



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA Y ANTIOXIDANTE
DURANTE EL CRECIMIENTO COMPENSATORIO EN EL
CAMARÓN BLANCO *Penaeus vannamei*.

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

Aldahir Núñez Rondero

La Paz, Baja California Sur, abril de 2022.

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 14:00 horas del día 29 del Mes de Marzo 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:

"ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA Y ANTIOXIDANTE DURANTE EL CRECIMIENTO COMPENSATORIO EN EL CAMARÓN BLANCO *Penaeus vannamei*"

Presentada por el alumno:

Aldahir Núñez Rondero

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. Laura Teresa Guzmán Villanueva
Co-Directora de Tesis



Dr. Carlos Alfonso Álvarez González
Co-Tutor de Tesis



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

La Paz, Baja California Sur, a 28 de marzo de 2022

Los miembros del comité de tesis del estudiante ALDAHIR NUÑEZ RONDERO 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

	Citas excluidas Bibliografía excluida	17% SIMILAR
Resumen de Coincidencias		
1	Internet 430 palabras Copiado el 21-May-2021 dSPACE.cibnor.mx:8080	4%
2	Internet 97 palabras Copiado el 21-Jul-2020 scielo.sld.cu	1%
3	Internet 85 palabras ri.agro.uba.ar	1%
4	Internet 79 palabras hdl.handle.net	1%
5	Internet 64 palabras Copiado el 17-Jul-2020 tesis.ipn.mx	1%
6	Internet 60 palabras Copiado el 23-Jul-2021 bibliotecadigital.exactas.uba.ar	1%
7	Internet 54 palabras Copiado el 03-Abr-2019 eprints.uanl.mx	<1%

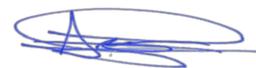
Firmas del comité



Dr. Alberto Peña Rodríguez
Co-Director de Tesis



Dra. Laura T. Guzmán Villanueva
Co-Directora de Tesis



Dr. Carlos A. Álvarez González
Co-Tutor de Tesis

Conformación de Comités

Comité Tutorial

Dr. Alberto Peña Rodríguez

Cátedras CONACyT-CIBNOR

Co-Director de Tesis

Dra. Laura Teresa Guzmán Villanueva

Cátedras CONACyT-CIBNOR

Co-Directora de Tesis

Dr. Carlos Alfonso Álvarez González

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Co-Tutor de Tesis

Comité Revisor de Tesis

Dr. Alberto Peña Rodríguez

Dra. Laura Teresa Guzmán Villanueva

Dr. Carlos Alfonso Álvarez González

Jurado de Examen

Dr. Alberto Peña Rodríguez

Dra. Laura Teresa Guzmán Villanueva

Dr. Carlos Alfonso Álvarez González

Suplente

Dr. Dariel Tovar Ramírez

Resumen

En México, la acuicultura del camarón *Penaeus vannamei* es de gran importancia debido a su alto valor y demanda comercial. El alimento balanceado representa uno de los costos más significativos del cultivo, por lo que actualmente se exploran estrategias de restricción alimenticia temporal que pueden inducir un crecimiento compensatorio. Este último se refiere a la capacidad de los organismos de recuperar el peso corporal cuando las condiciones óptimas de alimentación son restauradas. Por otra parte, el conocimiento sobre los cambios a nivel fisiológico como la actividad enzimática digestiva y antioxidante durante el crecimiento compensatorio del camarón es limitado. Por ello, se realizó un bioensayo con una duración de 46 días, bajo los siguientes regímenes alimenticios: grupo control (alimentado a saciedad), y tres tratamientos de restricción alimenticia cíclica durante 18 días: a) 2 días a saciedad y 4 días de restricción del 50% (T2:4), b) 3 días a saciedad y 3 días de restricción del 66% (T3:3) y c) 4 días a saciedad y 2 de ayuno (T4:2), y posteriormente, un periodo de recuperación de 28 días de alimentación a saciedad. De acuerdo al rendimiento productivo, los camarones registraron un crecimiento compensatorio completo en los tratamientos T2:4 y T3:3, al no presentar diferencias significativas en el peso promedio final respecto al control, obteniendo una reducción del alimento de hasta 11.6%. En el caso de la actividad enzimática digestiva, se observó un aumento significativo de amilasa para el tratamiento T3:3 y de lipasa para T2:4 al término de los ciclos de restricción alimenticia. Durante el crecimiento compensatorio (día 32), se presentó un aumento significativo de quimotripsina para el tratamiento T4:2, y de lipasa para el T3:3. Al término del experimento (día 46), la actividad amilasa disminuyó para los tratamientos con restricción en comparación con el control. La actividad de catalasa mostró un incremento significativo en el tratamiento T3:3 al término de los ciclos de restricción (día 18), en el tratamiento T2:4 durante el periodo de compensación (día 32), y en los tratamientos T3:3 y T2:4 al término del periodo experimental (día 46), todos respecto al control. De acuerdo con los resultados encontrados, la capacidad de respuesta compensatoria en el camarón *P. vannamei* está estrechamente relacionada con la severidad y duración de los periodos de restricción. La restricción alimenticia propicia cambios en la actividad enzimática digestiva y antioxidante, los cuales pueden servir como indicadores para predecir un buen manejo de la estrategia de restricción alimenticia para la disminución de costos en la producción de camarón.

Palabras clave: *Penaeus vannamei*, Crecimiento compensatorio, Actividad enzimática digestiva, Actividad enzimática antioxidante.

<https://orcid.org/0000-0002-4863-1683>

Vo. Bo. Co-Directores de Tesis



Dr. Alberto Peña Rodríguez



Dra. Laura Teresa Guzmán Villanueva

Summary

In Mexico, the aquaculture of *Penaeus vannamei* is very important due to the high value and commercial demand. Balanced feed represents one of the highest costs in this industry, therefore temporary food restriction strategies are explored to induce compensatory growth. The latter refers to the ability of organisms to regain body weight when optimal feeding conditions are restored. On the other hand, the knowledge about the changes at a physiological level such as the digestive and antioxidant enzymes activities during the compensatory growth of shrimp is limited. For these reason, a bioassay was carried out with a duration of 46 days, under the following dietary regimens: control group (fed to satiety), and three treatments of cyclical feeding restriction for 18 days: a) 2 days of feeding to satiety and 4 days with feed restriction at 50% (T2:4), b) 3 days of feeding to satiety and 3 days with feed restriction at 66% (T3:3), and c) 4 days of feeding to satiety and 2 days of fast (T4:2), later a recovery period of 28 days of feeding to satiety. According to the productive performance, the shrimp registered a complete compensatory growth in treatment T2:4 and T3:3, as they did not present significant differences in the final average weight compared to control, obtaining a food reduction of up to 11.6%. In the case of digestive enzyme activity, a significant increase in amylase was observed for the T3:3 treatment and lipase for T2:4 at the end of the cycles of food restriction. During compensatory growth (day 32), there was a significant increase in chymotrypsin for the T4:2 treatment, and in lipase for the T3:3. At the end of the experiment (day 46), amylase activity decreased for the treatments with restriction compared to the control. Catalase activity showed a significant increase in treatment T3:3 at the end of the restriction cycles (day 18), in treatment T2:4 during the compensatory growth (day 32), and in treatments T3:3 and T2:4 at the end of the experimental period (day 46), all compared to control treatment. The results showed that the compensatory response in *P. vannamei* shrimp, is closely related to the severity and duration of the restriction periods. The feeding restriction regime promotes changes in the digestive and antioxidant activities, which could be used as indicators to predict the good management practices of feed restriction to diminish the cost of shrimp production.

Keywords: *Penaeus vannamei*, compensatory growth, digestive enzymatic activity. Antioxidant enzymatic activity.

<https://orcid.org/0000-0002-4863-1683>

Vo. Bo. Co-Directores de Tesis



Dr. Alberto Peña Rodríguez



Dra. Laura Teresa Guzmán Villanueva

Dedicatoria

A mis padres Emma Guadalupe Rondero Astorga y Marcos Núñez Ceseña † por ser los pilares de mi vida y mi educación.

A mis hermanos, Carlos Daniel, Ulises, Marcos Miguel y Alejandro.

A mi tía, María Dolores Rondero Astorga.

Agradecimientos

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. (CIBNOR) por la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada (No. 744543).

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.

A la empresa Larvas Gran Mar, por amablemente donar las post-larvas de camarón.

A mi Comité Tutorial, al Dr. Alberto Peña Rodríguez por confiar en que soy capaz de perseguir y alcanzar mis metas, por apoyarme en mi formación académica, por sus consejos, dedicación e invaluable paciencia. A la Dra. Laura Teresa Guzmán Villanueva por el empeño y motivación en salir adelante a pesar de las circunstancias, por sus enseñanzas, consejos y apoyo. Al Dr. Carlos Alfonso Álvarez González por qué a pesar de las condiciones pandémicas y la distancia compartió conmigo su sabiduría y así enriqueció mi conocimiento.

Al Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola, Biol. Sandra de la Paz Reyes y M.C. Gabriel Robles. Al Laboratorio de Fisiología Animal Comparada y Genómica Funcional, Dr. Dariel Tovar Ramírez, Biol. Patricia Hinojosa Baltazar. Al Laboratorio de Genómica y Bioinformática, M.C. Gabriela Mendoza, M.C. Clara Adèle Py. Al Laboratorio de Análisis Químico Proximal, IBQ. María Dolores Rondero Astorga y Geol. Sindi Areli Juan Antúnez. Por el apoyo incondicional en la realización de este trabajo.

Al personal de la Dirección de Estudios de Posgrado, Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro, Lic. Leticia González Rubio, Lic. Osvelia Ibarra Morales, Ing. Horacio Sandoval Gómez y Tania Verónica Núñez Valdez, por su trato, disposición y amabilidad.

A mis amigos de generación, Daniela, Miranda, David, Patty, Bárbara y Kevyn por hacer de esta una etapa más amena, producto de las aventuras, risas y el tiempo que pasamos juntos. A

Giovanni, Edson, Ayenia, Jaqueline, Carla, Jarey, Paola y David Ramiro, por brindarme su amistad incondicional, los momentos de alegría y sobretodo el apoyo en días difíciles.

A mi familia, a mi madre por darme las armas necesarias para ir escalando cada peldaño que encuentro en la vida. A mis hermanos Alejandro, Carlos Daniel, Ulises y Marcos Miguel por todo el apoyo, amor y el impulso a cumplir mis metas. A mi tía Lolita, por el cariño y apoyo incondicional durante mi estancia en la paz. Gracias por estar durante este proceso, por ayudarme a crecer y por las palabras de aliento para poder continuar.

Contenido

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	vi
Lista de figuras	viii
Lista de tablas	ix
Abreviaturas	x
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Acuicultura y cultivo de camarón	3
2.2 Generalidades y alimentación de <i>Penaeus vannamei</i>	5
2.2.1 Clasificación taxonómica	5
2.2.2 Origen de la especie	6
2.2.3 Alimentación	6
2.2.4 Parámetros de rendimiento productivo	8
2.3 Crecimiento compensatorio	9
2.4 Actividad enzimática digestiva	12
2.5 Estrés oxidativo y actividad enzimática antioxidante	14
2.5.1 Especies reactivas de oxígeno	15
2.5.1.1 Radical anión superóxido (O_2^-)	15
2.5.1.2 Radical hidroxilo (OH^\cdot)	15
2.5.1.3 Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)	16
2.5.2 Antioxidantes	16
2.5.3 Estrés oxidativo generado por restricción de alimentos	17
3. JUSTIFICACIÓN	20
4. HIPÓTESIS	21
5. OBJETIVOS	22
5.1 Objetivo general	22
5.2 Objetivos particulares	22
6. MATERIAL Y MÉTODOS	23
6.1 Evaluación del rendimiento productivo	23
6.2 Determinación de actividad enzimática	26
6.2.1 Preparación del extracto enzimático	26
6.2.2 Cuantificación de la actividad enzimática digestiva y antioxidante	26
6.2.2.1 Actividad enzimática digestiva	26
6.2.2.2 Actividad enzimática antioxidante Catalasa	27
7. RESULTADOS	29
7.1 Evaluación del rendimiento productivo de <i>P. vannamei</i> sometido a periodos cíclicos de restricción alimenticia	29
7.2 Determinación de actividad enzimática digestiva	32
7.2.1 Actividad enzimática específica tripsina	32
7.2.2 Actividad enzimática específica quimotripsina	33

7.2.3 Actividad enzimática específica lipasa	34
7.2.4 Actividad enzimática específica amilasa	35
7.2.5 Actividad enzimática específica catalasa	36
8. DISCUSIÓN	38
8.1 Evaluación del rendimiento productivo	38
8.2 Determinación de actividad enzimática digestiva	40
8.2.1 Actividad enzimática específica tripsina y quimotripsina	40
8.2.2 Actividad enzimática específica lipasa	41
8.2.3 Actividad enzimática específica amilasa	42
8.2.4 Actividad enzimática catalasa	43
9. CONCLUSIONES	45
10. LITERATURA CITADA	46

Lista de figuras

Figura 1. Producción mundial de camarón por región.	3
Figura 2. Producción acuícola de camarón en los principales países productores de América Latina.	4
Figura 3. Principales estados de la república productores de <i>P. vannamei</i>	5
Figura 4. Morfología externa del <i>P. vannamei</i>	6
Figura 5. Clasificación del crecimiento compensatorio por restricción alimenticia.	10
Figura 6. Dismutación del radical superóxido a peróxido de hidrógeno y a su vez este, a agua y oxígeno molecular.	17
Figura 7. Diseño experimental del bioensayo de restricción alimenticia en <i>P. vannamei</i>	23
Figura 8. Pesos promedios registrados en los días 0, 7, 13, 18, 24, 32, y 46 de <i>P. vannamei</i> sometidos a diferentes regímenes de alimentación de los tratamientos T2, T3, T4, y control ($p < 0.05$, $n=4$).	29
Figura 9. Factor de conversión alimenticia total de <i>P. vannamei</i> después de 46 días de bioensayo ($p < 0.05$, $n=4$). Las letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis Tukey.	31
Figura 10. Tasa de crecimiento específico en <i>P. vannamei</i> entre el día 28 y 35 de experimentación, 14 días después del término de los ciclos de alimentación/restricción ($p < 0.05$, $n=4$). Las letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis Tukey ($\alpha=0.05$).	32
Figura 11. Actividad enzimática específica tripsina ($U\ mg^{-1}$ proteína) en los camarones bajo diferentes regímenes alimenticios a los días 18, 32 y 46 del bioensayo. Las letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis Tukey ($\alpha=0.05$).	33
Figura 12. Actividad enzimática específica quimotripsina ($U\ mg^{-1}$ proteína) en los camarones bajo diferentes regímenes alimenticios a los días 18, 32 y 46 del bioensayo. Las letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis Tukey ($\alpha=0.05$).	34
Figura 13. Actividad enzimática específica lipasa ($U\ mg^{-1}$ proteína) en los camarones bajo diferentes regímenes alimenticios a los días 18, 32 y 46 del bioensayo. Las letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis Tukey ($\alpha=0.05$).	35
Figura 14. Actividad enzimática específica amilasa ($U\ mg^{-1}$ proteína) en los camarones bajo diferentes regímenes alimenticios a los días 18, 32 y 46 del bioensayo. Las letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis Tukey ($\alpha=0.05$).	36
Figura 15. Actividad enzimática catalasa ($nmol/min/ml$) en los camarones bajo diferentes regímenes alimenticios a los días 18, 32 y 46 del bioensayo. Las letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis Tukey ($\alpha=0.05$).	37

Lista de tablas

Tabla 1. Clasificación general de los sistemas de cultivo en camarón.	7
Tabla 2. Tamaño del pellet recomendado para <i>P. vannamei</i>	8
Tabla 3 Parámetros zootécnicos de <i>P. vannamei</i> sometidos a ciclos de alimentación/restricción con una restricción del 0, 50%, 66% y ayuno durante 18 días y realimentación a saciedad de 28 días.	30

Abreviaturas

AC	Alimento consumido
ANOVA	Análisis de varianza
CAT	Catalasa
CETMAR	Centro de Estudios Tecnológicos del Mar
CONAPESCA	Comisión nacional de acuicultura y pesca
	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la
FAO	Agricultura
FCA	Factor de conversión alimenticia
G	Gramos
GP	Ganancia en peso
GPx	Glutation peroxidasa
GR	Glutation reductasa
L	Litros
MI	Mililitros
Mm	Milímetros
MnSOD	Superóxido dismutasa dependiente de manganeso
Nm	Nanómetros
PF	Peso final
ROIs	Intermediarios reactivos de oxígeno
ROS	Especies reactivas de oxígeno
S	Supervivencia
SOD	Superóxido dismutasa dependiente de manganeso
TC	Tasa de crecimiento
TCE	Tasa de crecimiento específico
U/mg	Unidad por miligramo
µL	Microlitros
Ups	Unidades prácticas de salinidad

1. INTRODUCCIÓN

Los crustáceos se consideran uno de los grupos de producción acuícola más extendido y diverso, incluye especies marinas de gran importancia económica como langostas, cangrejos y camarones, entre otros (Eisler, 2010).

De acuerdo con la FAO en 2016, la producción acuícola mundial sumo más de 90 millones de toneladas. En el caso del camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en México, se registró aproximadamente 150,000 toneladas producidas por acuicultura para el año de 2017 (CONAPESCA, 2016).

El objetivo principal de la actividad acuícola es la producción de alimento de alto valor nutricional, la cual está en un proceso de mejora continua para aumentar la producción con una reducción de costos. El alimento balanceado representa hasta un 50% del gasto de producción, que adicionalmente puede producir exceso de nutrientes disueltos en el agua generando un impacto ambiental. El éxito de la productividad de esta especie depende de un buen manejo de las condiciones de cultivo y una adecuada nutrición (Molina y Villarreal, 2008).

En el medio natural, debido al efecto de factores espaciales y/o temporales, la disponibilidad de alimentos en el entorno puede ser escasa para los animales acuáticos y estos pueden encontrarse con periodos de desnutrición durante su desarrollo (Wu y Dong, 2001). El ayuno y la restricción de alimento son condiciones experimentadas por los organismos en circunstancias naturales a lo largo de su ciclo de vida. Sin embargo, se sabe que los animales en general tienen la capacidad de recuperar las características normales de peso corporal después de un periodo de inanición o restricción temporal, denominado como crecimiento compensatorio (Delgado-Vidal *et al.*, 2009). Entre los tipos de factores que inducen el crecimiento compensatorio destacan la privación total o parcial del alimento, cambios en la temperatura y oxígeno disuelto, además de agentes contaminantes del agua. Diferentes autores describen distintos niveles de respuesta compensatoria, la cual puede ser: total, parcial, ausencia de crecimiento (punto de no retorno) y sobrecompensación (Valverde-Moya, 2015; Stumpf *et al.*, 2009; Marques y Lombardi, 2011). La restricción de alimento puede causar cambios significativos en la fisiología de

los organismos, incluyendo la actividad enzimática digestiva y antioxidantes. Analizar los cambios en la actividad de estas enzimas, nos ayuda a entender el efecto de un estresor como la restricción de alimento sobre el crecimiento de los organismos. Así mismo, dentro de las distintas etapas del cultivo, la restricción de alimentos, cambios en la temperatura y oxígeno disuelto, pueden presentarse otras condiciones de estrés, como las enfermedades, que desfavorezcan el crecimiento de los organismos (Ahuejote, 2004; Włodarczyk *et al.*, 2019; Carrillo, 2000; Stumpf, *et al.*, 2020). Adicionalmente, puede haber un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y/o la reducción de las defensas antioxidantes resultando en daño oxidativo a macromoléculas llegando a converger en diferentes enfermedades (Halliwell y Gutteridge, 1999).

Dentro de las actuales propuestas de cultivo acuícola, la restricción alimenticia representa una potencial alternativa para la disminución de los costos por producción, y además contribuye con la actual demanda ecológica para transitar a una actividad acuícola responsable y respetuosa con el medio ambiente, reduciendo las concentraciones de nutrientes y material orgánico desechado por medio de efluentes (Stumpf *et al.*, 2020). Por lo tanto, es de gran importancia realizar estudios a nivel fisiológico, previo y durante el crecimiento compensatorio en camarones, ya que su información es escasa y esta podría ayudar a mejorar las estrategias de manejo para la producción acuícola de camarón.

2. ANTECEDENTES

2.1 Acuicultura y cultivo de camarón

En años recientes, la acuicultura ha alcanzado un papel importante como actividad económica en la producción de alimentos de alto valor nutricional para consumo humano, además de ser una fuente de materias primas de uso industrial, farmacéutico y de organismos para programas de repoblación (Rueda González, 2011).

La producción acuícola de camarón inició a finales de los años setenta, cuando investigadores franceses de Tahití, desarrollaron técnicas para la cría y reproducción intensiva de más de una especie de camarones peneidos incluyendo *P. japonicus*, *P. monodon*, *P. stylostris* y *P. vannamei* (Briggs *et al.*, 2005).

De acuerdo con lo reportado por la FAO y GOAL (*Global Outlook for Aquaculture Leadership*) en 2018, la producción mundial de camarón crece anualmente con respecto al año anterior (Fig. 1). En América Latina, la producción está encabezada por Ecuador, al tener una producción tres veces mayor que México, el cual se localiza en el segundo puesto a nivel mundial en esta región con cerca de 150,000 toneladas para el 2018 (Fig. 2).



Figura 1. Producción mundial de camarón por región. Obtenido de: <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-acuaculture-production/es> (FAO, 2019; GOAL, 2011-2019).

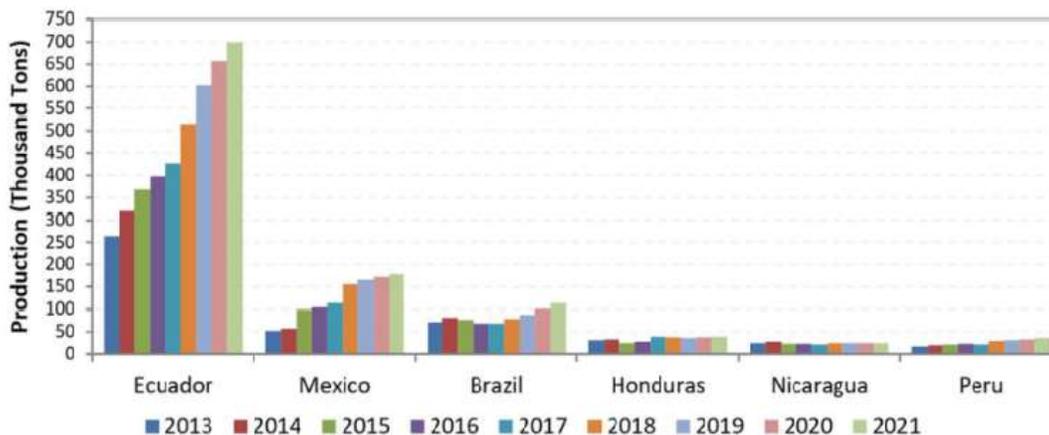


Figura 2. Producción acuícola de camarón en los principales países productores de América Latina (FAO, 2019; GOAL, 2011-2019).

En el caso de la producción de camarón blanco *Penaeus vannamei* (también llamado *Litopenaeus vannamei*) en México se iniciaron cultivos comerciales entre las décadas de los 70's y 80's (INAPESCA, 2013).

De acuerdo con la información obtenida del Anuario Estadístico de Pesca y Acuicultura, para el 2018 se produjeron aproximadamente 231,000 toneladas de camarón en México, de las cuales 159,000 provenían de la actividad acuícola y entre sus principales productores encontramos a Sinaloa, Sonora, Nayarit, Tamaulipas, Campeche y Baja California Sur (Fig 3).



Figura 3. Producción nacional anual de camarón para el 2018 adaptado de Instituto Nacional de Pesca (INAPESCA), Anuario Estadístico de Pesca y Acuicultura 2018.

2.2 Generalidades y alimentación de *Penaeus vannamei*

2.2.1 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica del camarón blanco del Pacífico *Penaeus vannamei* se organiza de la siguiente manera:

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Subphylum: Crustacea

Clase: Malacostraca

Orden: Decapoda

Suborden: Dendrobranchiata

Familia: Penaeidae

Género: *Penaeus* (*Litopenaeus*)

Especie: *vannamei*

La morfología del camarón blanco (Fig. 4) presenta un cuerpo alargado, dividido en cefalotórax que se conforma de rostro, antena, anténulas y periópodos (patas delanteras), abdomen que

consta de seis segmentos y pleópodos (patas traseras), y la cola donde se ubican el telson y los urópodos (INAPESCA, 2013).

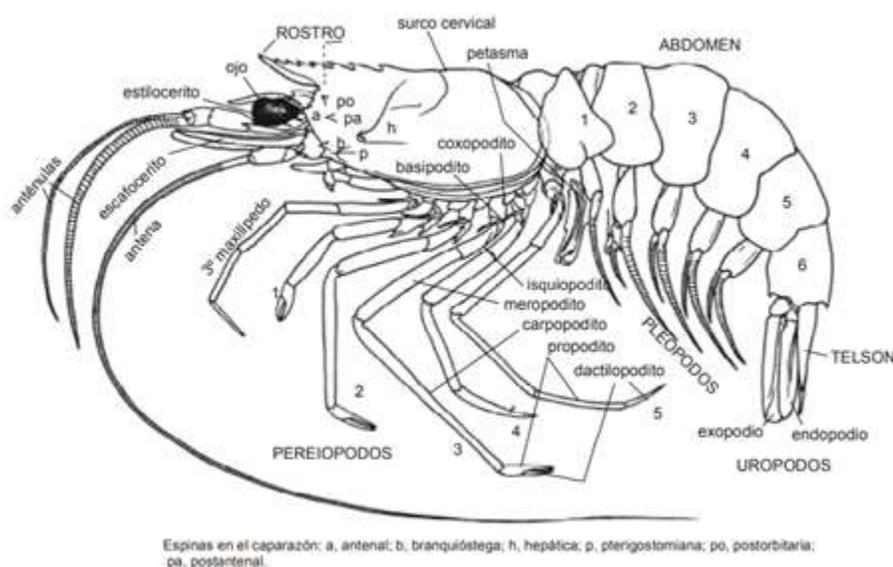


Figura 4. Morfología externa del *P. vannamei* (Hendrickx, 1996).

2.2.2 Origen de la especie

Esta especie tropical, originaria de las costas del océano Pacífico, se distribuye desde el estado de Sonora en México, hacia Centro y Sudamérica cerca de Perú. Tiene una tolerancia térmica de 20 a 35°C y resisten una salinidad de entre 2 y 40 ups. Los adultos viven y se reproducen en mar abierto, madurando a partir de los 20 y 28 g (machos y hembras respectivamente) a una edad de seis meses en promedio (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura, 2018).

2.2.3 Alimentación

En la industria camaronícola, la alimentación constituye uno de los factores de mayor importancia para el desarrollo exitoso del cultivo y pueden llegar a representar hasta un 50-70% del costo total de producción (Lara *et al.*, 2010; Martínez Córdova *et al.*, 2002; Tacon, 1989).

Se han desarrollado diferentes estrategias de manejo para mejorar la tasa de crecimiento de los camarones, como son la densidad de siembra, tipo y métodos de alimentación; categorizándose

en cuatro tipos: extensiva, semi-intensiva, intensivas y súper-intensivas (Tabla 1. Martínez-Córdova *et al.*, 2014).

Tabla 1. Clasificación general de los sistemas de cultivo en camarón (Martínez-Córdova *et al.*, 2014).

Tipo de cultivo	Tamaño del estanque	Densidad de siembra	Rendimiento productivo
Extensivo	> 100 ha	5 < org/m ²	< 50 kg ha ⁻¹
Semi-intensivo	1 – 20 ha	11 - 25 org/m ²	1,000 – 5,000 kg ha ⁻¹
Intensivo	0.1 – 2 ha	40 - 140 org/m ²	5,000 – 15,000 kg ha ⁻¹
Súper-intensivo	< 1 ha	< 200 org/m ²	80 ton ha ⁻¹

Con respecto a la alimentación del camarón, se debe suministrar una dieta que promueva un crecimiento rápido, con una composición que cubra los requerimientos nutricionales, que se verá reflejado en el incremento de la talla y de masa corporal. El contenido proteínico en la dieta, al ser el componente de más alto costo, influye de manera crítica en el precio final del alimento. Sin embargo, para garantizar un crecimiento óptimo se recomienda que el porcentaje de proteína sea entre 30 y 57% (Córdova-Murueta y García-Carreño, 2002; Colvin y Brand, 1977). Los carbohidratos se incorporan en la dieta con fines aglutinantes, y al ser un componente económico se añaden a la fórmula para reducir costos, (30-40% de inclusión). Los requerimientos de lípidos en la dieta de camarón varían del 5 al 10% (Sánchez-Paz *et al.*, 2006).

El alimento es el principal proveedor de nutrientes para el crecimiento del camarón; sin embargo, existen condiciones que deben ser monitoreadas para que este pueda cumplir su

función de forma eficaz, por ejemplo, mantener su integridad física y química antes del proceso de digestión (Carrillo *et al.*, 2000; Vázquez, 1996).

La formulación de alimentos en la industria acuícola es de gran importancia, debido a que a partir de insumos ricos en nutrientes se puede producir alimento de alta calidad para lograr mayores rendimientos en el crecimiento en un menor periodo de tiempo (CITA).

Por otro lado, el tamaño del alimento para camarón debe ser el adecuado para que el animal pueda sostenerlo, de manera que pueda desplazarse mientras come (Cruz-Suárez *et al.*, 2006). El tamaño recomendado del pellet alimenticio dependerá de la talla del camarón (Tabla 2).

Tabla 2. Tamaño del pellet recomendado para *P. vannamei* (Akiyama y Chwang, 1995)

Talla del camarón (g)	Tamaño del alimento (mm)
0-3 g	1 mm (migaja)
3-15 g	2 mm x 4 mm
15-40 g	2.5 mm x 5 mm

Molina *et al.*, (2000) reportan que una estrategia de alimentación para el mejor aprovechamiento del alimento es suministrarlo en un horario de entre las 12:00 y las 14:00 horas, debido a que los organismos presentan una mayor actividad enzimática digestiva a ese horario.

2.2.4 Parámetros de rendimiento productivo

El crecimiento es uno de los factores de mayor importancia en la acuicultura, debido a que este es un buen indicador del estado de salud de los organismos. Para conocer la eficiencia de utilización del alimento suministrado se evalúan diferentes parámetros como son: (1) la tasa de crecimiento, la cual se refiere a la evaluación del incremento de masa y corporal del organismo

en función del peso final e inicial; y (2) el factor de conversión alimenticia (FCA), que se refiere a la relación de alimento suministrado y la ganancia en peso. Este factor depende de condiciones de cultivo que incluye: densidad de siembra, calidad de agua, composición del alimento y el tamaño del camarón sembrado. Existen diferentes condiciones que pueden influenciar indirectamente el FCA, como son la mortalidad repentina en fase de cultivo, una subalimentación o si las condiciones de cultivo son compartidas con otros organismos que resulta en una competencia por el alimento (Talavera *et al.*, 1997).

Otro factor de importancia es la tasa de crecimiento específico (TCE), que se refiere al crecimiento diario del organismo, el cual es buen un indicador de la calidad de las dietas suministradas y de las condiciones de cultivo (Uribe y Figueroa, 2003). Por otro lado, el índice de supervivencia, que, en conjunto con el crecimiento, es un parámetro esencial para determinar la rentabilidad del cultivo (Rebasa, 2005).

2.3 Crecimiento compensatorio

El crecimiento compensatorio es la capacidad de los organismos de recuperar el peso corporal después de un periodo de interrupción o restricción temporal de alimento y cuando las condiciones de alimentación son restablecidas. A este periodo se le conoce como recuperación, y está relacionado con el aumento en la tasa de crecimiento, particularmente en peso (Maciel *et al.*, 2018).

El crecimiento compensatorio se puede clasificar en tres tipos dependiendo de la respuesta de los organismos en cultivo (Fig.5): 1) crecimiento compensatorio total, donde los organismos alcanzan la misma talla que aquellos mantenidos en condiciones óptimas sin periodos de estrés; 2) crecimiento compensatorio parcial, presentan una tasa de crecimiento rápida y mejores relaciones del FCA durante el periodo de recuperación, pero no alcanzan el peso de los organismos en condiciones óptimas; y 3) ausencia de crecimiento o punto de no retorno, donde no aumenta la tasa de crecimiento en la etapa de recuperación (Prates *et al.*, 2020).

Diversos autores manejan también el término de sobrecompensación, el cual establece que los organismos que han experimentado condiciones de restricción alimenticia alcanzan un peso

mayor que el control en condiciones óptimas (Suárez *et al.*, 2003; Stumpf *et al.*, 2009; Ali *et al.*, 2003; Delgado-Vidal *et al.*, 2009).

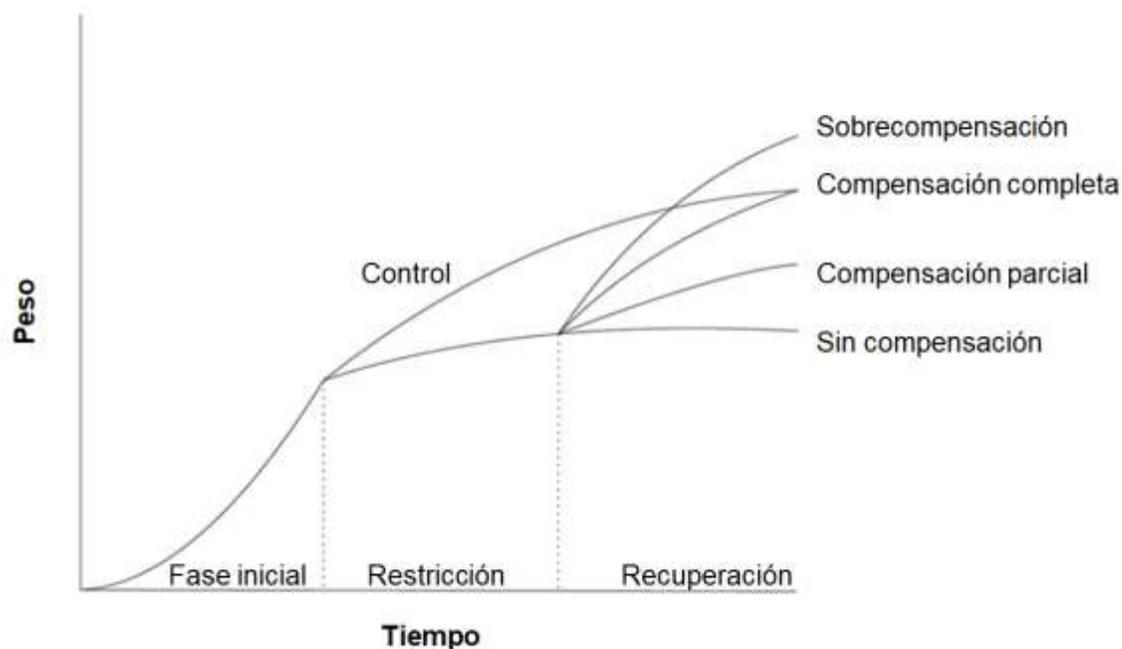


Figura 5. Clasificación del crecimiento compensatorio por restricción alimenticia. Adaptado de Ali *et al.* (2003).

Durante una baja disponibilidad de alimentos, los tejidos metabólicamente activos como el hígado y el tracto digestivo recurren a disminuir su tamaño, por consecuencia de la poca energía y proteína disponible. Estos cambios llevan a los organismos a reducir sus requerimientos de mantenimiento y de esta manera, aumentar sus probabilidades de supervivencia durante periodos críticos o de restricción nutricional. Una vez que las proteínas del hígado y del tracto digestivo queden reestablecidas, permite que exista una mayor cantidad de energía y proteína para ser utilizada para cubrir futuros requerimientos de crecimiento (Ryan *et al.*, 1993).

Existen varias condiciones que pueden afectar la recuperación del peso de un animal durante y después de un periodo de restricción alimenticia. Estos factores pueden ser: 1) Naturaleza de la restricción; 2) Severidad de la restricción; 3) Duración del periodo de restricción; 4) Estado del

desarrollo al comienzo de la limitación; 5) Tipo de realimentación y 6) Especie o velocidad relativa para alcanzar la madurez (Verde, 1974). Además, diversos estudios concuerdan en que las altas densidades de cultivo pueden tener un efecto negativo en el crecimiento de los organismos (Fóes, 2016; Delgado-Vidal *et al.*, 2009).

En el caso de crustáceos, Wu *et al.*, (2001) demostraron que después de un periodo de restricción alimenticia, el camarón blanco oriental *Fenneroenaes chinensis* muestra un crecimiento compensatorio notable cuando regresa a una fuente de alimento estable. En este trabajo se realizó un bioensayo con tres tratamientos de restricción alimenticia durante diez días, suministrando la dieta al 4, 8 y 12% con respecto a la biomasa del camarón, mientras que el control se alimentó con el 16%. Al finalizar la etapa de restricción alimenticia, los organismos fueron alimentados a saciedad durante 30 días más, después de este periodo de recuperación, no se observaron diferencias significativas en la talla del tratamiento control en comparación con el grupo alimentado al 12%. Así mismo, en otro experimento con la misma especie, Wu y Dong (2001), evaluaron el efecto de ciclos de días de ayuno y realimentación (1:4, 2:8, 4:16 y 8:32), encontrando un aumento en las tasas de crecimiento en los periodos de realimentación, sin embargo, al término del periodo experimental no hubo un crecimiento compensatorio completo respecto al control por ninguno de los tratamientos experimentales.

Comoglio *et al.*, (2004) mencionan que, en periodos de inanición y realimentación, los camarones pueden soportar y adaptarse a condiciones de privación de alimento y sobrevivir, equilibrando sus condiciones fisiológicas, es decir, adaptándose y manteniendo una homeostasis. Sin embargo, dependiendo de las condiciones previas al experimento, es posible que algunos individuos no logren adaptarse a los cambios en la alimentación resultando en mortalidad de los organismos.

Stumpf *et al.*, (2020) buscaron inducir el crecimiento compensatorio en el camarón de agua dulce *Macrobrachium borelli*, evaluando el efecto que tienen ciclos de restricción-recuperación sobre la supervivencia, crecimiento y estado nutricional de esta especie. Establecieron un grupo control de alimentación diaria durante 152 días de experimentación y un tratamiento con régimen de alimentación cíclico que consistió en 4 días de ayuno, seguido de 4 días de

realimentación durante los primeros 28 días del experimento, y posteriormente un periodo de recuperación que consistía en alimentación continua por 48 días (día 29 al 76). Los mismos juveniles fueron sometidos a otro ciclo de restricción (día 77 al 104), recuperación (día 105 al 152). En sus resultados, destacaron que la especie mostró un ligero crecimiento durante el primer periodo de restricción-recuperación, sin embargo, no se observó un crecimiento compensatorio. Los autores sugieren que esto es debido a la elevada densidad (48 individuos en 12 L de agua dulce) que no permitió una respuesta hiperfágica en los camarones.

2.4 Actividad enzimática digestiva

La nutrición de especies acuícolas involucra procesos químicos y fisiológicos que aportan al animal de nutrientes para que este pueda desempeñar sus funciones de mantenimiento, crecimiento y reproducción. Una alternativa para mejorar las actividades acuícolas en granjas de producción, es desarrollar técnicas que determinen las capacidades digestivas en los animales de cultivo, permitiendo de esta manera abordar diferentes problemáticas nutricionales (Balbuena-Rivarola, 2011; FAO, 2011). De forma que, a partir de la evaluación del comportamiento de la actividad enzimática digestiva, se puede dilucidar entre diferentes métodos para la crianza o cultivo de especies acuícolas.

Factores como la digestibilidad, y la absorción de nutrientes son elementos claves en el metabolismo de los organismos en cultivo, debido a que es posible determinar el uso y la disponibilidad de los nutrientes necesarios para cumplir las necesidades biológicas que se requieran. Estas funciones son posibles gracias a la actividad de las enzimas digestivas secretadas en el hepatopáncreas, el cual también es un órgano de almacenamiento de nutrientes en crustáceos decápodos (Chuang *et al.*, 1991). En el hepatopáncreas suceden múltiples funciones digestivas, ahí se secretan diversas enzimas para la digestión del alimento desarrollando un papel importante en las reacciones químicas que suceden dentro del organismo, permitiendo así, identificar patrones alimenticios en los animales de estudio (Álvarez-González, 2003).

Las enzimas digestivas se clasifican en tres grandes grupos: Proteasas, las cuales indican catabolismo proteico, rompiendo o hidrolizando las uniones peptídicas, creando así fragmentos

más pequeños e hidrosolubles (oligopéptidos y raramente aminoácidos). Las lipasas son enzimas lipolíticas que catalizan la hidrólisis de los triglicéridos, liberando los ácidos grasos y glicerol, principalmente como fuente de energía. Carbohidrasas son enzimas glucolíticas, que cumplen con la función de hidrolizar los enlaces glucosídicos de las cadenas de los polisacáridos de las sustancias amiláceas, fragmentándolas en oligosacáridos, disacáridos y monosacáridos (Rodríguez *et al.*, 1994).

Investigaciones en años recientes, han revelado que la privación de alimento afecta a las especies acuícolas, de manera que obliga los organismos a ajustar la actividad de enzimas digestivas (Dai *et al.*, 2018). Las variaciones de cada enzima digestiva durante la privación de alimentos pueden señalar transiciones en la utilización del sustrato que los organismos acuícolas utilizan para proporcionar energía, mientras intentan prolongar la supervivencia y el crecimiento. Por lo tanto, el comportamiento de la actividad enzimática digestiva puede indicar que reservas de nutrientes y energía son conservadas y/o metabolizadas durante procesos de escasez alimenticia (Johntson *et al.*, 2004). Por ejemplo, ciertos peces como el bacalao del atlántico (*Gadus morhua*), utiliza primero las reservas de lípidos hepáticos como principal fuente de energía en periodos de escasez alimenticia, seguido del glucógeno muscular y hepático, y finalmente la proteína muscular (Guderley *et al.*, 2003).

Por ello, las enzimas digestivas se emplean como indicadores de los procesos de absorción, degradación del alimento y del estado nutricional de los organismos. Diversos estudios han concluido que dependiendo del estadio de la especie acuícola se debe suministrar el tipo de alimento, debido a que cada etapa de crecimiento está relacionada con cambios morfológicos, bioquímicos, fisiológicos, y de comportamiento (Genodepa *et al.*, 2018). Stumpf *et al.*, (2016) estudiaron el comportamiento de las principales enzimas digestivas en la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*, durante periodos de restricción alimenticia cíclicos, con el fin de inducir un crecimiento compensatorio. Ellos concluyen que durante la etapa de crecimiento acelerado la actividad de las proteasas incrementó, sugiriendo que estas condiciones pueden estar relacionadas con una mayor capacidad de digestión de proteínas durante periodos de escasez alimenticia. Por otra parte, no hubo diferencias significativas en las actividades de amilasa y lipasa durante los periodos de restricción y recuperación con respecto al tratamiento

con alimentación continua. En otro estudio con la misma especie de langosta, Stumpf *et al.*, (2014) evaluaron en la *C. quadricarinatus* el uso de dos dietas con diferente inclusión de proteína (49% y 38%), con dos regímenes de alimentación cada uno: un control que fue alimentado a saciedad diariamente durante 120 días, y otro con alimentación ciclada, cuatro días de alimentación y cuatro de ayuno durante los primeros 44 días del experimento, y posteriormente fueron alimentados a saciedad del día 45 al 120. El porcentaje de alimento para los tratamientos fue del 4 % de su biomasa suministrado del día 1 al 75 y el resto del experimento alimentaron al 2% con respecto a la biomasa de los organismos. Los juveniles con restricción alimenticia mostraron un crecimiento compensatorio y alcanzaron la misma talla que el grupo control al finalizar el experimento. No se observaron efectos negativos en el estado nutricional y de salud de la langosta, lo que reafirman que es posible disminuir la cantidad de alimento suministrada al ser tolerantes a una privación controlada del mismo. Los resultados de la actividad enzimática mostraron que la proteasa fue similar entre ambas dietas al día 45, pero fue mayor en la alimentación cíclica con respecto al control para el día 120. La actividad amilasa fue mayor en la dieta control con respecto a los otros tratamientos. Por otro lado, no hubo diferencias significativas entre los grupos para la lipasa a los 45 y 120 días.

2.5 Estrés oxidativo y actividad enzimática antioxidante

Dentro de los procesos de producción acuícola, pueden surgir periodos de estrés generados por la captura y manipulación de los organismos, además de variabilidad en las condiciones de cultivo como temperatura, oxígeno disuelto, restricción alimenticia, entre otras, resultando en alteraciones fisiológicas en los organismos. Unos de los mayores cambios fisiológicos observados durante estos episodios, es el estrés oxidativo, el cual se refiere a una alteración entre el equilibrio de especies reactivas de oxígeno (ROS) y de enzimas antioxidantes, las cuales son una vía esencial para mantener la homeostasis y contrarrestar la formación descontrolada de estas moléculas reactivas (Ahuejote, 2004; Parrilla, 2011).

En las sustancias químicas los electrones se desplazan de forma pareada (en pares) alrededor del núcleo atómico. Cuando los electrones realizan su recorrido orbital en los átomos, ocupan sitios llamados orbitales, y cada uno puede llegar a almacenar hasta dos electrones. Basándose

en esto, un radical libre es una molécula que contiene electrones desapareados, es decir un electrón que se encuentra solo en su orbital (Venereo-Gutiérrez, 2002).

Las ROS son radicales libres y/o derivados de oxígeno que se generan continuamente como productos del metabolismo oxidativo en condiciones fisiológicas como, por ejemplo, durante la respiración celular, donde el O_2 funciona como receptor terminal de electrones, degradando compuestos orgánicos mediante oxidación. Cuando existe un desbalance entre ROS y las defensas antioxidantes, se produce una gama de cambios fisiológicos y bioquímicos que pueden provocar el deterioro celular (Halliwell y Gutteridge, 1999; Venereo-Gutiérrez, 2002). Para contrarrestar el efecto de estas especies reactivas, existen moléculas antioxidantes, las cuales limitan la actividad y la producción de ROS para mantener el sistema bajo control (Carvajal, 2019).

2.5.1 Especies reactivas de oxígeno

Dentro de las principales especies reactivas de oxígeno destacan el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^\cdot), entre otros, además cabe destacar que no todas las especies reactivas de oxígeno son radicales libres, pero si todos los radicales libres son especies reactivas de oxígeno (Halliwell y Gutteridge, 1999).

2.5.1.1 Radical anión superóxido (O_2^-)

Esta especie reactiva es formada cuando una molécula de oxígeno está presencia de la cantidad de energía lo suficientemente apta para que adquiera un electrón suplementario. Existen dos formas del aumento en la producción del O_2^- , por reacciones de autooxidación, y por transferencia no enzimática de electrones, de manera que esta especie es producida por un gran número de enzimas (Martínez-Sánchez, 2005).

2.5.1.2 Radical hidroxilo (OH^\cdot)

Se trata de la especie más reactiva localizada en sistemas biológicos. Tiene la capacidad de reaccionar con casi todas las moléculas biológicas, por ejemplo, en el caso de los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) que componen los fosfolípidos que forman parte de la estructura de las membranas son susceptibles a sufrir daño oxidativo celular. Principalmente el OH^\cdot puede afectar

los átomos de hidrógeno de un ácido graso, produciendo lo que se conoce como peroxidación lipídica (Martínez-Sánchez, 2005).

2.5.1.3 Peróxido de hidrógeno (H₂O₂)

Producido *in vivo*, por medio de la dismutación del radical superóxido, el H₂O₂ es poco reactivo a bajas concentraciones, sin embargo, cuando la concentración de este radical aumenta, puede interactuar con los sistemas de generación de energía de las células e inactivarlas; por ejemplo, la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (Martínez-Sánchez, 2005).

2.5.2 Antioxidantes

Un antioxidante es aquella molécula que mantiene a las ROS y nitrógeno dentro de los niveles normales permitiendo la compatibilidad con la función celular normal. Los antioxidantes tienen el objetivo principal de prevenir o retrasar la oxidación de un sustrato biológico, y en algunos casos revertir el daño oxidativo en las biomoléculas afectadas. Estos mecanismos antioxidantes pueden ser enzimáticos y no enzimáticos (Zamora, 2007). El mecanismo de acción de los sistemas antioxidantes puede ser por medio de un contacto directo con especies reactivas, es decir, la capacidad que tiene el antioxidante como estabilizador de especies reactivas. Existe un mecanismo llamado “single electrón transfer” (SET), el cual permite que el radical libre pierda su reactividad por medio de la compensación del electrón faltante en el orbital desapareado, a través de la cesión de un electrón proveniente de la molécula antioxidante (Halliwell y Gutteridge, 1999).

Existen antioxidantes no enzimáticos y enzimáticos. En el caso de los no enzimáticos, se incluyen moléculas como las vitaminas E y C, la bilirrubina, la biliverdina, el ácido úrico, el glutatión y los flavonoides (Carvajal, 2019). Por otro lado, los antioxidantes enzimáticos forman parte del sistema inmune de los organismos, los cuales sintetizan enzimas cuya función es remover especies reactivas de oxígeno. Dentro de las principales enzimas antioxidantes podemos encontrar a la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) (Martínez-Sánchez, 2005). Las defensas antioxidantes enzimáticas trabajan juntas para proteger a las células contra las especies reactivas de oxígeno (Fig. 6).

En el caso particular de la CAT, es una oxirreductasa depuradora, la cual se encuentra principalmente en los peroxisomas. Esta enzima cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno, el cual es un producto de la actividad enzimática de SOD, para formar agua y oxígeno molecular. Una unidad de actividad de CAT se define como la cantidad de enzima que se necesita para reducir 1 μM de H_2O_2 por minuto (Halliwell y Gutteridge, 1999; Parrilla, 2011; Aebi, 1984).

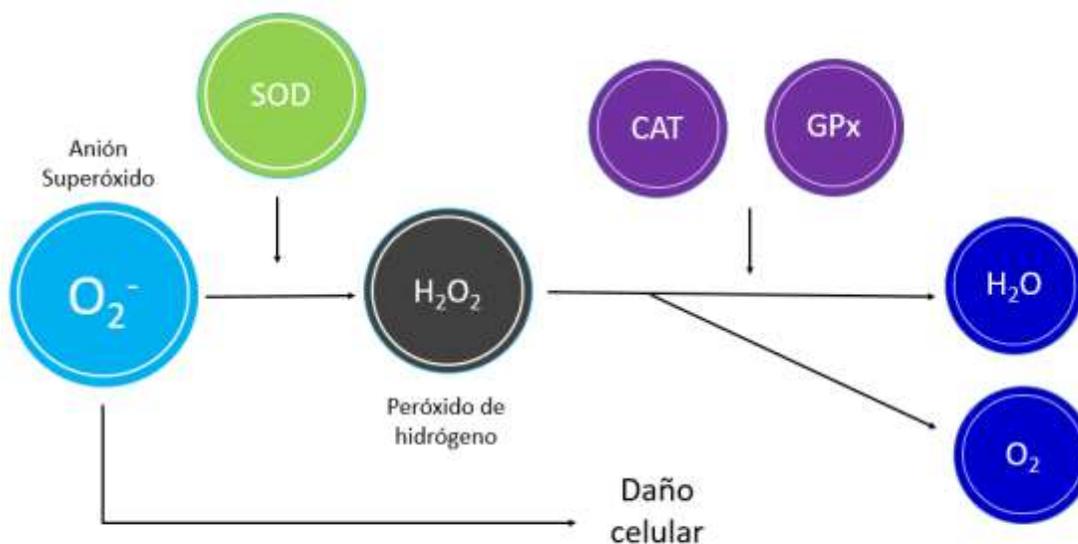


Figura 6. Dismutación del radical superóxido a peróxido de hidrógeno y a su vez este, a agua y oxígeno molecular. Adaptado de Corrales y Muñoz (2012).

2.5.3 Estrés oxidativo generado por restricción de alimentos

En la naturaleza, los organismos como crustáceos pueden estar expuestos a condiciones en las que la falta periódica de alimentos sea un factor de estrés, y como respuesta, han desarrollado mecanismos que ayudan a sobrevivir a estas alteraciones (Włodarczyk *et al.*, 2019). Las alternativas de cultivo constituidas por periodos de inanición alimenticia tienen efectos prooxidantes y en algunos casos puede reducir los niveles de respuesta antioxidante, dado que la síntesis de proteínas se ve reducida y repercute en la disminución de los niveles de enzimas antioxidantes implicados en la neutralización de las especies reactivas de oxígeno (Ahuejote, 2004). Sin embargo, el estrés generado y la producción de enzimas antioxidantes causado por restricción de alimentos ha sido escasamente estudiado en camarones peneidos.

Wlodarczyk *et al.*, (2019) demostraron que periodos prolongados de restricción alimenticia aumentan la concentración de radicales libres y la concentración de MnSOD en el intestino y el hepatopáncreas en el camarón de agua dulce *Neocaridina davidi* (cherry shrimp), mientras que la realimentación disminuye dichas concentraciones. Sin embargo, después de 14 días de inanición alimenticia la concentración de ROS aumentó 13.2% y 12.7% en hepatopáncreas e intestino respectivamente.

Sacristán *et al.*, (2016) evaluaron el efecto de la inanición alimenticia a largo plazo y la alimentación posterior sobre el estrés oxidativo en juveniles de *C. quadricarinatus*. Se evaluaron dos tratamientos. un grupo control fue alimentado diariamente durante 80 días y el segundo grupo fue puesto en inanición durante 50 días; a continuación, a la mitad de los organismos de este último grupo se le restableció la alimentación diaria mientras a la otra parte continua con la restricción durante el resto del experimento. En intestino medio se observaron niveles reducidos de glutatión (GSH), niveles de peroxidación lipídica (TBARS) y oxidación de proteínas (PO), así como la actividad de catalasa, sin encontrar diferencias significativas entre los tratamientos. Concluyendo que los periodos prolongados de inanición, no inducen cambios en la actividad enzimática de CAT, consecuencia de una baja producción de ROS.

Por otra parte, D' Agaro *et al.*, en 2014, evaluaron el efecto de la privación de alimento en algunas propiedades de la hemolinfa en la langosta americana *Homarus americanus*. Las langostas se mantuvieron sin comida durante cuatro semanas, se realizaron análisis de glucosa, proteínas totales y recuento total de hemocitos (THC). Al término de las dos primeras semanas de restricción alimenticia, presentaron niveles de glucosa y proteína más altos que al inicio del experimento, sin embargo, estos valores disminuyeron al cumplimiento de las cuatro semanas de inanición. Los autores sugieren que este patrón parece indicar una situación de estrés temporal para los organismos, mostrando la movilización de la glucosa, así como la proteína total. Así mismo, la mejora en las concentraciones de glucosa en la tercer y cuarta semana podría indicar una menor carga orgánica debido a que las langostas no son capaces de agotar las reservas de glucógeno.

Matozzo (2011) realizó un estudio con el cangrejo *Carcinus aestuarii* evaluando el efecto del hambre en parámetros inmunes y actividades antioxidantes. Sometieron a los organismos a siete días de ayuno y establecieron un grupo control con alimentación diaria a base de mejillones. Evaluaron las actividades de SOD y CAT en branquias y glándula digestiva para determinar si el periodo de ayuno inducía estrés oxidativo. La inanición no repercutió en la actividad de las enzimas antioxidantes tanto en branquias como en las glándulas digestivas. Los resultados que obtuvieron demostraron que el hambre no induce estrés oxidativo en *C. aestuarii*; sin embargo, puede modular sus parámetros celulares y bioquímicos como respuesta de defensa a la inanición.

Li *et al.*, en 2009, aplicaron diferentes periodos de ayuno (0, 2, 4 y 8 días) en camarón nipón o camarón de agua dulce (*Macrobrachium nipponense*), evaluaron índices inmunológicos como intermediarios reactivos de oxígeno (ROIs), y actividad de SOD y CAT durante un periodo de 18 días. Los resultados mostraron un crecimiento compensatorio indicado principalmente por un aumento en la tasa de crecimiento específico (TCE), después de la realimentación. El peso final de los tratamientos de 2 y 4 días no difería de los del grupo control, para en el caso del tratamiento de 8 días de restricción, se observó un valor significativamente menor; sin embargo, fue el tratamiento que presentó la TCE más alta. La actividad de SOD y CAT aumentó en los primeros cuatro días, para posteriormente disminuir, lo que indicó que los camarones mejoraron su capacidad inmune para protegerse en el período inicial de ayuno. Sin embargo, durante la privación prolongada de alimento, SOD y CAT disminuyeron bruscamente a lo largo de la extensión del período de ayuno, con un aumento gradual después de la realimentación a niveles similares al grupo control. No hubo diferencias significativas en ROIs y actividad de SOD y CAT al final del experimento. Este estudio sugiere que el camarón de agua dulce (*M. nipponense*) tiene la capacidad de alcanzar un crecimiento compensatorio y una recuperación del sistema antioxidante luego de un periodo de realimentación posterior al ayuno.

3. JUSTIFICACIÓN

El camarón blanco del Pacífico (*Penaeus vannamei*) es una de las especies con mayor demanda y valor económico en el mercado. Entender los cambios de la actividad de enzimas digestivas durante el crecimiento compensatorio de esta especie, nos permitirá obtener un mayor conocimiento sobre la utilización de nutrientes durante este proceso. Por otro lado, es importante conocer si durante la restricción del alimento, la actividad de enzimas antioxidantes se ve afectada, como indicadores del estado de salud de los organismos.

4. HIPÓTESIS

Si al restablecer las condiciones óptimas de alimentación después de un periodo cíclico de restricción se puede inducir una respuesta de crecimiento compensatorio, entonces se espera que, durante este proceso, se incremente la actividad de enzimas digestivas que favorezcan el aprovechamiento de los nutrientes, así como un aumento en la actividad enzimática antioxidante, producto de una mayor actividad metabólica en el camarón blanco *Penaeus vannamei*.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar los cambios en la actividad enzimática digestiva y antioxidante durante el crecimiento compensatorio del camarón blanco *Penaeus vannamei*.

5.2 Objetivos particulares

- Evaluar el rendimiento productivo del camarón blanco *Penaeus vannamei* durante periodos de restricción alimenticia.
- Determinar la actividad enzimática digestiva (tripsina, quimotripsina, lipasa y amilasa) durante del crecimiento compensatorio en el camarón blanco *Penaeus vannamei*.
- Evaluar la actividad de la enzima antioxidante Catalasa durante el crecimiento compensatorio en el camarón blanco *Penaeus vannamei*.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Evaluación del rendimiento productivo

Para evaluar la capacidad de crecimiento compensatorio en el camarón, se realizó un bioensayo de 48 días con juveniles de *P. vannamei* procedentes de la empresa Larvas Gran Mar S.A. de C.V., La Paz B.C.S. Se emplearon organismos con un peso promedio inicial de 0.27 ± 0.01 g, aclimatados en el laboratorio de nutrición acuícola del CIBNOR.

Se evaluaron cuatro tratamientos: un grupo control con alimentación a saciedad durante 46 días, y 3 tratamientos cíclicos, T2:4 (2 días de alimentación a saciedad y 4 días de restricción del 50% respecto al control), T3:3 (3 días de alimentación a saciedad y 3 días de restricción del 66% respecto al control) y T4:2 (4 días de alimentación a saciedad y 2 días de ayuno). Cada tratamiento de restricción/realimentación fue diseñado para cumplir 3 ciclos (un total de 18 días) con un periodo de recuperación de 28 días (Fig. 7).

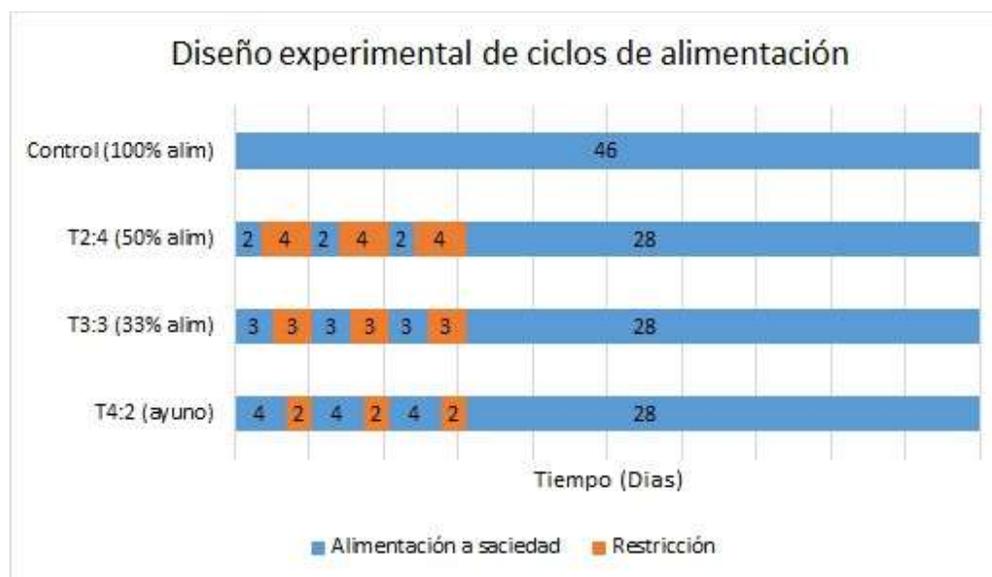


Figura 7. Diseño experimental del bioensayo de restricción alimenticia en *P. vannamei*.

El alimento suministrado a todos los tratamientos consistió de una inclusión del 22.8% de harina de pescado, pasta de soya (33%), harina de trigo (35.5%), lecitina de soya (0.4%), aceite de pescado (0.3%), alginato de sodio (0.1%), una premezcla de vitaminas y minerales (0.05%), vitamina C (0.01%) y cloruro de colina (0.01%) (Tabla 3).

Tabla 3 . Formulación del alimento experimental (g kg⁻¹)

Ingredientes	Inclusión (gr)
Harina de pescado ^a	228
Pasta de soya ^b	330
Harina de trigo ^c	355
Lecitina de soya ^d	40
Aceite de pescado ^a	30
Alginato de sodio ^e	10
Premezcla Vit-Min ^f	5
Vitamina C ^g	1
Cloruro de colina ^e	1

^a Proteínas Marinas y Agropecuarias SA de CV, Jalisco, México Promotora industrial acuasistemas SA de CV (PIASA), Baja California Sur, México. ^c Molino San Cristóbal, Sonora, México. ^d CEDROSA SA de CV, Estado de México, México. ^e Sigma Aldrich, Missouri, Estados Unidos de América. ^f Premezcla de vitaminas y minerales: Vit. A, 4000 IU/g; B1, 24,000 mg/kg; B2, 16,000 mg/kg; DL Ca pantotenate, 30,000 mg/kg; B6, 30,000 mg/kg; B12, 80 mg/kg; K3, 16,000 mg/kg; D3, 3200 IU/g; E, 60,000 mg/kg; H, 400 mg/kg; niacin 20,000 mg/kg; folic acid, 4000 mg/kg ; Co 2000 mg/kg; Mn, 16,000 mg/kg; Zn, 40,000 mg/kg; Cu 20,000 mg/kg; Fe, 1 mg/kg; Se, 100 mg/kg; I 2000 mg/kg. Sigma Aldrich, Missouri, Estados Unidos de América. ^g Prilabsa, Guayaquil, Ecuador. ^j Rovimix Stay C 35%, DSM, Heerlen, NL.

Se evaluaron 5 réplicas por tratamiento. Cada replica consistió en 12 juveniles de camarón en un acuario de 50L con agua marina (37 ups), temperatura controlada de 28 °C ± 0.5, aireación continua, recambio del 50% de agua diariamente y fotoperiodo de 12 horas luz/12 horas oscuridad. Se realizaron disecciones de hepatopáncreas a los 18, 32 y 46 días para el análisis enzimático. Semanalmente y al término del periodo experimental se determinaron los siguientes parámetros:

Ganancia en peso (GP): rendimiento en gramos por camarón (Álvarez, 2003).

$$GP = pf - pi \quad (1)$$

Dónde: pf = peso final del camarón y pi = peso inicial del camarón.

Tasa de crecimiento (TC%): incremento porcentual del peso (Flores, 2006).

$$(TC\%) = \frac{pf - pi}{pi} \times 100 \quad (2)$$

Dónde: pf = peso final del camarón y pi = peso inicial del camarón.

Tasa de crecimiento específico (TCE % día): crecimiento promedio del organismo por día (Luna, 2013).

$$TCE (\%) \text{ día} = \frac{100x(\ln pf - \ln pi)}{t} \quad (3)$$

Dónde: pf = peso final del camarón, pi = peso inicial del camarón y t = tiempo (duración en días).

Factor de conversión alimenticia (FCA): Relación de alimento suministrado y ganancia en peso (Álvarez *et al.*, 2003; Flores, 2006).

$$FCA = \frac{Ac(g)}{Ip(g)} \quad (4)$$

Dónde Ac = Alimento consumido y Ip = incremento en peso.

Supervivencia (S): porcentaje de camarones vivos (Álvarez *et al.*, 2003; Flores, 2006).

$$S = \frac{Nf}{Ni} \times 100 \quad (5)$$

Dónde Nf = Número final de camarones y Ni = Número inicial de camarones.

Alimento consumido (AC): expresado en g/camarón/día (Flores-Leyva, 2006).

$$AC = \frac{\text{Alimento consumido}}{Ni + Nf \div x \text{ tiempo (días)}} \quad (6)$$

Dónde: Ni = Número inicial de camarones y Nf = Número final de camarones.

Los datos obtenidos se distribuyeron de manera normal y se analizaron por medio de una prueba de análisis de varianza de una vía ($\alpha=0.05$) mediante el uso del programa SPSSv17.0. Se determinó las diferencias entre los tratamientos con ayuda de una prueba de comparaciones múltiples de medias de Tukey con un nivel de confianza del 95%.

6.2 Determinación de actividad enzimática

6.2.1 Preparación del extracto enzimático

El procesamiento de las muestras se realizó 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. Se pesaron tres muestras de tejido por tratamiento y fueron homogenizados individualmente 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).

6.2.2 Cuantificación de la actividad enzimática digestiva y antioxidante

6.2.2.1 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 las enzimas restantes, se utilizaron diferentes sustratos fluorogénicos. Para tripsina se usó Boc-Gln-Ala-Arg-7 amino-4 Metilcoumarina hidrocloreto (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).

En el caso de quimotripsina, se utilizó el sustrato N-succinil-Ala-Ala-Fen-7-amido-4-metilcoumarina (A3401, Sigma-Aldrich®; Buchs, Suiza) al 0.8 mmol L⁻¹ en DMSO. Para ambas enzimas se realizaron lecturas cada 30 segundos durante 30 minutos a una longitud de emisión de 460 y excitación de 355 nm (Gilannejad *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 Gilannejad *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 quimotripsina; y Gilannejad *et al.*, (2020) para lipasa.

6.2.2.2 Actividad enzimática antioxidante Catalasa

Para la determinación de CAT, se utilizó el Kit Cayman Tecnología (núm. catalogo 707002), basado en la reacción de la enzima con metanol en presencia de peróxido de hidrogeno y a una absorbancia de 240 nm.

Para calcular la actividad CAT, una unidad fue definida como la cantidad de enzima que formará 1.0 nmol del formaldehído por minuto a 25° C. La concentración de formaldehído de las muestras se obtuvo de la regresión lineal de una curva estándar previamente realizada y sustituyendo los valores de absorbancia correctos para cada muestra. La actividad catalasa fue medida de acuerdo al protocolo del proveedor con la siguiente fórmula:

$$CAT \text{ Activity (nmol/min/ml)} = \frac{\mu M \text{ de la muestra}}{20 \text{ min}} \times \text{Dilución de la muestra} \quad (7)$$

Cada muestra se llevó a cabo por triplicado y todo el proceso fue realizado cuidadosamente sobre una cama de hielo para asegurar su viabilidad.

Los resultados obtenidos del análisis enzimático se analizaron estadísticamente por medio de pruebas de análisis de varianza de una vía (anova $\alpha=0.05$) utilizando el programa SPSS v17.0 con el fin de determinar diferencias significativas entre tratamientos. Por medio del análisis Tukey, se determinó cuales tratamientos presentaron diferencias significativas con un nivel de confianza del 95%.

7. RESULTADOS

7.1 Evaluación del rendimiento productivo de *P. vannamei* sometido a periodos cíclicos de restricción alimenticia.

En la figura 8 se presenta el crecimiento de los camarones durante 46 días bajo los diferentes regímenes alimenticios. Del día 13 al 24, los resultados del tratamiento control, mostraron diferencias significativas en relación a los otros tratamientos, registrando un peso mayor. Sin embargo, a partir del día 32 al 46, los tratamientos T2:4 y T3:3 no mostraron diferencias significativas respecto al grupo control ($p > 0.05$). Por otro lado, el tratamiento T4:2, el cual se aplicó ayuno, no alcanzó al peso final de los camarones control ($p < 0.05$). Al término del periodo experimental, los camarones del grupo control presentaron el mayor peso (3.76 g), seguido del tratamiento T2:4 (3.67 g) y el T3:3 (3.64 g), y por último y significativamente menor al resto, el tratamiento T4:2 (3.48 g) ($p < 0.05$).

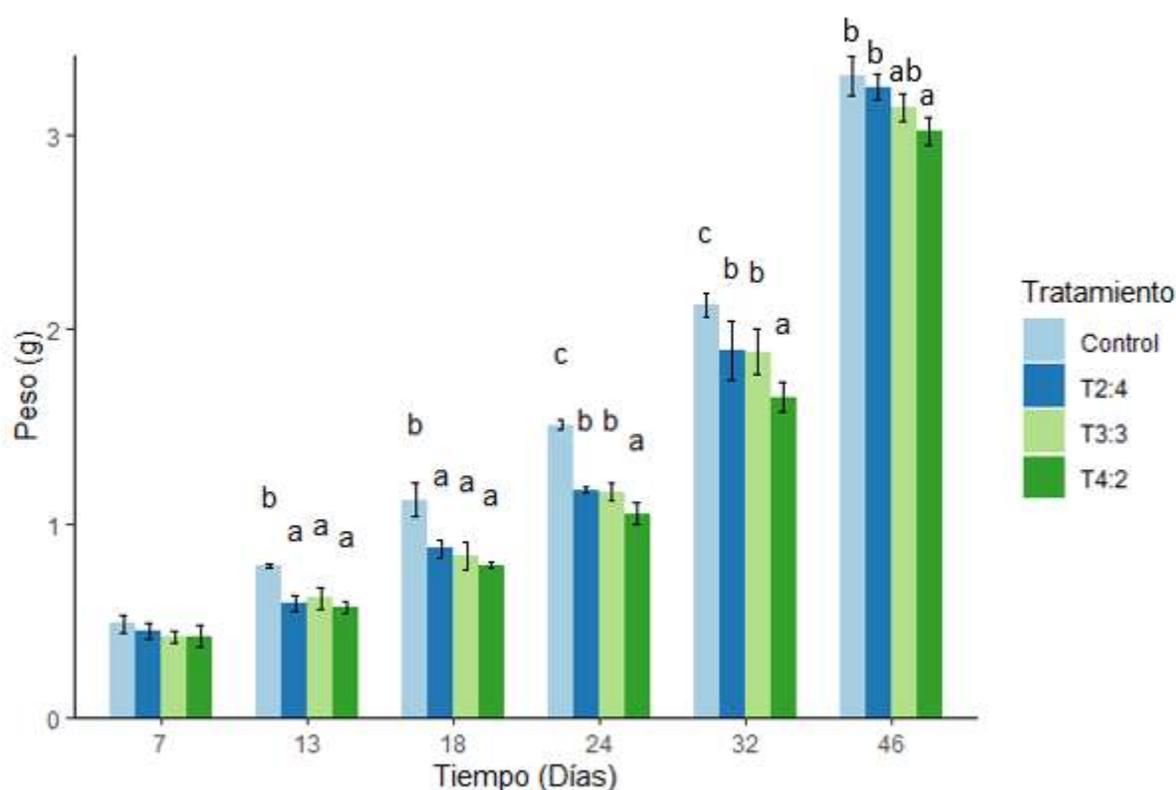


Figura 8. Pesos promedios registrados en los días 0, 7, 13, 18, 24, 32, y 46 de *P. vannamei* sometidos a diferentes regímenes de alimentación de los tratamientos T2, T3, T4, y control ($p < 0.05$, $n=4$)

En la tabla 4 se presentan los parámetros zootécnicos de los camarones al final de los 46 días de experimentación. Sobre la tasa de crecimiento específico el grupo control no presentó diferencias significativas con respecto a los tratamientos T2:4 y T3:3 ($p>0.05$), siendo solo el tratamiento T4:2 el que presentó el menor valor de TCE. La ganancia en peso del grupo control, no presentó diferencias significativas con el tratamiento T2:4 (2.997g) y el T3:3 (2.869g), sin embargo, comparándose con el T4:2, se observaron diferencias significativas al presentar la menor ganancia en peso (2.751g). El consumo de alimento al final del bioensayo, nos muestra que el tratamiento control fue el que tuvo un mayor consumo de alimento (4.03 g), seguido del tratamiento T2:4 y T3:3 con 3.59 y 3.57 g respectivamente, y por último el tratamiento T4:2 con 3.56 g. La supervivencia de *P. vannamei* no se vio significativamente afectada por los ciclos de alimentación y recuperación, siendo el tratamiento T4:2 mayor que en los otros tratamientos presentando una tasa de supervivencia del 100%, seguido de T2:4 con 97%, y por último T3:3 y el grupo control con 95% de supervivencia.

Tabla 4. Parámetros zootécnicos de *P. vannamei* sometidos a ciclos de alimentación/restricción con una restricción del 0, 50%, 66% y ayuno durante 18 días y realimentación a saciedad de 28 días.

Tratamiento	Peso Final (g)	Ganancia en peso (g)	TCE (% día ⁻¹)	Supervivencia (%)	Alimento consumido
Control	3.31±0.1 ^a	3.03±0.1 ^a	5.56±0.01 ^a	95±6	4.03±0.01 ^a
T2:4	3.25±.06 ^a	2.98±0.06 ^a	5.52±0.01 ^a	95±6	3.60±0.01 ^b
T3:3	3.14±0.06 ^a b	2.87±0.06 ^{ab}	5.45±0.02 ^{ab}	97.5±5	3.60±0.01 ^{bc}
T4:2	3.02±0.07 ^b	2.75±0.07 ^b	5.36±0.01 ^b	100±0	3.56±0.02 ^c
Valor p	<0.003	<0.002	<0.002	0.772	<0.001

Los valores promedio de cada parámetro zootécnico \pm desviación estándar (n=4). Las letras diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis Tukey realizado. PF, poner el significado de abreviación.

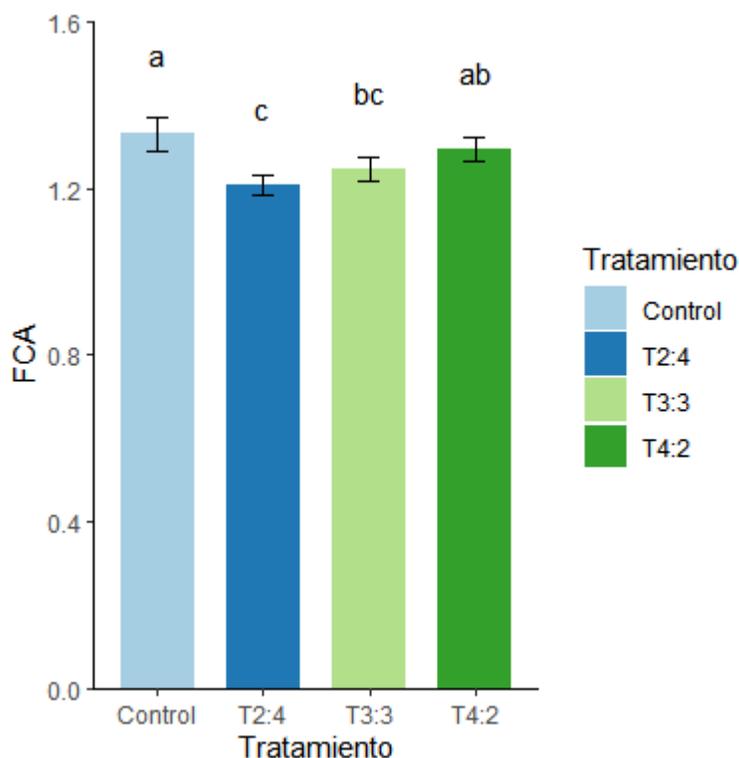


Figura 9. Factor de conversión alimenticia total de *P. vannamei* después de 46 días de bioensayo ($p < 0.05$, n=4). Las letras diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis de Tukey.

Al final del experimento, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, donde el grupo control presentó el FCA mayor (1.33g \pm 0.04), seguido de T4:2 con un FCA de 1.29 \pm 0.02 y T3:3 con 1.25 \pm 0.03, y por último T2:4 con un FCA de 1.21 \pm 0.02 (Fig. 9), presentando la tasa de conversión alimenticia más baja, es decir que requirió una menor cantidad de alimento para crecer un gramo de masa.

Para el día 32 del experimento (14 días después de finalizar los ciclos de alimentación), la tasa de crecimiento específico (Fig. 10), mostró un incremento en los tratamientos bajo restricción con respecto al control. El tratamiento T2:4 presentó la mayor TCE (6.10% día⁻¹), seguido del T4:2 (5.90% día⁻¹), T3:3 (5.68% día⁻¹), y por último el grupo control con 4.27% día⁻¹.

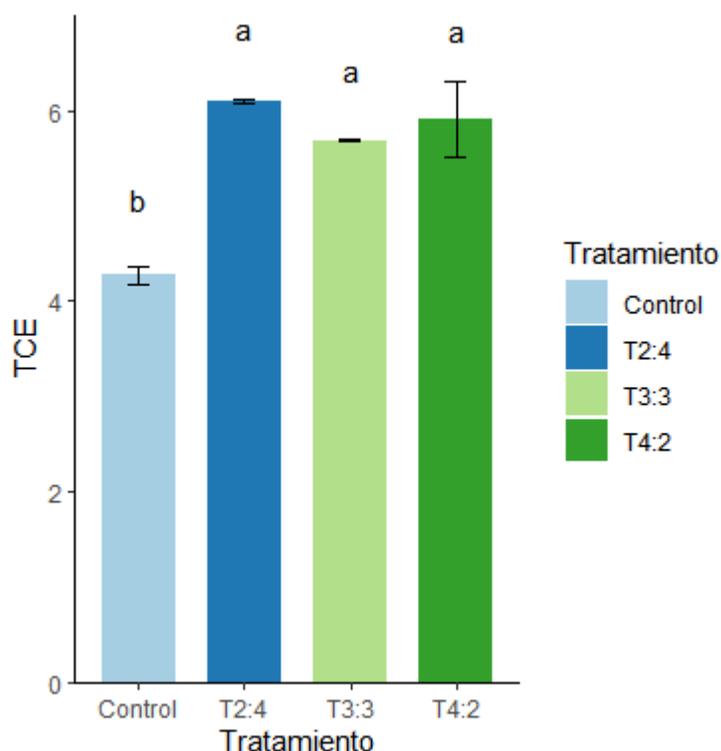


Figura 10. Tasa de crecimiento específico en *P. vannamei* entre el día 28 y 35 de experimentación, 14 días después del término de los ciclos de alimentación/restricción ($p < 0.05$, $n=4$). Las letras diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis de Tukey ($\alpha=0.05$).

7.2 Determinación de actividad enzimática digestiva

7.2.1 Actividad enzimática específica tripsina

En la actividad de tripsina (Fig. 11) se puede observar un aumento para los días 18 y 32 en los camarones de todos los tratamientos que pasaron por restricción de alimento respecto al control. Durante el crecimiento compensatorio (día 32), el tratamiento T2:4 presentó una actividad tripsina significativamente mayor respecto al grupo control. Para el final del experimento (día 46) la actividad disminuyó en los tratamientos bajo restricción, sin presentar diferencias significativas respecto al control.

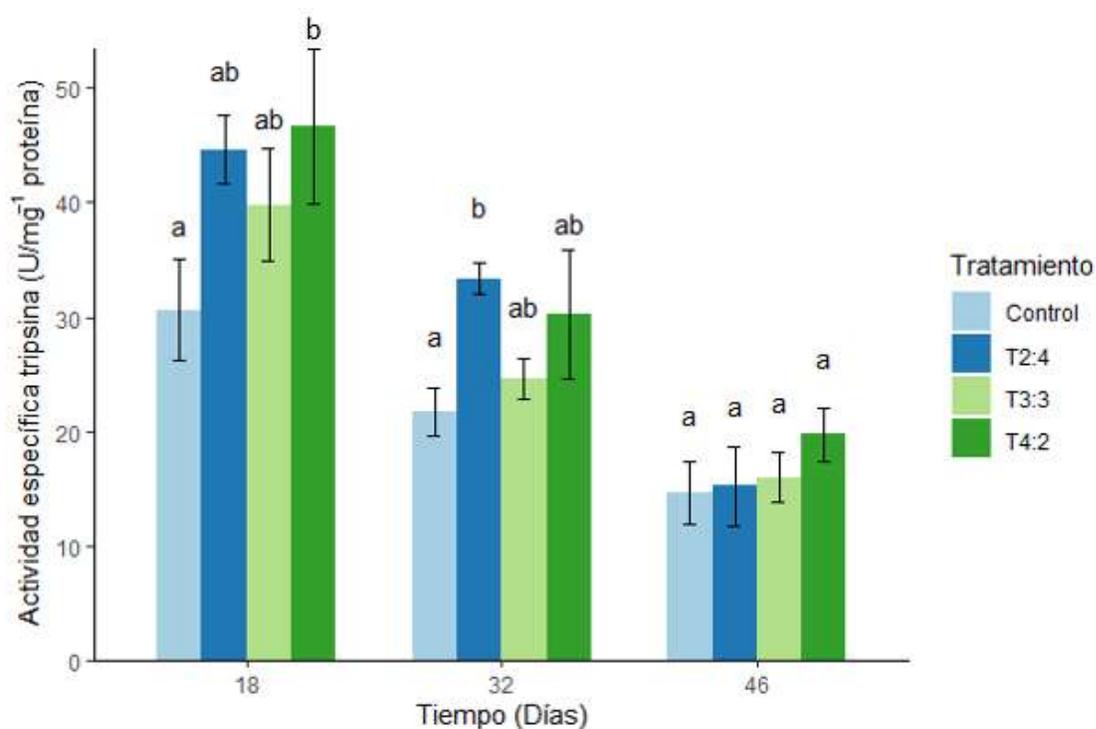


Figura 11. Actividad enzimática específica tripsina (U mg^{-1} proteína) en los camarones bajo diferentes regímenes alimenticios a los días 18, 32 y 46 del bioensayo. Las letras diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis de Tukey ($\alpha=0.05$).

7.2.2 Actividad enzimática específica quimotripsina

La actividad de quimotripsina en los camarones para los días 18 y 46 no muestra diferencias significativas respecto al control, pero en el día 32 se puede observar un aumento de dicha actividad para el tratamiento T4:2 durante el crecimiento compensatorio (Fig. 12). Al término del experimento, la actividad de quimotripsina no mostró diferencias significativas entre los tratamientos.

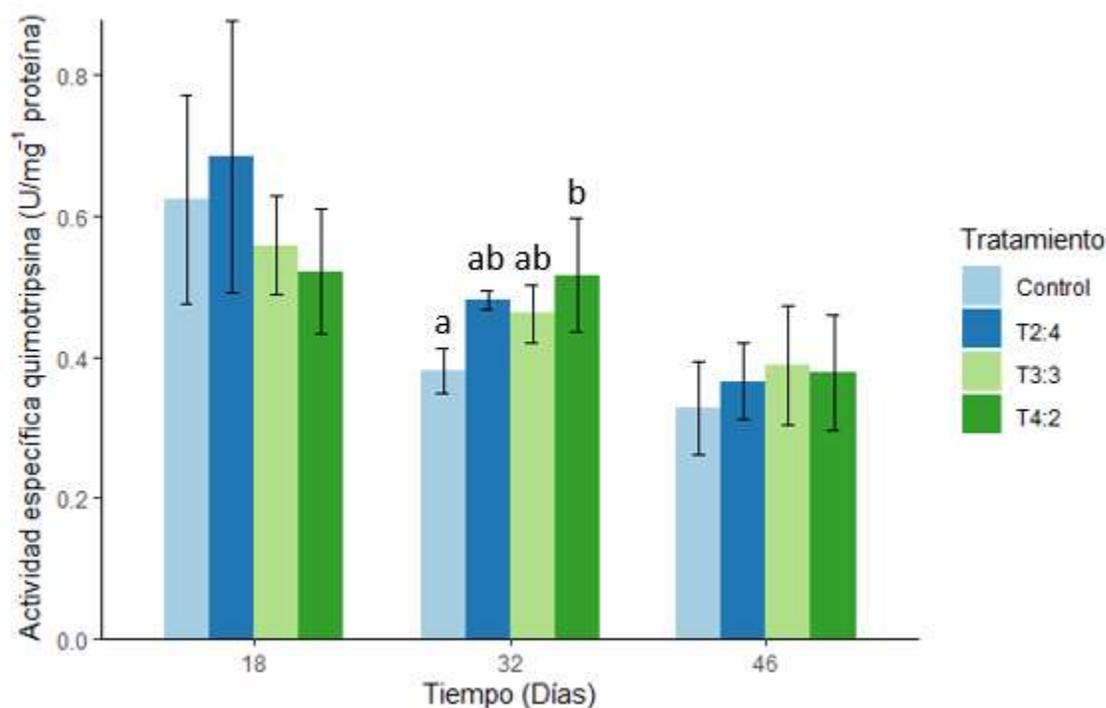


Figura 12. Actividad enzimática específica quimotripsina ($U\ mg^{-1}$ proteína) en los camarones bajo diferentes regímenes alimenticios a los días 18, 32 y 46 del bioensayo. Las letras diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos conforme al análisis de Tukey ($\alpha=0.05$).

7.2.3 Actividad enzimática específica lipasa

En la figura 13, se muestra la actividad específica lipasa de los camarones a los días 18, 32 y 46 de bioensayo. A finalizar los periodos cíclicos de restricción alimenticia, se puede observar como el tratamiento T4:2 tiene una mayor actividad de lipasa en comparación con el control y solo es diferente estadísticamente del tratamiento T3:3. Sin embargo, durante el periodo de crecimiento compensatorio, el tratamiento T3:3 tiene una mayor actividad lipasa, presentando diferencias significativas en comparación a los otros grupos. La actividad de lipasa disminuye al final del experimento, sin diferencias significativas entre tratamientos.

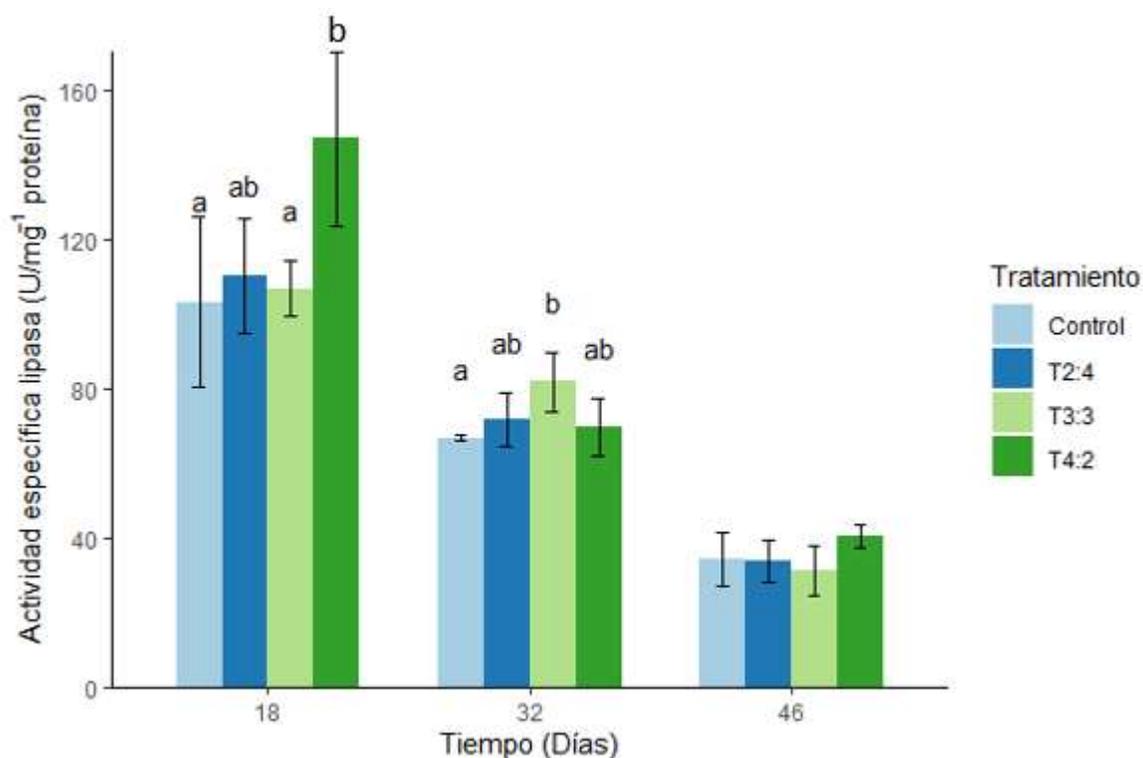


Figura 13. Actividad enzimática específica lipasa ($U\ mg^{-1}\ proteína$) en los camarones bajo diferentes regímenes alimenticios a los días 18, 32 y 46 del bioensayo. Las letras diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis de Tukey ($\alpha=0.05$).

7.2.4 Actividad enzimática específica amilasa

Al término de los ciclos de restricción (día 18), se observa una mayor actividad específica de amilasa en el tratamiento T3:3 ($P<0.05$) respecto a los grupos restantes (Fig. 14). Durante el periodo de crecimiento acelerado (día 32), el tratamiento T2:4 presentó una actividad amilasa significativamente mayor que los tratamientos T3:3 y T4:2; sin embargo, no significativamente diferente del grupo control. Para el día 46 del experimento, se observa una reducción significativa para los tratamientos con restricción alimenticia, siendo el control, el que presenta mayor actividad.

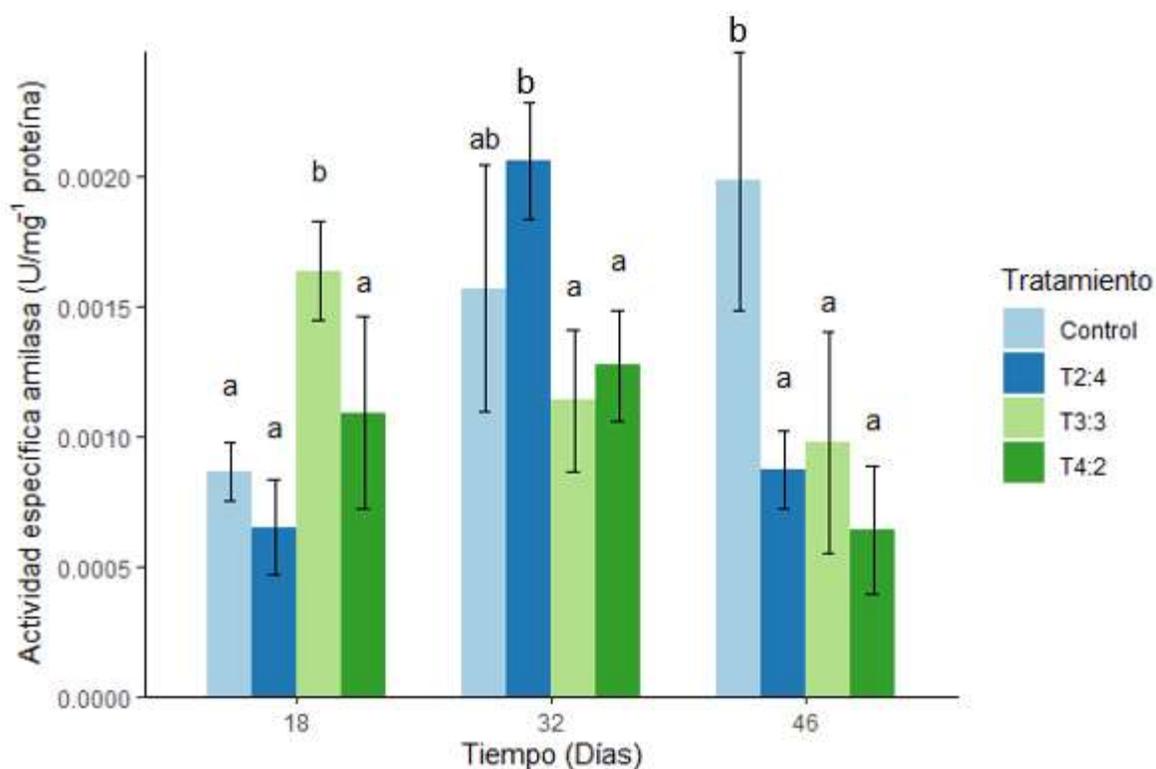


Figura 14. Actividad enzimática específica amilasa ($U\ mg^{-1}\ proteína$) en los camarones bajo diferentes regímenes alimenticios a los días 18, 32 y 46 del bioensayo. Las letras diferentes señalan diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis de Tukey ($\alpha=0.05$).

7.2.5 Actividad enzimática específica catalasa

Una vez finalizados los ciclos de restricción en el día 18, el tratamiento T3:3 presentó una mayor actividad de catalasa respecto al resto de los tratamientos ($p<0.05$) (Fig. 15). Para el día 32 del experimento, la actividad de catalasa mostró un incremento para todos los tratamientos, encontrándose diferencias significativas entre ellos, donde el tratamiento T2:4 (2 días de alimentación a saciedad y 4 días de restricción al 50%) presentaron valores significativamente mayores al control. Al final del experimento, la actividad catalasa se incrementó en los tratamientos T2:4 y T3:3 con respecto al tratamiento control y el T4:2 ($p<0.05$).

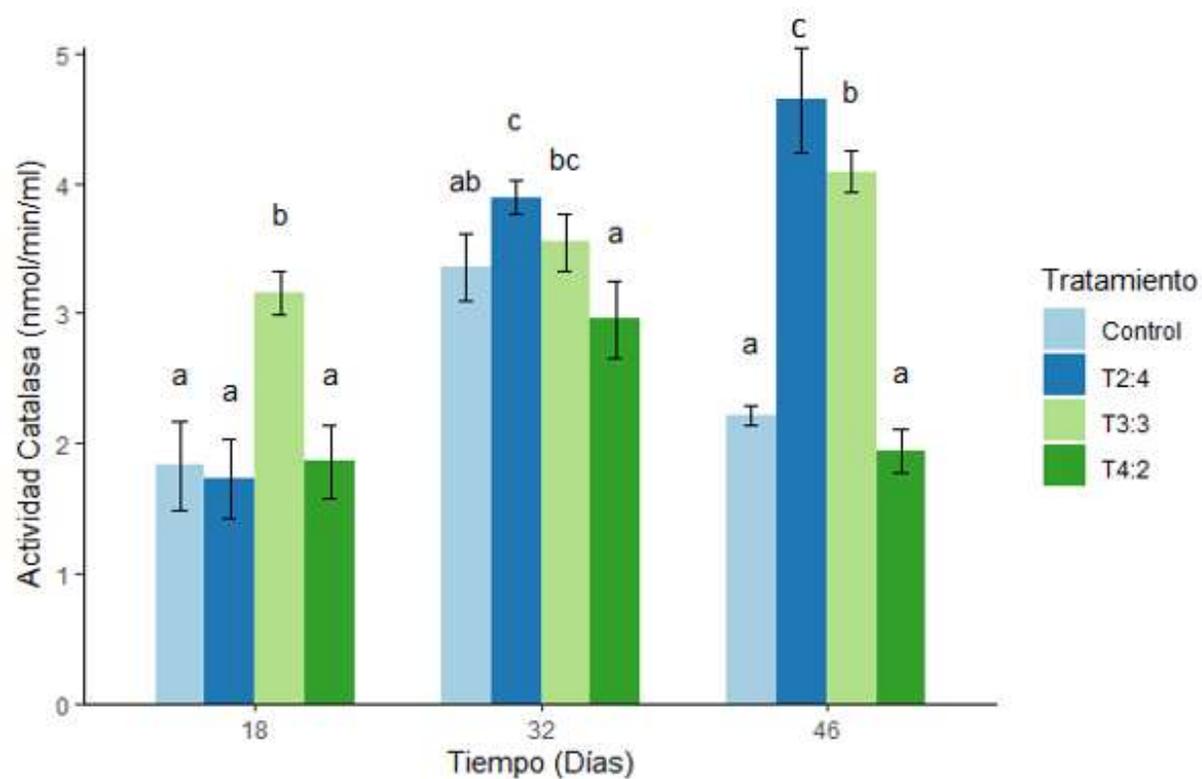


Figura 15. Actividad enzimática catalasa (nmol/min/ml) en los camarones bajo diferentes regímenes alimenticios a los días 18, 32 y 46 del bioensayo. Las letras distintas señalan diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con el análisis de Tukey ($\alpha=0.05$).

8. DISCUSIÓN

8.1 Evaluación del rendimiento productivo

En el presente estudio, la reducción del 50 y 66% de la alimentación durante periodos cíclicos, no presentó un efecto negativo en el crecimiento de los camarones al final del periodo de experimentación, resultando en un crecimiento compensatorio completo. Esto concuerda con varios estudios donde reportan periodos de crecimiento acelerado después de restricciones alimenticias (Wu y Dong 2001; Rocha *et al.*, 2019). A partir del periodo de recuperación en el día 24, se incrementó significativamente la tasa de crecimiento hasta alcanzar el peso promedio final sin diferencias significativas con respecto al control en los tratamientos T2:4 y T3:3. Esto sugiere que la restricción de alimento es una alternativa viable para la reducción de costos de producción por alimentación. Estos resultados coinciden con lo descrito por Wu y Dong (2001), donde observaron un crecimiento compensatorio completo en el camarón chino *Fenneropenaeus Chinensis*, que fueron sometidos a un periodo de 6 días de ayuno y 30 días de realimentación, donde los organismos no presentaron diferencias significativas en relación al peso final.

Por otro lado, se ha descrito que los organismos sometidos a restricción temporal de alimento, alcanzan pesos similares a los animales en condiciones óptimas dependiendo de la severidad y la duración de dichas restricciones. Rahman *et al.*, (2019) reportan que en *M. rosenbergii* sometidos a periodos cíclicos de 4 días de alimentación a saciedad y 3 días de ayuno y ciclos de 5 días de alimentación a saciedad y 2 días de ayuno (alimentación intermitente), durante 14 semanas, inducen un crecimiento compensatorio parcial, al mostrar un crecimiento acelerado, pero al final del experimento obtuvieron pesos finales menores que los langostinos control. Esto concuerda con lo encontrado en este estudio donde el tratamiento T4:2 el cual fue sometido a periodos cíclicos de 4 días de alimentación a saciedad y 2 de ayuno, resultó en un crecimiento compensatorio parcial, al presentar una tasa de crecimiento acelerado durante la etapa de recuperación consecutiva; sin embargo, no alcanzó un peso promedio final similar al control.

La restricción alimenticia en periodos cíclicos generó una reducción de hasta el 12% del alimento respecto al grupo control. Es importante recalcar que las condiciones experimentales establecidas no incorporaron fuentes nutricionales adicionales al alimento balanceado, por lo

que en condiciones de cultivo en estanquerías permitiría un ahorro mayor por el aporte de alimento natural. Lo anterior, concuerda con lo reportado por Maciel y *et al.*, (2018) donde establecen que estrategias de restricción alimenticia inducen la respuesta de crecimiento compensatorio en camarones y permite un ahorro de hasta el 25% del alimento utilizado para la producción de camarón. Así mismo, Stumpf *et al.*, (2014) reportaron la capacidad de crecimiento compensatorio total y sobrecompensación en langosta de agua dulce (*C. quadricarinatus*), donde a partir de una alimentación cíclica (4 días de ayuno y 4 días de realimentación) durante 45 días y un periodo de recuperación de 75 días, se redujo el costo por alimentación hasta un 35%.

A partir del día 9 de recuperación del experimento, los organismos de los tratamientos con restricción alimenticia, registraron una TCE más alta con respecto al control, presentando un crecimiento acelerado respecto al control, de manera que pudieran alcanzar pesos similares a los organismos alimentados a *ad libitum* durante el periodo de recuperación. Esto coincide con el estudio reportado por Rahman *et al.*, (2019), donde *M. rosenbergii* bajo ciclos de alimentación a saciedad (4 y 5 días) y ayuno (3 y 5 días) durante 14 semanas, presentaron una TCE mayor que los organismos control. En cambio, Zhu *et al.*, (2014) observaron que en *P. vannamei* alimentados con 1, 2 y 3 días de ayuno seguido de realimentación de 3, 5 y 9 días respectivamente, no registraron diferencias significativas en cuanto a la TCE con respecto al control. Cabe destacar que otros autores indican que la TCE más acelerada ocurre en un periodo más corto de recuperación como Cota-Quintero (2020) en *P. vannamei* y Wu y Dong (2002) en el camarón chino *Fenneropenaeus Chinensis*, donde presentan una TCE mayor después de 7 días de recuperación.

Adicionalmente, el factor de conversión alimenticia (FCA), es un elemento que mide la eficiencia de la productividad de un organismo en cultivo, y se define como la relación entre el alimento consumido con la ganancia en peso (Santos, 2020). En este estudio, se observó que el FCA del grupo control tuvo valores más altos que los tratamientos de restricción alimenticia. Esto concuerda con diversos estudios con *P. vannamei*, donde los grupos que no son alimentados a saciedad tienen valores de FCA más bajos, es decir, los tratamientos con restricción alimenticia requirieron una menor cantidad de alimento para tener un crecimiento final similar o inclusive

superior a los controles, indicando un uso más eficiente del alimento suministrado (Rahaman *et al.*, 2019; Comoglio, 2004; Goldsmit y Amin, 2008; Morán-Castro y Ordinola-Zapata, 2021, Zhu *et al.*, 2014).

En el presente estudio, la supervivencia de los camarones de los diferentes tratamientos fue igual o mayor al 95%, sin observar diferencias significativas entre los mismos. Este resultado concuerda con diferentes estudios de esta especie sometida a reducciones de alimentación donde la tasa de supervivencia supera a más del 95% (Córdova y Cienfuegos 2012; Morán-Castro y Ordinola-Zapata, 2021). Sin embargo, trabajos con diferentes especies de camarones, langostinos y langostas, reportan tasas de mortalidad de hasta el 30% en tratamientos con periodos de restricción alimenticia o bien ayuno (Luo, *et al.*, 2021; Rahman *et al.*, 2019; Moahnty y Moahprata, *et al.*, 2016; Stumpf *et al.*, 2014). Así mismo la supervivencia está en función de factores como la duración y la severidad de la restricción de alimento, Comoglio *et al.*, (2004) reportan que en *P. vannamei* sometidos a periodos de ayuno de 12 a 15 días reduce significativamente su supervivencia hasta un 60%.

8.2 Determinación de actividad enzimática digestiva

8.2.1 Actividad enzimática específica tripsina y quimotripsina

Al término de los periodos de restricción alimenticia (18 días) se puede observar como los tratamientos restringidos tienen un aumento en actividad tripsina respecto al control, en específico, observando diferencias significativas en el tratamiento T3:3 con respecto al grupo control. Resultados similares fueron reportados por Charron *et al.*, (2014), donde observan que en el anfípodo de agua dulce (*Gammarus Fossarum*) expuestos a tres diferentes ciclos de restricción de alimento 0:7, 2:7, 1:7 (días de ayuno:días alimentación a saciedad) durante 23 días, no presentaron diferencias significativas a los días 15 y 23 del experimento, sin embargo, la tripsina para el día 15 mostró una mayor actividad enzimática con respecto al control. Por otra parte, Stumpf y *et al.*, (2014) encontraron en *Q. quadracarinatus* presenta una mayor actividad de proteasa al final del bioensayo de ciclos de 4 días de alimentación a saciedad y 4 días de ayuno durante 45 días, seguido de realimentación a saciedad desde el día 45 al 120, en

comparación con un control que fue alimentado a saciedad durante 120 días, lo que refleja una mayor capacidad para digerir proteínas luego de ciclos de estrés alimenticio.

Para la quimotripsina, se observó un aumento en su actividad en los tratamientos 14 días después del periodo de restricción, es decir durante el crecimiento compensatorio. Otros estudios realizados con diferentes frecuencias de alimentación diaria, han demostrado que la actividad digestiva de tripsina y quimotripsina aumenta en función del crecimiento de los camarones (Peixoto *et al.*, 2017). Sin embargo, los resultados obtenidos nos revelan que la actividad de estas enzimas disminuye paulatinamente conforme avanzan los días de recuperación, mientras la capacidad de crecimiento compensatorio está activa en los camarones. Estos resultados difieren con lo reportado por Comoglio *et al.*, (2004), donde evaluaron diversos periodos de ayuno (0, 3, 6, 9, 12 y 15 días) en la misma especie de camarón y encontraron que la actividad de tripsina aumenta en función del ayuno, no obstante, la actividad de quimotripsina también aumenta a medida que transcurren los días de ayuno, pero al día 15 disminuye, de forma similar a lo reportado en este estudio.

Por otra parte, se ha reportado que, durante periodos de crecimiento acelerado derivados de estrés alimenticio, sugieren el uso de proteínas como fuente de energía para compensar las necesidades energéticas, debido al aumento en el metabolismo proteico con la misma especie de camarón (Cota-Quintero, 2020).

8.2.2 Actividad enzimática específica lipasa

Después de 18 días de restricción alimenticia, la actividad de lipasa mostró un incremento en el tratamiento T4:2 respecto al control, mientras que durante el periodo de crecimiento compensatorio todos tratamientos en recuperación presentaron un actividad mayor que el control, siendo significativamente mayor en el tratamiento T3:3. Estos resultados difieren de lo observado en el estudio de Stumpf *et al.*, (2014), donde no encontraron diferencias significativas entre los tratamientos al término de la restricción o durante la etapa de recuperación. En otro estudio con el cangrejo de río (*Procambarus clarkii*), Lou *et al.*, (2021), obtuvieron como resultado un incremento de la actividad lipasa al día 50 después de 8 y 16 días de ayuno, resaltando que, durante periodos de estrés alimenticio, la actividad lipolítica en esta

especie de camarón es más baja, recuperándose a medida que la alimentación es reestablecida. Resultados similares fueron observados por Calvo *et al.*, (2013) en *C. quadricarinatus*, donde juveniles sometidos a ayuno durante 40 días, seguidos de realimentación *ad libitum* por 50 días, mostraron baja actividad lipasa durante el periodo de ayuno, incrementándose durante el periodo de recuperación. Sin embargo, otros estudios sugieren la utilización de lípidos como principal fuente de energía en periodos de ayuno (Rivera-Perez, Navarrete del Toro, García-Carreño, 2010). Esta información es corroborada por lo observado en este estudio, donde la actividad de lipasa es más alta durante el inicio de los ciclos de restricción alimenticia disminuyendo paulatinamente a medida que avanza el tiempo transcurrido durante el periodo de recuperación, donde los camarones fueron realimentados a saciedad.

8.2.3 Actividad enzimática específica amilasa

Los carbohidratos representan una fuente barata de energía; sin embargo, en el caso del camarón su utilización como fuente de energía puede variar dependiendo de su estado fisiológico. Respecto a la actividad específica de amilasa, se observó un incremento significativo en el tratamiento T3:3 respecto al control al termino de los ciclos de restricción, sin observar diferencias significativas durante el crecimiento compensatorio. Al termino del experimento se observó una disminución significativa de la actividad amilasa de los tratamientos con restricción, respecto al control. Diversos estudios plantean que la restricción de alimento puede llevar cambios en la actividad de las diferentes enzimas digestivas (Cuzon, 1980; Muhlia-Almazán *et al.*, 2002). En este estudio se reporta que la actividad enzimática específica de amilasa durante la recta final del experimento disminuye para los tratamientos que fueron previamente restringidos en su alimentación en comparación con los camarones en condiciones normales de alimentación. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Zhang *et al.*, (2010) donde evaluaron el efecto de diferentes periodos de privación de alimento, seguidos de alimentación a saciedad en *Fenneropenaeus chinensis*, y encontraron que la actividad amilasa disminuye después de un periodo de recuperación en los tratamientos con restricción. Ellos mencionan que la pronta actividad amilasa durante periodos de privación de alimento puede tener un efecto ahorrador de proteínas, consumiendo primordialmente los carbohidratos disponibles. Por otra parte, Rocha *et al.*, (2019) reportan que el aumento de la actividad de amilasa durante

periodos de recuperación, mejora la capacidad de digestión de carbohidratos disponibles en la dieta para *P. vannamei*.

8.2.4 Actividad enzimática catalasa

Durante condiciones de estrés alimenticio, los organismos pueden reducir la actividad antioxidante, como consecuencia de una menor síntesis de proteínas, como lo observado en este estudio, donde se encuentra que los animales sometidos a ciclos de restricción alimenticia y realimentación, presentan una actividad de catalasa menor; sin embargo, esta actividad incrementa significativamente a medida que se reestablece la alimentación en el tratamiento sometido a una restricción del 50 (T2:4) para el día 32, mientras que para el día 46 también se incrementa para el tratamiento con restricción del 66% (T3:3) respecto al control. Por otra parte, Sacristán *et al.*, demuestran en un experimento con langosta de agua dulce (*C. quadricarinatus*) (2016) donde inducen una inanición alimenticia a largo plazo en dos protocolos (ayuno continuo durante 80 días, y ayuno durante los primeros 50 días y posterior realimentación durante 30 días) y un control con alimentación continua durante 80 días. Ellos reportan que la inanición alimenticia al inicio, durante y al final del experimento no presentan diferencias significativas en cuanto a la actividad de catalasa; en contra parte, se observa que los valores más altos son reportados en los organismos realimentados respecto con el control y los restringidos durante 80 días. En este mismo sentido, Li *et al.*, (2009) reportan que el camarón de agua dulce (*M. nipponense*) sometidos a protocolos de diferentes periodos de ayuno (0, 2, 4, y 8 días) la actividad enzimática de la catalasa no presenta diferencias significativas. Estos mismos autores mencionan que la actividad de catalasa y superóxido dismutasa incrementan y disminuyen conforme el tiempo, lo que puede ser un indicador de la capacidad del camarón de agua dulce de adaptarse a las condiciones estresantes provocadas por la nula disponibilidad de alimento para protegerse de posible daño a biomoléculas a causa de las especies reactivas de oxígeno. Por otro lado, Luo *et al.*, (2002) estudiaron el efecto que tiene la privación de alimento en el cangrejo de río (*P. clarkii*), encontrando que la actividad de catalasa incrementa para diferentes regímenes de alimentación 0, 2, 4, 8 y 16 días de ayuno, seguidos de realimentación a saciedad hasta el día 75 del experimento y resaltan que los cangrejos sometidos a periodos de ayuno incrementan la actividad de catalasa a medida que se restaura la alimentación, y desciende paulatinamente conforme avanza a una alimentación

continua. En el presente trabajo, es posible que la duración del periodo de recuperación no fue lo suficiente mente largo para observar una disminución en la actividad de catalasa en los tratamientos T2:4 y T3:3. Para el caso del tratamiento con restricción con ayuno, no se observa este incremento en la actividad catalasa, posiblemente por la menor tasa de crecimiento presentada, la cual derivaría en un menor estrés oxidativo resultado de una menor actividad metabólica similar al tratamiento control.

9. CONCLUSIONES

El presente estudio indica que los tratamientos T2:4 (dos días de alimentación a saciedad y 4 de restricción de alimento al 50%) y T3:3 (3 días de alimentación a saciedad y 3 de restricción del 66%) inducen un crecimiento compensatorio completo, logrando un ahorro de hasta el 12% de alimento durante 6 semanas de cultivo.

Durante el periodo de crecimiento acelerado (crecimiento compensatorio), como consecuencia de restricción de alimento, la actividad de tripsina, quimotripsina y lipasa es más alta al término de los ciclos de alimentación/restricción, es decir se utilizan las reservas proteínicas y lipídicas como fuente principal de energía durante este proceso. Así mismo, la actividad de amilasa disminuye después del proceso de crecimiento compensatorio, durante el periodo de recuperación, indicando una baja utilización de los carbohidratos en este periodo.

La actividad de catalasa aumenta durante el periodo de crecimiento compensatorio (del día 32 y 46) para los tratamientos de restricción alimenticia con 50 y 66% de restricción (T2:4 y T3:3 respectivamente), mientras que no se observan diferencias significativas para el tratamiento con ayuno (T4:2), atribuido a una menor actividad metabólica y estrés oxidativo derivado de una menor tasa de crecimiento (crecimiento compensatorio parcial).

10. LITERATURA CITADA

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 121-126. doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3
- Ahuejote-Sandoval, M. (2004). Estrés oxidativo en camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en respuesta a hipoxia y reoxigenación. *La Paz, México: Instituto Politécnico Nacional. Centro interdisciplinario de ciencias marinas.*
- Akiyama, M., y Chwang, L. (1995). Shrimp feed requirements and feed management. *Aqua international, india. August-September*, 14-27.
- Ali, M., A. Nicieza, R. J. Wootton. (2003). Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and fisheries*. 4(2): 147-190. doi.org/10.1046/j.1467-2979.2003.00120.x
- Álvarez-González, C. A. (2003). *Actividad enzimática digestiva y evaluación de dietas para el destete de larvas de la cabrilla arenera Paralabrax mukulatufasciatus*. La Paz, México: Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Marinas.
- Arce-Urbe, E., & Luna-Figueroa, J. (2003). Efecto de dietas con diferente contenido proteico en las tasas de crecimiento de crias del Bagre del Balsas *Ictalurus balsanus* (pisces: ictaluridae) en condiciones de cautiverio. *Revista: AcuaTIC. No. 18*, 39-47.
- Briggs, M., Funge-Smith, S., Subasinghe, R., & Phillips, M. (2005). *Introduction and movement of two species of penaeid shrimp in Asia and the Pacific*. Tailandia: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Calvo, N. S., Stumpf, L., Sacristán, H. J., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.08.017>
- Carrillo, O., Vega-Villasante, F., Nolasco, H., & Gallardo, N. (2000). Aditivos alimentarios como estimulantes en el crecimiento de camarón. In L. Cruz-Suárez, D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M. Olvea-Novoa, & R. Civera-Cerecedo, *Avances de nutrición acuícola V*. (pp. 19-22). Mérida, Yucatán, México: Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola.
- Carvajal, C. (2019). Especies reactivas de oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina legal de Costa Rica. Vol 36.*, 91-100.
- Colvin, L., & Brand, C. (1977). The protein requirement of penaeid shrimp at various life cycle stages in controlled environment systems. *World aquaculture society* , 821-840.

- CONAPESCA. (2016, Agosto 28). *Estadística pesquera y acuícola de México*. Retrieved from <https://www.gob.mx/conapesca/documentos/estadistica-pesquera-y-acuicola-de-mexico>
- Cruz-Suárez, E., Ruiz-Díaz, P., Cota-Cerecer, E., Nieto-López, M., Guajardo-Barbosa, C., Tapia-Salazar, M., . . . Ricque-Marie, D. (2006). Revisión sobre algunas características físicas y control de calidad de alimentos comerciales para camarón en México . *Avances en nutrición acuicola VIII. VIII Simposium internacional de nutrición acuicola*, 330-370.
- D'Agaro, E., Sabbioni, V., Messina, M., Tibaldi, E., Bongiorno, T., Tulli, F., . . . Stecchini, M. (2014). Effect of confinement and starvation on stress parameters in the American lobster (*Homarus americanus*). *Italian Journal of Animal Science* 13, 891-897.
- Dai, W.-F., Zhang, J.-J., Qiu, Q.-F., Chen, J., Yang, W., Ni, S., & Xiong, J.-B. (2018). Starvation stress affects the interplay among shrimp gut microbiota, digestion and immune activities. *Fish and Shellfish Immunology*, 191-199.
- Daniel, B. R. (2011). *Manual para extensionista en acuicultura*. Paraguay.
- Dong, S., & 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*, 1225-1239.
- Eisler, R. (2010). Crustacean. *Compendium of trace metals and marine biota* , 399-516.
- FAO. (2009). FAO. Retrieved from *Penaeus vannamei*, In cultured aquatic species facts sheets.: http://www.fao.org/tempref/FI/CDrom/aquaculture/I1129m/file/es/es_whitelegshrimp.html
- FAO. (2011). Desarrollo de la acuicultura. Enfoque ecosistémico de la acuicultura. *Orientaciones y técnicas para la pesca responsable No 5*, 60.
- FAO. (2018). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura*. Retrieved from Departamento de pesca y acuicultura: <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-acuaculture-production/es>
- 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 harvevi en el camarón blanco Penaeus vannamei* . La Paz, B.C.S. CIBNOR. 112 p.: Tesis. Maestría en uso, manejo y preservación de los recursos naturales.
- Genodepa, J., Zeng, C., & Southgate, P. (2018). Changes in digestive enzyme activities and nutrient utilization during embryonic development and starvation of newly hatched larvae of the mud crab, *Scylla serrata*. *Aquaculture* 493., 137-143.

- Halliwell, B., & Gutteridge, J. (1999). *Free radicals in biology and medicine. Tercera edición. 936p.* New York: Oxford University Press.
- INAPESCA. (2013). *Instituto Nacional de pesca.* Retrieved from Camarón blanco del Pacífico.
- Lara, C. (2010). Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei.* OSPESCA, Panamá, 44-48.
- Lowen, A. (1975). *Bioenergetic.* New York: Coward, McCann & Geoghegan, INC.
- Maciel, J., Francisco, C., & Miranda-Filho, K. (2018). Compensatory growth and feed restriction in marine shrimp production, with emphasis on biofloc technology. *Acuaqulture International 26*, 203-212.
- Martínez-Sánchez, G. (2005). Especies reactivas del oxígeno y balance redox, aspectos básicos y principales especies reactivas del oxígeno. *Revista cubana de farmacia*, 11.
- Matozzo, V., Gallo, C., & Marin, M. (2011). Can starvation influence cellular and biochemical parameters in the crab *Carcinus aestuarii*. *Marine Environmental Reserach 71*, 207-212.
- Molina, C., Cadena, E., & Orellana, F. (n.d.). *Alimentación de camarones en relación a la actividad enzimática como una respuesta natural al ritmo circadiano y ciclo de muda.* Guayaquil, Ecuador.
- Moyano, F., Barros, A., Prieto, A., Cañavate, J., & Cárdenas, S. (2005). Evaluacion de la ontogenia de enzimas digestivas en larvas de hurta, *Pagrus auriga.* *AquaTic, N 22*, 39-47.
- Prates, E., Holanda, M., & Wasielesky, W. (2020). Evaluación del crecimiento compensatorio de camarón blanco del Pacífico en un sistema de biofloc. *Global Aquaculture Alliance*, 1-8.
- Rebasa, P. (2005). Conceptos básicos del análisis de supervivencia. *Artículo especial, Corporación sanitaria Parc Taulí*, 222-230.
- Retuerto, R., Rodríguez-Roiloa, S., Fernández-Lema, B., & Obeso, J. (2003). Respuestas copensatorias de plantas en situaciones de estrés. *Revista científica y técnica de ecología y medio ambiente.*
- Rueda González, F. (2011). La acuicultura. *Eubacteria: Especial Biología Marina*, 1-2. Retrieved from Breve historia de una gran desconocida: La acuicultura.
- Ryan, W., Williams, I., & Moir, R. (1993). Compensatory growth in sheep and cattle . *Australian Journal of Agricultural Research*, 1609-1621.
- Sacristán, H., Ansaldo, M., Franco-Tadlc, L., Fernández Giménez, A., & López-Greco, L. (2016). Long-Term Starvation and Posterior Feeding Effects on Biochemical and Physiological

- Responses of Midgut Gland of *Cherax quadricarinatus* Juveniles (Parastacidae). *PlosONE* 11, 1-19.
- Sánchez-Paz, A., García-Carreño, F., Muhlia-Almazán, A., Peregrino-Uriarte, A., Hernández-López, J., & Yépiz-Plascencia, G. (2006). Usage of energy reserves in crustaceans during starvation: Status and future directions. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 36, 241-249.
- Stumpf, L. (2016). *Crecimiento compensatorio en juveniles de la langosta de agua dulce "pinzas rojas" Cherax quadricarinatus (Decapoda, Parastacidae) y sus aplicaciones al cultivo* (Doctoral dissertation, Universidad de Buenos Aires).
- Stumpf, L., Timparano, S., Battista, A., & López-Greco, L. (2020). Effects of intermittent starvation on the survival, growth, and nutritional status of the freshwater prawn *Macrobrachium borellii* Nobili, 1896 (Decapoda: Caridea Palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology*, 1-9.
- Stumpf, L., Tropea, C., & Greco, L. S. L. (2014). Recovery growth of *Cherax quadricarinatus* juveniles fed on two high-protein diets: Effect of daily feeding following a cyclic feeding period on growth, biochemical composition and activity of digestive enzymes. *Aquaculture*, 433, 404-410.
- Tacon, A. (1989). *Nutrición y alimentación para peces y camarones cultivados*. Retrieved from Manual de capacitación: <http://www.fao.org/3/AB492S/AB492S13.htm#ch2.4.1>
- Vázquez, C. R. (1996). Bioenergética de camarones peneidos: una forma de comprender los mecanismos fisiológicos involucrados en la nutrición. *Grupo de maricultura: Laboratorio de ecofisiología, Facultad de ciencias UNAM*, 81-98.
- Venereo-Gutiérrez, J. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de medicina militar* Vol. 31.
- Verde, L. S. (1974). Estado actual de los conocimientos sobre crecimiento compensatorio. *Sitio argentino de producción animal*, 112-144.
- Włodarczyk, A., Wilczek, G., Wilczek, P., Sebastian student, Ostrózka, A., Tarnawska, M., & Rost-Roszkowska, M. (2019). Relationship between ROS production, MnSOD activation and periods of fasting and re-feeding in freshwater shrimp *Neocaridina davidi* (Crustacea, Malacostraca).
- Wu, L., Dong, S., Wang, F., Tian, X., & 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.

- Zamora, J. (2007). Antioxidantes: Micronutrientes en la lucha por la salud. *Revista chilena de nutrición*. Vol 34. doi.org/10.4067/S0717-75182007000100002
- Zhang, P., Zhang, X., Li, J., & 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.
- Zhu, Z. M., Lin, X. T., Pan, J. X., & 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.org/10.1111/are.12490