

Aditivos alimentarios como estimuladores del crecimiento de camarón.¹

Olimpia Carrillo¹, Fernando Vega-Villasante², Héctor Nolasco² y Nilda Gallardo³

¹ Universidad de La Habana, Grupo de Biotecnología Marina, Cuba.

Tel: (537) 30 98 21. olimpia@comuh.uh.cu

² Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Grupo de Nutrición, México.

³ Universidad de Castilla La Mancha, Departamento de Bioquímica, España.

RESUMEN: En el presente trabajo se aborda el tema de los aditivos alimentarios como estimuladores del crecimiento en organismos en cultivo. Se hace una descripción de los tipos de aditivos en función de su naturaleza química y modo de acción. Se describen resultados encontrados sobre el uso de aditivos en ensayos experimentales de crecimiento de organismos en cultivo y se propone el uso de aditivos alimentarios como alternativa para eficientar la alimentación y crecimiento del camarón en cultivo.

PALABRAS CLAVE: Aditivos, promotores de crecimiento, camarón.

INTRODUCCION

Los aditivos alimentarios son sustancias puras mezclas que se adicionan intencionalmente a los alimentos para realizar una o varias funciones específicas. El término aditivo alimentario puede incluir todos los compuestos químicos inertes o activos, naturales o sintéticos, nutritivos o no que son directamente agregados a los alimentos.

Los tipos de aditivos estudiados en la alimentación de camarones han sido fundamentalmente: antibióticos, probióticos, nutrientes, pigmentos, enzimas, preservantes, antioxidantes, atrayentes y estimuladores del apetito. Entre estos resultan particularmente importantes aquellos que influyen en la velocidad de crecimiento o en el logro de las tallas máximas de la especie. Estos pudieran clasificarse de la siguiente forma:

Aditivos Alimentarios que estimulan el crecimiento:

1. Los que actúan directamente en los mecanismos fisiológicos del proceso

¹ Carrillo, O., Vega-Villasante, F., Nolasco, H., Gallardo, N., 2000. Aditivos alimentarios como estimuladores del crecimiento de camarón. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán., Mexico.

- Hormonas
- Aminoácidos, péptidos y compuestos nitrogenados de bajo peso molecular

2. Los que estimulan el crecimiento de forma indirecta

- Antibióticos
- Inmunomoduladores
- Probióticos
- Antioxidantes
- Enzimas digestivas
- Atractantes
- Estimuladores del apetito

Este trabajo informa sobre los aditivos alimentarios que actúan directamente sobre los mecanismos fisiológicos del crecimiento; también aborda el tema de las enzimas digestivas y los antioxidantes por mantener relación directa con la nutrición.

Crecimiento

El crecimiento de los organismos vivos es un fenómeno altamente complejo que envuelve una multitud de diferentes procesos que trabajan en armonía y participan en los momentos oportunos. El crecimiento es el incremento en sus medidas corporales que muestran todos los individuos durante su vida. Es el resultado de la incorporación de moléculas estructurales a una velocidad más rápida que la de degradación. Generalmente es el resultado de un aumento en el tamaño de las células individuales y un aumento en el número de células o ambos.

En el campo de la nutrición está considerado como un factor de crecimiento o promotor del crecimiento, cualquier elemento que al ser incorporado a la dieta en pequeñas cantidades, sin variar considerablemente su composición, logra una aceleración del crecimiento que se refleja en aumento de talla y peso corporal. Para ser efectivas estas sustancias deben tener la condición de mantener su integridad durante el proceso de digestión y lograr ser absorbidas de forma eficaz para ejercer su función en los tejidos blancos.

En los camarones al igual que en todos los crustáceos, el proceso de crecimiento se produce de forma discontinua y cíclica debido al fenómeno de la muda o ecdisis. Cada vez que el organismo está preparado para aumentar de talla y peso, el viejo exoesqueleto es liberado rápidamente y es producida una nueva capa quitinosa que tenderá a endurecerse hasta adquirir la consistencia y dureza del exoesqueleto anterior. Durante este proceso el cuerpo del camarón ha absorbido agua y la división celular se ve favorecida provocando el incremento de volumen y peso del animal (Van Wormhoudt y Bellon-Humbert, 1996). El crecimiento está determinado por factores intrínsecos y extrínsecos. Las medidas corporales para los camarones están genéticamente determinadas (Browdy, 1998) pero lograrlas depende del aporte de alimento y de la capacidad del animal para hacer un uso eficiente del mismo. En los animales sometidos a cultivo artificial influyen además factores ambientales y de manipulación.

En la medida en que el investigador pueda impactar en la genética y los procesos de nutrición y alimentación, se favorecerá el incremento de las velocidades de crecimiento y las medidas corporales de los organismos en cultivo lo que tiene un interés no solo científico sino también económico.

El estudio de los aditivos alimentarios en dietas para camarón representa una línea prometedora en la búsqueda de sustancias estimuladoras del crecimiento.

Tacon (1998) identificó el valor de los aditivos alimentarios y la necesidad de que los nutricionistas y los formuladores de alimentos reconocieran su potencial como uno de los principales retos para el desarrollo de la alimentación de los camarones de cultivo.

Mecanismos posibles de estimulación del crecimiento mediante el uso de aditivos alimentarios.

Se conoce comparativamente poco sobre la forma en que el crecimiento de células y órganos se regula en los organismos multicelulares. La regulación del crecimiento parece estar controlada primeramente por la coordinación entre la progresión del ciclo celular y la sobrevivencia de la célula (Conlon y Raff, 1999). El crecimiento total y en algunos casos el tamaño de las células está también afectado por la disponibilidad de nutrientes. Muchos organismos han desarrollado estrategias especiales de sobrevivencia en periodos de deficiencias alimentarias (Bohni *et al.* 1999).

Hormonas

Hormonas peptídicas

Las hormonas y los factores de crecimiento juegan un papel importante en el control del crecimiento debido a que orquestan este fenómeno a nivel celular, el ciclo celular y la sobrevivencia de la célula (Conlon y Raff, 1999).

La identificación en los invertebrados de hormonas y péptidos biorreguladores homólogos a los de vertebrados tales como: la insulina, la gastrina/colecistoquinina, la vasopresina/oxitocina y el factor de crecimiento epidérmico (EGF), entre otros, ha aumentado considerablemente en los últimos años (Conlon y Raff, 1999; Guillaume, 1997; Hew y Cuzon, 1982; Le Roith *et al.*, 1980; Sanders, 1983; Favrel *et al.*, 1991; Geraerts *et al.* 1992; Sevala *et al.*, 1993; Chuang y Wang, 1994; Cancre *et al.*, 1995 y Chen *et al.*, 1996). Estas investigaciones incrementan los conocimientos acerca de los mecanismos de transmisión de señales al interior celular y la regulación del metabolismo intermediario en estas especies. Se abre así la posibilidad de incidir en la aceleración del crecimiento, el acortamiento de los períodos de maduración, el aumento de la viabilidad y de la resistencia a las enfermedades (Ratafia, 1995).

La caracterización molecular y funcional de péptidos similares a la insulina, se ha abordado fundamentalmente en especies de los phylum *Molusca* y *Artrópoda* y los únicos receptores de tipo insulina caracterizados desde el punto de vista de la interacción ligando-receptor han sido los descritos para *D. melanogaster* y para los crustáceos *P. japonicus* y *P. monodon*, aún en estos casos no se ha probado que los receptores aislados se unan a determinados ligandos naturales.

Chuang y Wang, (1994) han referido la existencia de varios tipos de subunidades de pesos moleculares 52, 75 y 77 kDa para los receptores similares a los de la insulina hallados en el músculo del camarón *Penaeus japonicus*. Al presentarse la posibilidad de investigar la existencia de estos péptidos reguladores en los invertebrados, se produjo un salto cualitativo en las investigaciones de la Endocrinología Comparada y quedó demostrado que las estructuras peptídicas funcionalmente importantes en el control del metabolismo han sido conservadas durante largos períodos en la evolución (Thorpe y Duve, 1988). Otros péptidos reguladores han sido detectados por métodos

radioinmunoquímicos e inmunohistoquímicos en el sistema digestivo de los crustáceos. Por ejemplo, Cancre *et al.* (1995) informaron la presencia de sustancias similares al factor de crecimiento epidérmico en el hepatopáncreas del camarón *Palaemon serratus*.

Investigadores como Epple *et al.* (1980); Cruz-Suárez y Guillaume (1987) y Sanders, 1983 propusieron que el metabolismo de las proteínas y el crecimiento eran los principales procesos metabólicos a controlar por los péptidos de tipo insulina detectados en los crustáceos. Las investigaciones por ellos desarrolladas vinculan la síntesis y liberación de estas moléculas con el sistema digestivo.

Gallardo (1998) aisló del hepatopáncreas de la langosta cubana *Panulirus argus*, péptidos inmunológicamente similares a la insulina humana y se comprobó que estos estimularon el crecimiento de larvas de camarón *Litopenaeus schmitti* y de juveniles de camarón *Litopenaeus vannamei* al ser suministrados de forma oral mezclados con una dieta convencional balanceada (Gallardo *et al.* 1994 y Galindo *et al.* 1995). La estimulación del crecimiento de las larvas de *P. schmitti* se determinó a través de la ganancia en peso de los animales que recibieron como aditivo alimentario el material extraído de *P. argus*, la cual resultó ser de un 50%, en relación con el tratamiento control que no recibió los péptidos en la dieta.

Los estudios desarrollados en juveniles de *L. vannamei* con el empleo de un alimento convencional para camarón, con la adición de los péptidos inmunorreactivos de *P. argus*, pusieron de manifiesto un incremento de las concentraciones de glucógeno del hepatopáncreas y de proteínas del músculo del abdomen significativamente superiores a las del tratamiento control (Galindo *et al.* 1995). Charmantier *et al.* (1989) demostraron que la inyección de la hormona de crecimiento humana (somatotropina o STH) a larvas de langosta americana *Homarus americanus* provocaba el incremento del crecimiento por encima del 20% sin efectos adversos en la sobrevivencia o la morfología del animal. Esta hormona ha sido identificada en insectos y las técnicas inmunológicas sugieren su presencia en crustáceos como el camarón. La suplementación de dietas de larvas de *L. vannamei* con hormona de crecimiento humana tuvo un efecto positivo sobre el crecimiento de las larvas y su resistencia a la salinidad (Toullec *et al.* 1991).

Resulta beneficioso para la Acuicultura poder profundizar en el conocimiento de los factores que regulan el metabolismo de los crustáceos y poder administrar oralmente una variedad de péptidos estimuladores del crecimiento cuya antigenicidad sea mínima. Si los factores de crecimiento que se administran proceden del mismo animal o de animales evolutivamente cercanos se evitan las interferencias con la primera línea de defensa del organismo, con lo que se garantiza el efecto esperado (Sire y Vernier, 1992).

Hormonas esteroides

El papel de los ecdisteroides y de la hormona inhibidora de la muda ha sido objeto de varias revisiones bibliográficas. Se han ido precisando los pasos de la ecdisteroidogénesis a escala molecular, se conoce que es un proceso dependiente de la síntesis proteica y que es inhibido por la hormona inhibidora de la muda, mediado por un aumento del AMPc y antagonizado por el sistema calcio-calmodulina. El órgano Y contiene actividad proteína quinasa C que estimula la producción de ecdisteroides y la síntesis proteica (Huberman, 1990).

La degradación del exoesqueleto viejo y la síntesis del nuevo es el resultado de un complejo conjunto de mecanismos en el centro de los cuales esta la activación de genes específicos mediados por los ecdisteroides. Se ha postulado que una pequeña liberación de la hormona dispara la transición de la expresión genética de la intermuda a la premuda.

La presencia en el pedúnculo ocular de factores estimuladores de la síntesis proteica en el hepatopáncreas fue demostrada *in vivo* en *Palaemon serratus* por Van Wormhoudt (1978) junto a la presencia de un factor estimulador correspondiente a un ecdisteroide secretado por el pedúnculo ocular fue puesto de igual forma en evidencia en *P. serratus* (Van Wormhoudt, 1980) y en *Uca pugilator* por Hopkins en 1988.

Fernández *et al* (1995) estudiaron el efecto de hormonas esteroides de vertebrados sobre células disociadas de hepatopáncreas en *Palaemon serratus* para lo cual utilizaron leucina tritiada y observaron que el estradiol y la progesterona estimularon la síntesis proteica. La utilización de esas hormonas en un ensayo *in vivo* con *Litopenaeus schmitti* logró un acortamiento del ciclo de la muda y una mayor eficiencia alimentaria. Adicionalmente este mismo autor determinó que el extracto de pedúnculo ocular de *P. notialis* estimuló la incorporación de leucina tritiada en células disociadas de hepatopáncreas de *Palaemon serratus* (Fernández, 1998).

Sambhu y Jayaprakas (1994) estudiaron el efecto del propionato de testosterona (TP), el dietilestilbestrol (DES) y la gonadotropina coriónica humana (HGC) incorporada en dietas para juveniles de *Penaeus indicus*. Los camarones alimentados con estas dietas demostraron diferencias significativas en su crecimiento comparados con el control, excepto en el caso de la HCG donde concentraciones de 20 ppm inhibieron el crecimiento. Las dietas que contenían una combinación de HCG (10 ppm) y TP (1.5 ppm) provocaron un crecimiento superior, mejor consumo de alimento, mayor conversión alimenticia y mejor digestibilidad de proteínas y lípidos. La proteína cruda y el contenido de lípidos fue de igual manera más alto en los camarones alimentados con las dietas experimentales comparados con aquellos alimentados con el alimento control.

El uso de hormonas de vertebrados como aditivos alimentarios requiere de un estudio minucioso de los residuos en las partes comestibles del animal. El uso de péptidos semejantes a hormonas obtenidos de crustáceos con vistas a su utilización posterior como aditivos alimentarios en dietas para camarón necesita de un trabajo posterior de ingeniería genética para hacerlo económicamente rentable.

La vía oral esta limitada por la acción hidrolítica de las enzimas proteolíticas del tracto gastrointestinal. No obstante se ha demostrado en varias especies animales que ciertos péptidos y proteínas llegan al torrente sanguíneo en forma activa o que sus fragmentos después de la digestión intestinal mantienen su actividad sobre los tejidos blancos. Parecen estar implicadas rutas transcelulares y paracelulares en el transito transmucosal de péptidos intactos (Grimble and Backwell, 1998). Existe además la posibilidad de proteger los péptidos activos utilizando técnicas de microencapsulación. En teleósteos se ha sugerido la posibilidad de manipular el crecimiento utilizando la vía oral para el suministro de péptidos bioactivos (McLean *et al.* 1999).

Aminoácidos, péptidos y compuestos nitrogenados de bajo peso molecular

Aun cuando los aminoácidos esenciales para los camarones se encuentran bien establecidos todavía falta mucha información acerca de los requerimientos específicos de aminoácidos individuales para las distintas especies de camarón.

Por tanto, aunque se han tenido éxitos en la suplementación con aminoácidos individuales en diferentes experimentos siempre quedan dudas sobre hasta que punto esos aminoácidos se encontraban deficientes en las fuentes proteicas utilizadas de acuerdo a las necesidades de éstos para la especie. La incorporación de aminoácidos purificados a la dieta puede mejorar sus cualidades en cuanto a atractabilidad y estimulación del apetito y no por sus cualidades como nutrientes (Lee y Meyers, 1997; Guillaume, 1997; Akiyama *et al.* 1992).

Los efectos de la ingestión desproporcionada de aminoácidos individuales: toxicidad, antagonismo y desbalance no han sido suficientemente estudiados en crustáceos (Hew y Cuzon, 1982), sin embargo en vertebrados se han demostrado los peligros de una suplementación errónea (Harper, 1970). El efecto de la glucosamina como aditivo alimentario también ha sido estudiado, sin embargo los resultados aun no son concluyentes (Shiau, 1998). Kitabayashi *et al.* (1971) demostraron que la adición de glucosamina al 0.52% en dietas para *Penaeus japonicus* incrementaron el crecimiento; sin embargo, este era retardado con la adición de quitina en las dietas. Deshimaru y Kuroki (1974) establecieron que una fuente dietética de glucosamina era innecesaria para los juveniles de *P. japonicus* y que la presencia de esta inhibía el efecto promotor del crecimiento del colesterol. Akiyama *et al.* (1992) mencionan que dado que la quitina es el principal componente estructural del exoesqueleto del camarón, se recomienda un nivel mínimo de 0.5% de este polímero en la dieta, debido a que se considera que tiene un efecto promotor del crecimiento.

Aditivos alimentarios que actúan de forma indirecta sobre los procesos de crecimiento

Enzimas puras y mezclas con actividad enzimática

Las enzimas proteolíticas y amilolíticas han sido utilizadas como estimuladores del crecimiento en las dietas de diversas especies animales bajo las siguientes hipótesis:

- Aumentan la actividad enzimática del tracto digestivo en los estadios de larvas y primeras postlarvas cuando la secreción de enzimas endógenas no es suficiente.
- Activan los zimógenos de las proteasas endógenas.
- Ayudan a eliminar las descamaciones del epitelio.
- Disminuyen las pérdidas de nutrientes en el medio acuático.

Con estos fines se han utilizado enzimas puras en pequeñas cantidades. Maugle *et al.* (1983) adicionaron tripsina y amilasa microencapsuladas a la dieta de postlarvas de *Penaeus japonicus* y encontraron que estas adiciones mejoraban la ganancia de peso de los camarones y aumentaban la frecuencia de las mudas. El glucógeno del hepatopáncreas aumentó significativamente con la dieta suplementada con tripsina lo que atribuyeron a la activación de zimógenos endógenos.

Buchanan *et al.* (1997) comprobaron que la incorporación de 0,25% de una mezcla de enzimas a las dietas de juveniles de *Penaeus monodon* provocó un incremento en la ganancia en peso de los animales y mejoró considerablemente el factor de conversión del alimento en comparación con los animales que no recibieron la mezcla enzimática.

Chen y Lin (1990) mezclaron la dieta de postlarvas de *Penaeus monodon* con un polvo obtenido por extracción con acetona del hepatopáncreas de la misma especie. Las postlarvas que ingirieron la dieta enriquecida con la mezcla enzimática crecieron más rápidamente que las no suplementadas. La

actividad proteolítica del hepatopáncreas fue influenciada significativamente por el tratamiento dietético.

Forrellat (1998) utilizó un producto multienzimático obtenido de hepatopáncreas de camarón como aditivo alimentario en dietas para *Litopenaeus schmitti* y logró mejorar la velocidad de crecimiento de postlarvas. El uso del mismo producto obtenido de animales adultos de *Farfantepenaeus californiensis* y utilizado como aditivo en dietas para postlarvas de *L. vannamei* y *F. californiensis* mostró un mejor efecto cuando era utilizado en la misma especie de la que se obtuvo.

Aunque todavía persisten muchas incógnitas sobre la regulación de la digestión en camarones, el nivel de suplementación con tripsina debe ser un factor importante a considerar cuando se utilice esta enzima pura o en mezclas que la contengan, porque en otras especies el control de la secreción de la tripsina está regulado por el nivel de la misma en el tracto digestivo, por la acción de la colecistoquinina. Es decir, que la enzima exógena podría inhibir la secreción de la endógena por un mecanismo de retroalimentación.

Antioxidantes

Los radicales libres son generalmente definidos como compuestos que poseen uno o más electrones impares. El término internacional "Reactive Oxygen Species" (ROS) describe de manera colectiva a los radicales libres como $O_2\beta^-$, $OH\beta$, y otros compuestos de oxígeno no radicales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el ácido hipocloroso ($HOCl$). Estos intermediarios de oxígeno pueden participar en reacciones que provocan el incremento de los ROS, los cuales son muy inestables y atacan componentes celulares lo que ocasiona daño en lípidos, proteínas y DNA, y da como resultado una cadena de eventos que finalmente producen enfermedad. Sin embargo, los organismos poseen mecanismos que controlan la producción de ROS y limitan o reparan el daño a los tejidos.

Se ha sugerido que la energía alimentaria se dirige hacia sobrevivencia, muda y crecimiento con la prioridad dirigida hacia la sobrevivencia (Gore, 1985) por lo tanto la presencia de antioxidantes naturales en las dietas de crustáceos debe actuar como estimuladora del crecimiento al disminuir la concentración de radicales libres y los trastornos que se derivan de su presencia en el organismo.

Entre los antioxidantes naturales más importantes se encuentran las vitaminas E y C y los carotenoides. Los minerales selenio, zinc y cobre también juegan un importante papel por su función como cofactores de las enzimas que participan en los procesos de oxidación-reducción.

Di Mascio *et al* (1989, 1992) examinaron el efecto represor de los carotenoides contra $O_2\beta^-$, e informaron la efectividad de la astaxantina, un carotenoide comúnmente encontrado en animales marinos (crustáceos y peces). De igual forma Miki (1991) y Miki *et al.* (1994) demostraron que la astaxantina muestra un poderosa actividad represora contra $O_2\beta^-$. Esta actividad fue cuantificada como 100 veces mayor que el α -tocopherol, encontrado en plantas y animales no marinos. La astaxantina se encuentra en la mayoría de los crustáceos en forma libre y esterificada como caroteno-proteínas y se ha demostrado que incluida en la dieta como aditivo alimentario mejora los rendimientos productivos en los camarones. Las funciones biológicas de la astaxantina están relacionadas con su acción antioxidante, la respiración intracelular y la estimulación de la inmunidad (Gabaudan, 1998).

Productos naturales no purificados o semipurificados con efecto estimulador del crecimiento

Cruz Suárez y Guillaume (1987) encontraron un efecto estimulador del crecimiento en la harina de calamar en dietas para *Penaeus japonicus*. Los autores separaron tres fracciones de calamar fresco, la fracción proteica estimuló el crecimiento sin aumentar el consumo. Al tratar de explicar el mecanismo de acción encontraron que el contenido total del DNA de los camarones no cambiaba pero el RNA y la relación RNA/DNA variaba en el mismo sentido que la ganancia de peso por lo que sugirieron que esta última era debida a una hipertrofia de las células y no a una hiperplasia.

En las levaduras también se ha planteado que además del nivel de vitaminas del complejo B, que de hecho estimulan el crecimiento, poseen factores de crecimiento de naturaleza desconocida y que este efecto podía ser explicado por absorción de péptidos en el intestino por endocitosis como fue observado en *Penaeus japonicus* por Guillaume en 1994 (Cuzon, 1994).

Extractos biológicos no purificados: Langostilla (Pleuroncodes planipes)

En México un recurso natural con gran posibilidad para su uso como aditivo alimentario en dietas para camarón es la langostilla puesto que es un recurso abundante del que se capturan fácilmente grandes cantidades y tiene una composición química de gran valor para la nutrición animal. La langostilla es un crustáceo de la familia *Galatheidae* y en ocasiones representa hasta el 70% de la fauna acompañante en la pesquería del camarón en Baja California Sur (Civera *et al.* 1998).

Hasta ahora los estudios del uso de langostilla se han enfocado principalmente en el uso de harina del langostilla como un sustituto parcial o total de la harina de pescado, de cabeza de camarón y de la soya, en alimentos para el camarón *Farfantepenaeus californiensis* y *Litopenaeus vannamei*. Su efecto en la sobrevivencia y el crecimiento y en la digestibilidad *in vivo* ha sido estudiados por Goytortúa (1993) y por Civera *et al.* (1998).

Debido a la rápida descomposición de la langostilla entera se han llevado a cabo estudios científicos y técnicos del aprovechamiento del extracto fluido de langostilla obtenido por prensado mecánico. Los resultados obtenidos hasta ahora parecen confirmar que el extracto de langostilla posee cualidades nutricionales de interés para ser considerado como un aditivo alimentario viable para dietas de camarón (Vega-Villasante *et al.* resultados en proceso de publicación; Nolasco *et al.*, resultados en proceso de publicación).

De entre las cualidades encontradas sobresalen:

- Actividad de enzimas digestivas: se ha dectado y cuantificado la actividad de proteasas, amilasas y lipasas, lo cual sugiere que el extracto de langostilla puede ser una fuente exógena de enzimas que participe en los procesos digestivos del camarón.
- Actividad antioxidante: La langostilla es un recurso rico en carotenoides (10.0 - 16.0 mg/100 g) principalmente astaxantina (representa más del 90% de los carotenoides encontrados en ella) (Castro-González *et al.*1995), lo cual le da un potencial valor como fuente de antioxidantes. Se ha estudiado además su capacidad antioxidante inhibiendo la lipoperoxidación de tejido hepático y cerebral de rata y la presencia de vitamina C (Payret, 2000).

- Presencia de péptidos tipo insulina: se ha llevado a cabo la extracción de péptidos tipo insulina en el extracto crudo de la langostilla y su posterior detección y cuantificación por RIA. El extracto demostró poseer mayor actividad de insulina que otras fuentes estudiadas como el hepatopáncreas de langosta *Panulirus argus*.

Métodos para el estudio de los aditivos alimentarios estimuladores del crecimiento

El planteamiento de la hipótesis de que una sustancia pura o un producto natural es capaz de estimular el crecimiento del camarón requiere del diseño de experimentos que permitan comprobarla. Indiscutiblemente la demostración en experimentos *in vivo* con la misma especie a la que van dirigidas, que midan velocidad de crecimiento, parámetros de eficiencia de utilización del alimento y peso corporal, dirán la última palabra. Pero la realización de experimentos que conduzcan a dilucidar los mecanismos de acción facilitara la manipulación del producto y diseño de las dietas o formas de administración.

Entre los métodos empleados para estudiar los potenciales estimuladores de crecimiento han estado los de cultivos celulares. Los métodos de disociación tisular se han utilizado para investigar los efectos *in vitro* de factores de crecimiento y de factores de diferenciación. Así Giard *et al.* (1998) estudiaron la insulina, el factor de crecimiento tipo insulina I, el factor básico de crecimiento de fibroblastos y el factor de crecimiento epidérmico en células de la glándula digestiva del *Pecten maximus*. Estos péptidos indujeron un aumento en la incorporación de ³H-leucina y ¹⁴C-uridina en las suspensiones celulares. Los resultados indicaron que los péptidos relacionados con la insulina podían actuar como factores de crecimiento en moluscos.

Bobes en 1999 estudió el efecto de péptidos insulinoides, aislados de la langosta *Panulirus argus* por Gallardo *et al.* (1994), sobre fibroblastos de la piel de embriones de pollo de 18 días de desarrollo. Los péptidos estimularon de manera significativa la proliferación de fibroblastos con la dosis más baja utilizada.

Aun y cuando los estudios en células de mamíferos y aves constituyen una buena aproximación al efecto de los estimuladores del crecimiento que se pretendan aplicar al camarón, el futuro necesariamente exige su estudio en cultivos celulares de camarón. Existen estudios en donde se avizora que muy posiblemente en un futuro cercano puedan utilizarse líneas celulares de camarón como herramientas en el estudio de factores promotores del crecimiento. Toullec *et al.* (1996) revisaron lo que se ha logrado en cultivos primarios de *L. vannamei* y *P. indicus*. Por su parte, Chen *et al.* (1995) con la intención de estudiar las infecciones virales en el camarón trabajaron en el establecimiento de cultivos monocapa de ovario, corazón, tejido linfóide y hemocitos de *Penaeus monodon*, *P. japonicus* y *P. penicillatus*, logrando mantener cultivos hasta de 20 días; sin embargo, no pudieron mantener cultivos de hepatopáncreas. Hatt *et al.* (1997) mencionan la posibilidad de utilizar líneas celulares de insecto para bioensayos dirigidos a probar factores de crecimiento en crustáceos lo anterior sustentado por estudios con extractos de sistema nervioso de camarón que estimularon la síntesis de DNA y la división celular en estas líneas.

Fernández (1998) demostró que los estudios con células disociadas de hepatopáncreas pueden ser también un acercamiento efectivo para los estudios de compuestos con posible efecto promotor del crecimiento. En sus estudios comprobó el efecto de hormonas de vertebrado sobre células disociadas de hepatopáncreas de *Palaemon serratus*, resultados que posteriormente confirmó en ensayos *in vivo* en *Litopenaeus schmitti*.

Gallardo (1998) estudió el efecto de los péptidos similares a la insulina de *P. argus* sobre la estimulación de la síntesis de ADN del hepatopáncreas de animales intactos por los péptidos insulinoideos con lo que logró demostrar que estos péptidos desencadenan uno de los efectos a largo plazo más complejos de la insulina: la estimulación del crecimiento.

La utilización de marcadores radioactivos permite estudiar una vía metabólica y también seguir las variaciones de incorporación de la radioactividad como resultado de la activación o inhibición de estas vías metabólicas en presencia de una sustancia biológicamente activa.

BIBLIOGRAFIA

- Akiyama, D.M., Dominy, W.G., Lawrence, A.L., 1992. Penaeid shrimp nutrition. In: Arlo W. Fast and I. James Lester (eds) Marine Shrimp Culture: Principles and Practices. Elsevier Science Publishers B.V. 535-568.
- Bobes, R.J., 1999. Estudio del efecto de la insulina y de una proteína derivada del hepatopáncreas de la langosta *Panulirus argus* sobre células embrionarias en cultivo. Tesis para obtener el título de Maestro en Ciencias (Biología Celular). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Böhni, R., Riesgo-Escobar, J., Oldham, S., Brogiolo, W., Stocker, H., Andrus, B.F., Beckingham, Hafen, E., 1999. Autonomous Control of Cell and Organ Size by CHICO, a Drosophila Homolog of Vertebrate IRS1-4. Cell 97, 865-875.
- Browdy, C.L., 1998. Recent developments in penaeid broodstock and seed production technologies:improving the outlook for superior captive stocks. Aquaculture, 64, 3-21.
- Buchanan, J., Sarac, H.Z., Popí, D., Cowan, R.T., 1997. Effect of enzyme addition to canola meal in prawn diets. Aquaculture 151, 29-35.
- Cancre, I.; Van Wormhoudt, A., Le Gal, Y., 1995. Effects of cellular growth factors on crustacean hepatopancreas cell suspensions. J. Mar. Biotechnol. 2, 83-87.
- Castro-González, M.I., Carrillo-Domínguez, S., Pérez-Gil Romo, F., Calvo-Carrillo, C., 1995. Composición Química de la langostilla y procesos tecnológicos. In: Auriolles-Gamboa and Balart (eds.). La Langostilla:Biología, Ecología y Aprovechamiento. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste Press. pp. 163-177
- Charmantier, G.; Charmantier-Dures, M., Aiken, D.E., 1989. Somatotropine stimule la croissance de jeunes homards américains, *Homarus americanus* (Crustacea, Decapoda). C. R. Acad. Sci. (Paris). 308, 21-26.
- Chen, Ch., Jack, J., Garofalo, R.S., 1996. The Drosophila insulin receptor is required for normal growth. Endocrinology 137, 846-856.
- Chen, H.Y., Lin, H.F., 1990. The effect of exogenous digestive enzymes on the growth of early postlarval *Penaeus monodon*. In R. Hirano, and I.Hanyu (Ed). Proceedings of the Second Asian Fisheries Forum, Tokio, Japón, pp. 349-352.
- Chen, S.N.; Shih, H.H., Kou, G.H., 1995. Primary cell cultures from tissues of penaeid shrimps and their susceptibilities to monodon-type baculovirus (MBV). Coa. Fish. Ser., 53, 1-14.
- Chuang, N.N., Wang, P.C., 1994 Characterization of insulin receptor from the muscle of the shrimp *Penaeus japonicus* (Crustacea:Decapoda) Comp. Biochem. Physiol., 108, 289-297.
- Civera, R., Goytortúa, E., Nolasco, H., Vega-Villasante, F., Balart, E., Amador, E., Ponce, G., Colado, G., Lucero, J., Rodríguez, C., Solano, J., Flores-Tom, A., Monroy, J., Coral, G., 1998. Uso de la Langostilla Roja *Pleuroncodes planipes* en la nutrición de organismos acuáticos. IV International Symposium of Aquatic Nutrition. La Paz, B.C.S. México, 2, 1-16.
- Conlon, I., Raff, M., 1999. Size control in animal development. Cell 96, 235-244.
- Cruz-Suárez, L.E., Guillaume, J., 1987 Squid protein effect on growth of four penaeid shrimp. J. of the World Aquaculture Society, 18, 209.
- Cuzon, G., 1994. Utilization of yeast by penaeid shrimp. II Simposium Internacional de Nutrición Acuicola, Monterrey, México.
- Deshimaru, O., Kuroki, K., 1974. Studies on purified diets for prawns: II. Optimum contents of cholesterol and glucosamine in the diet. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 40 421-424.
- Di Mascio, P., Kaiser, S., Sies, H., 1989. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. Arch Biochem.Biophys., 274, 532-538.
- Di Mascio, P., Sundquist, A.R., Devasagayam, T.P.A. and Sies, H. 1992. Assay of lycopene and other carotenoids as singlet oxygen quenchers. Methods Enzymol., 213, 429-438.

- Epple, A.; Brinn, J.E., Young, J.B., 1980. Evolution of pancreatic islets functions. Evolution of Vertebrate Endocrine Systems. In P.K.T. Pang and A. Epple (eds). Texas Tech. Univer., Lubbock, Texas. pp. 269-321.
- Favrel, P.; Kegel, G.; Sedlmeier, D.; Keller, R., Van Wormhoudt, A., 1991. Structure and biological activity of crustacean gastro intestinal peptides identified with antibodies to gastrin/cholecystokinin *Biochimie.*, 73, 1233-1239.
- Fernández, I., Van-Wormhoudt, A., Edemar, R., Beltrame, E., Vinatea, E., Olivera, A., 1995. Efecto de las hormonas esteroidales sobre la síntesis de proteínas (*in vitro*) en *Palaemon serratus* y el crecimiento (*in vivo*) en el camarón blanco *Penaeus schmitti*. Primer Taller Internacional: La Bioquímica en la Biotecnología Marina. La Habana, Cuba.
- Fernández, I., 1998. Enzymes digestives, croissance et aquaculture des crevettes *Penaeus schmitti* et *Penaeus notialis*. These de Docteur du Museum National d'Histoire Naturelle. 188 pp.
- Forrellat, A., 1998. El Hepatopáncreas de camarón: fuente de enzimas digestivas para la camaronicultura. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad de La Habana, Cuba.
- Gabaudan, J., 1996. Dietary astaxanthin improves production yield in shrimp farming. *Fish-Chimes.*, 18, 37-39.
- Galindo, J. G.; Gallardo, N.; Medina, A., Villagrana, C., 1995. An immunoreactive insulin from lobster as a growth factor for the shrimp *Penaeus vannamei*. *Revista Italiana Acquacoltura* 30, 159-162.
- Gallardo, N., Sotomayor, H., Rodríguez, J., González, R., Carrillo, O., González-Suárez, R., 1994. Insulina inmunoreactiva aislada de la langosta *Panulirus argus* para ser utilizada como factor de crecimiento en crustáceos. Publicado en soporte magnético por la empresa SOFTCAL, 1-6.
- Gallardo, N., 1998. Péptidos similares a las insulinas de los mamíferos en la langosta *Panulirus argus* Latreille (Crustacea, Decapoda): Análisis de la actividad biológica y caracterización de los posibles receptores. Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Biológicas, Universidad de La Habana, Cuba
- Geraerts, W. P. M., Smit, A. B., Li, K.W., Hordijk, P. L., 1992. The light green cells of Lymnaea: A neuroendocrine model system for stimulus induced expression of multiple peptide genes in a single cell type. *Experientia.*, 48, 464 – 473.
- Giard, W., Lebel, J.M., Boucaud-Camou, E., Favrel, P., 1998. Effect of vertebrado growth factors on digestive gland cells from the mollusc *Pecten maximus* L. an *in vitro* study. *J. Comp. Physiol.*, B, 168, 81-6.
- Goytortúa-Bores, E., 1993. Evaluación del crecimiento y digestibilidad en el camarón blanco (*Penaeus vannamei*), alimentado con dietas compuesta a base de harina de langostilla (*Pleuroncodes planipes*). Tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, S.L.P., México. 112 p.
- Gore, H.R., ?. Molting and growth in decapod larvae. En: A.M. Wenner (Ed) *Crustacean Issues. 2. Larval Growth*. Balkima, Rotterdam, pp 1-65.
- Grimble, G.K., Backwell, F.R.C., 1998. Peptides in Mammalian Protein Metabolism. Tissue Utilization and Clinical Targeting. Portland Press, London
- Guillaume, J., 1997. Protein and Amino Acids, In: D'Abramo, L.R., Conklin, D.E. and Akiyama, D.M. (eds) 1997 *Crustacean Nutrition*, VI, 26-50.
- Harper, A.E., Benevenga, N.J., Wholheuter, R.M., 1970. Effect of ingestion of disproportionate amounts of aminoacids. *Physiol. Rev.* 50, 428-558.
- Hatt, P.J., Liebion, C., Moriniere, M., Oberlander, H., Porcheron, P., 1997. Activity of insulin growth factors and shrimp neurosecretory organ extracts on a lepidopteran cell line. TEKTRAN United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service.
- Hew, M., Cuzon, G., 1982. Effect of dietary lysine and arginine levels and their ratio on the growth of *Penaeus japonicus* juveniles. *J. World. Mar., Soc.*, 13, 154-156.
- Hopkins, P.M., 1988. Localization of ecdysteroids in the eyestalk ganglia of the fiddler crab. *Uca pugilator*, during anecdyosis and proecdysis. *J. Exp., Zool.*, 248, 160-167.
- Huberman, A., 1990. Hormonal control of molting in crustaceans. *Progress in Comparative Endocrinology*. Wiley Liss, New York.
- Kitabayashi, K., Kurata, H., Shudo, K., Nakamura, K., Ishikawa, S., 1971. Studies on formula feed for kuruma prawn: I. On the relationship among glucosamine, phosphorus and calcium. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.* 65, 91-107.
- Le Roith, D.; Shiloach, J.; Roth, J., Lesnik, M.A., 1980. Evolutionary origin of vertebrate hormones: substances very similar to mammalian insulins are native to unicellular eucaryotics. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 77, 6184-6188.
- Lee, P.G., Meyers, S.P., 1997. Chemoattraction and feeding stimulation. , In: D'Abramo, L.R., Conklin, D.E. and Akiyama, D.M. (eds). *Crustacean Nutrition VI*, 308-314.
- Maugle, R.D., Deshimaru, O., Katayama, T., Simpson, K.L., 1982. Characteristics of amylase and protease of the shrimp *Penaeus japonicus*. *Bull Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 48, 1753-1757.
- McLean, E., Ronsholdt, B., Sten, C., Najamuddin, N., 1999. Gastrointestinal delivery of peptide and protein drugs to aquacultured teleosts. *Aquaculture*, 177, 231-247.
- Miki, W., 1991. Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure Appl Chem* 63: 141-146.
- Miki, W., Otaki, N., Shimidzu, N., Yokoyama, A., 1994. Carotenoids as free radical scavengers in marine animals. *J Mar Biotech.*, 2, 35-37.

- Payret, A., 2000. Evaluación de la capacidad antioxidante y de la presencia de péptidos insulinoideos en la langostilla roja (*Pleuroncodes planipes*). Tesis de Diploma en Bioquímica. Universidad de La Habana, Cuba
- Ratafia, M., 1995. Aquaculture today, a world wide status report. *World Aquaculture*, 26(2), 18-24.
- Sambhu, C., Jayaprakas, V., 1994. Effect of hormones on growth, food conversion and proximate composition of the white prawn *Penaeus indicus* Indian J. Mar. Sci., 23 232-235.
- Sanders, B., 1983. Insulin-like peptide in the lobster *Homarus americanus*. Insulin-like biological activity. *Gen. Com. Endocrinol.*, 50, 374-377.
- Sevala, V.M., Sevala, V.L., Saleuddin, A.S.M., 1993. Hemolymph insulin-like peptides (ILP) titers and the influence of ILP and mammalian insulin on the aminoacid incorporation in the mantle collar in vitro in *Helisoma (Mollusca)*. *Biol.Bull.*, 185, 140 - 148.
- Shiau, S.Y., 1998. Nutrient requirements of penaeid shrimps. *Aquaculture*, 164, 77-93.
- Sire, M. F. , Vernier, J. M., 1992. Intestinal absorption of protein in teleost fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 103A(4), 771-780.
- Tacon, A.G.J., Dominy, W.G., Pruder, G.D., 1998. Global trends and challenges in aquafeeds for marine shrimp. *Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, La Paz, México.
- Thorpe, A. , Duve, H., 1988. Insulin found at least? *Nature.*, 331, 483-484.
- Toullec, J.V., Crozat, Y., Patrois, J., Porcheron, P., 1996. Development of primary cell cultures from the penaeid shrimps *Penaeus vannamei* and *P. indicus*. *J. Crustacean Biol.*, 16, 643-649.
- Toullec, J.V., Le Moullac, Cuzon, G., Van Wormhoudt, A., 1991. Immunoreactive human growth hormone like peptides in tropical penaeid and the effect of dietary HGH on *Penaeus vannamei* larval development. *Aquat. Living Resour.*, 4, 125- 132.
- Van Wormhoudt, A., Bellon-Humbert, C., 1995 Bases biológicas del cultivo de crustáceos: Muda. In: Barnabé, G. (ed.) Bases biológicas y ecológicas de la acuicultura. Editorial Acribia. pp. 237-249.
- Van Wormhoudt, A., Bellon, C., Leroux, A., 1978. Influence des formations endocrines sur l'incorporation de leucine tritiée dans les protéines de l' hépatopancréas de crevette *Palaemon serratus* Penant. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 35, 263-273.
- Van Wormhoudt, A., 1980 Regulation d'activité de l' α -amylase a différentes températures d'adaptation et en fonction de l'ablation des péduncules oculaires et du stade de mue chez *Palaemon serratus*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 8, 193-203.