 85% de PC; Fosfolípidos de Future Foods SA de CV; Maicena de Ingredion; BHT de Future Foods SA de CV; Taurina de Future Foods SA de CV.



### 3.2.2 Diseño experimental y prueba de alimentación

Se prepararon 12 estanques de 500 L cada uno, conectados en un sistema de biofiltro (POLYGEYSER® DF-3, PG 6000), utilizando piedras aireadoras en cada uno de los estanques. Los camarones (*L. vannamei*) se distribuyeron aleatoriamente 11 camarones en cada estanque, con un peso promedio de 1.88 g. Los camarones fueron obtenidos de un laboratorio comercial (FitMar, Mazatlán, Sinaloa, México). Se aclimataron con una microdieta hecha en el laboratorio (50% de PC y 11% de lípidos) durante cuatro semanas. Cada dieta se ofreció cuatro veces al día de acuerdo al porcentaje de peso de los individuos (6-8%) siguiendo una tabla de alimentación comercial. El tratamiento T1 con un 20.47% de proteína, el T2 con 34.06%, T3 con 37.84 y por último T4 con 41.55% de proteína.

Los tratamientos se distribuyeron al azar en donde cada tratamiento se realizó por triplicado (Cuadro VII). Cada dos semanas se hizo una biometría parcial tomando un número de organismos para ajustar la ración alimenticia de acuerdo las tablas de alimentación respecto a su biomasa.

Los niveles de oxígeno, salinidad y temperatura de los estanques se midieron diariamente (YSI-55, YSI Inc., Yellow Springs, OH, USA). Los niveles totales de nitritos y amonio se midieron dos veces por semana (API test kits, Mars Fishcare Inc., Chalfont, PA, USA). La temperatura se mantuvo a 28 °C, salinidad a 34-35 ppt y el nivel de oxígeno a 6-8 mg \*L<sup>-1</sup>.

**Cuadro VII.** Distribución de dietas por cada estanque, aleatoriamente.

TRATAMIENTO	ESTANQUES	TRATAMIENTO	ESTANQUES
	2		3
T1	7	T3	6
	11		8
	1		4
T2	5	T4	9
	10		12

### 3.2.3. Análisis proximal y extracción de lípidos

Todas las dietas experimentales y tejidos corporales se analizaron por triplicado para confirmar la composición proximal. La humedad y cenizas se determinaron gravimétricamente secando muestras molidas a 60 °C durante 24 horas o bien en un horno de mufla a 550 °C durante 6 horas, respectivamente. La proteína cruda se analizó por el método de Kjeldahl (KJELDATHERM® / VAPODEST®). El contenido de lípidos se extrajo mediante el método de Soxhlet usando éter como disolvente de arrastre y luego se midió gravimétricamente (AOAC, 1995)..

### 3.2.4. Crecimiento, recolección de muestras y análisis

Después de ocho semanas de alimentación (56 días), se contaron los camarones y se pesaron individualmente por estanque para evaluar:

Tasa de crecimiento específico (TCE)

$$(1)TCE = \frac{\ln \text{Peso final} - \ln \text{Peso inicial}}{\text{Días}} * 100$$

Coeficiente térmico de crecimiento (CTC)

Para calcular el coeficiente de crecimiento de unidades térmicas, se utilizó la siguiente fórmula con los datos obtenidos de las biometrías.

$$(2) CTC = 1000 * \frac{\text{Peso final}^{1/3} - \text{Peso inicial}^{1/3}}{\Sigma (\text{días} * ^\circ C)}$$

Ganancia de peso (GP)

$$(3)\% GP = \left[ \frac{(\text{Promedio peso final} - \text{Promedio peso inicial}) * 100}{\text{Promedio peso inicial}} \right]$$

Tasa de supervivencia (TS)

$$(4) TS = 100 * \frac{\text{Cantidad final de camarones}}{\text{Cantidad inicial de camarones}}$$

Los camarones se manipularon con cuidado para evitar el estrés excesivo. Se sacrificaron por hipotermia bajo el protocolo del laboratorio para evitar sufrimiento.

Índice hepatosomático (IHS)

$$(5) IHS = 100 * \left( \frac{\text{Peso del hígado}}{\text{Peso corporal total}} \right)$$

### **3.2.5 Análisis estadístico**

Las pruebas estadísticas se realizarán con el programa STATISTICA® (StatSoft, Inc. USA), utilizando una prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía, con un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$ . En aquellos casos en que se encuentren diferencias significativas entre las medias se utilizará la prueba post hoc de Tukey.

### 3.3 RESULTADOS

Al finalizar el experimento (36 días) los índices biológicos de los camarones son mostrados en el Cuadro IX. Los resultados muestran que no se observaron diferencias significativas entre tratamientos en ninguno de los índices. Sin embargo, existe una diferencia numérica en la TCE entre el tratamiento T20 (1.51 % día<sup>-1</sup>) y T41 (1.97 % día<sup>-1</sup>) pero estadísticamente no hubo diferencia aunque el valor del T41 fue mayor que todos los tratamientos.

Los proximales del músculo mostraron ser similares entre tratamientos (Cuadro XI), los valores de proteína fueron constantes 80-81 % entre las cuatro dietas.

**Cuadro VIII.** Índices biológicos (individuales) de camarones alimentados con cuatro dietas distintas por 36 días (media ± DE). Valores en la misma fila con superíndice distinto fueron significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

Índices biológicos	Tratamientos				p
	Dieta T20	Dieta T34	Dieta T37	Dieta T41	
Peso inicial (g)	1.86±0.06	1.90±0.05	1.91±0.05	1.85±0.04	0.46
Peso final (g)	3.21±0.27	3.07±0.05	3.46±0.17	3.86±0.66	0.15
TCE (% día <sup>-1</sup> )	1.51±0.19	1.34±0.04	1.64±0.07	1.97±0.05	0.10
CTC	0.05±0.01	0.04±0.00	0.05±0.00	0.07±0.02	0.12
Ganancia de peso (g)	1.35±0.23	1.17±0.02	1.54±0.12	1.96±0.67	0.12
TS %	100±0	93.94±10.50	90.91±9.09	93.94±10.50	0.54
IHS	3.59±0.59	4.94±1.54	4.14±0.80	4.46±0.25	0.39

TCE=Tasa de crecimiento específico; CTC=Coeficiente térmico de crecimiento;  
IHS=índice hepatosomático; TS: Tasa de supervivencia.

**Tabla IX.** Composición proximal (%) de las 4 dietas con distintos niveles de proteína utilizadas para alimentar camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Los valores representan la media  $\pm$  DE.

	Tratamientos			
	Dieta T20	Dieta T34	Dieta T37	Dieta T41
Lípidos	8.73 $\pm$ 0.57	9.02 $\pm$ 0.72	9.16 $\pm$ 0.41	9.49 $\pm$ 0.41
Proteínas	22.75 $\pm$ 0.44	29.96 $\pm$ 0.96	37.76 $\pm$ 0.57	45.12 $\pm$ 0.89
Cenizas	4.02 $\pm$ 0.20	5.70 $\pm$ 0.02	7.17 $\pm$ 0.04	8.95 $\pm$ 0.01
Humedad	3.44 $\pm$ 0.07	3.45 $\pm$ 0.20	4.64 $\pm$ 0.04	3.13 $\pm$ 0.02

**Cuadro X.** Composición proximal (%) del músculo de los camarones alimentados con los cuatro tratamientos. Los valores representan la media  $\pm$  DE. Valores en la misma fila con superíndice distinto fueron significativamente diferentes ( $P < 0.05$ )

	Tratamientos				<b>p</b>
	Dieta T20	Dieta T34	Dieta T37	Dieta T41	
Lípidos	4.18 $\pm$ 0.55	3.27 $\pm$ 0.83	3.09 $\pm$ 0.37	5.49 $\pm$ 0.19	0.07
Proteínas	80.20 $\pm$ 0.70	81.86 $\pm$ 0.60	81.99 $\pm$ 0.22	81.20 $\pm$ 0.69	0.43
Humedad	77.02 $\pm$ 0.52	76.39 $\pm$ 1.78	72.60 $\pm$ 0.12	79.29 $\pm$ 0.36	0.45

### 3.4 DISCUSIÓN

En el segundo experimento se analizó el efecto de distintos niveles de proteína total en dietas para camarón, se estudió el efecto de cuatro dietas que resultaron contener 22.7, 30, 37.8 y 45.1% de PC siendo T20, T34, T37 y T41, respectivamente. A diferencia del experimento anterior con distintos niveles de metionina, estas dietas estuvieron formuladas con harina de pescado. Ya que el objetivo de este trabajo era el observar el concentrado proteico y su efecto sobre el crecimiento, es posible que la cantidad de lípidos, que permaneció constante hubiera influido en la respuesta del crecimiento. Es decir, si se considera la relación proteína energía, esta se vio de alguna manera alterada. Se sabe que la relación energía proteína puede tener consecuencias en la saciedad (González-Jiménez *et al.*, 2016). Ya que los organismos consumen el alimento para saciar sus requerimientos energéticos, más que saciar sus requerimientos por nutriente (Siccardi III *et al.*, 2006). La dieta con mayor cantidad de proteína obtuvo un 9.5% de lípidos, lo cual pudo interferir en el desarrollo del camarón al limitar el consumo y aprovechamiento de la dieta. Por otro lado, es importante señalar que, en dietas para organismos acuáticos, la estimación exacta de alimento es complicada. Este experimento se llevó a cabo en estanques de 500L en donde resulta complicado observar el consumo de alimento de los camarones.

Estas dietas fueron formuladas con ingredientes característicos de la industria alimenticia. Sin embargo, en esta ocasión, se puso un nivel bajo de soya (7%), harina blanca de trigo y los ingredientes que variaron fueron la harina de pescado y el aceite de pescado para poder aumentar la proteína y que el porcentaje de lípidos quedara constante en los cuatro tratamientos.

El estudio de los requerimientos de proteína en camarón es algo que se ha investigado desde hace tiempo e inicialmente se proponía que los camarones podían crecer bien cuando se alimentaban con dietas con un 20% de proteína (Lawrence *et al.*, 1998). Otros investigadores demostraron que se necesitaba un mayor requerimiento de proteínas en los camarones de un 27% y un 60%, dependiendo de la especie (Allan & Smith, 1998). Rosas *et al.* (2001), concluyeron que *L. vannamei*, al igual que otras especies de camarones, pueden utilizar preferentemente proteínas como sustratos metabólicos, lo que a su vez podría limitar la reducción real de los niveles de proteína dietética en un cultivo y sugieren que los cambios en el crecimiento y la supervivencia son útiles indicadores de estrés en condiciones de cultivo a largo plazo. Sin embargo, es preferible una prueba conveniente y confiable a corto plazo para evaluar la condición fisiológica de los camarones cultivados y detectar el efecto de un estrés subletal.

Lee *et al.* (2018), formularon seis dietas experimentales para incluir niveles crecientes de proteínas de 25, 30, 35, 40, 45 y 50% y encontraron que el nivel dietético óptimo de proteína cruda es entre 35.6 y 32.2% para camarones blancos del Pacífico *Litopenaeus vannamei*, de tamaño pequeño, y grande (etapas juveniles, subadulto y adulto), respectivamente. Es por esto por lo que se escogieron cuatro niveles de proteína para que fuera un mínimo fuera de este intervalo y los otros tres tratamientos con niveles dentro del intervalo para así analizar y comparar el desempeño de los camarones. Al finalizar el experimento no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, las dietas fueron formuladas para poder encontrar una diferencia en crecimiento ya que la dieta T1 (22.75%) tenía un porcentaje menor a lo recomendado.



Se concluye en este capítulo que probablemente la alta cantidad de lípidos en las dietas pudiera haber afectado el consumo y, por ende, limitado de alguna manera el crecimiento de los juveniles. De igual manera, se recomienda analizar la expresión génica de las muestras para ver si de alguna manera corroborar las causas de la falta de diferencias significativas.

## 4. CAPÍTULO III

### EFECTO DE LA ARGININA Y SU RESISTENCIA A DISTINTAS TEMPERATURAS

#### 4.1 HIPÓTESIS

A mayor cantidad de arginina, mayor será la resistencia a las altas temperaturas en el sistema de producción del camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*.

#### 4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

##### 4.2.1 Preparación de alimento y análisis

Se formularon cuatro dietas distintas isoprotéicas e isolipídicas pero con diferente cantidad de arginina en la dieta (Cuadro XIII). Las dietas fueron formuladas a un 38% de proteína cruda (CP) y 9% de lípidos crudos (CL). Todos los alimentos experimentales fueron elaborados en el Laboratorio de Nutrición y Fisiología Digestiva (Laboratorio FEED-AQUA, Universidad Autónoma de Baja California (UABC), Ensenada B.C., México).

Los macro ingredientes fueron pulverizados y tamizados para ser mezclados en el cortador/mezclador vertical hasta que se obtuvo una masa homogénea. Los micro ingredientes se mezclaron y fueron incorporados a la mezcla junto con los ingredientes líquidos (gelatina y aceites), se mezclaron hasta lograr la textura deseada. Las dietas se formaron en un molino de carne (Tor-y-Rey) y se cortaron con un molino de alimentos de grado comercial (Robocoup). Una vez formadas las dietas se secaron a temperatura ambiente hasta que se alcanzó >90% de humedad.

**Cuadro XI.** Composición de las dietas según el tratamiento, con el aumento del porcentaje de arginina agregado.

<b>Ingredientes</b>	<b>Dieta T0</b>	<b>Dieta T0.5</b>	<b>Dieta T1</b>	<b>Dieta T1.5</b>
Harina de Soya 42%	12	12	12	12
Harina de pescado 68%	24.95	24.95	24.95	24.95
Harina de ave 65%	18	18	18	18
Aceite de pescado	3	3	3	3
Harina blanca de trigo	6.20	6.20	6.20	6.20
Gluten de maíz	5	5	5	5
Stay C	0.10	0.10	0.10	0.10
ROVIMIX	2.50	2.50	2.50	2.50
Colesterol	0.3	0.3	0.3	0.3
Benzoato de sodio	0.1	0.1	0.1	0.1
Gelatina	7	7	7	7
Fosfolípidos	1	1	1	1
Maicena	19.84	19.34	18.84	18.34
BHT	0.01	0.01	0.01	0.01
Arginina	0	0.5	1	1.5
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Composición proximal (% de materia seca)</b>				
Proteína cruda (%)	43.08	43.08	43.08	43.08
Lípidos (%)	9.73	9.70	9.72	9.73
<b>Perfil de aminoácidos (%)</b>				
Metionina	0.49	0.49	0.49	0.49
Metionina+Cisteina	0.39	0.49	0.49	0.49
Cisteina	0.22	0.22	0.22	0.22
Lisina	1.40	1.40	1.40	1.40
Taurina	0.05	0.05	0.05	0.05
Treonina	0.90	0.90	0.90	0.90
Valina	1.10	1.10	1.10	1.10
Arginina	1.72	2.02	2.31	2.61
Triptófano	0.17	0.17	0.17	0.17
Isoleucina	0.87	0.87	0.87	0.87
Leucina	1.45	1.45	1.45	1.45
Fenilalanina	0.80	0.80	0.80	0.80
Tirosina	0.51	0.51	0.51	0.51

Harina de soya COLPAX SA de CV (42% PC); Harina de sardina ED&F MAN (67% PC); Harina de ave de NRA, México (65% PC); Aceite de sardina de Guaymas; Harina blanca de trigo de Molinera del Valle SA de CV; Proplex Subproducto de levadura, donado por ADM de México; Gluten de maíz de Ingredion; Stay C, vitamina C de DSM; ROVIMIX, mezcla de vitaminas y minerales de DSM; Feed 77, subproducto de levadura con 77% de proteína; Colesterol de Mitsui & CO.; Benzoato de sodio de Future Foods SA de CV; Gelatina de grado comercial con 85% de PC; Fosfolípidos de Future Foods SA de CV; Maicena de Ingredion; BHT de Future Foods SA de CV; Arginina de Future Foods SA de CV.

#### 4.2.2 Diseño experimental y prueba de alimentación

Se prepararon 12 estanques de 500 L cada uno, conectados en un sistema de biofiltro, utilizando piedras aireadoras en cada uno de los estanques. Los camarones blancos (*L. vannamei*) se distribuyeron aleatoriamente, 10 individuos por estanque, con un peso promedio de 14.08 g. Los camarones fueron obtenidos de un laboratorio comercial (Ajimar, Mazatlán, Sinaloa, México). Se aclimataron hasta llegar a la talla deseada antes de ser distribuidos. Cada dieta se ofreció en una distribución al azar por triplicado. El tratamiento T1 consistió en una dieta donde no se agregó un porcentaje de arginina, T2 se agregó 0.5%; T3 se agregó 1% y T4 se agregó un 1.5% de arginina a la dieta.

Los tratamientos se asignaron al azar entre los 12 estanques en triplicado. Los camarones se alimentaron utilizando unas tablas de alimentación, que de acuerdo a su peso (4-6%) y repartido en cuatro alimentaciones diarias (Cuadro XIV). Cada dos semanas se hizo una biometría parcial tomando un número de organismos para ajustar la ración alimenticia de acuerdo las tablas de alimentación respecto a su biomasa.

Con el fin de estudiar el efecto de la arginina sobre las altas temperaturas, los camarones fueron expuestos a la temperatura normal y después a altas temperaturas. La aclimatación se llevó a cabo a , iniciando a 28 °C. Después de 18 días, la temperatura se incrementó gradualmente hasta llegar a los 32 °C donde se mantuvo otros 18 días para observar el comportamiento de los camarones a altas temperaturas alimentados con distintos niveles de arginina.

Los niveles de oxígeno, salinidad y temperatura de los estanques se midieron diariamente (YSI-55, YSI Inc., Yellow Springs, OH, USA). Los niveles totales de

nitritos y amonio se midieron dos veces por semana (API test kits, Mars Fishcare Inc., Chalfont, PA, USA). La salinidad a 34-35 ppt y el nivel de oxígeno a 6-8 mg \*L<sup>-1</sup>.

**Cuadro XII.** Distribución de dietas por cada estanque, aleatoriamente.

DIETA	ESTANQUES	DIETA	ESTANQUES
	2		1
T1	5	T3	4
	12		9
	3		6
T2	7	T4	8
	10		11

#### 4.2.3 Análisis proximal

Todas las dietas experimentales y así mismo los tejidos se analizaron por triplicado para confirmar la composición proximal; la humedad y las cenizas se determinaron gravimétricamente secando muestras molidas a 60 °C durante 24 horas y calentando la muestra molida en un horno de mufla a 550 °C durante 6 horas, respectivamente. La proteína cruda se analizó por el método de Kjeldahl (KJELDATHERM® / VAPODEST®). El contenido de lípidos se estimó mediante el método de Soxhlet usando éter como disolvente de arrastre y luego se midió gravimétricamente.

#### 4.2.4. Crecimiento, recolección de muestras y análisis

Después de ocho semanas de alimentación (31 días), se contaron los camarones y se pesaron por estanque para evaluar:

Tasa de crecimiento específico (TCE)

$$(1) TCE = \frac{\ln \text{Peso final} - \ln \text{Peso inicial}}{\text{Días}} * 100$$

Coefficiente térmico de crecimiento (CTC)

Para calcular el coeficiente de crecimiento de unidades termales, se utilizó la siguiente fórmula con los datos obtenidos de las biometrías.

$$(2) CTC = 1000 * \frac{\text{Peso final}^{1/3} - \text{Peso inicial}^{1/3}}{\Sigma (\text{días} * ^\circ C)}$$

Ganancia de peso (GP)

$$(3) \%GP = \left[ \frac{(\text{Promedio peso final} - \text{Promedio peso inicial}) * 100}{\text{Promedio peso inicial}} \right]$$

Tasa de supervivencia (TS)

$$(4) TS = 100 * \frac{\text{Cantidad final de camarones}}{\text{Cantidad inicial de camarones}}$$

Índice hepatosomático

$$(5) IHS = 100 * \left( \frac{\text{Peso del hígado}}{\text{Peso corporal total}} \right)$$

#### **4.2.5. Análisis estadístico**

Las pruebas estadísticas se realizaron con el programa STATISTICA® (StatSoft, Inc. USA), utilizando una prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía, con un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$ . En aquellos casos en que se encontraron diferencias significativas entre las medias se utilizó la prueba post hoc de Tukey.

### 4.3 RESULTADOS

Después de 36 días de alimentar a los camarones con las cuatro dietas con distintos niveles de arginina (0, 0.5, 1 y 1.5%), no se observaron diferencias significativas en los índices biológicos (Cuadro XIV). En especial en la TCE y TS. El tratamiento T0 obtuvo el valor más alto de la TCE (0.79 % día<sup>-1</sup>) seguido por el tratamiento T1.5 con el valor de 0.77% día<sup>-1</sup>. En cuanto a la supervivencia, no se observaron diferencias significativas, pero se pudo observar que el T1 y T1.5 fueron los que obtuvieron valores más altos.

Al realizar los análisis proximales del músculo, no se observaron diferencias significativas en proteína o lípidos. Sin embargo, se observaron niveles altos de proteína en músculo de tratamientos T0.5 y T1.5 (Cuadro XVI).

**Cuadro XIII.** Índices biológicos de camarones alimentados con cuatro dietas distintas por 36 días (media ± desviación estándar). Valores en la misma fila con superíndice distinto fueron significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

Índices biológicos	Tratamientos				p
	T0	T0.5	T1	T1.5	
Peso inicial (g)	12.50±0.43	12.49±1.23	12.74±0.50	13.44±1.01	0.52
Peso final (g)	15.35±3.55	15.54±1.86	15.80±1.58	17.72±1.45	0.67
TCE (% día <sup>-1</sup> )	0.79±0.59	0.63±0.53	0.63±0.17	0.77±0.23	0.12
CTC	0.13±0.10	0.09±0.08	0.10±0.03	0.13±0.03	0.89
Ganancia de peso (g)	4.28±3.51	3.17±2.79	3.29±1.10	4.28±1.15	0.89
TS %	40±26.46	50±26.46	56.67±15.28	56.67±5.77	0.72
IHS	3.39±0.48	2.92±0.08	2.79±0.23	2.81±0.30	0.13



TCE=Tasa de crecimiento específico; CTC=Coefficiente térmico de crecimiento;  
TS=Tasa de supervivencia; IHS=índice hepatosomático.

**Cuadro XIV.** Composición proximal real (%) de las 4 dietas. Los valores representan la media  $\pm$  DE

	Tratamientos			
	T0	T0.5	T1	T1.5
Lípidos	8.32 $\pm$ 0.05	8.55 $\pm$ 0.43	8.75 $\pm$ 0.32	8.51 $\pm$ 0.49
Proteínas	45.90 $\pm$ 0.08	45.41 $\pm$ 0.48	45.41 $\pm$ 0.16	46.84 $\pm$ 0.11
Cenizas	918 $\pm$ 0.03	9.09 $\pm$ 0.02	8.96 $\pm$ 0.01	9.04 $\pm$ 0.03
Humedad	4.69 $\pm$ 0.07	4.83 $\pm$ 0.28	4.32 $\pm$ 0.01	4.61 $\pm$ 0.47

**Cuadro XV.** Composición proximal (%) de músculos de los camarones alimentados con cuatro dietas isoproteicas e isolípídicas conteniendo distintos niveles de arginina. Los valores representan la media  $\pm$  DE. Valores en la misma fila con superíndice distinto fueron significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

	Tratamientos				
	T0	T0.5	T1	T1.5	<i>p</i>
Lípidos	4.88 $\pm$ 0.86	4.23 $\pm$ 0.42	5.19 $\pm$ 1.40	4.76 $\pm$ 0.61	0.66
Proteínas	87.98 $\pm$ 2.35	91.33 $\pm$ 0.36	87.66 $\pm$ 0.47	90.38 $\pm$ 1.67	0.54
Humedad	74.95 $\pm$ 2.19	77.68 $\pm$ 4.47	74.43 $\pm$ 2.15	74.32 $\pm$ 0.92	0.74

#### 4.4 DISCUSIÓN

El presente trabajo tenía como objetivo el analizar como la arginina podía coadyuvar el efecto de altas temperaturas. Hoy en día los productores de camarón presentan serios problemas con relación al incremento de la temperatura ambiental a causa del calentamiento global. La arginina se ha clasificado como un aminoácido que participa activamente como fosfógeno en la energía de escape de algunos invertebrados (Hernández, 2013), además de ser precursor de óxido nítrico que juega un papel en la vasodilatación de arterias y por ende incrementa la absorción de aminoácidos (Zhu *et al.*, 2014). Por otro lado, los fosfógenos sirven como moléculas intermediarias en el almacenamiento de fósforo para ser transferido al ADP, cuando el ATP es requerido (.).

En este trabajo se analizó el comportamiento de los camarones alimentados con distintos niveles de arginina. Si bien este experimento no tenía contemplado un crecimiento desigual, es decir, mayor crecimiento a mayor cantidad de arginina. El diseño experimental planteaba un mejor desempeño metabólico al ser expuesto a altas temperaturas en donde una mayor cantidad de arginina estuviera presente. Sin embargo, al igual que en los experimentos anteriores, no nos fue posible el análisis molecular de las muestras obtenidas, por lo que es difícil llegar a una conclusión por el momento.

El camarón, al igual que los organismos acuáticos (salvo los mamíferos marinos) son organismos incapaces de regular su temperatura, por lo que el metabolismo está directamente relacionado con la temperatura del medio ambiente en el que se encuentran.

Hasta la fecha ha habido un progreso significativo en la investigación sobre cómo la temperatura afecta el crecimiento, la fisiología, la supervivencia, el metabolismo energético y la bioquímica de los crustáceos. Cambios relacionados con el estrés en general, sobre todo a temperaturas frías en donde el metabolismo es disminuido y por ende el crecimiento es detenido. Sin embargo, debido al calentamiento global, las especies acuícolas están expuestas con mayor frecuencia a temperaturas mayores a las pertinentes, por lo que su fisiología se ve directamente relacionada.

Donaldson *et al.* (2008), que describió el estrés como una cascada de respuestas fisiológicas que ocurren en un organismo que intenta volver a perturbar su homeostasis después de que ha sido perturbado. Dichas respuestas ocasionan una serie de cascadas de reacciones metabólicas en donde una alta cantidad de energía es liberada, y por ende, se refleja en un crecimiento bajo.

De acuerdo a Khajali y Wideman (2010), la arginina en pollos es esencial ya que este aminoácido juega un papel crítico en las vías metabólicas asociadas con el crecimiento y la competencia inmunológica, así como un importante vasodilatador que regula la liberación de calor de las aves.

En los organismos acuáticos, las altas temperaturas están directamente relacionadas con la hipoxia, ya que el oxígeno disuelto en el agua disminuye conforme la temperatura se incrementa. Lo cual a su vez se contrapone con una mayor demanda de oxígeno al incrementar la tasa metabólica con el aumento de la temperatura. Razón por la que la capacidad de soportar altas temperaturas se vuelve automáticamente muy limitado. Es decir, la hipoxia y la hipertermia son dos consecuencias conectadas del cambio global en curso y constituyen amenazas importantes para los organismos marinos costeros. (Artigaud *et al.*, 2015).

Dentro de la acuicultura, se ha demostrado que, la síntesis preferencial de proteínas de choque térmico (Hsp) en respuesta al estrés térmico varía en especies que ocupan diferentes ambientes térmicos (Tomanek, 2010). De tal manera que los organismos expuestos a cambios de temperatura muestran en general cierta resiliencia al estrés por calor. Sin embargo, los organismos que viven ambientes térmicos muy variables viven por lo general, cerca de sus límites térmicos y cualquier aumento adicional de la temperatura probablemente los llevará más allá de esos límites. Es por esto, que resulta de gran importancia el estudio de la tolerancia térmica de los organismos en producción, como lo es el camarón y poder a su vez, estimar los daños posibles que puedan ser previstos para evitar daños mayores en su producción.

En el presente trabajo se decidió probar un reto de temperatura ya que encontró que el incremento de ella eleva la tasa metabólica, lo que resulta en un desequilibrio en la homeostasis de iones y agua, pérdida de la función neuromuscular, deshidratación celular y rutas metabólicas alteradas. El incremento de la temperatura se observa con mayor frecuencia por un cambio climático extremo (alta temperatura), que aparte de lo expuesto, da lugar a la eutrofización del medio, y como consecuencia, en una menor disolución del oxígeno (Bao *et al.*, 2018) e incremento de amonio. El camarón tiene su mejor potencial de crecimiento entre 28° y 30° C bajo sistemas de cultivo convencionales. Fóes *et al.* (2021) estudiaron su comportamiento en un experimento con cinco diferentes temperaturas (20, 23, 26, 29 y 32° C) y observaron que los cultivos a 32° C mostraron una menor eficiencia de crecimiento y recomendaban temperaturas de cultivo menores a los 32° C.

Se sabe que la arginina es un aminoácido esencial en todas las especies de peces estudiadas y se ha demostrado que su suplementación ayuda con el

crecimiento y sus requerimientos pueden variar de un 1% a un 3% dependiendo de la especie. Wang *et al.* (2022), encontraron que una dieta baja en harina de pescado (15%) suplementada con un nivel adecuado de arginina (2.7%) tiene efectos positivos en la mejora del crecimiento, las actividades de las enzimas digestivas, el desarrollo de la estructura morfológica intestinal y la inmunidad corporal del triploide juvenil *O. mykiss*.

Se utilizó a la arginina como el ingrediente de prueba para observar la resistencia al estrés por temperatura ya que en mamíferos se ha reportado que la arginina juega un papel fundamental para regular el estrés térmico, de tal manera que lechones expuestos a temperaturas mayores a 24° C (temperatura confort) la arginina ha servido como un estimulador en los transportadores intestinales promoviendo el ingreso de nutrientes (Morales *et al.*, 2016). Como se ha visto que las propiedades intestinales presentan semejanza en distintas especies, se piensa que la arginina pueda también jugar un papel importante en la reducción al estrés térmico en especies acuáticas. De hecho, estudios recientes apuntan a que la arginina quinasa juega un papel crucial en la respuesta inmune y resistencia en invertebrados (Huang *et al.*, 2020).

Sin embargo, en el presente trabajo no se encontraron diferencias significativas en la tasa de supervivencia entre tratamientos, siendo que se esperaba una diferencia de alguna dieta con un porcentaje extra de arginina y el tratamiento control. Es posible que estos organismos, como el camarón, presenten una cierta resiliencia a soportar dichas variaciones de temperatura que tan solo en el largo plazo puedan llegar a observarse, así como también en la expresión de genes metabólicos en donde se exprese en nivel de estrés.

Se concluye por lo tanto, que es necesario un estudio con mayor detalle sobre los la expresión de genes del metabolismo aeróbico que demuestren si existe o no un importante desgaste energético, y si existe un efecto de resiliencia.

## 5. DISCUSIÓN GENERAL

En este proyecto se realizaron tres experimentos donde se tenía como objetivo principal el estudio de la fisiología de crecimiento del camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*. Uno de los temas que se quiso abordar, fue el poder resolver alguna de las muchas consecuencias de la demanda mundial del consumo y cultivo de peces y camarones. Hoy en día se sabe de la necesidad de utilizar fuentes alternativas de proteína, por lo que se han recomendado distintas opciones para el reemplazo de la HP. Harinas vegetales, como la harina de soya, pasta de canola, han mostrado ser nocivas para la salud intestinal en organismos acuáticos (Romarheim *et al.*, 2011; Fuentes-Quesada *et al.*, 2018) resultando en un bajo crecimiento en organismos acuáticos, además de un estado crónico de salud. Mientras que las harinas animales, como la harina de carne y hueso, se han utilizado con mayor flexibilidad ya que contienen niveles de PC comparables con la HP (NRC, 2011), siempre y cuando se agreguen los aminoácidos restantes (Nunes *et al.*, 2014).

A la hora de suplementar los AA, cada vez con mayor frecuencia se utilizan los cristalinos (AAC). Sin embargo, se ha reportado que éstos en dietas para acuicultura puedan perderse por lixiviación. Dicha pérdida de aminoácidos afecta el valor nutricional de las dietas formuladas y la validez de los resultados experimentales. Si los organismos tardan en ingerir las partículas de alimento, las concentraciones de aminoácidos libres pueden reducirse a la hora en que se ingieren estas partículas. López-Alvarado *et al.* (1994), estudiaron como las cápsulas con paredes de tripalmitina no eran adecuadas para la entrega de aminoácidos dietarios a las primeras etapas de larvas de lenguado, pero recomiendan aplicarlas en larvas más grandes (20-40 días de edad). En los experimentos donde se suplementaron

aminoácidos (MET y ARG) se puede pensar que éstos no hayan llegado a ser ingeridos, dando por resultado una diferencia con las concentraciones de los alimentos. Por lo que quizás sería necesario hacer pruebas de lixiviación, en donde el alimento después de someterlo en agua de mar durante algunos minutos sea analizado su perfil de AA.

Al no observarse diferencias significativas en los tres experimentos, tanto en crecimiento y mortalidad, se realizaron análisis estadísticos como un ANOVA. En todos los casos se concluyó que estadísticamente no había un valor de significancia alto como para definir diferencias significativas entre tratamientos. Sin embargo, con la ayuda de técnicas de biología molecular se pretendía definir la relación de genes metabólicos y el desempeño general. Técnicas que son sumamente sensibles y con seguridad podrían haber arrojado resultados significativos. Por ejemplo, si en el primer experimento en donde se suministró un alto contenido de soya, el resultado de la MET se hubiera visto enmascarado, podríamos entonces obtener altos niveles de genes inflamatorios para corroborar nuestra conclusión. De igual manera, con los otros experimentos, la expresión génica hubiera sido de gran valor para la discusión y conclusiones de estos trabajos. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, a causas fuera de nuestro control, no fue posible el realizar dichos análisis. Por otro lado, el material genético está guardado para hacer los análisis requeridos una vez que el laboratorio esté en condiciones de continuar con esta parte final.



## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Achupallas, J. M., Zhou, Y., Davis, D. A. (2016). Pond production of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* fed grain distillers dried yeast. *Aquaculture Nutrition*, 22, 1222-1229.
- Achupallas, J. M., Zhou, Y., Davis, D. A. (2016). Use of grain distillers dried yeast in practical diets for juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 47, 220-229.
- Aguillón, O., Mata, J. A., D'Abramo, L. R., Viana, M. T. (FECHA). Lipid metabolism in juveniles of Yellowtail, *Seriola dorsalis*, fed different levels of dietary methionine containing a low level of cholesterol: Implication in feed formulation. *Aquacult Nutr.* 2020;00:1–13. DOI: 10.1111/ anu.13095
- Allan G.L., Smith D.M. (1998). Recent nutrition research with Australian penaeids. *Review of Fisheries Science* 6.
- Andriantahina, F., Liu, X., Huang, H., Xiang, J. (2013). Selection for growth performance of tank-reared Pacific white shrimp. *Litopenaeus vannamei*.
- AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International. (1995). <http://dx.doi.org/10.3109/15563657608988149>.
- Argue, B. J., Arce, S. M., Lotz, J. M., Moss, S. M. (2002). Selective breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to taura syndrome virus. *Aquaculture* 204, 447–460.

- Artigaud, S., Lacroix, C., Richard, J., Flye-Sainte-Marie, J., Bargelloni, L., Pichereau, V. (2015). Proteomic responses to hypoxia at different temperatures in the great scallop (*Pecten maximus*). *PeerJ*, 3, e871. DOI: 10.7717/peerj.871
- Bao, J., Li, X., Yu, H., Jiang, H. (2018). Respuestas del metabolismo respiratorio del cangrejo manopla chino, *Eriocheir sinensis* y el camarón chino, *Palaemonetes sinensis*, sometidos a estrés por hipoxia ambiental. *Frontiers in Physiology*. DOI: 10.3389/fphys.2018.01559
- Davis, D. A., Duan, M. (2017). Fact or Fiction: Methionine requirement for Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. School of Fisheries, Aquaculture and Aquatic Sciences. Pages 32-54.
- Dersjant-Li, Y. (2002). The use of soy protein in aquafeeds. *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Elizalde, A., Portilla, Y., Chaparro, D. C. (2009). Factores antinutricionales en semillas. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 7(1), 45-54.
- FAO. (2018). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible.
- Fóes, G., Wasielesky Jr., W., Marchetti, I., Rosas, V. (2021). Assesing the effect of temperature on FCR in Pacific white shrimp cultured in biofloc systems. *Alliance*.

- Forster, I. P., Dominy, W., Tacon, A. G., Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G. (2002). The use of concentrates and other soy products in shrimp feeds. *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.*
- Fuentes-Quesada, J. P., Viana, M. T., Rombenso, A. N., Guerrero-Rentería, Y., Nomura-Sólis, M., Gomez-Calle, V., Lazo, J. P., Mata-Sotres, J. A. (2018). Enteritis induction by soybean meal in *Totoaba macdonaldi* diets: Effects on growth performance, digestive capacity, immune response and distal intestine integrity. *Aquaculture*. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.05.025
- González-Jiménez, E., Schmidt Río-Valle, J. (2012). Regulación de la ingesta alimentaria y del balance energético: factores y mecanismos implicados. *Nutrición Hospitalaria*, 27(6), 1850-1859.
- Huang, Y.-C., Yin, Z.-X., Ai, H.-S., Huang, X.-D., Li, S.-D., Weng, S.-P. (2011). Characterization of WSSV resistance in selected families of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 311, 54–60. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2010. 11.032
- Huang, Y., Wu, D., Li, Y., Chen, Q., Zhao, Y. (2020). Characterization and expression of arginine kinase 2 from *Macrobrachium nipponense* in response to salinity stress. *Developmental and Comparative Immunology*. 113, 103804. DOI: 10.1016/j.dci.2020.103804.
- Khajali, F., Wideman, R. F. (2010). Dietary arginine: metabolic, environmental, immunological and physiological interrelationships. *World's Poultry Science Journal*, 66:4, 751-766.

- Kaushik, S. J., Seiliez, I. (2010). Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: Current knowledge and future needs. *Aquaculture Research*, 41, 322–332. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02174.x
- Lawrence, A.L., Velasco, M., Montoya, R., Samocha, T.M. (1998). Sustainable shrimp farming: the need for environmentally friendly feeds and feed management strategies. In: IV Simposio internacional de nutrición acuícola.
- Lee, C., Lee, K. (2018). Dietary protein requirements of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in three different growth stages. *Fisheries and Aquatic Sciences*.
- Liao, Y. J., Ren, M. C., Liu, B., Sun, S. M., Cui, H. H., Xie, J., Ge, X. P. (2014). Dietary methionine requirement of juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) at a constant dietary cystine level. *Aquaculture Nutrition*, 20, 741–752.
- López-Alvarado, J., Langdon, C. J., Teshima, S., Kanazawa, A. (1994). Effects of coating and encapsulation of crystalline amino acids on leaching in larval feeds.
- Luna, M., Llorente, I., Cobo, A. (2019). Integration of environmental sustainability and product quality criteria in the decision-making process for feeding strategies in seabream aquaculture companies. *Journal of Cleaner Production*. 217, 691-701. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.01.248.
- Morales, A., Avelar Lozano, E., Cervantes Ramirez, M., Bernal, H. (2016). Efecto del estrés por calor en la digestión, absorción y metabolismo de aminoácidos en cerdos.

- National Research Council (NRC). 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. The National Academy Press. Washington, USA. 392 p. ISBN: 978-0-309-16338-5
- Nunes, A. J. P., Sá, M. V. C., Browdy, C. L., Vazquez-Anon, M. (2014). Practical supplementation of shrimp and fish feeds with crystalline amino acids. *Aquaculture*.
- Oda, H. (2006). Functions of sulfur-containing amino acids in lipid metabolism. *The Journal of Nutrition*, 136, 1666S-1669S. DOI: 10.1093/jn/136.6.1666S
- Paripatananont, T., Boonyaratpalin, M., Pongseng, P., Chotipuntu, P. (2001). Substitution of soy protein concentrate for fishmeal in diets of tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research*. 32. 369 - 374.
- Romarheim, O.H., Øverland, M., Mydland, L. T., Skrede, A., Landsverk, T. (2011). Bacteria grown on natural gas prevent soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon. *J Nutr*. DOI: 10.3945/jn.110.128900.
- Rosas, C., Guzon, G., Taboada, G., Pascual, C., Gaxiola, G., Van Wormhoudt, A. (2001). Effect of dietary protein and energy levels on growth, oxygen consumption, haemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and *L. setiferus* (Linne) juveniles (Crustacea, Decapoda; Penaeidae). *Aquaculture Research*.
- Siccardi III, A. J., Lawrence, A. L., Gatlin III, D. M., Fox, J. M., Castille, F. L., Perez-Velazquez, M., González-Félix, M. L. (2006). Requerimientos de energía y

proteína digerible para crecimiento y mantenimiento de subadultos de *Litopenaeus vannamei*. Avances en Nutrición Acuícola VIII.

Sookying, D., Davis, D. A., Soller Dias da Silva, F. (2013). A review of the development and application of soybean-based diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 19, 441-448.

Suárez, J. A., Gaxiola, G., Mendoza, R., Cadavid, S., Garcia, G., Alanis, G., Suárez, A., Faillace, J., Cuzon, G. (2009). Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*, 289 (1–2), 118–123. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.01.001

Tomanek L. (2010). Variation in the heat shock response and its implication for predicting the effect of global climate change on species' biogeographical distribution ranges and metabolic costs. *J Exp Biol*. DOI: 10.1242/jeb.038034.

Torres-Velarde, J., Llera-Herrera, R., García-Gasca, T., García-Gasca, A. (2018). Mechanisms of stress-related muscle atrophy in fish: An ex vivo approach. *Mechanisms of Development*, 154, 162–169. DOI: 10.1016/j.mod.2018.07.002

Vélez, E. J., Lutfi, E., Azizi, S. H., Perelló, M., Salmerón, C., Riera-Codina, M., Gutiérrez, J. (2017). Understanding fish muscle growth regulation to optimize aquaculture production. *Aquaculture*, 467, 28–40. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2016.07.004

Veterinaria Digital. (2022). Acuicultura. Citado de:  
<https://www.veterinariadigital.com/noticias/la-produccion-de-camaron-en-2021-tuvo-cifras-positivas-en-latinoamerica/>

Wang, X., Xue, M., Figueiredo-Silva, C., Wang, J., Zheng, Y., Xu, X., Mai, K. (2016). Dietary methionine requirement of the pre-adult gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) at a constant dietary cystine level. *Aquaculture Nutrition*, 22, 509–516.

Wang, Y., Wang, C., Liu, S., Zhang, S., Lu, S., Liu, H., Han, S., Jiang, H., Zhang, Y. (2022). Effects of dietary arginine on growth performance, digestion, absorption ability, antioxidant capability, gene expression of intestinal protein synthesis, and inflammation-related genes of triploid juvenile *oncorhynchus mykiss* fed a low-fishmeal diet. *Hindawi. Aquaculture Nutrition*.

Zhou, X., He, L., Wan, D., Yang, H., Yao, K., Wu, G., Yin, Y. (2016). Methionine restriction on lipid metabolism and its possible mechanisms. *Amino Acids*, 48, 1533–1540. DOI: 10.1007/s00726-016-2247-7