



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

CAMBIOS EN LA TASA DE RECAMBIO METABÓLICA,
ACTIVIDAD DIGESTIVA Y BIOTA BACTERIANA EN EL
CAMARÓN *Penaeus vannamei* POR EFECTO DEL
CRECIMIENTO COMPENSATORIO.

T E S I S

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Acuicultura)

P r e s e n t a

Jorge Giovanni Quintino Rivera

La Paz, Baja California Sur, marzo de 2022.

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 11:00 horas del día 18 del mes de febrero del 2022, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"CAMBIOS EN LA TASA DE RECAMBIO METABÓLICA, ACTIVIDAD DIGESTIVA Y BIOTA BACTERIANA EN EL CAMARÓN *Penaeus vannamei* POR EFECTO DEL CRECIMIENTO COMPENSATORIO."

Presentada por el alumno:

Jorge Giovanni Quintino Rivera

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **ACUICULTURA**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA



Dr. Alberto Peña Rodríguez
Co-Director de Tesis



Dra. Regina Elizondo González
Co-Directora de Tesis



Dr. Julián Gamboa Delgado
Co-Tutor de Tesis



Dr. Gracia Alicia Gómez Anduro
Directora de Estudios de Posgrado y
Formación de Recursos Humanos

La Paz, Baja California Sur, a 07 de marzo de 2022

Los miembros del comité de tesis del estudiante JORGE GIOVANNI QUINTINO RIVERA del Programa de Maestría en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales, revisamos el contenido de la tesis y otorgamos el Vo.Bo. dado que la tesis no representa un plagio de otro documento como lo muestra el reporte de similitud realizado:

- Herramienta antiplagio: Ithenticate
- Filtros utilizados:
Citas excluidas, Bibliografía excluida
- Porcentajes de similitud:
17% Se muestra captura de pantalla



Resumen de Coincidencias

Rank	Source	Words	Copy Date	Similarity
1	Internet	652 palabras	Copiado el 21-May-2021 dspace.cibnor.mx:8080	4%
2	Internet	114 palabras	eprints.unam.mx	1%
3	Internet	109 palabras	Copiado el 23-Jul-2021 bibliotecadigital.exactas.uba.ar	1%
4	Internet	99 palabras	ri.agro.uba.ar	1%
5	Internet	93 palabras	Copiado el 17-Jul-2021 cibnor.repositorioinstitucional.mx	1%
6	Internet	86 palabras	hdl.handle.net	1%
7	Internet	79 palabras	bdigital.unal.edu.co	<1%
8	Internet	71 palabras	Copiado el 10-Mar-2017 universidad.unam.mx	<1%

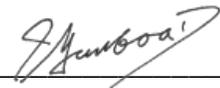
Firmas del comité



Dr. Alberto Peña Rodríguez
Co-Director de Tesis



Dra. Regina Elizondo González
Co-Directora de Tesis



Dr. Julián Gamboa Delgado
Co-Tutor de Tesis

Conformación de Comités

Comité Tutorial

Dr. Alberto Peña Rodríguez
Cátedra CONACyT-CIBNOR
Co-Director de Tesis

Dra. Regina Elizondo González
Cátedra CONACyT-CIBNOR
Co-Directora de Tesis

Dr. Julián Gamboa Delgado
Universidad Autónoma de Nuevo León
Co-Tutor de Tesis

Comité Revisor de Tesis

Dr. Alberto Peña Rodríguez
Dra. Regina Elizondo González
Dr. Julián Gamboa Delgado

Jurado de Examen

Dr. Alberto Peña Rodríguez
Dra. Regina Elizondo González
Dr. Julián Gamboa Delgado

Suplente

Dra. Laura Teresa Guzmán Villanueva

Resumen

El camarón blanco *Penaeus vannamei* es una de las especies acuícolas de mayor valor económico a nivel mundial y la más importante en México. El rápido crecimiento de la industria acuícola requiere la aplicación de diferentes estrategias que permitan disminuir los costos de producción, entre las cuales se encuentra el manejo de alimento. Uno de los métodos utilizados en la acuicultura es la restricción temporal de alimento y posterior realimentación a saciedad, lo cual genera una fase de crecimiento acelerado conocido como crecimiento compensatorio. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar los efectos generados por el crecimiento compensatorio sobre actividad enzimática digestiva, tasa de recambio metabólica y la biota bacteriana intestinal del camarón *P. vannamei* bajo diferentes regímenes de alimentación. Se evaluaron 3 tratamientos, los cuales consistieron en 3 (T3) y 6 (T6) días con 70% de restricción de alimento y posteriormente un periodo de alimentación a saciedad, así como un tratamiento control sin periodos de restricción. Los resultados mostraron un crecimiento compensatorio completo en los tratamientos T3 y T6 al día 35 de bioensayo. Se observó un aumento significativo en la actividad de tripsina y lipasa durante el crecimiento compensatorio, mientras que la actividad específica de amilasa fue significativamente menor en el tratamiento T6 respecto a los otros dos tratamientos. Para determinar la tasa de recambio metabólica, se realizó un análisis de los valores isotópicos de nitrógeno $\delta^{15}\text{N}$ a niveles de abundancia natural. Los camarones bajo regímenes de restricción alimenticia presentaron menores tasas de recambio metabólico y tiempos de residencia más altos (t_{50}) en comparación a los individuos en el tratamiento control. En cuanto a los cambios en las comunidades bacterianas presentes en el camarón, no se observaron diferencias significativas a nivel de phylum, siendo *Proteobacteria* las bacterias más abundantes, seguido de *Actinobacteria* y *Plactomycetes*. A nivel de familia, *Rhodobacteraceae* abarcó más del 90% de la abundancia relativa en todos los tratamientos, mientras que se observó una disminución de *Vibrionaceae* en los tratamientos T3 y T6 respecto al control durante el día 14. Para el día 35, se observó una mayor abundancia de la familia *Vibrionaceae* en el control y T3, respecto al tratamiento T6. A nivel de género se identificó una disminución significativa de *Celeribacter*, *Catenococcus* y *Epibacterium* en camarones con restricción alimenticia respecto al control durante el crecimiento compensatorio (14 días), sin embargo, para el día 35 no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. El presente estudio provee un mejor entendimiento sobre los efectos producidos durante el crecimiento compensatorio en el camarón, lo cual contribuirá al desarrollo de estrategias de manejo de alimento en beneficio de la industria camaronícola.

Palabras clave: *Penaeus vannamei*, crecimiento compensatorio, isótopos estables, actividad digestiva, comunidades bacterianas.

ORCID: 0000-0001-8126-1752



Dr. Alberto Peña Rodríguez
Co-Director de Tesis



Dra. Regina Elizondo González
Co-Directora de Tesis

Summary

The white shrimp *Penaeus vannamei* is one of the aquaculture species with the highest economic value worldwide and the most important in Mexico. The rapid growth of the aquaculture industry requires the application of different strategies to reduce production costs, among which is feed. One of the strategies used in aquaculture is the temporary restriction of feed and subsequent refeeding to satiety, which generates a phase of accelerated growth known as compensatory growth. The present work aims to evaluate the effects generated by compensatory growth on digestive enzyme activity, metabolic turnover rate and the intestinal bacterial biota of shrimp *P. vannamei* under different feeding regimes. Three treatments were evaluated, which consisted of 3 (T3) and 6 (T6) days with 70% feed restriction followed by a period of feeding to satiety, as well as a control treatment without restriction periods. The results showed a complete compensatory growth in treatments T3 and T6 at day 35 of the bioassay. A significant increase in trypsin and lipase activity was observed during compensatory growth, while specific amylase activity was significantly lower in treatment T6 compared to the other two treatments. To determine the metabolic turnover rate, an analysis of $\delta^{15}\text{N}$ nitrogen isotope values at natural abundance levels was performed. Shrimp under food restriction had lower metabolic turnover rates and higher residence times (t_{50}) compared to individuals in the control treatment. Regarding the changes in the bacterial communities present in the shrimp, no significant differences were observed at the phylum level, with *Proteobacteria* being the most abundant bacteria, followed by *Actinobacteria*. At family taxa level, *Rhodobacteraceae* comprised more than 90% of the relative abundance in all treatments, while a decrease in *Vibrionaceae* was shown in treatments T3 and T6 compared to the control at day 14. By day 35, there was a greater abundance of the *Vibrionaceae* family in the control and T3, compared to T6. At the genus level, a significant decrease in *Celeribacter*, *Catenococcus* and *Epibacterium* was identified in shrimp with food restriction compared to the control during compensatory growth (day 14), nevertheless, by day 35 no significant differences were observed. The present findings contribute to a better understanding on the effects produced during compensatory growth in shrimp, which could help to develop strategies for feed management in benefit of the shrimp aquaculture industry.

Key words: *Penaeus vannamei*, compensatory growth, stable isotopes, digestive activity, bacterial communities.

ORCID: 0000-0001-8126-1752



Dr. Alberto Peña Rodríguez
Co-Director de Tesis



Dra. Regina Elizondo González
Co-Directora de Tesis

Dedicatoria

A mi familia y a todos mis seres queridos.

Agradecimientos

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. por permitirme realizar mis estudios de Maestría, a su personal administrativo y profesores que fueron parte de mi formación académica. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada (becario número 1001132).

Al proyecto #A1-S-38853 titulado “Plasticidad metabólica y crecimiento compensatorio en camarón *Litopenaeus vannamei*”, financiado por el Fondo Sectorial de Investigación para la Educación SEP-CONACYT, Convocatoria de Investigación Científica Básica 2017-2018.

Al Comité Tutorial por todo su tiempo y paciencia. Al Dr. Alberto Peña Rodríguez por permitirme ser parte de este proyecto, por su paciencia y disponibilidad en todo momento para la resolución de dudas y por haber compartido sus conocimientos conmigo. A la Dra. Regina Elizondo González, por haber estado siempre pendiente de los avances de tesis, por sus recomendaciones y comentarios para la mejora continua del presente trabajo. Al Dr. Julián Gamboa Delgado por su tiempo y sus valiosos conocimientos compartidos. A los tres, muchas gracias por su tiempo, consejos y enseñanza.

Al Laboratorio de Genómica y Bioinformática, a la M.C. Gabriela Carrión Espinoza, muchas gracias por toda su amabilidad, ayuda y paciencia en el tiempo que pasé en este Laboratorio.

Al Laboratorio de Fisiología Animal Comparada y Genómica Funcional, a la Dra. Laura Teresa Villanueva Guzmán por toda su enseñanza y paciencia para la realización de los análisis de enzimas digestivas. Al Dr. Dariel Tovar Ramírez por su ayuda en la estandarización de pruebas para la determinación de actividad enzimática.

Al Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola, Biol. Sandra de La Paz Reyes y Biol. Gabriel Robles.

Al Laboratorio de Análisis Químico Proximal, I.B.Q. María Dolores Rondero Astorga y Geol. Sindi Areli Juan Antúnez, por su ayuda en todo momento durante el periodo de esta Maestría.

A mis compañeros de Maestría, Aldahir, David, Ayenia, Jaqueline, Bárbara, Daniela, Miranda y Paty, por todos los momentos y experiencias vividas, me llevo conmigo todos esos recuerdos bonitos a su lado.

A mi novia Izamar, por estar siempre conmigo, por todo ese apoyo incondicional durante esta etapa de Maestría.

Contenido

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	v
Lista de figuras	vii
Lista de tablas	viii
Abreviaturas	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Acuicultura	3
2.2 Camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i>	5
2.2.1 Alimentación del camarón blanco	6
2.3 Restricción de alimento y crecimiento compensatorio	7
2.4 Marcadores isotópicos (isótopos estables)	10
2.5 Efecto de la restricción de alimento en la actividad enzimática	12
2.6 Comunidades bacterianas en <i>Penaeus vannamei</i>	14
2.6.1 Cambios en la biota intestinal por efecto de la restricción de alimento	16
3. JUSTIFICACIÓN	19
4. HIPOTESIS	20
5. OBJETIVOS	21
5.1 Objetivo general	21
5.2 Objetivos particulares	21
6. MATERIAL Y MÉTODOS	22
6.1. Evaluar el rendimiento productivo del camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i> durante diferentes periodos de restricción de alimento.	22
6.1.1 Diseño experimental	22
6.1.2 Análisis estadísticos	24
6.1.3 Muestreos	25
6.2. Evaluar la tasa de recambio metabólico en el camarón blanco	25
6.2.1 Análisis isotópico	25
6.2.2 Estimación de la tasa de recambio de nutrientes y tiempo medio	25
6.3 Determinación de actividad enzimática	26
6.3.1 Preparación del extracto enzimático	26
6.3.2 Cuantificación de la actividad enzimática digestiva	27
6.3.3 Análisis estadísticos	27
6.4. Determinar los cambios en las comunidades microbianas del camarón por efecto de diferentes regímenes de alimentación.	28
6.4.1 Extracción y cuantificación de ADN	28
6.4.2 Preparación de librerías y secuenciación	28
6.4.3 Análisis bioinformático	28
7. RESULTADOS	29

7.1 Determinación del rendimiento productivo del camarón <i>P. vannamei</i> bajo los diferentes regímenes alimenticios	29
7.2 Determinación de la tasa de recambio metabólica durante el crecimiento compensatorio de <i>P. vannamei</i>	33
7.2.1 Equilibrio isotópico de Nitrógeno.....	33
7.3 Determinación de la actividad digestiva durante el crecimiento compensatorio de <i>P. vannamei</i>	36
7.3.1 Actividad de tripsina	36
7.3.2 Actividad de amilasa	37
7.3.3 Actividad de lipasa.....	38
7.4 Determinación de los cambios en las comunidades bacterianas del camarón.....	39
7.4.1 Alpha diversidad	39
7.4.2 Cambios en las comunidades bacterianas a nivel de phylum, familia y género	40
8. DISCUSIÓN	43
8.1 Determinación del rendimiento productivo de <i>P.vannamei</i> bajo los diferentes tratamientos de restricción de alimento	43
8.2 Determinación de la tasa de recambio metabólico durante el crecimiento compensatorio de <i>P. vannamei</i>	45
8.3 Determinación de la actividad digestiva durante el crecimiento compensatorio de <i>P. vannamei</i>	47
8.3.1 Actividad de tripsina	47
8.3.2 Actividad de amilasa	48
8.3.3 Actividad de lipasa.....	49
8.4 Determinación de los cambios en las comunidades bacterianas durante el crecimiento compensatorio de <i>P. vannamei</i>	50
9. CONCLUSIÓN.....	53
10. LITERATURA CITADA.....	54
11. ANEXOS.....	75

Lista de figuras

Figura 1. Producción mundial de organismos comestibles y plantas acuáticas, 1990-2018.....	3
Figura 2. Producción total de camarones por cultivo y captura en México	4
Figura 3. Dibujo esquemático de <i>P. vannamei</i>	5
Figura 4. Representación gráfica del crecimiento compensatorio	8
Figura 5. Regímenes de alimentación experimental de los tratamientos.....	22
Figura 6. Peso promedio a 0, 7, 14, 21, 28 y 35 días de experimentación de <i>P. vannamei</i> con los tratamientos T3, T6 y control ($p < 0.05$, $n = 3$).....	29
Figura 7. Tasa de crecimiento específica (TCE) diaria de camarones control y tratamientos T3 y T6 durante los días 0 a 7 de experimentación ($p < 0.05$, $n = 3$).....	31
Figura 8. Tasa de crecimiento específico (TCE) por día de los tratamientos Control, T3 y T6 durante los días 7 a 28 de bioensayo ($p < 0.05$, $n = 3$).....	32
Figura 9. Tasa de crecimiento específico (TCE) por día de los tratamientos Control, T3 y T6 al día 35 de bioensayo ($p > 0.05$, $n = 3$).	33
Figura 10. Cambios isotópicos en músculo de <i>P. vannamei</i> causados por un cambio de dieta aplicado a camarones que posteriormente se mantuvieron sin restricción de alimento (a), camarones sujetos a una restricción de alimento de 3 días (b) y 6 días (c). Los rombos representan los valores $\delta^{15}N$ determinado en diferentes días. Los cuadrados representan los valores predichos por una ecuación de cambio isotópico y muestran la contribución del crecimiento y de la tasa de recambio metabólica al cambio isotópico observado ($k + m$). Los triángulos muestran el cambio isotópico atribuido solamente al crecimiento (k).....	34
Figura 11. Actividad específica de tripsina durante el crecimiento compensatorio de <i>P. vannamei</i> durante los días 9, 14 y 35 de ensayo ($p < 0.05$, $n=6$).....	36
Figura 12. Actividad específica de amilasa durante los días 9, 14 y 35 del camarón <i>P. vannamei</i> sometido a diferentes regímenes de alimentación ($p < 0.05$, $n=6$).....	37
Figura 13. Actividad específica de lipasa durante los días 9, 14 y 35 de bioensayo en <i>P. vannamei</i> bajo restricción alimenticia del 70% ($p < 0.05$, $n=6$). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos.	38
Figura 14. Gráfico de componentes principales (PCA) donde se muestra el agrupamiento de las comunidades bacterianas en el intestino de camarón de los diferentes tratamientos experimentales al día 14 de bioensayo.....	39
Figura 15. Abundancia relativa de las comunidades bacterianas (phylum) durante los días 14 y 35 de bioensayo en camarones sometidos a diferentes regímenes de alimentación.	40
Figura 16. Abundancia relativa a nivel de familia en el intestino de camarones bajo diferentes protocolos de alimentación durante el día 14 y 35 de bioensayo.....	41
Figura 17. Comunidades bacterianas a nivel de género en intestino de camarón bajo diferentes regímenes alimenticios durante el día 14 y 35 de bioensayo.....	42

Lista de tablas

Tabla 1. Composición del alimento de acondicionamiento y experimental para la evaluación de la actividad digestiva, tasa de recambio metabólica y comunidades bacterianas	23
Tabla 2. Parámetros zootécnicos de camarones control, T3 y T6 después de 35 días de experimentación	30
Tabla 3. Valores de los parámetros de crecimiento (k), tasa de recambio metabólica (m), contribuciones de m y k al cambio isotópico y tiempo medio de residencia de nitrógeno (t ₅₀) en <i>P. vannamei</i> sometidos a diferentes regímenes de alimentación.	35
Tabla 4. Alpha diversidad de bacterias en intestino de camarones sometidos a diferentes regímenes de alimentación al día 35 de bioensayo	39

Abreviaturas

$\delta^{15}\text{N}$	Notación delta para expresar valores isotópicos de nitrógeno
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARNr	Ácido ribonucleico ribosomal
μL	Microlitros
ANOVA	Análisis de varianza
CIBNOR	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
CONAPESCA	Consejo Nacional de Acuacultura y Pesca
FCA	Factor de conversión alimenticia
ml	Miligramos
g	Gramos
INAPESCA	Instituto Nacional de Pesca
k	Tasa de crecimiento por día
m	Tasa de recambio metabólica
OTU	Unidad taxonómica operacional
rpm	Revoluciones por minuto
TC	Tasa de crecimiento
TCE	Tasa de crecimiento específica
UPS	Unidades prácticas de salinidad

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una actividad que representa un gran valor económico dentro del sector alimentario. En el año 2016, la producción de especies acuícolas ascendió a 110 millones de toneladas, estimadas en un valor de 243,500 millones de dólares (FAO, 2018). Durante los últimos 30 años, la producción de crustáceos, principalmente los camarones de la familia de los penéidos (*Penaeidae*) se ha incrementado, con un promedio anual de crecimiento de 14%. En particular, el camarón blanco del Pacífico (*Penaeus vannamei*) representó el 53% de la producción mundial de crustáceos durante el 2016 (Peeler, 2012; FAO, 2018). Sin embargo, uno de los principales problemas de la acuicultura son los altos costos de producción, donde el alimento representa el gasto operacional más importante, pudiendo alcanzar más del 50% del total de la producción (Rana *et al.*, 2009). Adicionalmente, el crecimiento de la actividad acuícola puede contribuir a la contaminación del medio ambiente, donde los residuales de nitrógeno y fósforo, son considerados como los mayores contaminantes presentes en el agua residual producida por acuicultura (Cao *et al.*, 2007). Por lo que la sobrealimentación no sólo genera un mayor costo de producción, sino que también afecta la calidad del agua (Chang *et al.*, 2005).

En los últimos años, se ha estudiado la implementación de diferentes procesos y estrategias que permitan la mejora continua de la producción acuícola. Una de estas estrategias es la aplicación de periodos temporales de ayuno o de restricción parcial de alimento, mismos que pueden presentarse en los organismos acuáticos en su ambiente natural durante su ciclo de vida (Maciel *et al.*, 2018). En la acuicultura se han utilizado los periodos cortos de ayuno como estrategia de manejo para disminuir la cantidad de alimento suministrado, reducir los costos de producción, mitigar el deterioro de la calidad del agua en la producción acuícola, además de reducir la emisión de efluentes durante el periodo de restricción de alimento (Jobling *et al.*, 1994; Hayward *et al.*, 1997; Shoemaker *et al.*, 2003). Al restaurarse las condiciones de alimentación después de un periodo de restricción, los organismos presentan un proceso de rápido crecimiento conocido como crecimiento compensatorio (Zhu *et al.*, 2016).

Sin embargo, una restricción de nutrientes en la dieta puede alterar la tasa metabólica de los individuos, debido a que los organismos tienden a reciclar estos nutrientes disponibles para sus procesos fisiológicos elementales y no para su propio crecimiento (Gamboa-Delgado *et al.*, 2011). También se ha reportado un efecto en la actividad enzimática en camarones, los cuales pueden regular su actividad digestiva ante el cambio en sus hábitos alimenticios como estrategia para disminuir la utilización de las reservas energéticas ante condiciones de escasez de alimento (Sánchez *et al.*, 2007). Por otro lado, los periodos prolongados de restricción alimenticia también pueden reestructurar la composición bacteriana en el intestino de los animales (Eslamloo *et al.*, 2017; Sacristán *et al.*, 2016), lo que puede dar paso a una alteración de la respuesta inmune del huésped e incrementar así el riesgo de enfermedades generadas por bacterias patógenas (Brown *et al.*, 2012).

Actualmente, se sabe poco sobre los efectos a nivel fisiológico que puede traer consigo la implementación del crecimiento compensatorio dentro del cultivo del camarón, por lo que en el presente trabajo se evaluó el efecto de la restricción y restablecimiento de alimento sobre el recambio de nutrientes en el tejido muscular del camarón por medio del análisis de isótopos estables ($\delta^{15}\text{N}$), así como el cambio en la actividad enzimática de tripsina, lipasa y amilasa en camarones sometidos. Por otro lado, se realizó un análisis de metagenómica utilizando muestras de ADN del tejido intestinal por medio de las herramientas de secuenciación de última generación (NGS, por sus siglas en inglés) para identificar los cambios en la biota bacteriana del camarón blanco *Penaeus vannamei* durante el proceso de crecimiento compensatorio.

2. ANTECEDENTES

2.1 Acuicultura

La acuicultura es una práctica que consiste en el cultivo de organismos acuáticos (algas, moluscos, crustáceos y peces) en la que implica el control sobre las condiciones del medio donde se desarrollan estas especies (Le François *et al.*, 2010). El cultivo de animales acuáticos provee actualmente cerca del 50% del alimento marino mundial (FAO, 2012), y es una actividad que ha tenido un alto crecimiento en su producción. En el año 2018, la producción de plantas y animales ascendió a 114.5 millones de toneladas (Figura 1), estimadas en un valor de 263,600 millones de dólares, donde la producción total de organismos acuícolas alcanzó los 82.1 millones de toneladas estimadas en un valor de 250.1 billones de dólares, cuya producción total comprendió de 54.3 millones de toneladas de peces de aleta, 17.7 millones de toneladas de moluscos y 9.4 millones de toneladas de crustáceos (FAO, 2020).

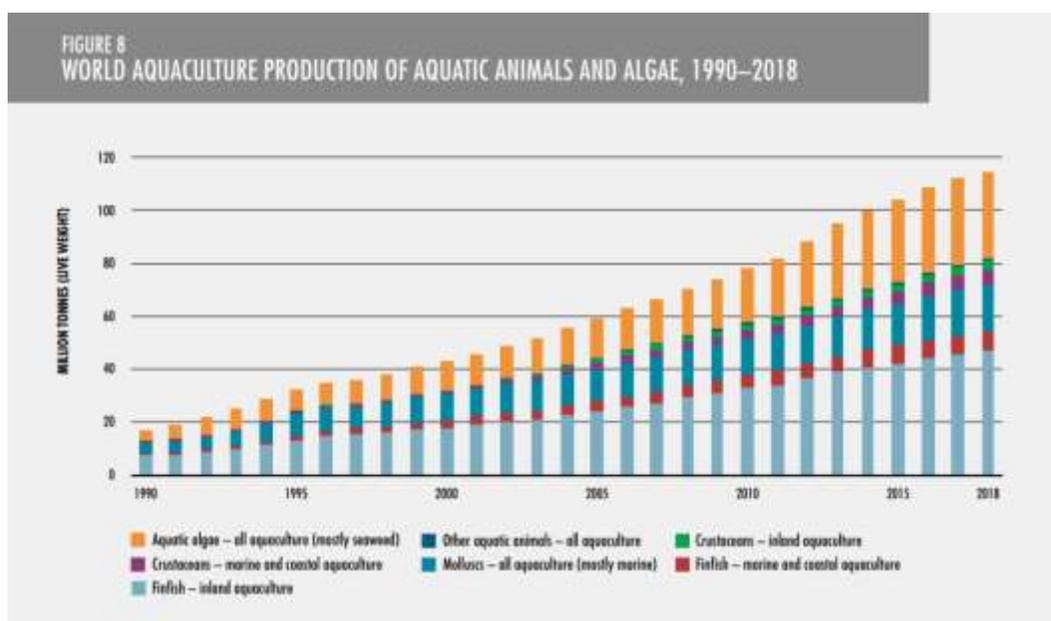


Figura 1. Producción mundial de organismos comestibles y plantas acuáticas, 1990-2018. Fuente: FAO, 2020.

Más de 62 especies de crustáceos han sido cultivadas en granjas acuícolas alrededor del mundo. La maricultura contribuye con aproximadamente el 60.8% de la producción total de crustáceos, mientras que el 39.2% restante es por medio de la producción acuícola en tierra (FAO, 2012). La

camaronicultura desempeña un papel importante en la economía mundial, de acuerdo con la información de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la producción de camarones marinos y de aguas salobres se ha expandido desde menos de 10,000 toneladas métricas en 1970, hasta más de 4,000,000 toneladas métricas en el año 2014 (FAO, 2016), donde una de las especies más producidas ha sido el camarón blanco *Penaeus vannamei*, contribuyendo aproximadamente con el 80% de la producción total de camarón (Flegel, 2008). Para el año 2020, la producción mundial de camarón blanco ascendió a más de 4.9 millones de toneladas (FAO, 2020).

En México se produjeron cerca de 395 millones de toneladas en el año 2018, donde los organismos más cultivados fueron camarón (158,115 mil toneladas), mojarra (135,571 mil toneladas) y ostión (42,107 mil toneladas), siendo el camarón el organismo que ha dejado mayores ganancias (CONAPESCA, 2018). La producción de camarón por cultivo ha superado el volumen de capturas en mar abierto, esteros, lagunas y bahías. En el año 2018, el valor de la producción se estimó en 16.5 millones de pesos, y se produjeron más de 158,000 toneladas por medio de la acuicultura (Figura 2). La mayor parte de las granjas acuícolas se concentran en el Noroeste del país y es exclusiva del camarón blanco del pacífico *P. vannamei*, siendo Sonora y Sinaloa los estados donde se produce más del 70% de la cosecha total de camarón (Galitzine *et al.*, 2009; CONAPESCA, 2018).

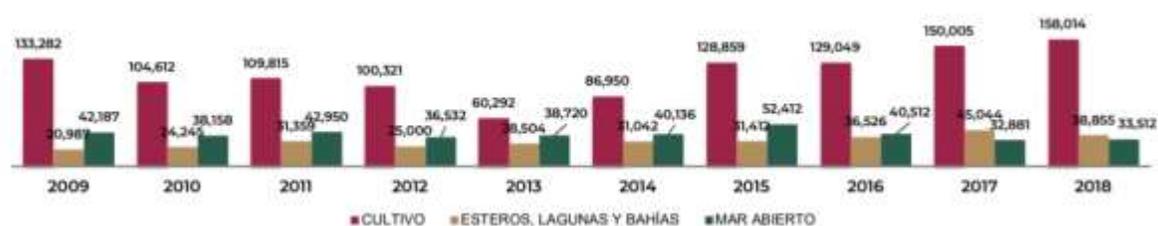


Figura 2. Producción total de camarones por cultivo y captura en México. Fuente: CONAPESCA, 2018.

2.2 Camarón blanco *Penaeus vannamei*

El camarón blanco *Penaeus vannamei* (Figura 3) es un decápodo de cuerpo alargado y es nativo de la costa este del Pacífico de México y del Norte de Perú. Esta especie se desarrolla habitualmente en ambientes acuáticos donde la temperatura media es de 20°C durante todo el año y toleran un intervalo de salinidad que va desde los 2 hasta 40 unidades prácticas de salinidad (ups), encontrando su óptimo desarrollo a 35 ups (INAPESCA, 2013). Usualmente, las hembras de esta especie presentan un rápido crecimiento en relación al de los machos (FAO, 2016). Tiene 19 pares de segmentos corporales: los primeros 5 pares de segmentos se sitúan en la parte del cefalón, los siguientes 8 pares en la parte torácica y los últimos 6 pares de segmentos se encuentran en el abdomen. Las patas natatorias están localizadas en los primeros 5 pares del abdomen (Ruppert y Barnes, 1994). Los camarones juveniles y pre-adultos se desarrollan en estuarios y lagunas costeras, mientras que los adultos viven en ambientes acuáticos con fondos arenosos. Además, su alimentación en el medio natural es omnívora (INAPESCA, 2013).

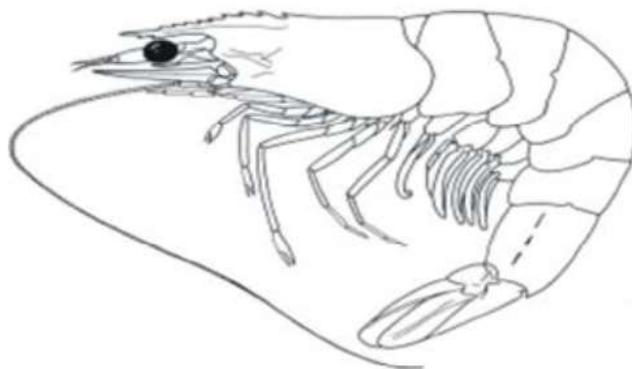


Figura 3. Dibujo esquemático de *P. vannamei*. Fuente: Lovett y Felder, 1989.

2.2.1 Alimentación del camarón blanco

La nutrición del camarón es un aspecto importante para considerar para la rentabilidad de la industria acuícola, debido a que la dieta puede abarcar del 50 al 70% de los gastos operacionales de la producción (Cummins *et al.*, 2013; Jatobá *et al.*, 2014). Para su crecimiento adecuado, este organismo, al igual que todos los animales, requiere de una dieta con aporte de energía, proteína y lípidos (Ali, 2019). La alimentación del camarón blanco en cultivos acuícolas comprende de dietas elaboradas a partir de diferentes fuentes de ingredientes, ya sea vegetal o animal, siendo esta última generalmente de mayor costo y de menor disponibilidad (Chamberlain, 1995).

Las proteínas son los principales componentes dietarios y se encuentran en diferentes ingredientes, tales como la harina de pescado, pasta de soya, harina de trigo, entre otros (Lim y Akiyama, 1995). Las bajas proporciones de proteína incluida en la dieta pueden provocar una rápida disminución en el crecimiento, pero los altos niveles de proteína dietética pueden elevar los gastos de producción y aumentar la excreción de nitrógeno al agua (Lee y Lee, 2018; Zhou *et al.*, 2007).

Respecto a los costos, la proteína es el nutriente más caro de la dieta del camarón, siendo la harina de pescado la fuente de proteína animal más utilizada en el alimento comercial. Este componente de la dieta de camarón ha sufrido un incremento de precio en los últimos años, afectando directamente los costos de producción en la industria acuícola (Davis *et al.*, 2008; Oujifard *et al.*, 2012). Por otro lado, la harina de soya es la fuente vegetal de proteína más utilizada en la alimentación del camarón, que al igual que la harina de pescado, ha sufrido un aumento en su costo (Lim y Akiyama, 1995; Rana *et al.*, 2009).

Varios estudios demuestran que el camarón blanco puede ser cultivado con la sustitución casi completa de la harina de pescado con otras fuentes de proteínas, principalmente harina y concentrado de soya (Sabry *et al.*, 2016; Sookying *et al.*, 2013; Suárez *et al.*, 2009), sin embargo, la harina de soya presenta menor digestibilidad de nutrientes, un perfil deficiente de aminoácidos principalmente en metionina, factores antinutricionales y baja atractabilidad (Gatlin *et al.*, 2007; Tacon y Metian, 2008).

Anteriormente se ha empleado la restricción de alimento y la alimentación *ad libitum* para reducir los costos de producción de los cultivos acuícolas (Eroldogan *et al.*, 2004; Rowland *et al.*, 2005). Se sugiere que estos protocolos de restricción de alimento no deben exceder el 75% de la dieta, con estas estrategias se optimiza la utilización del alimento y se reduce el deterioro del agua de cultivo (Einen *et al.*, 1999; Pirhonen y Forsman, 1999).

2.3 Restricción de alimento y crecimiento compensatorio

Las variaciones naturales en la disponibilidad de alimento en los ambientes acuáticos provocan que los animales marinos sufran periodos de escasez alimenticia (Caruso *et al.*, 2011). En el sector acuícola, la restricción de alimento es una práctica causante de estrés, pero ha sido utilizada como estrategia económica y para la producción amigable con el medio ambiente, manteniendo un equilibrio en los niveles de nitrógeno y fósforo (Lucas y Southgate, 2019; Zhu *et al.*, 2016). El objetivo principal de la restricción alimenticia es establecer protocolos que permitan disminuir los costos operacionales y al mismo tiempo obtener beneficios adicionales como reducir el impacto ambiental mediante la aplicación de menores cantidades de alimento. Tomando en cuenta estas estrategias, se han realizado estudios para evaluar las restricciones parciales o totales de alimento en organismos acuáticos (Adaklı y Tasbozan, 2015).

La restricción de alimento se ha implementado por medio de la alimentación en días alternados, la cual consiste en reducir las porciones de alimento, y ha permitido disminuir hasta un 50% de los costos de producción, dando como resultado un valor menor del factor de conversión alimenticia y produciendo organismos de tallas similares (Price y Egna, 2014).

Muchos animales tienen la habilidad de regular su crecimiento en respuesta a cambios ambientales negativos (Cui, 1989). Se ha observado en peces que sufrieron una restricción de alimento, presentaron una mayor tasa de crecimiento durante el periodo de restablecimiento de la dieta en comparación con los animales que tuvieron disponibilidad continua de alimento (Ali *et al.*, 2003). A esto se le conoce como crecimiento compensatorio, en el cual los organismos presentan un crecimiento acelerado cuando regresan a sus condiciones ideales después de haber sufrido algún factor de estrés ambiental como la hipoxia o temperatura, pero principalmente por una restricción de alimento (Ali *et al.*, 2003; Wilson y Osbourn, 1960; Wu *et*

al., 2001; Zeigler, 2012). Este crecimiento se caracteriza por el incremento de la tasa de ganancia de peso durante el periodo de recuperación (Dobson y Holmes, 1984). Los estudios en *Penaeus vannamei*, reportan su capacidad para completar este crecimiento en periodos cortos de restricción y realimentación, presentando un aumento en la eficiencia de la conversión alimenticia, además de la disminución en la excreción metabólica, lo cual conduce a menores concentraciones de fósforo en el agua de cultivo proveniente del alimento no consumido (Maciel *et al.*, 2018).

La compensación en el crecimiento de los individuos puede presentarse de diferentes maneras (Figura 4). Por un lado, puede ser completa, en la cual los animales que sufrieron un estrés por restricción de alimento alcanzan el mismo peso que aquellos que fueron alimentados bajo condiciones adecuadas. Por otra parte, la compensación puede ser parcial, en la que los organismos con restricción crecen, pero no alcanzan la talla final de los animales alimentados continuamente, o bien, no puede presentarse una compensación debido a largos periodos de restricción o periodos muy cortos de recuperación o realimentación. En el mejor de los casos, las especies pueden presentar una sobrecompensación en la que logran superar en peso a los del tratamiento control (Ali *et al.*, 2003).

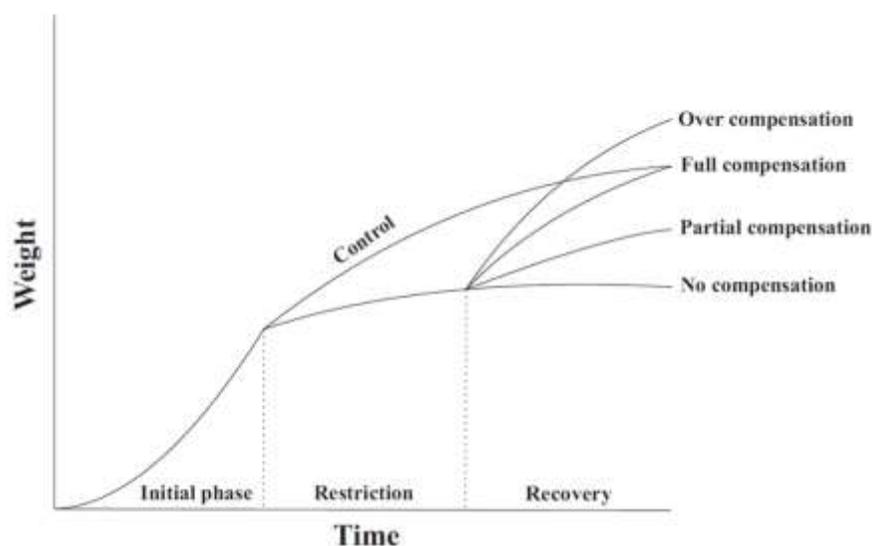


Figura 4. Representación gráfica del crecimiento compensatorio. Fuente: Ali *et al.* (2003).

El crecimiento compensatorio tiene un efecto positivo tanto en la producción, mejorando el factor de conversión alimenticia, como en el aspecto ambiental. De acuerdo con Zhu *et al.* (2016), los periodos cortos de ayuno o de restricción de alimento promueven una disminución en la cantidad de heces, nitrógeno y fósforo presentes en el agua por alimento no consumido, por lo que el establecimiento de un protocolo de alimentación y restricción alimenticia puede tener un efecto positivo ante el problema ambiental que enfrenta la acuicultura, sin afectar el crecimiento de las especies cultivadas.

Estudios anteriores demuestran que se pueden aplicar diferentes periodos de restricción alimenticia o ayuno sin afectar el peso final de los individuos. Russel y Wootton (1992) realizaron pruebas en piscardo (*Phoxinus phoxinus*) por medio de periodos cortos de restricción de alimento. Evaluaron dos tratamientos de restricción y un control durante un periodo de 7 semanas. Uno de los tratamientos consistió en la restricción total de alimento por 16 días, mientras que el tratamiento restante fue alimentado con pequeñas raciones calculadas a partir de su masa corporal (ración de mantenimiento), ambos tratamientos contaron con tiempo de recuperación de 3 semanas. En las semanas 5 y 6, los resultados mostraron diferencias significativas en la tasa de crecimiento específico en el tratamiento donde se restringió el alimento por 16 días, mostrando una mayor tasa de crecimiento específico. Por otra parte, en el trabajo de Jobling y colaboradores (1994) se aplicaron diferentes regímenes de alimentación en bacalao (*Gadus morhua*), los cuales consistieron en intervalos de ayuno durante 1, 2 y 3 semanas, seguido de un periodo de realimentación de 1, 2 y 3 semanas, respectivamente, además de un control alimentado continuamente. Al final del experimento no se encontraron diferencias significativas en el peso final de los peces con una semana de ayuno respecto al control, por lo que se consiguió una compensación completa.

Bavčević *et al.* (2010) evaluaron el efecto de la restricción de alimento en dorada, *Sparus aurata*, en donde se aplicaron regímenes de alimentación en relación a la masa corporal de los peces (1.4% y 0.5% al día), además de un tratamiento con ayuno y un control que recibió alimentación continua equivalente al 1.8% de la masa corporal por un periodo de 30 días, seguidos de 30 días de recuperación. Al final del experimento, los peces alimentados con raciones del 1.4% de la masa corporal alcanzaron tallas similares al tratamiento control,

mientras que los tratamientos con 0.5% y ayuno, lograron un crecimiento compensatorio parcial.

Se han estudiado los efectos de la restricción de alimento en camarón chino *Fenneropenaeus chinensis*, en donde los individuos han sido alimentados con raciones correspondientes al 4%, 8% y 12% de su masa corporal por 10 días, seguido de un periodo de recuperación de 30 días con alimentación a saciedad, y se ha observado una mayor tasa de crecimiento específica en todos los grupos con restricción de alimento respecto al control (Wu *et al.*, 2001). Adicionalmente, Dong y Wu (2001) evaluaron el efecto de la restricción alimenticia con ciclos de restricción-realimentación en esta misma especie de camarón, sin embargo, no se logró un crecimiento compensatorio completo.

En el trabajo desarrollado por Wu y Dong (2002), evaluaron el efecto de 6 días de ayuno seguido de una fase de realimentación a saciedad durante 30 días, con diferentes temperaturas en el camarón *Fenneropenaeus chinensis*. Los resultados no mostraron diferencias significativas en la talla final de los individuos a temperaturas de 18, 22 y 26°C, en los que los animales con restricción presentaron una compensación completa, sin embargo, el tratamiento a 30°C sólo obtuvo una compensación parcial.

2.4 Marcadores isotópicos (isótopos estables)

De acuerdo con su alta abundancia natural, los isótopos estables de nitrógeno ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) reportados en notación delta como $\delta^{15}\text{N}$, han sido comúnmente utilizados como una herramienta eficiente para identificar las fuentes de energía y nutrientes en la evaluación de los flujos de nutrientes en sistemas acuáticos (Michener y Schell 1994). En general, ciertos procesos metabólicos tienden a discriminar las formas isotópicas ligeras y pesadas, lo cual conlleva a que los tejidos de los organismos tiendan a enriquecerse del isótopo más pesado. En el caso del ^{15}N , este es retenido en los diversos tejidos en cada proceso metabólico y el ^{14}N es excretado con los desechos nitrogenados (Minagawa y Wada 1984).

Los componentes en la dieta de un organismo poseen diferentes perfiles isotópicos elementales, los cuales son incorporados en los diversos tejidos del organismo consumidor, estos perfiles pueden ser utilizados para inferir conexiones tróficas en el ambiente (Vander

Zanden *et al.*, 1998). La firma isotópica presente en un organismo refleja el contenido isotópico del alimento consumido, por lo que es posible determinar, mediante la aplicación de experimentos controlados y modelos de balance de masas, los aportes dietarios al crecimiento en un periodo de tiempo determinado. Este método ha sido utilizado para medir la contribución proporcional del alimento natural y artificial a la nutrición del camarón en estanques acuícolas (Burford *et al.*, 2004; Parker y Anderson 1989; Peterson y Fry, 1987). La medición de las proporciones isotópicas en las fuentes de alimento puede ayudar a determinar la importancia de estas fuentes para la nutrición del camarón (Gearing, 1991; Phillips y Gregg, 20030), por lo que el uso de dietas formuladas con ingredientes cuyos valores isotópicos son conocidos, permite distinguir y cuantificar la contribución de estas fuentes al crecimiento después que hayan sido situadas fisiológicamente (Fischer *et al.*, 2004; Gamboa-Delgado *et al.*, 2011).

El análisis de isótopos estables también se ha utilizado para estimar la tasa metabólica de recambio de diferentes elementos por medio de modelos que describen el cambio isotópico en el tiempo, como lo es el establecido por Hesslein *et al.* (1993), el cual permitió evaluar los cambios isotópicos del tejido larval del pez blanco (*Coregonus nasus*). En estudios en los que se aplica un cambio de dietas isotópicamente diferentes, este modelo permite distinguir el cambio isotópico provocado por la tasa de recambio metabólica y el provocado por la dilución de dichos isótopos por efectos del crecimiento. Gamboa-Delgado *et al.* (2011) evaluaron la incorporación de la macroalga *Ulva clathrata* fresca en la dieta del camarón *Penaeus vannamei* y su contribución isotópica, obteniendo una mayor tasa metabólica en los camarones que fueron alimentados con las concentraciones altas de macroalga, sin embargo, estos mismos individuos presentaron un menor peso. Este bajo peso obtenido por los camarones fue provocado por el bajo perfil nutrimental de la macroalga, por lo que los nutrientes provenientes de la macroalga fueron utilizados para otras funciones y no para el crecimiento tisular.

2.5 Efecto de la restricción de alimento en la actividad enzimática

La digestión y la absorción son los principales procesos en el metabolismo de los animales, por lo que el estudio de la fisiología digestiva es de suma importancia (Gisbert *et al.*, 2009). El análisis de la actividad digestiva puede ser utilizado como indicador de los procesos digestivos y condición nutricional en animales (Bolasina *et al.*, 2009).

Las enzimas digestivas se encargan de la degradación química de los alimentos ingeridos. En crustáceos, estas enzimas son sintetizadas y secretadas por el hepatopáncreas (Barker y Gibson 1979). Además de la síntesis y secreción de enzimas, el hepatopáncreas es el principal órgano para la digestión, absorción y almacenamiento de nutrientes, tales como lípidos, los cuales pueden ser utilizados durante los periodos de ayuno (Icely y Nott, 1992; Ong y Johntson, 2006). Entre los diferentes tipos de enzimas digestivas se encuentran las proteasas, que actúan sobre los enlaces peptídicos de las proteínas, las carbohidrasas, capaces de digerir los carbohidratos, y las lipasas, que hidrolizan los enlaces éster de los lípidos (Terra y Ferreira, 1994; Terra *et al.*, 1996).

La actividad de estas enzimas está relacionada directamente a los procesos digestivos, aprovechamiento de nutrientes y al crecimiento en animales (Xia *et al.*, 2018), donde la lipasa, tripsina y α -amilasa conforman las principales enzimas digestivas en el hepatopáncreas del camarón para la degradación del alimento (Muhlia *et al.*, 2003). Adicionalmente, la actividad enzimática no se mantiene constante, ya que es sensible a factores externos, tales como la escasez, cantidad y calidad del alimento (Charron *et al.*, 2015; Sacristán *et al.*, 2016). Además, en crustáceos decápodos, la actividad digestiva varía como resultado del ayuno durante los ciclos de muda (van Wormhoudt, 1974).

Se han realizado estudios donde se evalúan los efectos de diferentes periodos de ayuno en crustáceos. Calvo *et al.* (2013) evaluaron el efecto del ayuno prolongado durante 50 días, seguido de realimentación por 40 días en langostas de agua dulce *Cherax quadricarinatus*. Observaron una reducción significativa en la actividad de la lipasa durante el periodo de restricción de alimento al día 40 y 50 respecto al control, pero después de la realimentación, los animales con restricción presentaron una actividad enzimática similar a los individuos alimentados continuamente. En el caso de la actividad de amilasa, no se encontraron

diferencias significativas en los días 40 y 50 respecto al control durante el periodo de restricción y realimentación. Para la actividad de proteasas, los individuos con ayuno mostraron una mayor actividad en el día 40 respecto al control, y una menor actividad al día 50 en comparación al control en el periodo de ayuno, pero dichas diferencias no fueron significativas, durante el periodo de restablecimiento del alimento tampoco se encontraron diferencias significativas.

Se ha reportado que los camarones pueden regular su actividad digestiva ante los periodos de ayuno, y la síntesis de energía puede disminuir debido a la reducción del nivel de las enzimas digestivas en condiciones de inanición (Charron *et al.*, 2014; Sacristán *et al.*, 2016; Sánchez *et al.*, 2007). Por su parte, Zhang *et al.* (2010) evaluaron el efecto del ayuno en la actividad enzimática del camarón chino *Fenneropenaeus chinensis*, en un estudio donde los animales fueron sometidos a periodos de inanición durante 4, 8, 12 y 16 días, respectivamente. Los resultados mostraron una reducción significativa en la actividad de proteasa en todos los tratamientos sometidos a ayuno respecto al control. En el caso de la amilasa, los camarones sometidos a 8, 12, y 16 días de ayuno presentaron una actividad enzimática significativamente mayor respecto al control. Asimismo, se observó una mayor actividad de lipasa en camarones sometidos a 8, 12 y 16 días de ayuno en comparación el control. Los camarones sometidos a 4 días de ayuno no presentaron diferencias significativas tanto en la actividad de amilasa como lipasa con respecto al control. Por otro lado, Dai *et al.* (2018) reportaron una reducción de la actividad digestiva en el camarón blanco bajo condiciones de ayuno, donde encontraron una menor actividad de amilasa, mientras que la actividad de lipasa no mostró diferencias significativas respecto al grupo control.

Anteriormente se ha evaluado el efecto del crecimiento compensatorio en *P. vannamei*, Rocha *et al.* (2019) evaluaron los efectos de los ciclos de ayuno (1 y 2 días, respectivamente) y realimentación al día siguiente de la restricción, seguido de una fase de realimentación durante 28 días. Al término del experimento, los organismos obtuvieron un crecimiento compensatorio parcial. Los resultados de actividad enzimática demostraron una reducción significativa de tripsina, amilasa y lipasa en los animales durante los ciclos de ayuno respecto al control. En la fase de realimentación se observó una mayor actividad de tripsina y lipasa en camarones con restricción alimenticia, respecto al control.

2.6 Comunidades bacterianas en *Penaeus vannamei*

La biota digestiva es el conjunto de bacterias, arqueas y microorganismos eucariontes que colonizan el tracto gastrointestinal de los organismos, los cuales mantienen una importante relación con el hospedero (Backhed *et al.*, 2005; Neish, 2009). Estas asociaciones ayudan en la protección contra microorganismos patógenos, ayudan a regular los procesos metabólicos, modulan la respuesta inmune y contribuyen en la síntesis de vitaminas (Cornejo *et al.*, 2017; Thursby y Juge, 2017). El individuo se encuentra en un estado de eubiosis cuando mantiene un balance con su microbiota, es decir, no ha sufrido la pérdida de microorganismos benéficos. Sin embargo, existe la posibilidad que las funciones anteriores se vean afectadas como resultado de la alteración de la composición microbiana benéfica, en un proceso denominado disbiosis (Iebba *et al.*, 2016; Thursby y Juge, 2017).

Las poblaciones bacterianas en el intestino de invertebrados acuáticos están conformadas mayormente por el phylum *Proteobacteria* y a menudo se encuentran de manera abundante en crustáceos (Hakim, 2015; Holt *et al.*, 2020; Huang, 2016; Meziti *et al.*, 2010; Rungrasamee, 2014; Zhang *et al.*, 2014). Las *Proteobacterias* conforman el phylum más extenso de bacterias con seis clases y más de 116 familias, las cuales son gram-negativas y en su mayoría anaerobias facultativas (Moon *et al.*, 2018; Stackebrandt *et al.*, 1988). Además, son capaces de proliferar y sobrevivir en ambientes acuosos fuera del hospedero. La abundancia relativa de este grupo bacterias no cambia conforme a la salinidad del ambiente (Zhang *et al.*, 2016) o la composición de la dieta incluyendo diferentes fuentes de carbohidratos (Qiao *et al.*, 2017) o lípidos (Zhang *et al.*, 2014), por lo que se considera a las *Proteobacterias* como las más estables en el intestino de *P. vannamei*. Otros phylum (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*) son propensas a cambiar con el estadio de vida del individuo, dieta, estado de salud y factores ambientales (Li *et al.*, 2018). En cambio, se ha reportado que la abundancia del phylum *Firmicutes* se ve influenciada por las funciones fisiológicas del hospedero y la dieta, adicionalmente, algunas bacterias de este phylum pueden metabolizar la fibra como fuente de carbohidratos para la producción de ácidos grasos de cadena corta que son benéficos para la pared intestinal (Velazquez *et al.*, 1997).

Tanto el phylum *Firmicutes*, como *Bacteroidetes* desempeñan funciones de absorción de ácidos grasos y el metabolismo de lípidos (Semova *et al.*, 2012). Fan y Li (2019) reportaron que la proporción de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* puede influir en la absorción de nutrientes para el crecimiento del camarón. En este estudio se encontró una relación de 3.08 / 3.31 de *Firmicutes* / *Bacteroidetes* en camarones con crecimiento normal, mientras que en camarones con bajo crecimiento, esta relación fue de 0.34 / 6.04. A diferencia de éstos, el phylum *Actinobacteria* se caracteriza por mantener la homeostasis de la barrera intestinal (Binda *et al.*, 2018). Por ejemplo, el género de bacterias *Bifidobacterium* son capaces de producir ácidos grasos de cadena corta, los cuales ayudan a mantener la barrera intestinal (Hardy *et al.*, 2013).

Las *Gammaproteobacterias* conforman la clase más extensa de las *Proteobacterias* y son frecuentemente descritas como las bacterias más abundantes en *P. vannamei* (Rungrassamee *et al.*, 2016; Tzuc *et al.*, 2014; Zheng *et al.*, 2017). Dentro de esta clase de microorganismos se encuentra el género *Vibrio*, algunos pueden ser patógenos oportunistas y son la fuente de enfermedades importantes cuando el mecanismo de defensa de los camarones se encuentra deteriorado (Lightner, 2005). Estas bacterias están presentes de manera abundante en el agua de cultivo y son los causantes de vibriosis en camarones peneidos (Oxley *et al.*, 2002; Saulnier *et al.*, 2000).

Tanto las bacterias benéficas como los patógenos oportunistas se encuentran presentes en el intestino de *P. vannamei* saludable, sin embargo, bajo ciertas condiciones, estas bacterias pueden ser las causantes de enfermedades (Derome *et al.*, 2016). Esto se debe a un desequilibrio de la abundancia relativa de las bacterias producido por estrés o malnutrición, provocando la reducción de abundancia de bacterias benéficas, dando así oportunidad de un incremento de las bacterias patógenas (Ringø *et al.*, 2014).

2.6.1 Cambios en la biota intestinal por efecto de la restricción de alimento

El alimento limitado puede representar un reto fisiológico para muchos animales. El ayuno representa una crisis energética debido a la escasa disponibilidad de los nutrientes (McCue, 2012). Algunas especies marinas sobreviven ante condiciones limitadas de nutrientes utilizando fuentes de energía alternativas que contengan ácidos grasos, cuerpos cetónicos y compuestos nitrogenados producidos por los microorganismos presentes en la biota intestinal durante el ayuno (Barreto *et al.*, 2017; Egerton *et al.*, 2018; Kohl *et al.*, 2014; Kohl y Carey, 2016).

En el sector acuícola, la restricción deliberada de alimento es una técnica causante de estrés en animales, pero ha sido utilizada como estrategia económica y para la producción amigable con el medio ambiente (Zhu *et al.*, 2016). Sin embargo, el estrés por inanición no sólo puede afectar el crecimiento y la salud del individuo, sino que también tiene efecto en la biota intestinal (Brown *et al.*, 2012).

Se ha observado que los cambios en la composición y función de las bacterias se debe a la alimentación, así como diversas condiciones fisiológicas y ambientales, entre otros (Bikel *et al.*, 2015). Entre todos estos factores, la dieta es el principal causante de alteraciones de la biota intestinal, influenciando el metabolismo de especies simbiotes y provocando cambios biológicos en el huésped (Brown *et al.*, 2012; Round y Mazmanian, 2009; Salonen y de Vos, 2014). Los individuos pueden adaptarse a periodos cortos (< 7 días) de restricción de alimento por medio del ajuste de sus respuestas metabólicas y fisiológicas, mientras que periodos prolongados de ayuno (> 7 días) pueden provocar un cambio en la biota microbiana de estas especies (Kohl *et al.*, 2014). La biota bacteriana desempeña un rol importante en la inmunidad, y metabolismo del hospedero y se ha visto que la pérdida en la diversidad de la microbiota ocasiona que el ecosistema intestinal sea menos estable y funcional, afectando la fisiología del hospedero (Ramakrishna, 2013; Xiong *et al.*, 2017a).

En estudios anteriores se ha observado que la restricción de alimento provoca cambios significativos en las comunidades bacterianas. Esto se presentó en el estudio de Xia *et al.* (2014), donde observaron diferencias significativas en la abundancia bacteriana en individuos de pez barramundi *Lates calcarifer* sometidos a ayuno durante 8 días. Los resultados mostraron un

aumento significativo del phylum *Bacteroidetes* en los peces con ayuno, mientras que se observó una disminución de *Firmicutes* y *Proteobacteria*, aunque estas diferencias no fueron significativas. A nivel de clase se reportó una disminución de *Betaproteobacteria* y un aumento de *Bacteroidia* y *Sphingobacteria* en el tratamiento con restricción. El aumento de *Bacteroidetes* se debe a su capacidad para obtener energía de diferentes fuentes, esto les permite ser una de las bacterias más competitivas en los peces durante el ayuno, en contraparte, la reducción de *Firmicutes* se encuentra al consumo de calorías de los peces.

Foysal *et al.* (2020) estudiaron los efectos del estrés por inanición en la biota intestinal de la langosta de agua dulce *Cherax cainii*, donde se manejó un grupo experimental (con restricción total de alimento por 4 semanas) y un control. Los resultados mostraron diferencias significativas en la modulación de la biota bacteriana a nivel de phylum, donde los *Firmicutes* fueron las bacterias más abundantes en el grupo control, con una abundancia relativa del 51.7%, mientras que en el tratamiento con restricción de alimento fue solo de 10.2%. A nivel de género, el microbioma mostró una modulación significativa de la abundancia bacteriana en el periodo posterior a la restricción de alimento, con un incremento del 11.2% de *Vibrio* en el tratamiento con restricción respecto al control.

Actualmente, no se ha evaluado el efecto del crecimiento compensatorio sobre la biota digestiva de especies acuícolas. Sin embargo, en el estudio realizado por Sakyi *et al.* (2020) se evaluó el efecto de la restricción de alimento y realimentación en la biota bacteriana de la tilapia *Oreochromis niloticus*. Los animales fueron sometidos a un estrés por restricción total de alimento por 21 días, seguido de una fase de realimentación *ad libitum* por 21 días. Los resultados mostraron una mayor abundancia de *Proteobacteria* durante el ayuno en los individuos con restricción de alimento comparados con el tratamiento control, mientras que se observó una disminución en la abundancia de los phylum *Proteobacteria*, *Actinobacteria* y *Firmicutes* después de la realimentación. El phylum *Bacteroidetes* presentó una menor abundancia en el tratamiento de restricción respecto al control, los cuales están relacionados con una mejor producción de energía y utilización de los ácidos grasos. Estas bacterias fueron más abundantes durante la etapa de realimentación, por lo que podría contribuir en la mejora de las funciones fisiológicas de los peces después de un periodo de ayuno.

Liu *et al.* (2020) analizaron la biota bacteriana durante un periodo de ayuno por 30 días, seguido de una realimentación en individuos de mero híbrido *Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*. Los resultados mostraron una reducción de la diversidad de las comunidades bacterianas en el intestino de los animales en ayuno, y después de la realimentación, se encontraron diferencias significativas en la abundancia de los phylum *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* y *Deinococcus-Thermus* entre el grupo experimental y el control, por lo que el ayuno prolongado podría ocasionar cambios en la biota bacteriana.

Dai *et al.* (2018) evaluaron los cambios por restricción total de alimento durante 17 días en las comunidades bacterianas del camarón *P. vannamei* mediante el análisis de secuenciación masiva del gen 16S ARNr. Respecto a la diversidad de las comunidades bacterianas al final del experimento, los resultados no mostraron diferencias significativas entre los individuos con restricción alimenticia y el control, pero se observó la pérdida de *Mesorhizobium tamadayense* y especies de *Rhodobacteraceae*, las cuales pueden contribuir a la estabilidad y funcionabilidad de las comunidades microbianas. Además, se encontró una mayor abundancia de patógenos oportunistas (*Clostridium senegalense*) en los camarones no alimentados.

3. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de camarón blanco representa una de las principales especies acuícolas en el mundo, siendo el alimento el costo operacional más importante dentro de la industria acuícola. Actualmente se emplea el crecimiento compensatorio como estrategia de manejo de alimento para reducir costos en la camaronicultura; sin embargo, se desconoce su efecto sobre la tasa de recambio metabólica, actividad enzimática digestiva y biota bacteriana del camarón *P. vannamei*. Por lo que el presente trabajo permitiría ampliar los conocimientos sobre el uso más eficiente de nutrientes en la dieta, así como identificar el efecto de la restricción de alimento y realimentación sobre la actividad digestiva, y por otro lado conocer el papel de las comunidades bacterianas durante el crecimiento compensatorio del camarón.

4. HIPOTESIS

Si al restaurar las condiciones normales de alimentación después de un periodo temporal de restricción alimenticia se presenta un crecimiento compensatorio, se espera que los ajustes fisiológicos generados, resulten en un aumento en la tasa de recambio metabólica y actividad enzimática digestiva, además de cambios en la biota microbiana del camarón *Penaeus vannamei* relacionados con el aumento en la tasa de crecimiento.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar los cambios en la tasa de recambio metabólica, actividad digestiva y en la biota bacteriana en el camarón blanco *Penaeus vannamei* durante el crecimiento compensatorio.

5.2 Objetivos particulares

- Evaluar y comparar el rendimiento productivo del camarón bajo diferentes periodos de restricción temporal de alimento.
- Evaluar la tasa de recambio metabólico para nitrógeno en el camarón durante el crecimiento compensatorio.
- Evaluar la actividad de enzimas digestivas en el camarón durante el crecimiento compensatorio.
- Determinar los cambios en las comunidades bacterianas del camarón durante el crecimiento compensatorio.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. Evaluar el rendimiento productivo del camarón blanco *Penaeus vannamei* durante diferentes periodos de restricción de alimento.

6.1.1 Diseño experimental

Se realizó un ensayo *in vivo* donde se manejaron 3 diferentes tratamientos y 4 réplicas por tratamiento con camarón blanco (*P. vannamei*) en acuarios de 50 litros. Cada réplica contenía 12 organismos de 0.44 ± 0.03 mg peso promedio inicial, a una temperatura controlada de 28-29°C, salinidad de 37 UPS, con un fotoperiodo de 12:12 horas luz:oscuridad y aireación continua. Se realizaron recambios de agua diarios del 50%. Los tratamientos experimentales consistieron en 3 y 6 días de restricción del 70% de alimento, seguido de un periodo de alimentación a saciedad y un control con alimentación *ad libitum* durante todo el periodo experimental de 35 días (Figura 5). Antes del experimento, los camarones se sometieron a un periodo de aclimatación de 20 días con una dieta de acondicionamiento con el fin de otorgarle una firma isotópica diferencial, seguido de la dieta experimental, isotópicamente diferente para observar el cambio isotópico en el tiempo (Tabla 1).

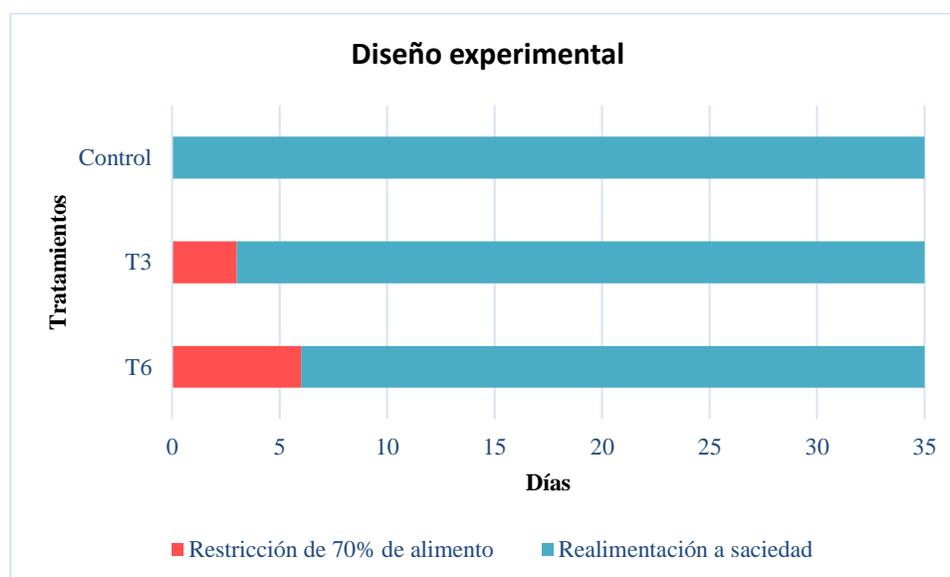


Figura 5. Regímenes de alimentación experimental de los tratamientos.

Tabla 1. Composición del alimento de acondicionamiento y experimental para la evaluación de la actividad digestiva, tasa de recambio metabólica y comunidades bacterianas.

Ingrediente	Alimento	
	Acondicionamiento (%)	Experimental (%)
Harina de pollo	55	0
Harina de pescado	16	56
Premezcla de vitaminas	0.5	0.5
Lecitina de soya	0	7
Aceite de pescado	2	1
Alginato de sodio	1	1
Vitamina C	0.1	0.1
Almidón	25.4	26.4
Total	100	100

Se realizaron biometrías semanales y se calcularon los parámetros zootécnicos de acuerdo con las siguientes fórmulas:

a) Ganancia de peso (GP): Ganancia de peso en gramos (Kureshy y Davis, 2002)

$$Gp = p_f - p_i \quad (1)$$

Donde p_f representa el peso final y p_i el peso inicial.

b) Tasa de crecimiento específico (TCE): Crecimiento diario promedio (Fóes *et al.*, 2016)

$$TCE (\%dia^{-1}) = 100x (\ln P_f - \ln P_i) / T \quad (2)$$

Donde P_f representa el peso final del camarón y P_i es peso inicial. T es el tiempo transcurrido del experimento.

c) Tasa de crecimiento (TC%): Crecimiento ponderal promedio expresado en porcentaje (Flores-Leyva, 2006).

$$TC\% = 100x(p_f - p_i)/p_i \quad (3)$$

Donde P_f representa el peso final del camarón y P_i es peso inicial.

d) Alimento consumido: Expresado en g/camarón/día (Flores-Leyva, 2006)

$$AC = \text{Alimento total consumido} / (N_i + N_f + 2 \times \text{tiempo (días)}) \quad (4)$$

Donde N_i representa el número de organismos iniciales y N_f es el número final de organismos.

e) Factor de conversión alimenticia (FCA): Cantidad de gramos de alimento necesaria para aumentar una unidad de peso (Fóes *et al.*, 2016)

$$FCA = \text{alimento consumido} / \text{total de biomasa producida} \quad (5)$$

f) Supervivencia (S): Porcentaje de organismos vivos al final del experimento (Flores-Leyva, 2006).

$$S = N_f / N_i \times 100 \quad (6)$$

Donde N_f es el número final de individuos al terminar el experimento, N_i son los organismos que iniciaron el experimento.

6.1.2 Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron en el programa R v1.41717 . Se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk para determinar la normalidad de la distribución de los datos y la prueba de Barlett para homocedasticidad. Se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA, $\alpha = 0.05$) para identificar diferencias significativas. En caso de detectar diferencias significativas en algún parámetro, se realizó un análisis de comparaciones múltiples de medias de Tukey de con un intervalo de confianza del 95% para determinar grupos homogéneos.

6.1.3 Muestras

Los camarones fueron diseccionados para obtener el tracto digestivo (estómago e intestino) en los días 0, 14 y 35 para observar el efecto del crecimiento compensatorio sobre las comunidades bacterianas. Para los análisis de actividad digestiva, se tomaron muestras de hepatopáncreas en los días 0, 14 y 35. Para los análisis isotópicos, se tomaron muestras de músculo del segundo segmento abdominal de los camarones en los días 0, 3, 6, 9, 14, 21, 28 y 35 para observar el cambio isotópico en el tiempo al suministrar una nueva dieta.

6.2. Evaluar la tasa de recambio metabólico en el camarón blanco

6.2.1 Análisis isotópico

Se tomaron muestras de tejido muscular de camarón, las cuales fueron deshidratadas (60°C / 24 h), molidas y encapsuladas en micro-contenedores de estaño. Las muestras fueron organizadas en placas tipo ELISA y enviadas a analizar a la Universidad de California (UC Davis Stable Isotope Facility) para determinar la influencia isotópica en el tejido muscular mediante un analizador elemental PDZ Europa Scientific Roboprep acoplado a un espectrómetro de masas de proporciones isotópicas PDZ Europa Hydra 20/20. Los resultados fueron expresados en notación delta (δ) respecto a los valores isotópicos de dos estándares internacionales.

6.2.2 Estimación de la tasa de recambio de nutrientes y tiempo medio

Para calcular el tiempo medio de la tasa de recambio de nutrientes, los valores isotópicos de nitrógeno fueron incorporados a un modelo exponencial (Hesslein *et al.*, 1993) que permite diferenciar el efecto del crecimiento y la tasa de recambio metabólica en el cambio isotópico observado en el tejido de camarón.

$$C_{muestra} = C_n + (C_o - C_n)e^{-(k+m)t} \quad (7)$$

donde C_{muestra} representa el valor isotópico del tejido muscular del camarón al tiempo t , C_0 es el valor isotópico del tejido u organismo en equilibrio con una dieta inicial, y C_n es el valor isotópico alcanzado cuando los camarones se encuentran en equilibrio con una nueva dieta. Los parámetros k y m se obtuvieron a partir de los datos de crecimiento y usando regresión no-lineal iterativa, respectivamente. Los valores calculados se integraron a una ecuación para obtener una estimación del período de tiempo necesario para que la mitad del nitrógeno constituyente en músculo sea reemplazado una vez que los animales consumen una nueva dieta (tiempo medio, t_{50}) (MacAvoy *et al.*, 2005; Ecuación 8).

$$t_{50} = \frac{\ln 2}{(m + k)} \quad (8)$$

6.3 Determinación de actividad enzimática

6.3.1 Preparación del extracto enzimático

El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología Comparada y Genómica Funcional del CIBNOR, SC. Para la determinación de la actividad enzimática fue disectado el hepatopáncreas y almacenado a -80°C hasta su procesamiento. El tejido fue pesado y homogenizado en agua destilada en una relación 1:4 peso tejido/volumen con ayuda de un homogenizador de tejidos (Benchtop, Fastprep-24 5G™). A continuación, las muestras fueron centrifugadas a 15000 rpm durante 15 minutos a 4°C . El sobrenadante (extracto) fue recuperado para posteriormente cuantificar la actividad enzimática. Las determinaciones fueron realizadas con un Lector multimodo Varioskan Flash (Thermo Fisher Scientific, Vantaa, Finlandia) en placas de 96 pozos (96 MicroWell™, Nunc, Dinamarca).

6.3.2 Cuantificación de la actividad enzimática digestiva

La cuantificación de proteínas se realizó mediante la técnica de Bradford (1976), para la curva estándar se usó suero de albúmina de bovino como estándar y se leyó a 495 nm. La actividad α -amilasa se llevó a cabo siguiendo la metodología de Vega-Villasante *et al.*, (1993), usando almidón y a una absorbancia de 570 nm.

Para evaluar la actividad tripsina y lipasa, se utilizaron diferentes sustratos fluorogénicos. Para tripsina se usó Boc-Gln-Ala-Arg-7 amino-4 Metilcoumarina hidroclicorido (B4153, Sigma-Aldrich®; Buchs, Suiza) al 0.8 mmol L⁻¹ en dimetil sulfóxido (DSMO) y Tris HCl 50 mmol L⁻¹ (Toledo *et al.*, 2011). Se realizaron lecturas cada 30 segundos durante 30 minutos a una longitud de emisión de 460 y excitación de 355 nm (Gillannejad *et al.*, 2020; Toledo *et al.*, 2011).

Lipasa fue medida usando como sustrato 4-metilbuferilo butirato (19362, Sigma-Aldrich®; Buchs, Suiza) disuelto en DFMO y después diluido en búfer de fosfatos 200 mmol L⁻¹ (pH 7.5) y la fluorescencia fue medida 450/365 (emisión/excitación) siguiendo la metodología de Gillannejad *et al.*, (2020).

Cada muestra se evaluó por triplicado y todo el proceso fue realizado cuidadosamente sobre una cama de hielo. Los cálculos para la determinación de la actividad enzimática se realizaron de acuerdo con Vega-Villasante *et al.* (1993) para α amilasa; Toledo *et al.* (2011) y Guzmán-Villanueva *et al.* (2013) para tripsina; y Gillannejad *et al.* (2020) para lipasa.

6.3.3 Análisis estadísticos

Se realizaron las pruebas de normalidad y homocedasticidad en el programa R. En caso de resultar prueba paramétrica, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para observar diferencias significativas y un análisis de Tukey para determinar diferencias entre tratamientos. Para pruebas no paramétricas se realizó un análisis con la prueba Kruskal Wallis.

6.4. Determinar los cambios en las comunidades microbianas del camarón por efecto de diferentes regímenes de alimentación.

6.4.1 Extracción y cuantificación de ADN

Se tomaron aleatoriamente muestras de tejido intestinal y estómago de camarón de cada tratamiento. Para la extracción de ADN se utilizó el kit DNeasy UltraClean Microbial de QIAGEN y se siguió las instrucciones del fabricante. El ADN resultante de las muestras fue analizado en el espectrofotómetro Nanodrop 2000 para observar la pureza y se utilizó el fluorómetro Qubit para la cuantificación de ADN y gel de agarosa para analizar la integridad.

6.4.2 Preparación de librerías y secuenciación

Se realizó la amplificación PCR de la región hipervariable V3 del gen procariota 16S ARNr utilizando los cebadores con adaptadores 16S-V3_338f (TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG acy cct acg ggr ggc agc ag) y 16S-V3_533r (GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA G tta ccg cgg ctg ctg gca c). Se utilizó el kit MiSeq Reagent V3 600 cycle para la preparación de las librerías. Los amplicones finales fueron secuenciados en el equipo Illumina MiSeq del laboratorio de genética y bioinformática del CIBNOR.

6.4.3 Análisis bioinformático

Las lecturas resultantes FASTQ de la secuenciación fueron limpiadas y posteriormente alineadas utilizando la base de datos bacterianas SILVA en el software MOTHUR v1.41.3. Las secuencias quiméricas producidas en la PCR fueron eliminadas mediante el algoritmo V-SEARCH, y posteriormente a cada muestra se le dio una asignación taxonómica (a nivel de phylum y genero) con la base de datos RDP y por último se formaron las unidades taxonómicas operacionales (OTUs). Para determinar la abundancia relativa de las comunidades bacterianas se analizaron las tablas de OTUs en el programa R. De igual manera, se determinó la diversidad alfa y beta de los tratamientos y se realizó el análisis de varianza molecular (AMOVA) en el software R v1.41717.

7. RESULTADOS

7.1 Determinación del rendimiento productivo del camarón *P. vannamei* bajo los diferentes regímenes alimenticios

En la Figura 6, se muestra el peso final de los camarones bajo los diferentes regímenes alimenticios durante los 35 días del bioensayo. Los resultados en los días 7 y 14 mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, siendo el tratamiento control el que registró un mayor peso. En el día 21, el tratamiento T3 no presentó diferencias significativas respecto al grupo control, en cambio, el tratamiento T6 fue significativamente diferente al control. Para el día 35, los pesos finales no mostraron diferencias significativas entre tratamientos, donde los camarones del tratamiento T3 presentaron el mayor peso (3.47 g), seguido del grupo control (3.38 g), siendo el tratamiento T6 quien registró el valor más bajo (3.23 g).

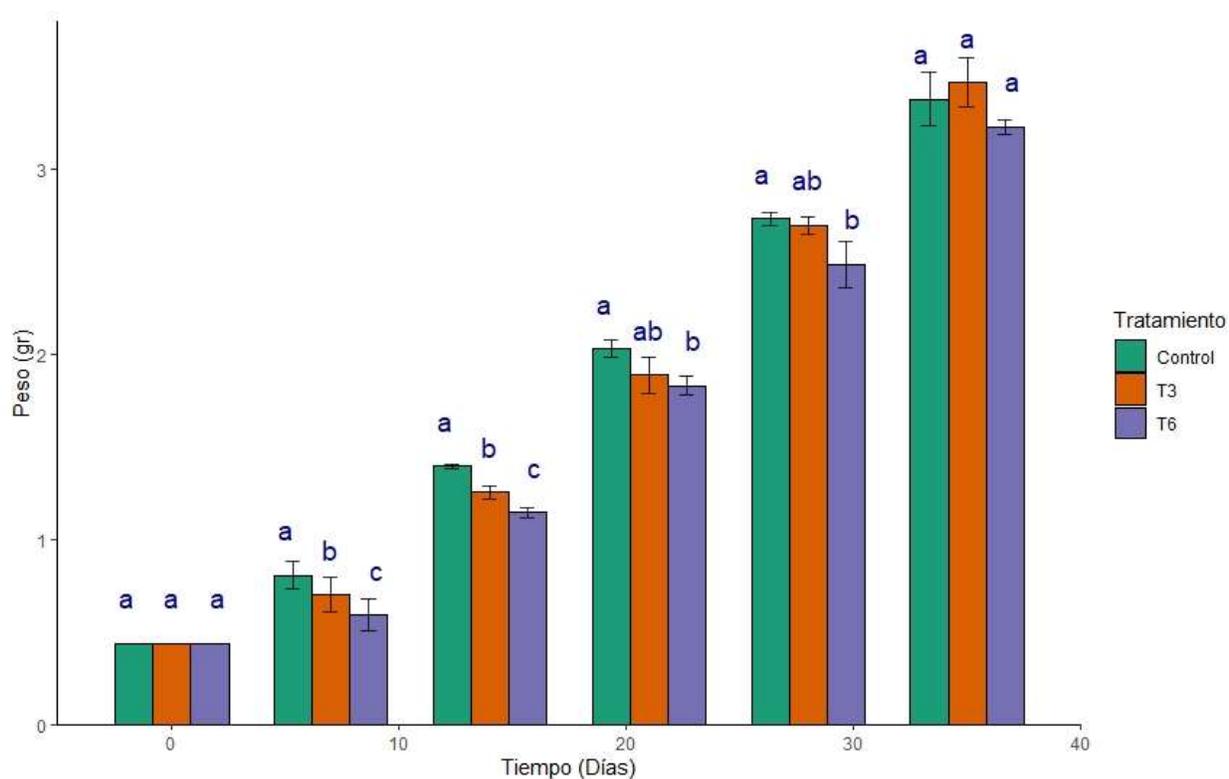


Figura 6. Peso promedio a 0, 7, 14, 21, 28 y 35 días de experimentación de *P. vannamei* con los tratamientos T3, T6 y control ($p < 0.05$, $n = 3$). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis de Tukey.

Los parámetros zootécnicos obtenidos al día 35 se presentan en la Tabla 2. Los organismos del tratamiento T3 obtuvieron una mayor ganancia en peso que el control y T6, pero no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Por otro lado, el tratamiento con restricción de alimento T3 mostró una mayor tasa de crecimiento que los tratamientos T6 y control, estos valores no presentaron diferencias estadísticamente significativas. Los camarones del tratamiento control obtuvieron un valor más alto de factor de conversión alimenticia (FCA) con un valor de 1.3, seguido del tratamiento T6 con 1.26, por último, el tratamiento T3 presentó 1.23, pero dichas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Con respecto al consumo de alimento, los resultados presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$), donde se observó un mayor consumo en el alimento control (3.81 gr), seguido del T3 (3.71 gr) y el tratamiento T6 obtuvo el menor consumo (3.51 gr).

Tabla 2. Parámetros zootécnicos de camarones control, T3 y T6 después de 35 días de experimentación.

Tratamiento	PF (gr)	GP (gr)	TC(%)	FCA	Supervivencia (%)	Consumo de alimento
Control	3.38±0.14 ^a	2.93±0.14 ^a	668.±32 ^a	1.30±0.07 ^a	100 ^a	3.81±0.2 ^a
T3	3.47±0.13 ^a	3.02±0.13 ^a	676±28 ^a	1.23±0.5 ^a	96±6 ^a	3.71±0.01 ^b
T6	3.23±0.04 ^a	2.79 ^a ±0.03 ^a	639±11 ^a	1.26±0.1 ^a	93±11 ^a	3.51±0.01 ^c
Valor p	0.110	0.118	0.253	0.364	0.579	<0.001

Los valores representan los promedios de cada parámetro zootécnico \pm desviación estándar. (n=3). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo a las pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

En cuanto a la tasa de crecimiento específico, durante los días 0 al 7 se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). Los camarones pertenecientes al grupo control obtuvieron el valor promedio más alto de este parámetro con 8.81% día⁻¹, seguido del tratamiento T3 con 6.63% día⁻¹ y el tratamiento T6 presentó el valor más bajo con 4.33% día⁻¹ (Figura 7).

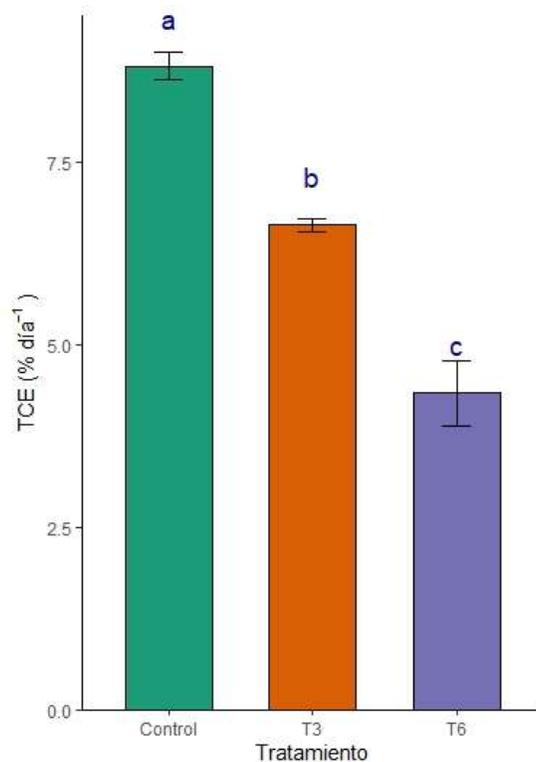


Figura 7. Tasa de crecimiento específica (TCE) diaria de camarones control y tratamientos T3 y T6 durante los días 0 a 7 de experimentación ($p < 0.05$, $n = 3$).

Durante los días 7 y 28, se observó una mayor tasa de crecimiento específico en los tratamientos T3 y T6 respecto al control. Los individuos del tratamiento T6 presentaron el valor promedio más alto con $10.3\% \text{ día}^{-1}$, mientras que el tratamiento T3 alcanzó un crecimiento por día de $9.6\% \text{ día}^{-1}$, siendo el control el que presentó un valor promedio más bajo con $8.6\% \text{ día}^{-1}$ (Figura 8).

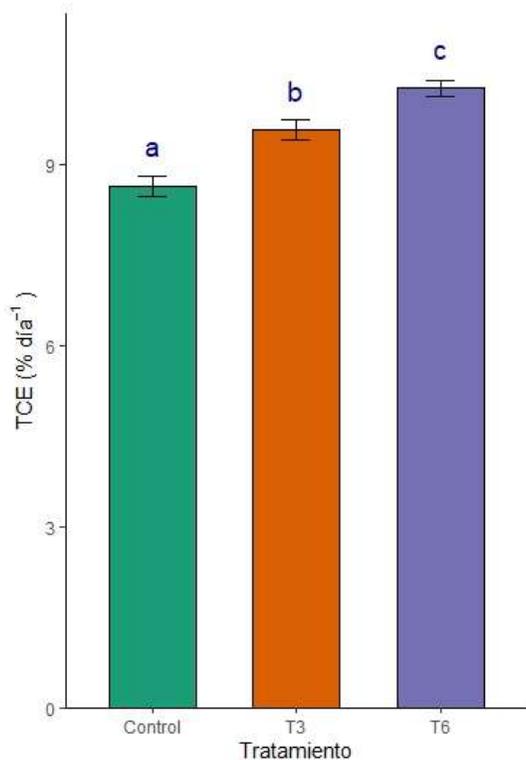


Figura 8. Tasa de crecimiento específico (TCE) por día de los tratamientos Control, T3 y T6 durante los días 7 a 28 de bioensayo ($p < 0.05$, $n = 3$). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo al análisis de comparaciones múltiples de Tukey.

Los resultados no mostraron diferencias significativas en la tasa de crecimiento específica al día 35 del experimento, siendo el tratamiento T3 el que mostró el valor más elevado con 5.85% día⁻¹, el control registró el segundo valor más alto con 5.82% día⁻¹, mientras que el T6 presentó el valor más bajo con 5.72% día⁻¹ (Figura 9).

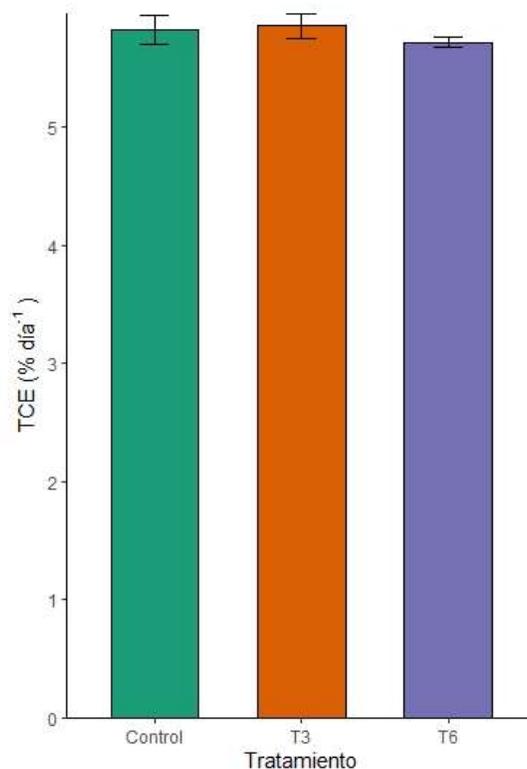


Figura 9. Tasa de crecimiento específico (TCE) por día de los tratamientos Control, T3 y T6 al día 35 de bioensayo ($p > 0.05$, $n = 3$).

7.2 Determinación de la tasa de recambio metabólica durante el crecimiento compensatorio de *P. vannamei*

7.2.1 Equilibrio isotópico de Nitrógeno

Antes del bioensayo, la dieta de acondicionamiento confirió un valor isotópico para $\delta^{15}\text{N}$ de 8.53 ± 0.12 ‰ en el músculo de los camarones. Al inicio del bioensayo, y una vez suministrada la nueva dieta con diferentes valores isotópicos, se observó un cambio similar en todos los tratamientos, dando como resultado un valor promedio 14.31 ± 0.26 ‰. Para el día 35 de bioensayo, todos los tratamientos alcanzaron un equilibrio isotópico con su dieta experimental. En la figura 10 se muestran las tendencias de cambio isotópico y el efecto de m y k (tasa de recambio metabólica y tasa de crecimiento, respectivamente) sobre los valores isotópicos en el tejido de los camarones.

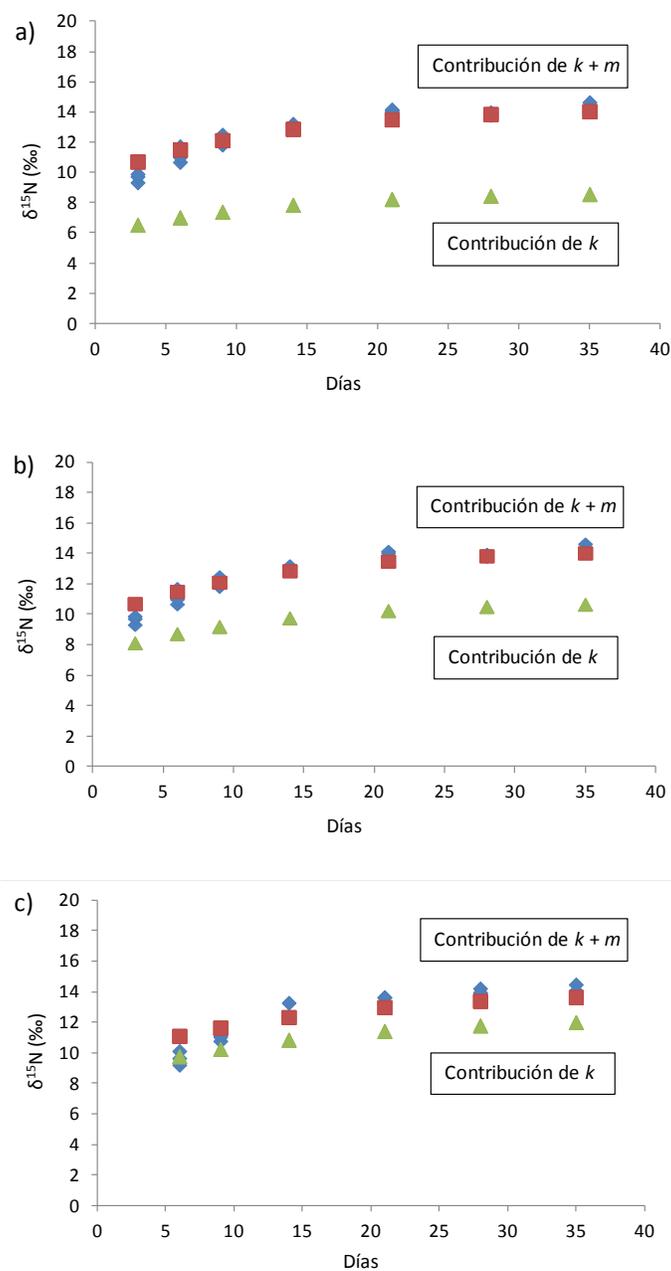


Figura 10. Cambios isotópicos en músculo de *P. vannamei* causados por un cambio de dieta aplicado a camarones que posteriormente se mantuvieron sin restricción de alimento (a), camarones sujetos a una restricción de alimento de 3 días (b) y 6 días (c). Los rombos representan los valores $\delta^{15}\text{N}$ determinado en diferentes días. Los cuadrados representan los valores predichos por una ecuación de cambio isotópico y muestran la contribución del crecimiento y de la tasa de recambio metabólica al cambio isotópico observado ($k + m$). Los triángulos muestran el cambio isotópico atribuido solamente al crecimiento (k). Con el fin de facilitar las comparaciones, las tendencias de cambio se muestran desde los días 3 y 6, y tales valores fueron usados para estimar los valores predichos.

En la Tabla 3 se muestran los parámetros k (tasa de crecimiento por día), m (tasa de recambio metabólico por día) y los valores t_{50} de nitrógeno estimados al final del bioensayo, además se presenta la contribución de los parámetros m y k al cambio isotópico. Los camarones del grupo control presentaron una mayor tasa de recambio de nitrógeno (0.033 día^{-1}), seguido del tratamiento T3 (0.018 día^{-1}), mientras que el T6 obtuvo el menor valor (0.008 día^{-1}). Para el control, el crecimiento tuvo una influencia del 61% sobre el cambio isotópico en el músculo del camarón, mientras que la tasa de recambio aportó el 39%. Los tratamientos T3 y T6 presentaron una contribución de 76 y 24%, y 88 y 12% por parte del crecimiento y tasa de recambio, respectivamente.

Tabla 3. Valores de los parámetros de crecimiento (k), tasa de recambio metabólica (m), contribuciones de m y k al cambio isotópico y tiempo medio de residencia de nitrógeno (t_{50}) en *P. vannamei* sometidos a diferentes regímenes de alimentación.

Tratamiento	$k \text{ día}^{-1}$	$m \text{ día}^{-1}$	Contribuciones de k y m al cambio isotópico (%)	Tiempo medio de residencia del N t_{50} (d)
Control	0.051 ± 0.0013	0.033 ± 0.0012	61 – 39	8.3 ± 0.11
T3	0.057 ± 0.0014	0.018 ± 0.0017	76 – 24	9.2 ± 0.17
T6	0.061 ± 0.0015	0.008 ± 0.0015	88 - 12	10.0 ± 0.20

Respecto al tiempo medio de residencia (t_{50}), los resultados mostraron un mayor tiempo de residencia del nitrógeno en el tejido de los camarones del tratamiento T6, con una duración de 10.0 días, el tratamiento T3 mostró el segundo valor más alto con 9.2 días y el control obtuvo el menor tiempo con 8.3 días.

7.3 Determinación de la actividad digestiva durante el crecimiento compensatorio de *P. vannamei*

7.3.1 Actividad de tripsina

En la Figura 11 se observa la actividad específica de tripsina en los días 9, 14 y 35 de bioensayo. Los tratamientos T3 y T6 mostraron una mayor actividad de tripsina durante el día 9 de bioensayo respecto al control ($p < 0.05$), donde el tratamiento T3 mostró el valor promedio más alto con $454.1 \text{ U mg proteína}^{-1}$, seguido del tratamiento T6 que presentó una actividad específica de $431.8 \text{ U mg proteína}^{-1}$ y por último el control con una actividad de $376.3 \text{ U mg proteína}^{-1}$. Para el día 14 y 35, los resultados no mostraron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.005$).

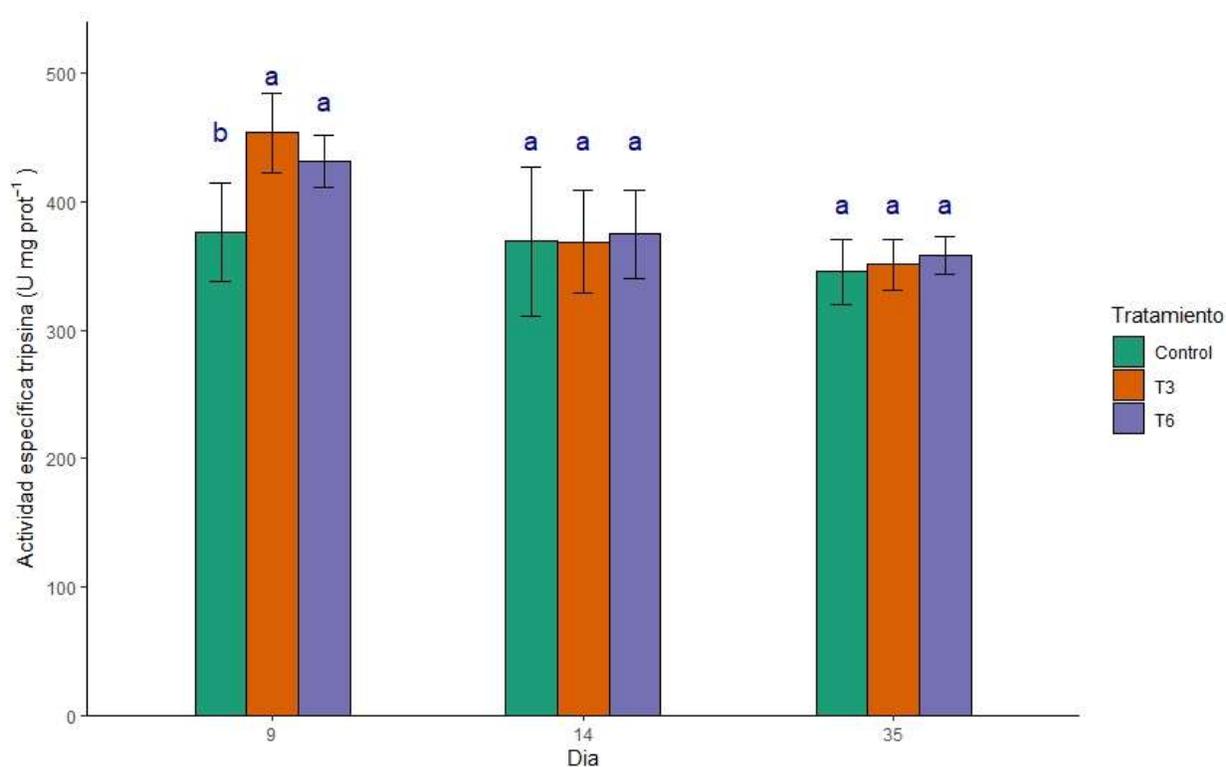


Figura 11. Actividad específica de tripsina durante el crecimiento compensatorio de *P. vannamei* durante los días 9, 14 y 35 de ensayo ($p < 0.05$, $n=6$). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo al análisis de Tukey.

7.3.2 Actividad de amilasa

Los resultados de la actividad específica de amilasa se observan en la Figura 12. Los tratamientos T3 y T6 presentaron diferencias significativas en el día 9 de bioensayo, siendo el tratamiento T3 el que mostró una mayor actividad ($0.0016 \text{ U mg proteína}^{-1}$), el control presentó el segundo valor más alto ($0.0014 \text{ U mg proteína}^{-1}$) y el T6 obtuvo la actividad más baja ($0.0009 \text{ U mg proteína}^{-1}$). Durante el día 14 y 35 de bioensayo, los resultados no mostraron diferencias significativas entre tratamientos.

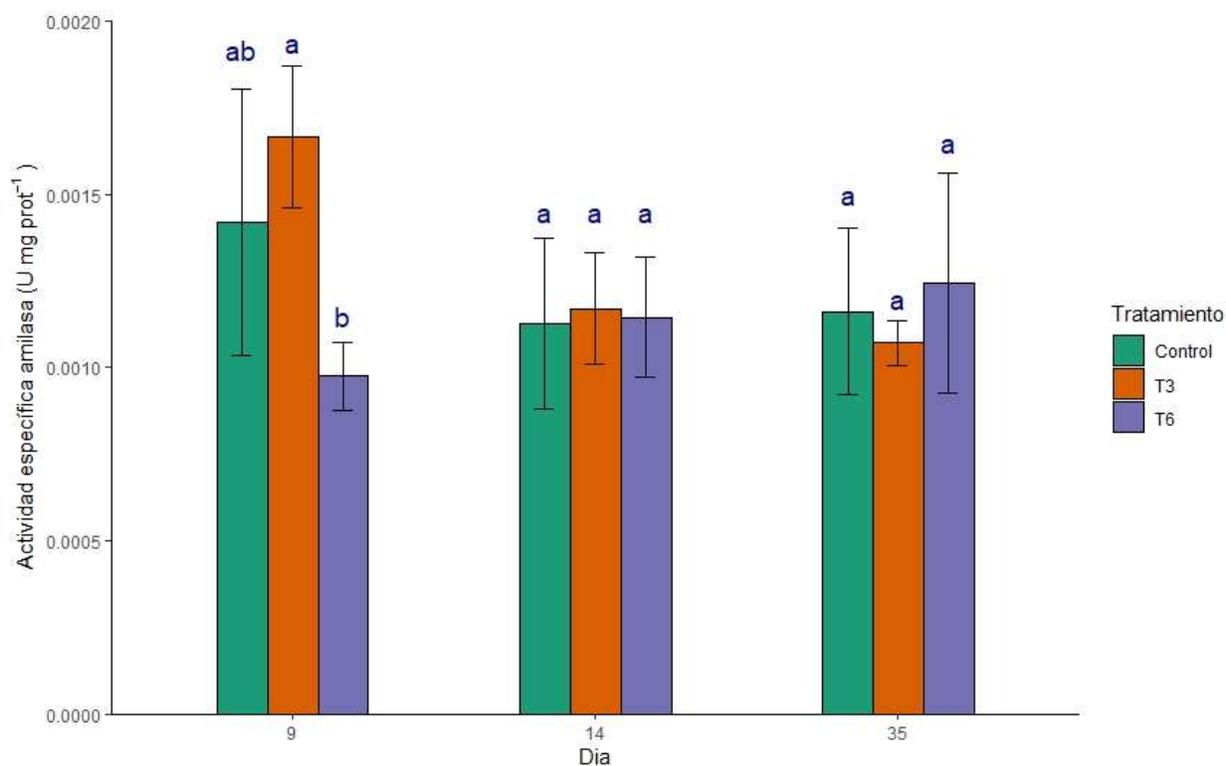


Figura 12. Actividad específica de amilasa durante los días 9, 14 y 35 del camarón *P. vannamei* sometido a diferentes regímenes de alimentación ($p < 0.05$, $n=6$). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo al análisis de Tukey

7.3.3 Actividad de lipasa

En la Figura 13 se observan los resultados de la actividad de lipasa durante el bioensayo. En el día 9 se observaron diferencias significativas del tratamiento T6 y el control, donde el tratamiento T6 mostró la actividad más alta (55.23 U mg proteína⁻¹), mientras que el T3 obtuvo el segundo valor más alto (49.6 U mg proteína⁻¹) y el control registró el valor más bajo (45.6 U mg proteína⁻¹). Para el día 14, los tratamientos presentaron una actividad de lipasa similar al no observar diferencias significativas. En el día 35 se obtuvo una actividad específica significativamente mayor en el tratamiento T6 respecto al T3 y control ($p < 0.05$), donde el valor más alto fue de 47.03 U mg proteína⁻¹, mientras que el control tuvo una actividad de 42.85 U mg proteína⁻¹ y el T3 presentó el valor promedio más bajo con 42.40 U mg proteína⁻¹.

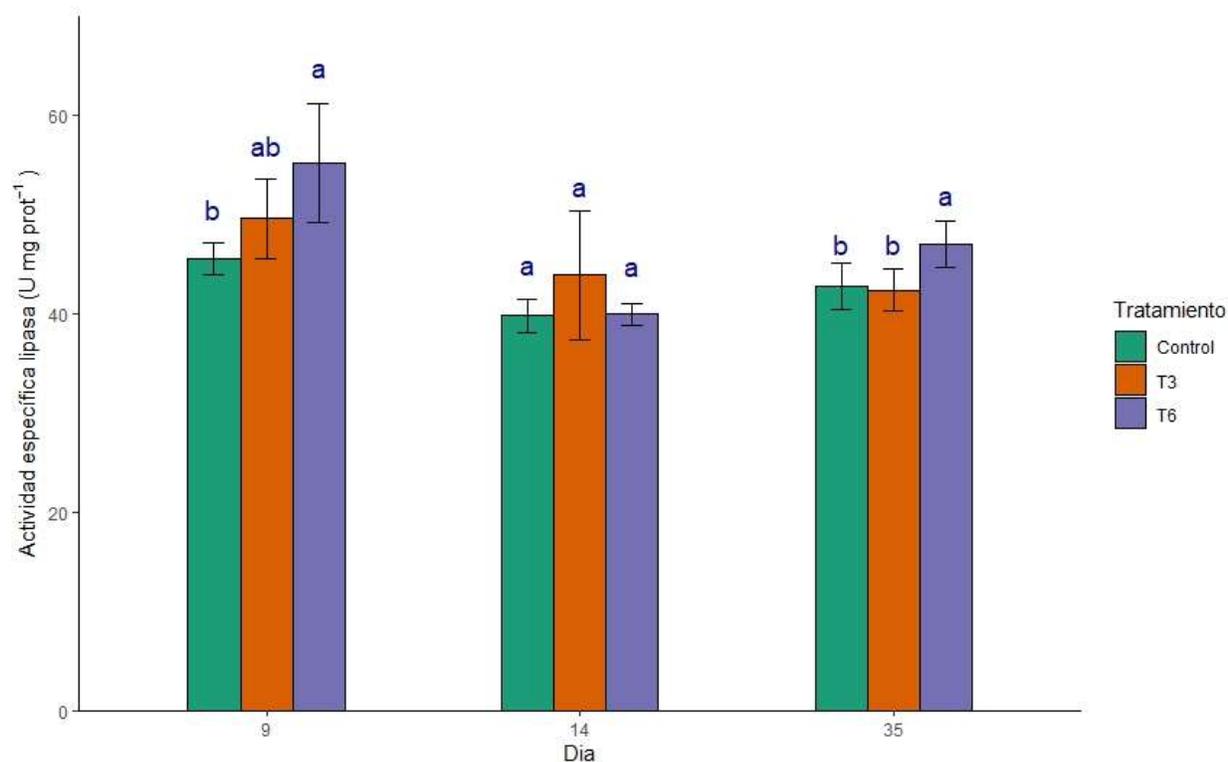


Figura 13. Actividad específica de lipasa durante los días 9, 14 y 35 de bioensayo en *P. vannamei* bajo restricción alimenticia del 70% ($p < 0.05$, $n=6$). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos.

7.4 Determinación de los cambios en las comunidades bacterianas del camarón

7.4.1 Alpha diversidad

De acuerdo con lo observado en los índices de diversidad Shannon y Chao, no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos al día 35 de bioensayo.

Tabla 4. Alpha diversidad de bacterias en intestino de camarones sometidos a diferentes regímenes de alimentación al día 35 de bioensayo.

Índice de diversidad	Control	T3	T6	Valor de p
Shannon	5.17	5.22	5.06	0.817
Chao	64806.95	68377.33	61120.20	0.876

En el gráfico de componentes principales (Figura 14) se observa la distribución de los diferentes géneros de bacterias al día 14 de bioensayo, donde las comunidades de bacterias se agruparon de forma diferente entre cada tratamiento, y a su vez, fueron similares a sus respectivas réplicas.

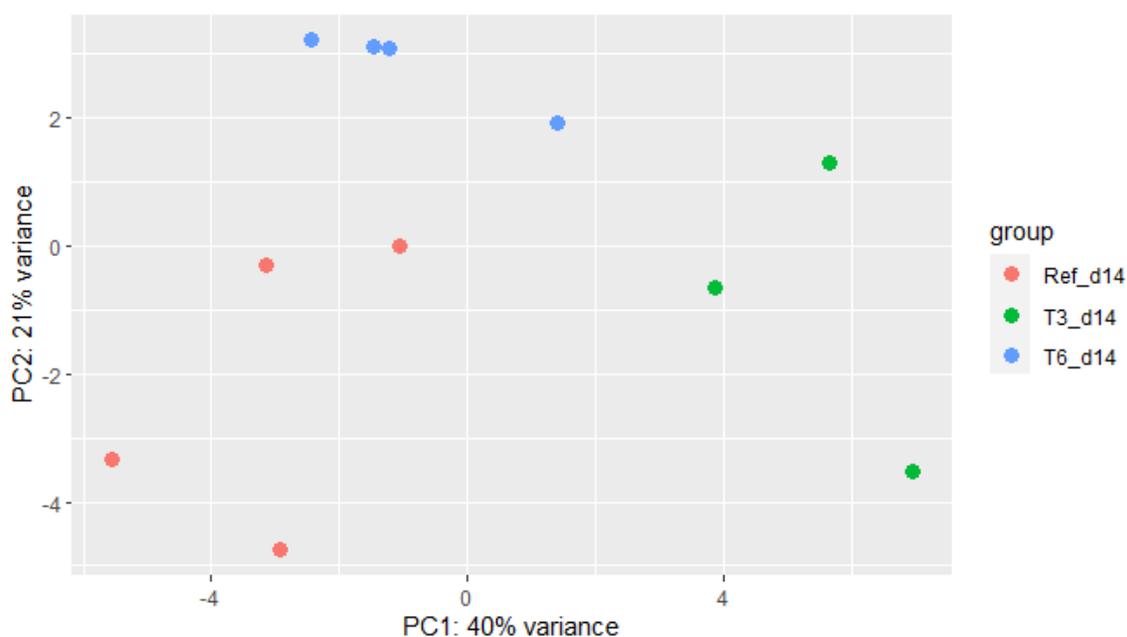


Figura 14. Gráfico de componentes principales (PCA) donde se muestra el agrupamiento de las comunidades bacterianas en el intestino de camarón de los diferentes tratamientos experimentales al día 14 de bioensayo.

7.4.2 Cambios en las comunidades bacterianas a nivel de phylum, familia y género

Los resultados de las comunidades bacterianas a nivel de phylum se observan en la Figura 15 en los diferentes periodos del bioensayo. *Proteobacteria* fue el phylum dominante (entre 89 y 95%) en el intestino de camarón de todos los tratamientos y en los 2 tiempos de muestreo, seguido de *Actinobacteria* (entre 1.9 y 10 %), mientras que otros phylum, tales como *Bacteroidetes* y *Firmicutes* representaron un menor porcentaje de abundancia relativa (<1%). No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos respecto a la abundancia bacteriana a nivel de phylum.

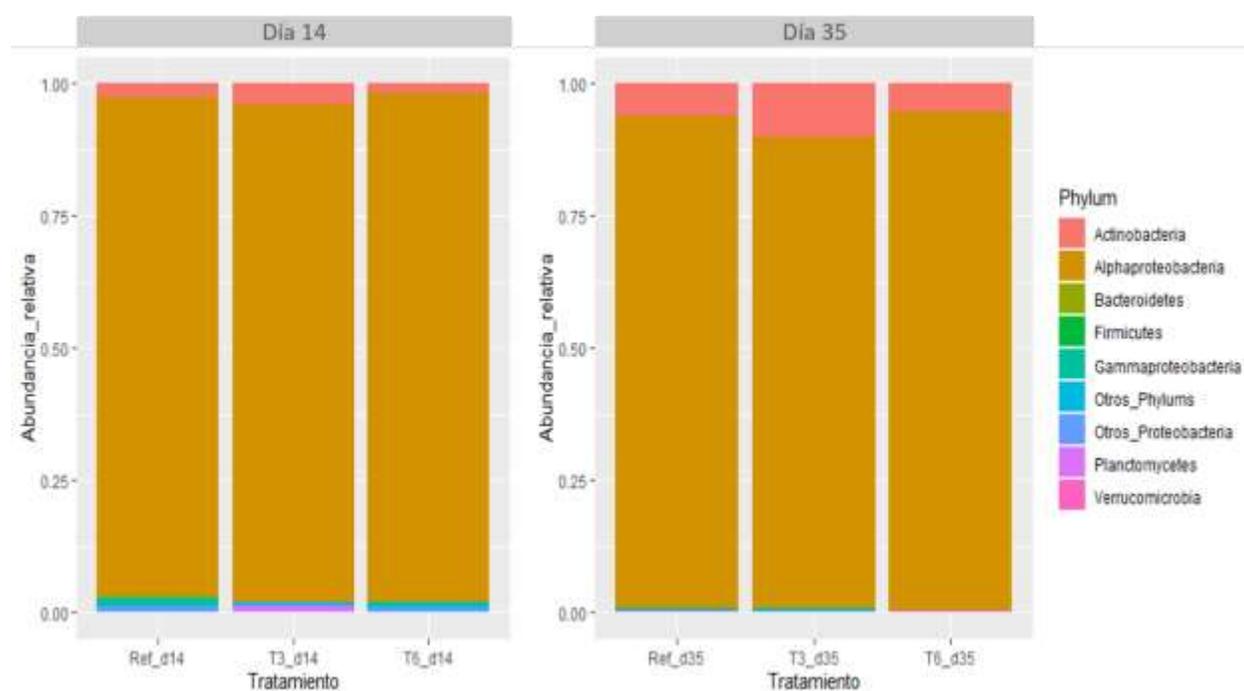


Figura 15. Abundancia relativa de las comunidades bacterianas (phylum) durante los días 14 y 35 de bioensayo en camarones sometidos a diferentes regímenes de alimentación.

Los resultados respecto a las comunidades bacterianas a nivel de familia se muestran en la Figura 16, donde *Rhodobacteraceae* abarcó más del 90% de la abundancia relativa en todos los tratamientos al día 14 de bioensayo. Así mismo, se observó una disminución significativa de *Vibrionaceae* en los tratamientos T3 (0.02%) y T6 (0.11%), bajo crecimiento compensatorio, respecto al tratamiento control (0.95%). Para el día 35, *Rhodobacteraceae* continuó como la

familia bacteriana más abundante en todos los tratamientos abarcando más del 86.9% de abundancia relativa. Durante el último día de bioensayo, se observaron diferencias significativas en *Vibrionaceae* (Control: 0.16%, T3: 0.26% y T6: 0%), además de una disminución significativa en *Flavobacteriaceae* en camarones con los tratamientos con restricción alimenticia T3 y T6 (0.08 y 0.02% respectivamente) respecto al control (0.2%).

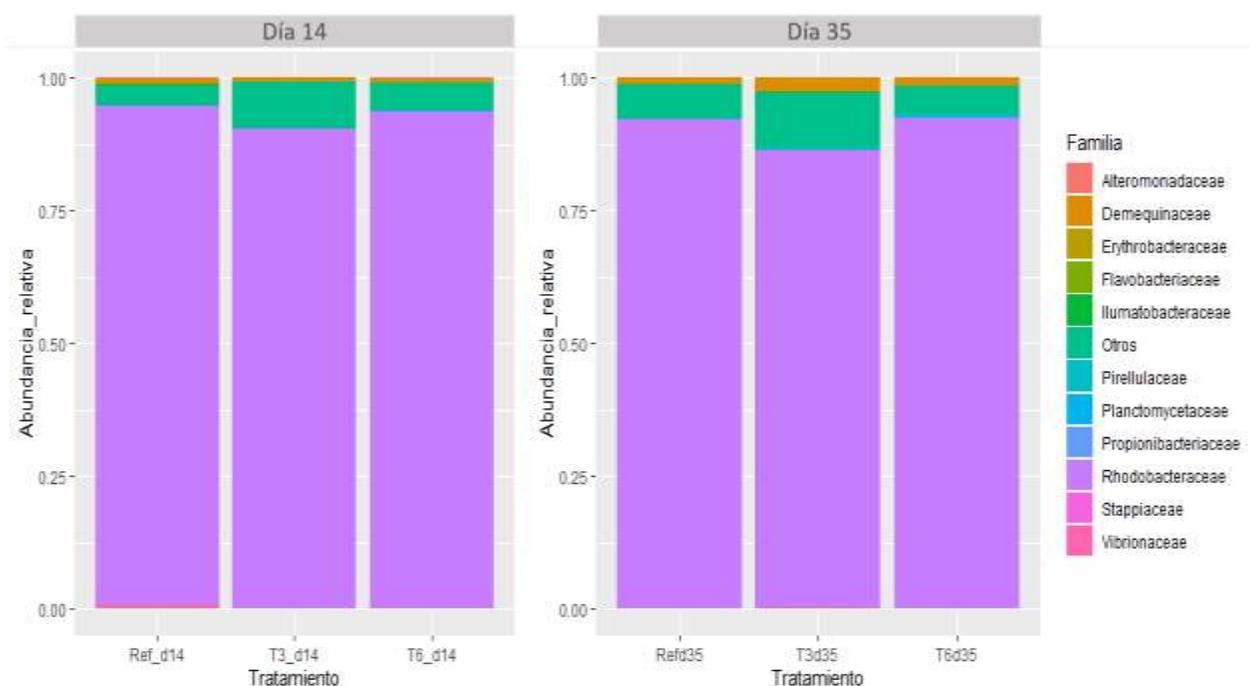


Figura 16. Abundancia relativa a nivel de familia en el intestino de camarones bajo diferentes protocolos de alimentación durante el día 14 y 35 de bioensayo.

A nivel de género, los resultados mostraron diferencias significativas al día 14 de bioensayo, donde hubo una mayor abundancia de *Celeribacter*, *Catenococcus* y *Epibacterium* en el tratamiento control respecto a los tratamientos en crecimiento compensatorio (T3 y T6) (Figura 17). En el mismo periodo, se observó la presencia de bacterias del género *Cohasibacter* en el tratamiento control (0.02%) y T6 (0.28%), pero estas no estuvieron presentes en el tratamiento T3. Uno de los géneros más abundantes fue *Ruegeria*, con una mayor abundancia relativa en los tratamientos con crecimiento compensatorio (T3 y T6 con 28.6 y 26.2% respectivamente) en relación al tratamiento control (16.2%). El género *Shimia* también fue más abundante en el

tratamiento T3 y T6 (11.7 y 3.3% respectivamente) que en los camarones control (2.34%). Sin embargo, estas diferencias en los géneros *Ruegeria* y *Shimia* no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

Para el día 35, los géneros *Celeribacter* y *Ruegeria* fueron las bacterias más abundantes en el intestino de camarón, ocupando un rango de abundancia relativa entre 17.3-31.1% y 27.2-39.9% respectivamente, sin mostrar diferencias significativas de ambos generos entre los diferentes tratamientos. Además, se observaron diferencias significativas en la abundancia relativa del género *Shimia* entre los tratamientos T3 y T6 (2.1 y 3.5% respectivamente) y el control (1.2%). Por otro lado, también se obtuvieron diferencias significativas respecto a la abundancia relativa de *Catenococcus*, donde se presentó una mayor abundancia en el tratamiento T3 (0.34%), seguido del control (0.16%) y el T6 obtuvo una menor abundancia (0.01%).

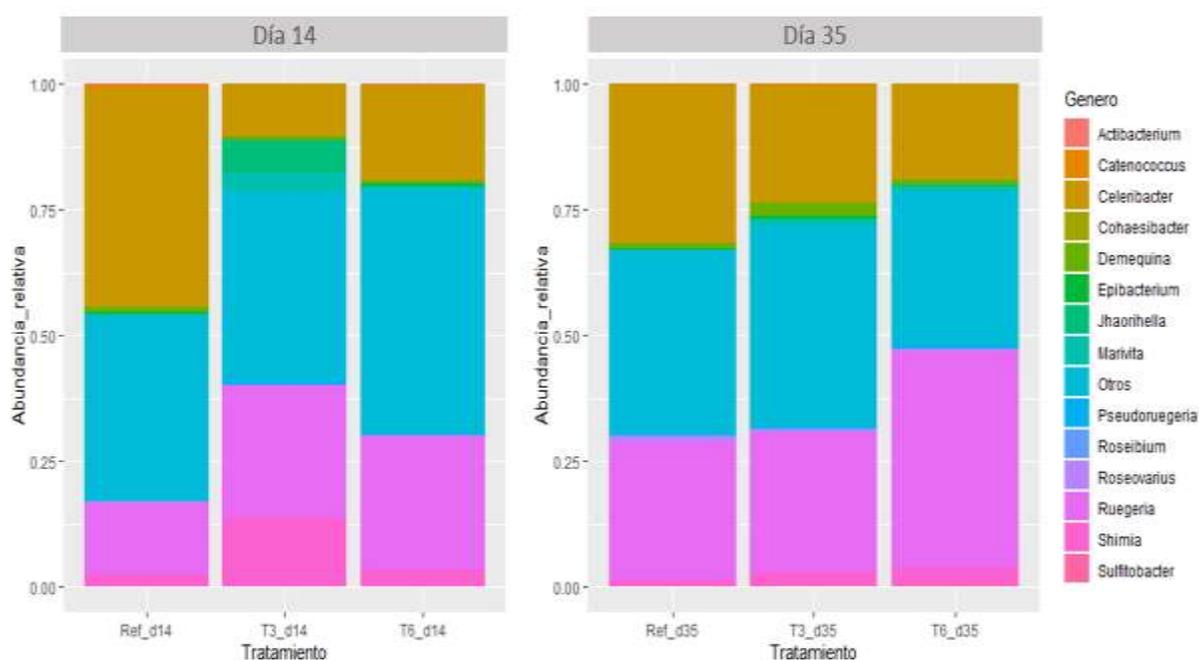


Figura 17. Comunidades bacterianas a nivel de género en intestino de camarón bajo diferentes regímenes alimenticios durante el día 14 y 35 de bioensayo.

8. DISCUSIÓN

8.1 Determinación del rendimiento productivo de *P.vannamei* bajo los diferentes tratamientos de restricción de alimento

En el presente trabajo, la restricción del 70% del alimento durante 3 y 6 días, no tuvo un efecto significativo en el peso final de los camarones. Los resultados del bioensayo mostraron que *P. vannamei* puede alcanzar un crecimiento compensatorio completo al día 35 del ensayo después de haber sufrido un estrés por restricción alimenticia. Estos resultados concuerdan con lo observado en el trabajo de Wu y Dong (2002), donde observaron una compensación completa en el camarón chino *Fenneropenaeus chinensis* sometidos a 6 días de ayuno y 30 días de realimentación, en el cual los tratamientos no mostraron diferencias significativas con relación al peso final. Resultados similares se reportaron en el trabajo de Shao *et al.* (2020), en el cual no encontraron diferencias significativas en el camarón *P. vannamei* alimentado continuamente y sometido a ciclos de ayuno por 1 y 2 días, seguido de realimentación durante 5 y 6 días respectivamente durante 6 semanas. Lin *et al.* (2008) también reportaron la capacidad de *P. vannamei* de alcanzar un crecimiento compensatorio completo en la sexta semana del experimento al restablecer las condiciones de alimentación en camarones después de un ayuno de 1 a 3 días.

Entre el día 7 y 28 del bioensayo, los camarones con 3 y 6 días de restricción del 70% del alimento obtuvieron una mayor tasa de crecimiento específico que el control ($p < 0.05$), sugiriendo que los organismos presentaron un crecimiento compensatorio que les permitió alcanzar pesos similares a los individuos alimentado continuamente. Al final del bioensayo, tanto el peso final y la tasa de crecimiento específica observados no mostraron diferencias significativas, y los anteriores resultados concuerdan con lo reportado por Shao *et al.* (2020) donde obtuvieron parámetros similares de peso final y tasa de crecimiento por día en camarones en ayuno respecto al grupo control. Asimismo, en el trabajo realizado por Zhu *et al.* (2016) también se observó una tasa de crecimiento por día similar en el camarón *P. vannamei* alimentado continuamente e individuos sometidos a ciclos de ayuno por 1, 2 y 3 días y realimentados por 3, 5 y 9 días respectivamente. En ese trabajo, el tratamiento control presentó

una tasa de crecimiento específica de $4.13\% \text{ día}^{-1}$, mientras que los tratamientos con ayuno presentaron un valor de 4.04, 3.95 y $4.08\% \text{ día}^{-1}$ respectivamente.

Anteriormente se ha reportado que *P. vannamei* puede obtener un crecimiento compensatorio completo después de un periodo corto de restricción alimenticia debido a un incremento significativo en el consumo de alimento durante la fase de realimentación (Lin *et al.*, 2008). Estudios en crustáceos reportan un mayor consumo de alimento durante los periodos de recuperación, tal es el caso del trabajo realizado por Stumpf y Greco (2015), donde observaron hiperfagia en *Cherax quadricarinatus* sometidos a ayunos cíclicos, es decir, un mayor consumo de alimento durante la fase de recuperación respecto al control. Estos animales alcanzaron un crecimiento compensatorio al final del experimento, siendo la hiperfagia el principal mecanismo de los animales durante este crecimiento (Álvarez, 2011). Asimismo, en este trabajo se observó hiperfagia en camarones bajo diferentes regímenes de alimentación, durante el inicio del crecimiento compensatorio, dando como resultado un crecimiento compensatorio a partir de la primera semana del periodo de recuperación.

El factor de conversión alimenticia fue estadísticamente igual en los tratamientos con restricción de alimento y el control, lo cual concuerda con lo reportado por Wu y Dong (2002), donde obtuvieron un factor de conversión alimenticia similar en camarones con y sin restricción de alimento. En el presente estudio, los camarones bajo condiciones de restricción alimenticia mejoraron la eficiencia de utilización de la dieta al consumir menores cantidades de alimento y obtener un peso similar a los individuos del tratamiento control al final del bioensayo, aunque estas diferencias respecto al FCA no fueron significativas. Caso contrario a lo reportado por Zhu *et al.* (2016), donde se obtuvo un mayor consumo de alimento y un valor significativamente mayor del factor de conversión alimenticia en camarones bajo condiciones de ayuno respecto al control, en el cual los animales mostraron una mejora en la capacidad de digestión y absorción de alimento durante la realimentación después de haber sufrido estrés por ayuno.

Los periodos de restricción alimenticia pueden tener un efecto positivo sobre el ahorro de alimento. De acuerdo con Fóes *et al.* (2016), es posible ahorrar hasta un 25% del alimento a través del crecimiento compensatorio. En el trabajo de Tamadoni *et al.* (2020) se obtuvo un ahorro de alimento de hasta el 23.8% en el crecimiento compensatorio del pez *Acanthopagrus*

latus, los cuales fueron sometidos a periodos de ayuno de 2, 4 y 8 días, seguido de realimentación durante 8, 16 y 32 días respectivamente, durante 80 días. Cota-Quintero (2021) obtuvo un ahorro de hasta el 14.67% del alimento en el camarón *P. vannamei* sometidos a una restricción del 50% de alimento durante 7, 14 y 21 días, seguido de un periodo de realimentación a saciedad hasta el día 42. Sin embargo, en el presente trabajo se obtuvo un ahorro de hasta el 8% del alimento durante 35 días de bioensayo, atribuido a un menor periodo de restricción alimenticia.

Respecto a la tasa de supervivencia, la restricción del 70% de alimento durante 3 y 6 días no tuvo un efecto significativo sobre este parámetro. En el trabajo realizado por Wu y Dong (2002) obtuvieron un 100% de supervivencia durante el crecimiento compensatorio del camarón *F. chinensis* sometido a 3 días de ayuno seguido de realimentación a saciedad. Resultados similares se encontraron en el trabajo de Zhu *et al.* (2016), donde se obtuvo una tasa de supervivencia del 100% en el camarón *P. vannamei* bajo diferentes regímenes de alimentación, los cuales consistieron en 1, 2 y 3 días de ayuno, seguido de realimentación por 3, 5 y 9 días, respectivamente. Por lo que la correcta implementación de protocolos de restricción alimenticia parcial o total, pueden contribuir al crecimiento compensatorio del camarón, sin comprometer la tasa de supervivencia de estos.

8.2 Determinación de la tasa de recambio metabólico durante el crecimiento compensatorio de *P. vannamei*

Durante el periodo de acondicionamiento, los animales alcanzaron un equilibrio isotópico con la dieta, presentando un valor de $\delta^{15}\text{N} = 8.53 \pm 0.12 \text{ ‰}$. Al iniciar el bioensayo y aplicar una nueva dieta, los camarones presentaron una rápida influencia de las características de la dieta sobre el tejido muscular en los diferentes regímenes de restricción alimenticia, además, se observó una tendencia similar de cambio isotópico en los tres tratamientos. Al final del bioensayo, el tejido del camarón presentó un valor promedio de $\delta^{15}\text{N} = 14.31 \pm 0.26 \text{ ‰}$, acercándose al equilibrio isotópico, por lo tanto, se asume que los nutrientes asimilables de la dieta fueron transferidos al tejido muscular, el cual a su vez es sintetizado a partir de estos nutrientes. El equilibrio isotópico en el tejido animal puede atribuirse al efecto del crecimiento y a la tasa de recambio metabólico

(Gamboa-Delgado *et al.*, 2010). Para ello, el modelo descrito por Hesslein *et al.* (1993) permite diferenciar el efecto del crecimiento y tasa de recambio metabólica sobre los valores isotópicos en el tejido animal.

Bojorquez y Soto (2015) reportaron que la restricción alimenticia puede influir a que *P. vannamei* no alcance un equilibrio isotópico con su dieta, adicionalmente observaron que el enriquecimiento de $\delta^{15}\text{N}$ bajo condiciones de ayuno se debió a la reutilización del tejido existente para cubrir las necesidades metabólicas del camarón, caso contrario a lo observado en el presente trabajo, donde la restricción parcial de alimento no impidió que los camarones lograran un equilibrio isotópico con su nueva dieta. Los camarones sometidos a restricción alimenticia alcanzaron un equilibrio isotópico mayormente por efecto del crecimiento tisular (T3: 76% y T6: 88%), mientras que la tasa de recambio metabólica tuvo un menor efecto (T3: 24% y T6: 12%), estas diferencias pueden atribuirse a causa del crecimiento compensatorio. En el trabajo realizado por Gamboa-Delgado *et al.* (2020) se obtuvieron resultados similares, donde se observó un cambio isotópico por efecto de la adición de tejido del 50-90%, mientras que la tasa de recambio metabólica obtuvo una contribución del 10-50% bajo el efecto de dietas con diversos tipos de proteínas, demostrando la capacidad de *P. vannamei* de lograr un equilibrio isotópico primariamente a través del crecimiento.

Respecto a la tasa de recambio metabólica (m), se observaron valores más bajos en los tratamientos con restricción alimenticia (0.018 y 0.08) respecto al control (0.033), a su vez, estos animales presentaron una tasa de crecimiento (k) más alta al control. Los camarones con restricción alimenticia T3 y T6 mostraron un tiempo medio de residencia (t_{50}) ligeramente mayor (9.2 y 10 días, respectivamente) respecto al control (8.2 días). Estas diferencias pueden atribuirse al aumento del parámetro k y al descenso de la tasa de recambio metabólico (m) presentada por los camarones con restricción alimenticia, los cuales tienen un efecto directo sobre el tiempo medio de residencia de los nutrientes en el tejido. Los valores t_{50} tienden a aumentar conforme los animales crecen y los resultados obtenidos en el presente trabajo son similares a otros trabajos realizados con juveniles de la misma especie de camarón (Gamboa-Delgado *et al.*, 2011, 2020).

8.3 Determinación de la actividad digestiva durante el crecimiento compensatorio de *P. vannamei*

8.3.1 Actividad de tripsina

La tripsina desempeña un papel importante en la asimilación de nutrientes en el hepatopáncreas del camarón (Muhlia *et al.*, 2002; Shao *et al.*, 2017). En el presente trabajo se observó una mayor actividad de tripsina en los tratamientos T3 y T6 durante el día 9. Por su parte, Calvo *et al.* (2013) también reportaron un incremento en la actividad de tripsina en langosta australiana *Cherax quadricarinatus* al día 90 durante el periodo de realimentación después de un periodo de ayuno de 50 días respecto al control. Rocha *et al.* (2020) reportaron resultados similares en el camarón *P. vannamei* sometidos a ciclos de ayuno por 1 y 2 días, seguidos de un día de alimentación, respectivamente, seguido de un periodo de realimentación por 28 días, y observaron un aumento en la actividad de tripsina durante la realimentación, sugiriendo que una mayor actividad de esta enzima mejora la eficiencia del uso de proteínas. Resultados similares se observaron en el trabajo realizado por Zhang *et al.* (2010) en el camarón chino *F. chinensis* sometidos a 4, 8 y 12 días de ayuno, reportando un aumento de proteasa durante la fase de realimentación respecto al periodo de ayuno.

En la presente investigación se observó un crecimiento compensatorio a partir del día 7 de bioensayo, en este sentido, los camarones presentaron una tasa de crecimiento específico y actividad específica más alta al control. Tamadoni *et al.* (2020) reportaron una mayor actividad de proteasa respecto al control durante el crecimiento compensatorio completo del pez *Acanthopagrus latus* sometidos a ciclos de ayuno de 4 y 8 días, seguido de realimentación por 16 y 32 días, respectivamente durante 80 días. Lo anterior concuerda con lo reportado por Peixoto *et al.* (2018), quienes encontraron una mayor actividad de tripsina en juveniles de *P. vannamei* que presentaron un mayor crecimiento, sugiriendo que esta enzima puede tener influir para que los camarones puedan alcanzar un crecimiento compensatorio completo.

Para el día 14 y 35, la actividad de tripsina en los tratamientos con restricción del 70% de alimento fue similar al control, estos resultados concuerdan con lo reportado por García *et al.* (2021), quienes observaron una actividad de tripsina estable durante los periodos de alimentación. Además, en otras especies también se ha observado un patrón similar en la

actividad de tripsina durante los periodos de restablecimiento después de un periodo de restricción alimenticia, tal es el caso de pez ciprínido *Megalobrama Pellegrini*, que presentó una actividad específica similar entre el valor obtenido antes del periodo de ayuno y después de la realimentación (Zheng *et al.*, 2015).

8.3.2 Actividad de amilasa

La amilasa es una enzima que facilita la digestión de los carbohidratos, los cuales representan una fuente de energía económica para el camarón (Rosas *et al.* 2002). Sánchez-Paz *et al.* (2006) reportaron que *P. vannamei* utiliza principalmente glucosa, como fuente de energía durante los periodos de ayuno, seguido de acilglicéridos. En el presente trabajo, la actividad de amilasa fue más alta en el tratamiento T3, mientras que el tratamiento T6 mostró un valor significativamente menor durante el día 9 (periodo de crecimiento compensatorio), por lo que los organismos del T3 reflejaron una mayor movilización de carbohidratos, mientras que la baja actividad del tratamiento T6 puede atribuirse a la utilización de otros nutrientes como lípidos, durante el inicio del periodo de realimentación. El incremento en la actividad amilasa durante la fase de recuperación puede ayudar a la obtención de energía necesaria para cubrir las necesidades crecientes por el crecimiento acelerado. Para los días 14 y 35, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos y el control, por lo que la realimentación puede tener un efecto positivo en la regulación de la actividad de amilasa a sus niveles normales. Rocha *et al.* (2019) observaron una disminución en la actividad de esta enzima en *P. vannamei* durante el ayuno, sin embargo, los autores no encontraron diferencias significativas en camarones con ayuno respecto al control durante la fase de realimentación. En el trabajo realizado por Shao *et al.* (2020) se encontraron resultados similares al final de fase de realimentación del camarón *P. vannamei*, donde no se encontraron diferencias significativas en la actividad de amilasa entre organismos con ayuno y el control. Durante el crecimiento compensatorio se obtuvo un valor más elevado en la actividad de amilasa en el tratamiento T3, por lo que un valor más alto de la actividad enzimática puede estar asociado con una recuperación rápida en animales con restricción alimenticia (Tamadoni *et al.*, 2020).

8.3.3 Actividad de lipasa

En peces, los lípidos representan una fuente de energía no proteica y estos se encuentran relacionados al incremento de masa muscular (Oujifard *et al.*, 2012). Por otro lado, durante los periodos de restricción alimenticia los crustáceos pueden movilizar estas reservas energéticas contenidas en el hepatopáncreas (Zhang *et al.*, 2010). En el presente trabajo durante el día 9 de bioensayo, los tratamientos T3 y T6 presentaron una mayor actividad de lipasa, siendo el T6 el único que presentó diferencias significativas respecto al control, lo cual pudiera estar relacionado a un periodo más prolongado de restricción alimenticia y al hecho de que estos organismos sólo se habían alimentado a saciedad por 3 días hasta ese punto. En el trabajo realizado por Calvo *et al.* (2013) se observó una reducción en las reservas lipídicas en *Cherax quadricarinatus* sometidos a un periodo de ayuno de 40 días. Estos organismos también presentaron una actividad de lipasa significativamente menor al tratamiento control. Las reservas de energía lipídicas han sido consideradas como las responsables de inducir un crecimiento compensatorio (Maciel *et al.*, 2018). En el presente trabajo, a partir del día 7 los organismos de los tratamientos T3 y T6 presentaron un crecimiento compensatorio, donde la actividad de lipasa fue mayor al control. Esto coincide con el trabajo de Gamboa-Delgado *et al.* (2003) quienes reportaron que la ganancia de peso en *P. vannamei* conlleva un incremento en la actividad lipolítica del camarón, similar a lo reportado por Peixoto *et al.* (2020), donde se observó que el camarón blanco puede alcanzar un mayor peso final debido a la influencia de una alta actividad de lipasa.

Para el día 14, los resultados no mostraron diferencias significativas entre tratamientos durante la fase de recuperación, esto también se observó en otras especies, tales como *C. quadricarinatus* (Sacristán *et al.*, 2016) y *M. aponicas* (Zheng *et al.*, 2015), donde el periodo de recuperación influyó en nivelar la actividad de lipasa en animales sometidos a periodos de ayuno respecto a aquellos mantenidos en un grupo control. Los camarones del tratamiento T3 y el control no presentaron diferencias significativas al día 35 del bioensayo, sin embargo, el tratamiento T6 obtuvo un aumento significativo de la actividad de lipasa respecto al control. Es posible que los camarones pertenecientes a este tratamiento se encontraran en un periodo posterior a la intermuda, donde los organismos no pueden comer, provocando una movilización de lípidos, los cuales pueden ser utilizados durante los periodos de ayuno como la principal

fuerza de energía (Birnbbaum, 2003; Rivera *et al.*, 2010), por lo que se observó una mayor actividad en estos organismos. En contraparte Zhang *et al.* (2010) obtuvieron una menor actividad de lipasa en el camarón *F. chinensis* durante el periodo de realimentación respecto a la actividad observada durante la fase de ayuno.

8.4 Determinación de los cambios en las comunidades bacterianas durante el crecimiento compensatorio de *P. vannamei*

La abundancia relativa de las bacterias en el intestino de camarones peneidos se encuentra generalmente dominada por las Proteobacterias (Holt *et al.*, 2020). En el presente trabajo, las Proteobacterias representaron el phylum más abundante en todos los tratamientos, seguido de *Actinobacterium*, estas últimas han sido identificadas en camarones sanos (Wu *et al.*, 2016), ayudando en la homeostasis (Binda *et al.*, 2018). Otros phylum tales como *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y *Planctomycetes* estuvieron presentes en menores porcentajes.

Durante los días 14 y 35 de bioensayo, no se observaron diferencias significativas a nivel de phylum entre los diferentes tratamientos, por lo que la restricción alimenticia no tuvo un efecto significativo sobre la biota bacteriana del camarón blanco. Esto puede deberse a que los periodos de restricción alimenticia fueron cortos, además que los periodos de prohibición de alimento fueron parciales, por lo que estos resultados no coinciden con lo observado en otras especies bajo condiciones de ayuno, tales como *Cherax quadricarinatus* (Foyosal *et al.*, 2020); *Lates calcarifer* (Xia *et al.*, 2014); *Oreochromis niloticus* (Sakyi *et al.*, 2020), para las cuales se reportaron diferencias significativas en la biota bacteriana a nivel de *phylum* y en algunos casos, la pérdida de diversidad bacteriana. Esto último no se observó en este trabajo, ya que no se encontraron diferencias significativas de acuerdo con los índices de diversidad de Shannon y Chao. Las Alphaproteobacterias representaron la clase de Proteobacterias más abundante en el intestino de camarón, estas bacterias han sido observadas tanto en el intestino, como estómago de camarones sanos, mientras que esta abundancia se ve disminuida en camarones enfermos (Chen *et al.*, 2017).

Respecto a las comunidades bacterianas a nivel de familia, *Rhodobacteraceae* fueron las bacterias más abundantes en todos los tratamientos en los días 14 y 35. Los taxones de esta familia han sido identificados previamente en el intestino de *P. vannamei* juveniles y adultos (Huang *et al.*, 2016; Yao *et al.*, 2018), con una alta abundancia en el tracto intestinal de camarones sanos (Xiong *et al.*, 2017b; Yao *et al.*, 2018). Adicionalmente, estas bacterias representan una fuente importante de probióticos para el camarón, que incluso se utilizan de forma comercial (Balcázar *et al.*, 2006). Durante el periodo de crecimiento compensatorio (día 14), se encontraron diferencias significativas en la familia *Vibrionaceae*, donde se observó una mayor abundancia en el tratamiento control (0.95%) respecto al tratamiento T3 (0.02%) y T6 (0.11%). Entre estas bacterias, algunas especies y cepas del género *Vibrio* son patógenos causantes de vibriosis (de Souza Valente & Wan, 2021), por lo que la reducción de la abundancia de *Vibrio* podría mantener un sistema de cultivo más saludable (Omont *et al.*, 2020). De la misma manera, se observó una reducción significativa en la abundancia relativa de la familia *Flavobacteriaceae* en camarones con restricción alimenticia respecto al control. Anteriormente, algunas de las bacterias pertenecientes a esta familia han sido identificadas como causantes de enfermedades en peces, provocando pérdidas en cultivos acuícolas (Loch *et al.*, 2015).

Por otra parte, a nivel de género se observó una disminución significativa de *Catenococcus*, *Epibacterium* y *Celeribacter* en los tratamientos con restricción alimenticia respecto al control durante el día 14. En el caso del género *Catenococcus*, se sabe que está relacionado a proceso de oxidación de compuestos de azufre (Sorokin *et al.*, 1996) y ha sido reportado como abundante en *Penaeus indicus* (Patil *et al.*, 2021), sin embargo, se desconoce su función en el camarón. Por otro lado, *Epibacterium* es un género abundante en la superficie de las macroalgas (Breider *et al.*, 2019), el cual no se conoce su posible efecto sobre el camarón. *Celeribacter* por su parte tiene actividad beta-glucosidasa (Gao *et al.*, 2019), la cual podría ayudar a la digestión de carbohidratos presentes en la dieta del camarón.

Por otro lado, el género *Cohaesibacter* sólo se identificó en el tratamiento T6, el cual se ha visto que tiene un alto potencial en la biorremediación de sistemas acuícolas (Qu *et al.*, 2011). Interesantemente, los tratamientos T3 y T6, presentaron un aumento del 12.4 y 10% de abundancia respectivamente en el género *Ruegeria*, y el género *Shimia* obtuvo un enriquecimiento del 9.3 y 1% respectivamente. Estos últimos dos géneros han sido descritos

como bacterias benéficas, las cuales participan en el metabolismo de proteínas (Achbergerová *et al.*, 2014; Duan *et al.*, 2019; Yamaguchi *et al.*, 2016). En el pez *Totoaba macdonaldi* el género *Shimia* puede desempeñar funciones para la salud intestinal, absorción de nutrientes y favorecen al crecimiento, mientras que las bacterias del género *Ruegeria* han sido utilizadas como probióticos (Barreto-Curriel *et al.*, 2017).

Los cambios en las comunidades bacterianas al día 14 del bioensayo, coincide con el tiempo de ocurrencia del crecimiento compensatorio, sugiriendo que el cambio en las abundancias de estas bacterias pudo haber contribuido al crecimiento acelerado observado en el presente trabajo, debido a que la microbiota presente en el intestino puede desempeñar funciones de absorción de nutrientes y regulación de procesos metabólicos (Cornejo *et al.*, 2017). Lo anterior puede justificarse mediante el gráfico PCA observado anteriormente, donde las comunidades bacterianas se agrupan de manera diferente entre los tratamientos con restricción alimenticia y control durante el día 14, a causa de que los camarones con restricción alimenticia estaban en diferentes etapas del crecimiento compensatorio.

9. CONCLUSIÓN

Los resultados del presente trabajo indican que los camarones de los tratamientos con 3 y 6 días de restricción (T3 y T6) fueron capaces de obtener un crecimiento compensatorio completo, después de un periodo de estrés por efecto de la restricción alimenticia. Al final del experimento, se obtuvo un ahorro de alimento hasta del 8% mediante la aplicación de protocolos de restricción del 70% de alimento.

La tasa de recambio metabólica determinada mediante los valores $\delta^{15}\text{N}$, fue menor en los camarones de los tratamientos T3 y T6 respecto al control. Indicando una mayor utilización del nitrógeno dietario/proteínas para el crecimiento tisular de los camarones y al mismo tiempo, una menor contribución de estas proteínas para la obtención de energía y/o recambio de moléculas degradadas. El aumento del parámetro k y el descenso de m , influyeron directamente en que los camarones del T3 y T6 tuvieran tiempos medios de residencia del nitrógeno (t_{50}) menores al grupo control.

La actividad de tripsina y lipasa fue mayor durante el inicio de la fase de realimentación, las cuales coinciden con la etapa de proceso de crecimiento acelerado (crecimiento compensatorio), remarcando la importancia de la actividad enzimática digestiva en la ganancia de peso de los camarones. Al día 35 de bioensayo no se encontraron diferencias significativas en la actividad digestiva, lo que sugiere un estado de normalización del metabolismo del camarón después del periodo de compensación.

De acuerdo a los resultados de metagenómica, se observó que durante el crecimiento compensatorio (día 14), las comunidades bacterianas resultaron diferentes respecto a ciertos géneros entre los tratamientos T3, T6 y control, tales como *Celeribacter*, *Cohasibacter*, *Catenococcus* y *Epibacterium*. Además, se observó un enriquecimiento en los géneros *Ruegeria* y *Shimia*. Estas diferencias en la estructura de las comunidades bacterianas pudieron haber contribuido al metabolismo de nutrientes para el crecimiento acelerado de los camarones. Para el día 35, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos respecto a la abundancia relativa de bacterias, sugiriendo que todos los tratamientos se encuentran en el mismo estado fisiológico en términos de tasa de crecimiento.

10. LITERATURA CITADA

Achbergerová, L. y Nahálka, J. (2014). Degradation of polyphosphates by polyphosphate kinases from *Ruegeria pomeroyi*. *Biotechnology letters*, 36(10): 2029-2035. Doi: 10.1007/s10529-014-1566-6.

Adaklı, A. y Taşbozan, O. (2015). The effects of different cycles of starvation and refeeding on growth and body composition on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15(3): 419-427. Doi: 10.4194/1303-2712-v15_2_28

Ali, M., Nicieza, A. y Wootton, R. J. (2003). Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and Fisheries*, 4: 147-190. Doi: 10.1046/j.1467-2979.2003.00120.x

Ali, S. A. (2019). Nutritional Feeding of Fish and Shrimps in India. MJP Publisher. Chennai, Tamilnadu.

Allen Davis, D., A. Roy L. y Sookying, D. (2008). Improving the Cost Effectiveness of Shrimp Feeds. *Avances En Nutrición Acuicola*. Disponible en: <https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/143>.

Álvarez, D. (2011). Behavioral responses to the environment | Effects of Compensatory Growth on Fish Behavior. *Encyclopedia of Fish Physiology*, 1: 752-757. Doi: 10.1016/B978-0-12-374553-8.00164-7.

Bäckhed, F., Ley, R. E., Sonnenburg, J. L., Peterson, D. A. y Gordon, J. I. (2005). Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 307(5717):1915-1920. Doi: 10.1126/science.1104816.

Balcázar, J. L., De Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Cunningham, D., Vendrell, D. y Múzquiz, J. L. (2006). The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary microbiology*, 114(3-4): 173-186. Doi: 10.1016/j.vetmic.2006.01.009.

Backhed, F., Ley, R. E., Sonnenburg, J. L., Peterson, D. A. y Gordon, J. I. (2005). Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 307(5717): 1915-1920.

Barker, P. y Gibson, R. (1979). The decapod hepatopancreas. *Oceanography and marine biology*, 17. 285.

Barreto-Curiel, F., Focken, U. y Abramo, L.R.D. (2017). Metabolism of *Seriola lalandi* during starvation as revealed by fatty acid analysis and compound-specific analysis of stable isotopes within amino acids. *PLoS One*, 12(1): e0170124. Doi: 10.1371/journal.pone.0170124.

Bavčević, L., Klanjšček, T., Karamarko, V., Aničić, I. y Legović, T. (2010). Compensatory growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) compensates weight, but not length. *Aquaculture*, 301(1): 57-63. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.01.009.

Binda, C., Lopetuso, L. R., Rizzatti, G., Gibiino, G., Cennamo, V. y Gasbarrini, A. (2018). Actinobacteria: a relevant minority for the maintenance of gut homeostasis. *Digestive and Liver Disease*, 50(5): 421-428. Doi: 10.1016/j.dld.2018.02.012.

Bikel, S., Valdez-Lara, A., Cornejo-Granados, F., Rico, K., Canizales-Quinteros, S., Soberon, X. y Ochoa-Leyva, A. (2015). Combining metagenomics, metatranscriptomics and viromics to explore novel microbial interactions: towards a systems-level understanding of human microbiome. *Computational and structural biotechnology journal*, 13: 390-401. Doi: 10.1016/j.csbj.2015.06.001.

Birnbaum M. J. (2003). Lipolysis: more than just a lipase. *The Journal of cell biology*, 161(6): 1011–1012. Doi: 10.1083/jcb.200306008.

Bójorquez-Mascareño, E. I. y Soto-Jiménez, M. F. (2016). Isotopic turnover rate and trophic fractionation of nitrogen in shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) by experimental mesocosms: implications for the estimation of the relative contribution of diets. *Aquaculture Research*, 47(10): 3070-3087. Doi: 10.1111/are.12757.

Bolasina, S.N., Perez, A. y Yamashita, Y. (2006). Digestive enzymes activity during ontogenetic development and effect of starvation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 252: 503–515. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.07.015.

Bradford M. M. (1976). A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein aponicas the principle of protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254. Doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.

Breider, S., Sehar, S., Berger, M., Thomas, T., Brinkhoff, T. y Egan, S. (2019). Genome sequence of *Epibacterium ulvae* strain DSM 24752T, an indigoidine-producing, macroalga-associated member of the marine Roseobacter group. *Environmental microbiome*, 14(1): 1-8. Doi: 10.1186/s40793-019-0343-5.

Brown, K., Decoffe, D., Molcan, E. y Gibson, D.L. (2012). Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients*, 4(8): 095-1119. Doi: 10.3390/nu4081095.

Burford M.A., Preston N.P., Minh T.H., Hoa T.T.T., Bunn S.E. y Fry, V.M. (2004). Dominant sources of dietary carbon and nitrogen for shrimp reared in extensive rice-shrimp ponds. *Aquaculture Research*, 35: 194-203. Doi: 10.1111/j.1365-2109.2004.01012.x.

Calvo, N. S., Stumpf, L., Sacristán, H. J. y Greco, L. S. L. (2013). Energetic reserves and digestive enzyme activities in juveniles of the red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* nearby the point-of-no-return. *Aquaculture*, 416: 85-91. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.08.017.

Cao, L., Wang, W., Yang, Y., Yang, C., Yuan, Z., Xiong, S. y Diana, J. (2007). Environmental impact of aquaculture and countermeasures to aquaculture pollution in China. *Environmental Science and Pollution Research – International*, 14(7): 452-462. Doi: 10.1065/espr2007.05.426.

Caruso, G., Denaro, M. G., Caruso, R., Mancari, F., Genovese, L. y Maricchiolo, G. (2011). Response to short term starvation of growth, haematological, biochemical and non-specific immune parameters in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*). *Marine environmental research*, 72(1-2): 46-52. Doi: 10.1016/j.marenvres.2011.04.005.

Chamberlain, G. W. 1995. Frontiers in shrimp nutrition research. Swimming through troubled water. The World Aquaculture Society. Baton Rouge. 108-117.

Chang, C. M., Fang, W., Jao, R. C., Shyu, C. Z. y Liao, I. C. (2005). Development of an intelligent feeding controller for indoor intensive culturing of eel. *Aquacultural engineering*, 32(2): 343-353. Doi: 10.1016/j.aquaeng.2004.07.004.

Charron, L., Geffard, O., Chaumot, A., Coulaud, R., Jaffal, A., Gaillet, V., Dedourge-Geffard, O. y Geffard, A. (2014). Influence of molting and starvation on digestive enzyme activities and energy storage in *Gammarus fossarum*. *Plos one*, 9(4): e96393. Doi: 10.1371/journal.pone.0096393.

Charron, L., Geffard, O., Chaumot, A., Coulaud, R., Jaffal, A., Gaillet, V., Dedourge-Geffard, O. y Geffard, A. (2015). Consequences of lower food intake on the digestive enzymes activities, the energy reserves and the reproductive outcome in *Gammarus fossarum*. *Plos one*, 10: e0125154. Doi: 10.1371/journal.pone.0125154.

Chen, W. Y., Ng, T. H., Wu, J. H., Chen, J. W. y Wang, H. C. (2017). Microbiome dynamics in a shrimp grow-out pond with possible outbreak of acute hepatopancreatic necrosis disease. *Scientific reports*, 7(1): 1-12. Doi: 10.1016/j.labeco.2016.09.008.

CONAPESCA. 2018. Anuario Estadístico de Acuicultura y pesca 2016 de la Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. SAGARPA. México. 293 p.

Cornejo, F., Lopez, A. A., Gallardo, L., Mendoza, A., Sánchez, F., Vichido, R. y Ochoa, A. (2017). Microbiome of Pacific Whiteleg shrimp reveals differential bacterial community composition between Wild, Aquacultured and AHPND/EMS outbreak conditions. *Scientific reports*, 7: 1-15. Doi: 10.1038/s41598-017-11805-w.

Cota-Quintero. (2021). Genes asociados al crecimiento compensatorio en el camarón blanco del pacífico *Penaeus vannamei*. Tesis (Maestría en Ciencias en el uso, manejo y preservación de los recursos naturales con orientación en acuicultura). La Paz, B.C.S. CIBNOR. 86 pp.

Cui Y. (1989). Bioenergetics of fishes: theory and methods. *Acta Hydrobiol Sin*, 13: 369–383.

Cummins, V. C., Webster, C. D., Thompson, K. R. y Velasquez, A. (2013). Replacement of fish meal with soybean meal, alone or in combination with distiller's dried grains with solubles in practical diets for pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, grown in a clear-water culture system. *Journal of the World Aquaculture Society*, 44(6): 775-785. Doi: 10.1111/jwas.12081.

Cuzon, G., Cahu, C., Aldrin, J.F., Messenger, J.L., Stéphan, G. y Mével, M. (1980). Starvation effect on metabolism of *Penaeus aponicas*. *Proceedings of the World Mariculture Society*, 11: 410-423. Doi: 10.1111/j.1749-7345.1980.tb00135.x

Dai, W. F., Zhang, J. J., Qiu, Q. F., Chen, J., Yang, W., Ni, S. y Xiong, J. B. (2018). Starvation stress affects the interplay among shrimp gut microbiota, digestion and immune activities. *Fish & shellfish immunology*, 80: 191-199. Doi: 10.1016/j.fsi.2018.05.040.

De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, JB., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G. y Lionetti P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(33): 14691-14696. Doi: 10.1073/pnas.1005963107.

de Souza Valente, C., & Wan, A. H. (2021). Vibrio and major commercially important vibriosis diseases in decapod crustaceans. *Journal of Invertebrate Pathology*, 181: 107527. Doi: 10.1016/j.jip.2020.107527.

Derome, N., Boutin, S., Llewellyn, M. y Gauthier, J. (2016). The Rasputin effect: when commensals and symbionts become parasitic. Doi: 10.1007/978-3-319-28170-4.

Dobson, S. H. y Holmes, R.M. (1984). Compensatory growth in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology*, 25(6): 649-656. Doi: 10.1111/j.1095-8649.1984.tb04911.x.

Dong, S. y Wu, L. (2001). The effects of repetitive 'starvation-and-refeeding' cycles on the compensatory growth response in chinese shrimp, *fenneropenaeus chinensis* (osbeck, 1765) (decapoda, penaeidae). *Crustaceana*, 74(11): 1225-1239. Doi: 10.1163/15685400152885200.

Duan, Y., Wang, Y., Liu, Q., Dong, H., Li, H., Xiong, D. y Zhang, J. (2019). Changes in the intestine microbial, digestion and immunity of *Litopenaeus vannamei* in response to dietary resistant starch. *Scientific reports*, 9(1), 1-10. Doi: 10.1038/s41598-019-42939-8.

Egerton, S., Culloty, S., Whooley, J., Stanton, C. y Ross, R.P. (2018). The gut microbiota of marine fish. *Frontiers in Microbiology*, 9: 873. Doi: 10.3389/fmicb.2018.00873.

Einen, O., Mørkøre, T, Røra, A.M.C. y Thomassen, M.S. (1999). Feed ration prior to slaughter-a potential tool for managing product quality of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 178:149–169. Doi: 10.1016/S0044-8486(99)00126-X.

Eroldogan, O. T., M. Kumlu, y M. Aktasx. (2004). Optimum feeding rate for European sea bass *Dicentrarchus labrax* reared in seawater and freshwater. *Aquaculture*: 231(1–4): 501-515. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2003.10.020.

Eslamloo, K., Morshedi, V., Azodi, M. y Akhavan, S.R. (2017). Effect of starvation on some immunological and biochemical parameters in tinfoil barb (*Barbonymus schwanefeldii*). *Journal of Applied Animal*, 45: 173–178. Doi: 10.1080/09712119.2015.1124329.

Fan, L. y Li, Q. X. (2019). Characteristics of intestinal microbiota in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* differing growth performances in the marine cultured environment. *Aquaculture*. 505:450-461. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.02.075.

FAO. (2012). FAO Statistical Yearbook: Fishery and Aquaculture Statistics. The organization of Food and Agriculture of the United Nations, Rome.

FAO. (2016). FAO Statistical Yearbook: Fishery and Aquaculture Statistics. The organization of Food and Agriculture of the United Nations, Rome.

Fischer, K., O'brien, D. M. y Boggs, C. L. (2004). Allocation of larval and adult resources to reproduction in a fruit-feeding butterfly. *Functional Ecology*, 656-663. Doi: 10.1111/j.0269-8463.2004.00892.x.

Flegel, T.W., Lightner, D.V., Lo, C.F. y Owens, L. (2008). Shrimp disease control: Past, present and future. In: Bondad-Reantaso M.G., Mohan C.V., Crumlish M., Subasinghe R.P. *Diseases in aquaculture VI. Fish Health Section, Asian Fisheries Society*. 505: 355–378.

Flores-Leyva, L. (2006). Evaluación de pigmentos carotenoides como aditivos alimentarios para la prevención de infecciones producidas por el virus de la mancha blanca (WSSV) y la bacteria *Vibrio harveyi* en el camarón blanco *Penaeus vannamei*. Tesis (Maestría en Ciencias en el uso, manejo y preservación de los recursos naturales con orientación en acuicultura). La Paz, B.C.S. CIBNOR. 112 pp.

Fóes, G., Krummenauer, D., Lara, G., Poersch, L. y Wasielesky Jr, W. (2016). Long term storage and the compensatory growth of white shrimp *Litopenaeus vannamei* in aquaculture ponds. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(3): 588-594. Doi: 10.3856/vol44-issue3-fulltext-17.

Food and Agriculture Organization. (2018). Estado mundial de la pesca y la acuicultura.

Foyosal, M. J., Fotedar, R., Tay, A. C. Y. y Gupta, S. K. (2020). Effects of long-term starvation on health indices, gut microbiota and innate immune response of fresh water crayfish, marron (*Cherax cainii*, aponi 2002). *Aquaculture*, 514:734444. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.734444.

Galitzine, V., Morgan, S. y Harvey, J. (2009). Seafood Watch. FishWise US Farmed Shrimp Report.

Gamboa-Delgado, J. (2010). Isótopos estables como trazadores nutricionales naturales en larvas y juveniles de *Litopenaeus vannamei* y *Solea senegalensis*. Pp. 620-667.

Gamboa-Delgado, J., Molina-Poveda, C., y Cahu, C. (2003). Digestive enzyme activity and food ingest a in juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) as a function of body weight. *Aquaculture Research*, 34(15): 1403–1411. Doi: 10.1111/j.1365-2109.2003.00959.x.

Gamboa-Delgado, J., Nieto-López, M. G., Maldonado-Muñiz, M., Villarreal-Cavazos, D., Tapia-Salazar, M. y Cruz-Suárez, L. E. (2020). Comparing the assimilation of dietary nitrogen supplied by animal-, plant-and microbial-derived ingredients in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: A stable isotope study. *Aquaculture Reports*, 17: 100294. Doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100294.

Gamboa-Delgado, J., Peña-Rodríguez, A., Ricque-Marie, D., & Cruz-Suárez, L. E. (2011). Assessment of nutrient allocation and metabolic turnover rate in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* co-fed live macroalgae *Ulva clathrata* and inert feed: dual stable isotope analysis. *Journal of Shellfish Research*, 30(3): 969-978. Doi: 10.2983/035.030.0340.

Gao, S., Pan, L., Huang, F., Song, M., Tian, C., & Zhang, M. (2019). Metagenomic insights into the structure and function of intestinal microbiota of the farmed Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 499: 109-118. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.09.026.

García-Rodríguez, L. D., Sainz-Hernández, J. C., Aguiñaga-Cruz, J. A., Juárez-Acosta, C. G., Santamaría-Miranda, A. y Apun-Molina, J. P. (2021). Enzymatic activity in the shrimp *Penaeus vannamei* fed at different feeding frequencies. *Latin aponica journal of aquatic research*, 49(2): 280-288. Doi: 10.3856/vol49-issue2-fulltext-2521.

Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, Å., Nelson, R., (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research*, 38(6): 551-579. Doi: 10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x.

Gearing, J. N. (1991). The study of diet and trophic relationships through natural abundance ¹³C. Carbon isotope techniques.

Gilannejad N., de las Heras V., Martos-Sitcha J.A., Moyano F.J., Yúfera M. y Martínez-Rodríguez G. (2020). Ontogeny of Expression and Activity of Digestive Enzymes and Establishment of gh/igf1 Axis in the Omnivorous Fish *Chelon labrosus*. *Animals MDPI*, 10(874): 1-20. Doi:10.3390/ani10050874.

Gisbert, E., Gimenez, G., Fernandez, I., Kotzamanis, Y. y Estevez, A. (2009). Development of digestive enzymes in common dentex, *Dentex dentex* during early ontogeny. *Aquaculture*, 287: 381–387. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.10.039.

Guzmán-Villanueva, L.T., Ascencio-Valle F., Macías-Rodríguez, M.E. y Tovar-Ramírez, D. (2013). Effects of dietary β -1,3/1,6-glucan on the antioxidant and digestive enzyme activities of Pacific red snapper (*Lutjanus peru*) after exposure to lipopolysaccharides. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40: 827–837. Doi: 10.1007/s10695-013-9889-0.

Hakim, J. A., Koo, H., Dennis, L. N., Kumar, R., Ptacek, T., Morrow, C. D., ... y Watts, S. A. (2015). An abundance of Epsilonproteobacteria revealed in the gut microbiome of the laboratory cultured sea urchin, *Lytechinus variegatus*. *Frontiers in microbiology*, 6: 1047. Doi: 10.3389/fmicb.2015.01047.

Hardy, H., Harris, J., Lyon, E., Beal, J. y Foey, A. D. (2013). Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defences: homeostasis and immunopathology. *Nutrients*, 5(6): 1869-1912. Doi: 10.3390/nu5061869.

Hayward, R.S, Noltie, D.B. y Wang, N. (1997). Use of compensatory growth to double hybrid sunfish growth rates. *Transactions of the American Fisheries Society*, 126: 316–322. Doi: 10.1577/1548-8659(1997)126<0316:NUOCGT>2.3.CO;2.

Hesslein, R.H., Hallard K.A. y Ramlal P. (1993). Replacement of sulfur, carbon, and nitrogen in tissue of growing broad whitefish (*Coregonus nasus*) in response to a change in diet traced by ^{34}S , ^{13}C , and ^{15}N . *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50: 2071–2076. Doi: 10.1139/f93-230.

Holt, C. C., Bass, D., Stentiford, G. D. y van der Giezen, M. (2020). Understanding the role of the shrimp gut microbiome in health and disease. *Journal of Invertebrate Pathology*, 186: 107387. Doi: 10.1016/j.jip.2020.107387.

Holt, C. C., van der Giezen, M., Daniels, C. L., Stentiford, G. D. y Bass, D. (2020). Spatial and temporal axes impact ecology of the gut microbiome in juvenile European lobster (*Homarus gammarus*). *The ISME journal*, 1-13. Doi: 10.1038/s41396-019-0546-1.

Huang, Z., Li, X., Wang, L. y Shao, Z. (2016). Changes in the intestinal bacterial community during the growth of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 47(6): 1737-1746. Doi: 10.1111/are.12628.

Icely, J.D. y Nott, J.A. (1992). Digestion and absorption: digestive system and associated organs. In: Harrison, F.W., Humes, A.G. (Eds.), *Microscopic Anatomy of Invertebrates: Decapod, Crustacea*, vol. 10. Wiley-Liss, New York, NY. Pp. 147–201.

Iebba, V., Santangelo, F., Totino, V., Pantanella, F., Monsia, A., Di Cristanziano, V., Di Cave, D., Schippa, S., Berrilli, F. y D'Alfonso, R. (2016). Gut microbiota related to *Giardia duodenalis*, *Entamoeba* spp. And *Blastocystis hominis* infections in humans from Côte d'Ivoire. *Journal of infection in developing countries*, 10(9): 1035–1041. Doi: 10.3855/jidc.8179.

Instituto Nacional de Pesca. (2013). (4 de marzo de 2021). Camarón blanco del pacífico. Obtenido de <https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/acuacultura-camaron-blanco-del-pacifico>

Jatobá, A., da Silva, B. C., da Silva, J. S., do Nascimento Vieira, F., Mouriño, J. L. P., Seiffert, W. Q. y Toledo, T. M. (2014). Protein levels for *Litopenaeus vannamei* in semi-intensive and biofloc systems. *Aquaculture*, 432: 365-371. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.05.005.

Jobling M., Meløy O.H., dos Santos J. y Christiansen, B. (1994). The compensatory growth response of the Atlantic cod: effects of nutritional history. *Aquaculture International*, 2: 75–90. Doi: 10.1007/BF00128802.

Kohl, K. D. y Carey, H. V. (2016). A place for host–microbe symbiosis in the comparative physiologist’s toolbox. *Journal of Experimental Biology*, 219(22): 3496-3504. Doi: 10.1242/jeb.136325.

Kohl, K. D., Amaya, J., Passemant, C. A., Dearing, M. D. y McCue, M. D. (2014). Unique and shared responses of the gut microbiota to prolonged fasting: A comparative study across five classes of vertebrate hosts. *FEMS Microbiology Ecology*, 90(3):883-894. Doi: 10.1111/1574-6941.12442.

Kureshy, N. y Davis, D. A. (2002). Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 204(1): 125-143. Doi: 10.1016/S0044-8486(01)00649-4.

Lee, C. y Lee, K. J. (2018). Dietary protein requirement of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in three different growth stages. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 21(1):30. Doi: 10.1186/s41240-018-0105-0.

Le François, N. R., Jobling, M. y Carter, C. (Eds.). (2010). *Finfish aquaculture diversification*. Cabi.

Li, E., Xu, C., Wang, X., Wang, S., Zhao, Q., Zhang, M., ... Chen, L. (2018). Gut Microbiota and its Modulation for Healthy Farming of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26(3): 381–399. Doi: 10.1080/23308249.2018.1440530.

Lightner, D. V. (2005). Biosecurity in shrimp farming: pathogen exclusion through use of SPF stock and routine surveillance. *Journal of the World Aquaculture Society*, 36(3): 229-248. Doi: 10.1111/j.1749-7345.2005.tb00328.x.

Lim, C. y Akiyama, D. M. (1995). Nutrient requirements of penaeid shrimp. Nutrition and utilization technology in aquaculture. 60-73.

Lin, X. T., Pan, J. X., Xu, Z. N., Li, Z. J. y Li, H. (2008). Effect of periodic starvation on feeding, growth and defecation of *Litopenaeus vannamei*. *Acta hydrobiologica sinica*. 32, 403-407.

Liu, P. C. y Lee, K. K. (1999). Cysteine protease is a major exotoxin of pathogenic luminous *Vibrio harveyi* in the tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Letters in Applied Microbiology*. 28(6): 428-430.

Liu, X., Shi, H., He, Q., Lin, F., Wang, Q., Xiao, S., ... y Zhao, H. (2020). Effect of starvation and refeeding on growth, gut microbiota and non-specific immunity in hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* × *E. lanceolatus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 97: 182-193. Doi: 10.1016/j.fsi.2019.11.055.

Loch, T. P. y Faisal, M. (2015). Emerging flavobacterial infections in fish: a review. *Journal of advanced research*, 6(3): 283-300. Doi: 10.1016/j.jare.2014.10.009.

Lovett, D.L. y Felder, D.L. (1989) Ontogeny of gut morphology in the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda, Penaeidae). *Journal of Morphology*, 201(3): 253-272. Doi: 10.1002/jmor.1052010305.

Lucas, J. S., Southgate, P. C. y Tucker, C. S. (2019). Aquaculture: farming aquatic animals and plants. John Wiley & Sons. Hoboken, NY. Tercera edición. 641p.

MacAvoy, S. E., Macko, S. A. y Arneson, L. S. (2005). Growth versus metabolic tissue replacement in mouse tissues determined by stable carbon and nitrogen isotope analysis. *Canadian Journal of Zoology*, 83(5): 631-641. Doi: 10.1139/z05-038.

Maciel, J. C., Francisco, C. J. y Miranda-Filho, K. C. (2018). Compensatory growth and feed restriction in marine shrimp production, with emphasis on biofloc technology. *Aquaculture international*, 26: 203-212. Doi: 10.1007/s10499-017-0209-z.

Meziti, A., Ramette, A., Mente, E. y Kormas, K. A. (2010). Temporal shifts of the Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) gut bacterial communities. *FEMS microbiology ecology*, 74(2): 472-484. Doi: 10.1111/j.1574-6941.2010.00964.x

Michener, R.H. y Schell, D.M. (1994) Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs In: Stable isotopes in ecology and environmental science. Blackwell scientific publications. Oxford, UK. Pp 138-157.

Minagawa, M. y Wada, E. (1984). Stepwise enrichment of $\delta^{15}\text{N}$ along food chains: further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48: 1135-140. Doi: 10.1016/0016-7037(84)90204-7.

McCue, M. D. (2012). Comparative physiology of fasting, starvation, and food limitation. New York: Springer. 103-132.

Moon, C. D., Young, W., Maclean, P. H., Cookson, A. L. y Bermingham, E. N. (2018). Metagenomic insights into the roles of Proteobacteria in the gastrointestinal microbiomes of healthy dogs and cats. *Microbiologyopen*. 7(5): e00677. Doi: 10.1002/mbo3.677.

Muhlia-Almazán, A. y García-Carreño, F. L. (2002). Influence of molting and starvation on the synthesis of proteolytic enzymes in the midgut gland of the white shrimp *Penaeus vannamei*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 133(3): 383-394. Doi: 10.1016/S1096-4959(02)00163-X.

Muhlia-Almazan, A., Garcia-Carreno, F. L., Sanchez-Paz, J. A., Yepiz-Plascencia, G., y Peregrino-Uriarte, A. B. (2003). Effects of dietary protein on the activity and mRNA level of trypsin in the midgut gland of the white shrimp *Penaeus vannamei*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 135(2): 373-383. Doi: 10.1016/s1096-4959(03)00091-5.

Neish, A. S. (2009). Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*, 136(1), 65-80. Doi: 10.1053/j.gastro.2008.10.080.

Omont, A., Elizondo-González, R., Quiroz-Guzmán, E., Escobedo-Fregoso, C., Hernández-Herrera, R. y Peña-Rodríguez, A. (2020). Digestive microbiota of shrimp *Penaeus vannamei* and oyster

Crassostrea gigas co-cultured in integrated multi-trophic aquaculture system. *Aquaculture*, 521: 735059. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735059.

Ong, B.L. y Johnston, D. (2006). Influence of feeding on hepatopancreas structure and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. *Journal of Shellfish. Research*, 25: 113–121. Doi: 10.2983/0730-8000(2006)25[113:IOFOHS]2.0.CO;2.

Oujifard, A., Seyfabadi J., Kenari A.A. y Rezaei, M. (2012). Growth and apparent digestibility of nutrients, fatty acids and amino acids in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed diets with rice protein concentrate as total and partial replacement of fish meal. *Aquaculture*, 342-343: 56-61. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.12.038.

Oxley, A.P.A., Shipton, W., Owens, L. y McKay, D. (2002). Bacterial flora from the gut of the wild and cultured banana prawn, *Penaeus merguensis*. *Journal of Applied Microbiology*, 93(2): 214–223. Doi: 10.1046/j.1365-2672.2002.01673.x.

Parker, P.L. y Anderson, R.K. (1989). A d 13C and d 15N tracer study of nutrition in aquaculture: *Penaeus vannamei* in a pond growout system. In: Stable Isotopes in Ecological Research (ed. By P.W. Rundel, J.R. Ehleringer & K.A. Nagy). Springer-Verlag, NewYork, USA. Pp 288-303.

Patil, P. K., Vinay, T. N., Aravind, R., Avunje, S. y Vijayan, K. K. (2021). Effect of Bacillus spp. On the composition of gut microbiota in early life stages of Indian white shrimp, *Penaeus indicus*. *Journal of Applied Aquaculture*, 1-11. Doi: 10.1080/10454438.2021.2011527.

Peeler, E. J. (2012). Costs and benefits of freedom from shrimp diseases in the European Union. *Journal of Invertebrate Pathology*. 110: 188–195. Doi: 10.1016/j.jip.2012.01.014

Peixoto, S., Silva, E., Costa, C. B., Nery, R. C., Rodrigues, F., Silva, J. F. y Soares, R. (2018). Effect of feeding frequency on growth and enzymatic activity of *Litopenaeus vannamei* during nursery phase in biofloc system. *Aquaculture Nutrition*, 24(1): 579–585. Doi: 10.1111/anu.12591

Perez-Farfante, I. (1970). Sinopsis de datos biológicos sobre el camarón blanco *Penaeus schmitti* Burkenroad, 1936. FAO Fish. Rep, 57: 1417-1438.

Peterson, B. J. y Fry, B. (1987). Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual review of ecology and systematics*, 18(1): 293-320. Doi: 10.1146/annurev.es.18.110187.001453.

Phillips, D. L. y Gregg, J. W. (2003). Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia*, 136(2): 261-269. Doi: 10.1007/s00442-003-1218-3.

Pirhonen, J. y L. Forsman. (1998). Effect of prolonged feed restriction on size variation, feed consumption, body composition, growth and smolting of brown trout, *Salmo trutta*. *Aquaculture*, 162: 203–217. Doi: 10.1016/s0044-8486(98)00215-4.

Price, C. y Egna, H. (2014). Strategies for reducing feed costs in small-scale aquaculture. *Global Aquaculture Advocate*, 24-26.

Qiao, F., Liu, Y., Sun, Y., Wang, X., Chen, K., Li, T., Li, E. y Zhang, M. (2017). Influence of different dietary carbohydrate sources on the growth and intestinal microbiota of *Litopenaeus vannamei* at low salinity. *Aquaculture nutrition*, 23(3): 444-452. Doi: 10.1111/anu.12412.

Qu, L., Lai, Q., Zhu, F., Hong, X., Sun, X. y Shao, Z. (2011). *Cohaesibacter marisflavi* sp. Nov., isolated from sediment of a seawater pond used for sea cucumber culture, and emended description of the genus *Cohaesibacter*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 61(4), 762-766. Doi: 10.1099/ij.s.0.021972-0.

Ramakrishna, B. S. (2013). Role of the gut microbiota in human nutrition and metabolism. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 28: 9-17. Doi: 10.1111/jgh.12294.

Rana, K. J., Siriwardena, S. y Hasan, M. R. (2009). Impact of rising feed ingredient prices on aquafeeds and aquaculture production. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*. No. 541. Rome, FAO. 2009. 63p.

Ringø, E., Olsen, R. E., Jensen, I., Romero, J. y Lauzon, H. L. (2014). Application of vaccines and dietary supplements in aquaculture: possibilities and challenges. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 24(4): 1005-1032. Doi: 10.1007/s11160-014-9361-y.

Rivera-Pérez, C. y García-Carreño, F. L. (2010). Digestive lipase activity through development and after fasting and re-feeding in the whiteleg shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 300(1-4): 163-168. Doi:10.1016/j.aquaculture.2009.12.030.

Rocha, J. V., Silva, J. F., Barros, C., Peixoto, S. y Soares, R. (2019). Compensatory growth and digestive enzyme activity of *Litopenaeus vannamei* submitted to feeding restriction in a biofloc system. *Aquaculture Research*, 50(12), 3653-3662. Doi: 10.1111/are.14323.

Rodríguez, L.D., Hernández, J. & Aguiñaga, J., Acosta, C., Santamaría, A. y Molina, J.P. (2021). Enzymatic activity in the shrimp *Penaeus vannamei* fed at different feeding frequencies. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 49: 280-288. Doi: 10.3856/vol49-issue2-fulltext-2521.

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Taboada, G., Arena, L., ... Van Wormhoudt, A. (2002). An energetic and conceptual model of the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 268: 47–67. Doi: 10.1016/S0022-0981(01)00370-7.

Round, J. L., & Mazmanian, S. K. (2009). The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nature reviews immunology*, 9(5): 313-323. Doi: 10.1038/nri2515.

Rowland, S. J., G. L. Allan, C. Mifsud, M. Nixon, P. Boyd y D. Glendenning. (2005). Development of a feeding strategy for silver perch, *Bidyanus bidyanus* (Mitchell), based on restricted rations. *Aquaculture Research*, 36: 1429–1441. Doi: 10.1111/j.1365-2109.2005.01364.x

Rungrasamee, W., Klanchui, A., Maibunkaew, S., Chaiyapechara, S., Jiravanichpaisal, P. y Karoonuthaisiri, N. (2014). Characterization of intestinal bacteria in wild and domesticated adult black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Plos one*, 9(3): e91853. Doi: 10.1371/journal.pone.0091853

Rungrasamee, W., Klanchui, A., Maibunkaew, S. y Karoonuthaisiri, N. (2016). Bacterial dynamics in intestines of the black tiger shrimp and the Pacific white shrimp during *Vibrio harveyi* exposure. *Journal of invertebrate pathology*, 133: 12-19. Doi: 10.1016/j.jip.2015.11.004.

Ruppert, E.E. y Barnes, R.D. (1994). *Invertebrate Zoology*. Saunders College Publishing and Harcourt Brace Jovanovich. Orlando, Florida. Pp. 1056.

Russell, N.R. y Wootton, R.J. (1992). Appetite and growth compensation in the European minnow, *Phoxinus phoxinus* (Cyprinidae), following short periods of food restriction. *Environmental Biology of Fishes*, 34: 277-285. Doi: 10.1007/BF00004774.

Sabry, H., Lemos, D., Raggi, T. y Nunes, A.J.P. (2016). Effects of soy protein ratio, lipid content and minimum level of krill meal in plant-based diets over the growth and digestibility of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 23(2): 293-303. Doi: 10.1111/anu.12392.

Sacristán, H. J., Ansaldo, M., Franco-Tadic, L. M., Gimenez, A. V. F. y Greco, L. S. L. (2016). Long-term starvation and posterior feeding effects on biochemical and physiological responses of midgut gland of *Cherax quadricarinatus* juveniles (Parastacidae). *Plos one*. 11(3). Doi: 10.1371/journal.pone.0150854.

Salonen, A., & de Vos, W. M. (2014). Impact of diet on human intestinal microbiota and health. *Annual review of food science and technology*, 5: 239-262. Doi: 10.1146/annurev-food-030212-182554.

Saulnier, D., Haffner, P., Goarant C., Levy, P. y Ansquer, D. (2000). Experimental infection models for shrimp vibriosis studies: a review. *Aquaculture*, 191: 133–144. Doi: 10.1016/S0044-8486(00)00423-3.

Sakyi, M. E., Cai, J., Tang, J., Abarike, E. D., Xia, L., Li, P., ... y Jian, J. (2020). Effects of starvation and subsequent re-feeding on intestinal microbiota, and metabolic responses in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Reports*, 17: 100370. Doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100370.

Semova, I., Carten, J. D., Stombaugh, J., Mackey, L. C., Knight, R., Farber, S. A. y Rawls, J. F. (2012). Microbiota regulate intestinal absorption and metabolism of fatty acids in the zebrafish. *Cell host & microbe*, 12(3): 277–288. Doi: 10.1016/j.chom.2012.08.003.

Shao, J. C., Zhu, W. Q., Liu, M., Wang, L. y Zhao, W. (2020). Cyclical fasting and refeeding is not an advisable feeding strategy for white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture Reports*, 18: 100429. Doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100429

Shao, J., Liu, M., Wang, B., Jiang, K., Wang, M. y Wang, L. (2017). Evaluation of biofloc meal as an ingredient in diets for white shrimp *Litopenaeus vannamei* under practical conditions: Effect on growth performance, digestive enzymes and TOR signaling pathway. *Aquaculture*, 479, 516-521. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.06.034.

Shoemaker, C.A., Shelby, R.A. y Klesius, P.H. (2003). Development of an indirect ELISA to detect humoral response to *Flavobacterium columnare* infection of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of Applied Aquaculture*, 14(1-2), 43-52. Doi: doi.org/10.1300/J028v14n01_03.

Sookying, D., Davis, D.A. y 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. Doi: 10.1111/anu.12050.

Sorokin, D. Y., Robertson, L. A. y Kuenen, J. G. (1996). Sulfur cycling in *Catenococcus thiocyclus*. *FEMS microbiology ecology*, 19(2): 117-125. Doi: 10.1111/j.1574-6941.1996.tb00204.x

Stackebrandt, E., Murray, R.G.E. y Trüper, H.G., (1988). Proteobacteria classis nov., a name for the phylogenetic taxon that includes the "purple bacteria and their relatives". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 38(3): 321–325. Doi: 10.1099/00207713-38-3-321.

Stumpf, L. y López Greco, L. S. (2015). Compensatory Growth in Juveniles of Freshwater Redclaw Crayfish *Cherax quadricarinatus* reared at three different temperatures: Hyperphagia and Food Efficiency as Primary Mechanisms. *PloS one*, 10(9): e0139372. Doi:10.1371/journal.pone.0139372.

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

Tacon, A.G. y Metian, M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. *Aquaculture*, 285:146-158.

Tamadoni, R., Nafisi Bahabadi, M., Morshedi, V., Bagheri, D. y Torfi Mozanzadeh, M. (2020). Effect of short-term fasting and re-feeding on growth, digestive enzyme activities and antioxidant defence in yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus* (Houttuyn, 1782). *Aquaculture Research*, 51(4): 1437-1445. Doi: 10.1111/are.14489.

Terra, W. R. y Ferreira, C. (1994). Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 109(1):1-62. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.08.015

Terra, W. R., Ferreira, C., Jordao, B. P. y Dillon, R. J. (1996). Digestive enzymes. In *Biology of the insect midgut*. Springer, Dordrecht. Pp. 153-194.

Thursby, E. y Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal*, 474(11): 1823-1836. Doi: 10.1042/BCJ20160510.

Toledo-Cuevas E.M., Moyano F.J., Ramírez-Tovar D., Strüssmann C.A., Álvarez-González C.A., Martínez-Chávez C.C. y Martínez-Palacios C.A. (2011). Development of digestive biochemistry in the initial stages of three cultured *Atherinopsids*. *Aquaculture Research*, 42(6): 776–786. Doi:10.1111/j.1365-2109.2011.02853.x.

Tzuc, J. T., Escalante, D. R., Herrera, R. R., Cortés, G. G. y Ortiz, M. L. A. (2014). Microbiota from *Litopenaeus vannamei*: digestive tract microbial community of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *SpringerPlus*, 3(1):280. Doi: 10.1186/2193-1801-3-280.

Vander Zanden, M. J., Hulshof, M., Ridgway, M. S. y Rasmussen, J. B. (1998). Application of stable isotope techniques to trophic studies of age-0 smallmouth bass. *Transactions of the American Fisheries Society*. 127(5): 729-739. Doi: 10.1577/1548-8659(1998)127<0729:AOSITT>2.0.CO;2.

Van Wormhoudt, A. (1974). Variations of the level of the digestive enzymes during the intermolt cycle of *Palaemon serratus*: influence of the season and effect of the eyestalk ablation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 49(4): 707-715. Doi: 10.1016/0300-9629(74)90899-8.

Vega-Villasante, F., Nolasco, H. y Civera, R. (1993). The digestive enzymes of the Pacific brown shrimp *Penaeus californiensis*: I. Properties of the amylase activity in the digestive tract. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 106(3): 547-550. Doi: 10.1016/0305-0491(93)90130-W.

Velazquez, O. C., Lederer, H. M. y Rombeau, J. L. (1997). Butyrate and the colonocyte. In *Dietary fiber in health and disease*. Springer, Boston, MA. Pp. 123-134.

Wilson, P.N. y D.F. Osbourn. (1960). Compensatory growth after under nutrition in mammals and birds. *Biol. Rev*, 35: 324-363. Doi: 10.1111/j.1469-185x.1960.tb01327.x.

Wu, L., Dong, S., Wang, F., Tian, X. y Ma, S. (2001). The effect of previous feeding regimes on the compensatory growth response in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. *Journal of Crustacean Biology*, 21(3): 559-565. Doi: 10.1163/20021975-99990157.

Wu, L. y Dong, S. (2002). Compensatory growth responses in juvenile Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*, at different temperatures. *Journal of Crustacean Biology*, 22(3): 511-520. Doi: 10.1163/20021975-99990262.

Wu, J. F., Xiong, J. B., Wang, X., Qiu, Q. L., Zheng, J. L., & Zhang, D. M. (2016). Intestinal bacterial community is indicative for the healthy status of *Litopenaeus vannamei*. *The journal of applied ecology*, 27(2), 611–621. Doi:

Xia, J. H., Lin, G., Fu, G. H., Wan, Z. Y., Lee, M., Wang, L., ... y Yue, G. H. (2014). The intestinal microbiome of fish under starvation. *BMC genomics*, 15(1):266. Doi: 10.1186/1471-2164-15-266.

Xia, S., Zhao, W., Li, M., Zhang, L., Sun, L., Liu, S., et al. (2018). Effects of dietary protein levels on the activity of the digestive enzyme of albino and normal *Apostichopus aponicas* (Selenka). *Aquaculture Research*, 49(3): 1302-1309. Doi:10.1111/are.13585.

Xiong, J., Dai, W., Zhu, J., Liu, K., Dong, C. y Qiu, Q. (2017a). The underlying ecological processes of gut microbiota among cohabitating retarded, overgrown and normal shrimp. *Microbial ecology*, 73(4): 988-999. Doi: 10.1007/s00248-016-0910-x.

Xiong, J., Zhu, J., Dai, W., Dong, C., Qiu, Q. y Li, C. (2017b). Integrating gut microbiota immaturity and disease-discriminatory taxa to diagnose the initiation and severity of shrimp disease. *Environmental microbiology*, 19(4): 1490-1501. Doi: 10.1111/1462-2920.13701.

Yamaguchi, H., Arisaka, H., Seki, M., Adachi, M., Kimura, K. y Tomaru, Y. (2016). Phosphotriesterase activity in marine bacteria of the genera *Phaeobacter*, *Ruegeria*, and *Thalassospira*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 115: 186-191. Doi: 10.1016/j.ibiod.2016.08.019.

Yao, Z., Yang, K., Huang, L., Huang, X., Qiuqian, L., Wang, K., & Zhang, D. (2018). Disease outbreak accompanies the dispersive structure of shrimp gut bacterial community with a simple core microbiota. *AMB Express*, 8(1): 1-10. Doi: 10.1186/s13568-018-0644-x.

Zeigler, T.R. (2012). Compensatory gains yield hidden profits. *Global Aquacult. Adv*, 15:18-19.

Zhang, M., Sun, Y., Chen, K., Yu, N., Zhou, Z., Chen, L., ... y Li, E. (2014). Characterization of the intestinal microbiota in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed diets with different lipid sources. *Aquaculture*, 434: 449-455. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.09.008.

Zhang, M., Y. Sun, Y. Liu, F. Qiao, L. Chen, W. T. Liu, Z. Du y E. Li. (2016). Response of gut microbiota to salinity change in two euryhaline aquatic animals with reverse salinity preference. *Aquaculture*. 454: 72–80. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.12.014.

Zhang, P., Zhang, X., Li, J. y Gao, T. (2010). Effect of refeeding on the growth and digestive enzyme activities of *Fenneropenaeus chinensis* juveniles exposed to different periods of food deprivation. *Aquaculture International*, 18(6): 1191-1203. Doi: 10.1007/s10499-010-9333-8.

Zheng, Y., Cheng, X. y Tang, H. (2015). Effects of Starvation and Refeeding on Digestive Enzyme Activity of *Megalobrama pellegrini*. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 7:230-234. Doi: 10.19026/ajfst.7.1300.

Zheng, Y., Yu, M., Liu, J., Qiao, Y., Wang, L., Li, Z., ... y Yu, M. (2017). Bacterial community associated with healthy and diseased Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae and

rearing water across different growth stages. *Frontiers in microbiology*, 8: 1362. Doi: 10.3389/fmicb.2017.01362.

Zhou, J. B., Zhou, Q. C., Chi, S. Y., Yang, Q. H. y Liu, C. W. (2007). Optimal dietary protein requirement for juvenile ivory shell, *Babylonia areolate*. *Aquaculture*, 270(1-4): 186-192. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.07.050.

Zhu, Z. M., Lin, X. T., Pan, J. X. y Xu, Z. N. (2016). Effect of cyclical feeding on compensatory growth, nitrogen and phosphorus budgets in juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 47(1): 283-289. Doi: 10.1111/are.12490.

11. ANEXOS

Comandos utilizados para el análisis de metagenómica en MOTHUR

Establecimiento del directorio de trabajo

```
set.dir(input=/home/apena/giovanni/Secuencias_nuevas)
```

Creación de contigs

```
make.contigs(file=stability.files, processors=8)
```

Eliminación de contigs

```
summary.seqs(fasta=stability.trim.contigs.fasta)
```

Eliminación de secuencias repetidas

```
unique.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.fasta)
```

Creación de tabla de conteo

```
count.seqs(name=stability.trim.contigs.good.names, group=stability.contigs.good.groups)
```

Alineamiento

```
align.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.fasta, reference=silva.bacteria.fasta)
```

Eliminación de secuencias alineadas

```
summary.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.align,  
count=stability.trim.contigs.good.count_table)
```

```
screen.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.align,  
count=stability.trim.contigs.good.count_table,  
summary=stability.trim.contigs.good.unique.summary, start=6388, end=25316, maxhomop=8)
```

Filtrado

```
filter.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.align, vertical=T, trump=.,)
```

Eliminación de secuencias alineadas repetidas

```
unique.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.fasta,  
count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.count_table)
```

Precluster

```
pre.cluster(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.fasta,  
count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.count_table, diffs=2)
```

Detección y eliminación de quimeras

```
chimera.vsearch(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.fasta,  
count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.count_table,  
dereplicate=t)
```

```
remove.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.fasta,  
accnos=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.denovo.vsearch.accnos)
```

Clasificación de las secuencias

```
classify.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.pick.fasta,  
count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.denovo.vsearch.pick.cou  
nt_table, reference=trainset18_062020.rdp.fasta, taxonomy=trainset18_062020.rdp.tax,  
cutoff=80)
```

Eliminación de secuencias no deseadas

```
remove.lineage(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.pick.fasta,
count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.denovo.vsearch.pick.count_table,
taxonomy=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.pick.rdp.wang.taxonomy, taxon=Chloroplast-Mitochondria-unknown-Archaea-Eukaryota)
```

Creación de OTUs

```
dist.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.pick.pick.fasta,
cutoff=0.03)
```

Cluster

```
cluster(column=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.pick.pick.dist,
count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.denovo.vsearch.pick.pick.count_table)
```

Conteo de secuencias

```
make.shared(list=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.pick.pick.opti_mcc.list,
count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.denovo.vsearch.pick.pick.count_table, label=0.03)
```

Clasificación OTUs

```
classify.otu(list=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.pick.pick.opti_mcc.list,
count=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.denovo.vsearch.pick.pick.count_table,
taxonomy=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.pick.rdp.wang.pick.taxonomy, label=0.03)
```

```
dist.seqs(fasta=stability.trim.contigs.good.unique.good.filter.unique.precluster.pick.pick.pick.fas  
ta, output=lt, processors=4)
```

Alfa diversidad

```
count.groups(shared=stability.opti_mcc.shared)
```

```
sub.sample(shared=stability.opti_mcc.shared, size=8896)
```

```
summary.single(shared=stability.opti_mcc.shared, calc=nseqs-coverage-sobs-npshannon-chao,  
subsample=8896)
```

Beta diversidad

```
dist.shared(shared=stability.opti_mcc.shared, calc=thetayc-jclass, subsample=8896)
```

```
pcoa(phylip=stability.opti_mcc.thetayc.0.03.lt.ave.dist)
```