



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

EVALUACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO DURANTE EL
CRECIMIENTO COMPENSATORIO EN EL CAMARÓN
BLANCO *Penaeus vannamei*

T E S I S

Que para obtener el grado de

Doctora en Ciencias

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

P r e s e n t a

Clara Adèle Py

La Paz, Baja California Sur, abril de 2024.

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 13 horas del día 11 del Mes de Abril del 2024, 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:

"Evaluación del estrés oxidativo durante el crecimiento compensatorio en el camarón blanco *Penaeus vannamei*"

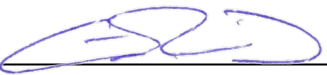





Presentada por el alumno:

Clara Adèle Py

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

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

LA COMISIÓN REVISORA

 _____ Dr. Alberto Peña Rodríguez Co-Director de Tesis	 _____ Dra. Regina Elizondo González Co-Directora de Tesis
 _____ Dra. Martha Nieto López Co-Tutora de Tesis	 _____ Dr. José Arturo Sánchez Paz Co-Tutor de Tesis
 _____ Dra. María Teresa Sicard González Co-Tutora de Tesis	
 _____ Dra. Alejandra Nieto Garibay, Directora de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos	

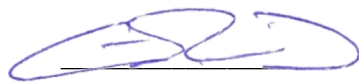
La Paz, Baja California Sur, a 17 de abril de 2024.

Los miembros del comité de tesis del (la) estudiante CLARA ADÈLE PY del Programa de Doctorado 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, Excluir coincidencias pequeñas (9 palabras)
- Porcentajes de similitud: 15%
Se muestra captura de pantalla

		Citas excluidas	15%
		Bibliografía excluida	SIMILAR
Resumen de Coincidencias			
1	Internet 1606 palabras Copiado el 20-Oct-2022 cibnor.repositorioinstitucional.mx		4%
2	Internet 361 palabras hdl.handle.net		1%
3	Internet 228 palabras ri.agro.uba.ar		1%
4	Internet 190 palabras Copiado el 22-Nov-2022 repositorioinstitucional.buap.mx		1%
5	Internet 189 palabras Copiado el 25-Sep-2022 bibliotecadigital.exactas.uba.ar		1%
6	Internet 136 palabras Copiado el 24-Feb-2023 tesis.ipn.mx		<1%
7	Internet 104 palabras Copiado el 21-May-2021 dspace.cibnor.mx:8080		<1%
8	Internet 90 palabras Copiado el 04-Jun-2021 1library.co		<1%

Firmas del Comité



Dr. Alberto Peña Rodríguez



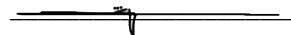
Dra. Regina Elizondo González



Dra. Martha Nieto López



Dra. María Teresa Sicard González



Dr. José Arturo Sánchez-Paz

Conformación de Comités

Comité Tutorial

Dr. Alberto Peña Rodríguez
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Director de Tesis

Dra. Regina Elizondo González
Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías-Centro de Investigaciones Biológicas
del Noroeste, S.C
Co-Directora de Tesis

Dra. María Teresa Sicard González
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Tutora de Tesis

Dr. Arturo José Sánchez Paz
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Tutor de Tesis

Dra. Martha Nieto López
Universidad Autónoma de Nuevo León
Co-Tutora de Tesis

Comité Revisor de Tesis

Dr. Alberto Peña Rodríguez
Dra. Regina Elizondo González
Dra. María Teresa Sicard González
Dr. Arturo José Sánchez Paz
Dra. Martha Nieto López

Jurado de Examen

Dr. Alberto Peña Rodríguez
Dra. Regina Elizondo González
Dra. María Teresa Sicard González
Dr. Arturo José Sánchez Paz
Dra. Martha Nieto López

Suplentes

Dra. Laura Teresa Guzmán Villanueva
Dr. Dariel Tovar Ramírez

Resumen

La inducción del crecimiento compensatorio en el cultivo de camarón se presenta como una alternativa potencial para mejorar la eficiencia en la utilización del alimento balanceado, el cual puede representar hasta un 60 % del costo de producción. Este proceso se logra mediante la restricción temporal de alimento; al regresar a una alimentación a saciedad, los camarones muestran una aceleración del crecimiento, lo que les permite alcanzar el peso de camarones alimentados de forma normal sin restricción alguna. A pesar de ello, los costos fisiológicos asociados a la restricción alimenticia y al crecimiento compensatorio, especialmente en crustáceos, siguen siendo poco conocidos. El presente proyecto se centró en el estudio del estrés oxidativo del camarón *P. vannamei* durante el crecimiento compensatorio y sus posibles implicaciones en eventos de estrés abiótico. Con ese fin, se llevaron a cabo experimentos *in vivo* en condiciones controladas de laboratorio. Se evaluaron diferentes niveles de restricción alimentaria y condiciones de cultivo para analizar el estrés oxidativo en los camarones durante crecimiento compensatorio. Los resultados evidenciaron la activación del sistema antioxidante de los camarones durante el periodo de realimentación a saciedad, aunque no fue suficiente para prevenir daños oxidativos a los lípidos, indicando un estrés oxidativo generado por el crecimiento compensatorio. Sin embargo, los camarones en crecimiento compensatorio mostraron una resistencia similar en términos de sobrevivencia y estado oxidativo ante eventos estresantes, tales como el estrés hipertérmico, la hipoxia y la reoxigenación, así como una alta concentración de amonio. Además, la implementación de estrategias dirigidas a mejorar las condiciones de cultivo, como la alimentación suplementada con plantas ricas en antioxidantes y el cultivo en sistema de biofloc, permitió evitar la generación de estrés oxidativo durante el periodo de aceleración del crecimiento. Por lo tanto, el uso de una restricción alimenticia parcial, seguido de un periodo de realimentación, permite un crecimiento compensatorio completo en el camarón *P. vannamei* sin comprometer su capacidad de resistencia a factores de estrés abióticos. Adicionalmente, se comprobó que el cultivo en sistema biofloc o con suplementación alimenticia puede evitar el estrés oxidativo generado durante la respuesta compensatoria.

Palabras claves: crecimiento compensatorio, *Penaeus vannamei*, estrés oxidativo, estrés abiótico

ORCID: 0009-0009-2138-0042



Dr. Alberto Peña Rodríguez
Co-Director de Tesis



Dra. Regina Elizondo González
Co-Directora de Tesis

Summary

Induction of compensatory growth in shrimp farming represents a potential alternative to enhance the efficiency of utilizing balanced feed, representing up to 60 % of production costs. This process is achieved by applying temporal food restriction; upon returning to ad libitum feeding, shrimp exhibit accelerated growth, allowing them to reach the weight of continuously fed shrimp. However, the physiological costs of food restriction and compensatory growth, especially in crustaceans, remain poorly understood. This project focused on investigating oxidative stress in *P. vannamei* shrimp during compensatory growth and its potential implications in abiotic stress events. To this end, *in vivo* experiments were conducted under controlled laboratory conditions. Different levels of food restriction and culture conditions were evaluated to analyze oxidative stress in shrimp during compensatory growth. The results showed the shrimp's antioxidant system activation during the refeeding period; however, it was insufficient to prevent oxidative damage to lipids, indicating oxidative stress induced by compensatory growth. Nevertheless, shrimp undergoing compensatory growth exhibited similar resistance in terms of survival and oxidative status to stressful events, such as heat stress, hypoxia, reoxygenation, and high ammonia concentration. Additionally, implementing strategies to improve culture conditions, such as supplementation with antioxidant-rich plants and cultivation in a biofloc system, helped avoid the generation of oxidative stress during the growth acceleration period. Therefore, partial food restriction, followed by a refeeding period, enables total compensatory growth in *P. vannamei* shrimp without compromising their resistance to abiotic stress factors. Additionally, it was demonstrated that farming in a biofloc system or with dietary supplementation prevents the oxidative stress generated during the compensatory response.

Keywords: compensatory growth, *Penaeus vannamei*, oxidative stress, abiotic stress

ORCID: 0009-0009-2138-0042



Dr. Alberto Peña Rodríguez
Co-Director de Tesis



Dra. Regina Elizondo González
Co-Directora de Tesis

Dedicatoria

A mis padres, quienes me inculcaron el gusto por los viajes y la aventura desde pequeña. Gracias por apoyarme en mi decisión de irme durante 4 años al otro lado del mundo.

A toda mi familia, por respaldarme en esta aventura, por sobrellevar la distancia y por recibirme como una reina en cada visita a Francia. Los amo.

A mi abuela, aunque te hayas ido durante este proceso, sé que desde donde estás, estás muy orgullosa de mí. Te amo para siempre.

A mis mejores amigas de Francia, por siempre estar a mi lado y por compartir tanto a pesar de la distancia. Nada nos separará.

A mis amigos de México, somos un grupo de amigos con tantas nacionalidades diferentes, aprendimos tanto el uno del otro, ustedes fueron mi familia. Gracias por todas las reuniones, aventuras en la Baja y tantas risas, hicieron de mi estancia una felicidad. Siempre estarán en mi corazón.

A mi perrito mexicano, por ser el compañero más leal y divertido, gracias por acompañarme en todas partes, ahora vámonos por nuevas aventuras.

Mi proceso de tesis estuvo acompañado por el desafío de aprender a vivir en otro país. Aunque no se puede decir que fue fácil todos los días, porque por momentos si extraña mucho el pan y el queso francés, me encanto el proceso de aclimatarme a México. Descubrí una cultura muy diferente, personas abiertas que siempre me recibieron con los brazos abiertos y paisajes impresionantes. Supe que me volvía media pacheña cuando empecé a disfrutar de maleconear, que yo también iba a acampar con toda la casa en el carro o que atascarme en camino a la playa ya no me estresaba... Disfrute tantos momentos, fue toda una aventura, me siento profundamente agradecida por haber tenido la oportunidad de descubrir mi nuevo país de corazón y todas las personas maravillosas que encontré en mi camino.

Muchas gracias a todos.

Agradecimientos

La realización de este proyecto solo fue posible gracias a la contribución de muchas personas. Expreso mi sincero agradecimiento a:

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por la beca otorgada (becario número 1036524).

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

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. por permitirme realizar este proyecto dentro de su institución, a la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos y a todos los miembros de posgrado en particular a Tania Verónica Núñez Valdez, a Adriana Teresa Franzoni García, a la Mtra. Osvelia Ibarra Morales, al Lic. Horacio Sandoval Gómez y a la Dra. Alejandra Nieto Garibay por siempre ayudarnos.

A mis Co-Directores, el Dr. Alberto Peña Rodríguez y la Dra. Regina Elizondo González, por siempre estar allí por mí durante estos 4 años. Alberto, gracias por haberme dado la oportunidad de realizar mi estancia de maestría contigo, a pesar de que hablaba muy mal y que te entendía a la mitad, desde el principio adoré trabajar contigo. Regina y Alberto, siempre les agradeceré de haber confiado en mí para seguir con el doctorado. A lo largo del proceso, siempre me apoyaron, gracias por haberme ayudado a guardar la motivación en tiempo de pandemia y a guiarme al regreso de las actividades para sacar lo máximo en el tiempo que quedaba. Siempre fue un placer compartir reuniones, muestreros y risas con ustedes. Me encantaron como directores y también como personas.

A mi Comité Tutorial, Dra. Martha Guadalupe Nieto López, Dra. María Teresa Sicard Gonzalez y Dr. José Arturo Sánchez Paz, muchísimas gracias por todos sus comentarios, consejos y palabras de motivación que me dieron a cada reunión de comité, todas estas conversaciones me hicieron crecer. Dra. María Teresa Sicard Gonzalez, la agradezco mucho de haberme dado la oportunidad de realizar un bioensayo en su laboratorio, gracias por haberme recibida de la manera la más atenta.

Al Laboratorio de Histología e Histoquímica, a la Dra. María del Carmen Rodríguez Jaramillo y a María Eulalia Meza Chávez por haberme permitido hacer mis análisis de histología con ustedes. Dra. Carmen muchas gracias por todos los consejos que me ha dado, fue un placer compartir tantas discusiones con usted.

A la Dra. Laura Teresa Guzmán Villanueva, muchas gracias por su atención y por haberme dado la oportunidad de realizar una estancia a su lado.

Al Laboratorio de Bioquímica Fisiológica, al M.C. Roberto Hernández-Herrera por haberme apoyado tantas veces con todos mis análisis de bioquímica, por su paciencia y su confianza. A la M.C. Jessica Guadalupe Elías Castelo, por haberme ayudado a terminar mis análisis.

Al Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola, a la M.C. Sandra De la Paz Reyes y al Biol. Gabriel Robles Villegas, por siempre estar dispuestos a ayudarme.

Al Laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos, al M.C. Gilberto Gonzalez Soriano, a la M.C. Rosa Isela Vázquez Sánchez y al Dr. Sergio Alan Ulaje, por ayudarme durante el bioensayo realizado en su laboratorio. Alan, gracias por tu valiosa ayuda, este bioensayo no se hubiera podido realizar sin ti.

Al Laboratorio de Fisiología Animal Comparada y Genómica Funcional, a la Biol. Patricia Hinojosa Baltazar† por siempre ayudarme de la manera más linda.

Al Laboratorio de Genómica y Bioinformática, a la M.C. Gabriela Carrión Espinoza, por siempre recibirme de la manera más atenta.

Al Laboratorio de Análisis Químico Proximal, a la Geol. Sindi Areli Juan Antúnez por apoyarme con mis análisis.

A las empresas Larvas Gran Mar y Biomarina Reproductiva S. de Mazatlán, Sinaloa por aceptar enviarnos camarones y permitirme realizar mis bioensayos.

A Diana Ramona Barajas Sandoval por ser la mejor compañera de bioensayo.

Gracias a Alberto, Diana, María, Dr. Quiroz Guzmán Eduardo por siempre ayudarme en mis muestreos y hacerlos momentos alegría.

¡Muchas Gracias a todos!

Contenido

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	vi
Lista de figuras	ix
Lista de tablas	xii
Abreviaturas	xiv
Glosario	xv
1.INTRODUCCIÓN	1
2.ANTECEDENTES	4
2.1 Biología y cultivo del camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i>	4
2.2 Alimentación del camarón	4
2.3 Crecimiento compensatorio.....	5
2.4 Costos fisiológicos de la restricción alimenticia y del crecimiento compensatorio en términos de estrés oxidativo.....	9
2.5 Exposición de los camarones a factores abióticos	14
2.6 Alimentos suplementados.....	17
2.7 Cultivo de <i>P. vannamei</i> en sistema Biofloc	19
3.JUSTIFICACIÓN	21
4.HIPÓTESIS	22
5.OBJETIVOS	23
5.1 Objetivo general	23
5.2 Objetivos particulares	23
6.MATERIAL Y MÉTODOS	24
6.1 Aplicación de restricción alimenticia continua para promover el crecimiento compensatorio y evaluar la susceptibilidad a factores de estrés abióticos	24
6.1.1 Material biológico y formulación del alimento.....	25
6.1.2 Condiciones experimentales	26
6.1.3 Experimento 1. Crecimiento compensatorio e hipertermia o hipoxia	26
6.1.4 Experimento 2. Crecimiento compensatorio y amonio	31
6.1.5 Variables biológicas, análisis bioquímicos e histológicos	32
6.1.5.1 Variables biológicas.....	32
6.1.5.2 Análisis bioquímicos	34
6.1.5.3 Análisis histológicos	37
6.1.6 Análisis estadísticos.....	38
6.2 Experimento 3. Crecimiento compensatorio con dietas suplementadas para mitigación de estrés oxidativo	39
6.2.1 Material biológico	40
6.2.2 Formulación de los alimentos	40
6.2.3 Condiciones experimentales	41
6.2.4 Parámetros zootécnicos y análisis	42
6.2.5 Análisis estadísticos.....	42

6.3 Experimento 4. Crecimiento compensatorio en sistema biofloc para mitigar estrés oxidativo	43
6.3.1 Material biológico y formulación del alimento	43
6.3.2 Parámetros zootécnicos y análisis	44
6.3.2.1 Parámetros zootécnicos	44
6.3.2.2 Análisis bioquímicos	44
6.3.2.3 Determinación de las comunidades microbianas en el intestino de <i>P. vannamei</i>	46
6.3.3 Análisis estadísticos	47
7.RESULTADOS	48
7.1 Experimento 1: Crecimiento compensatorio y la susceptibilidad a la hipertermia e hipoxia	48
7.1.1 Parámetros zootécnicos	48
7.1.2 Tasas fisiológicas	50
7.1.3 Enzimas antioxidantes y peroxidación de lípidos	52
7.2 Experimento 2: Crecimiento compensatorio y la susceptibilidad a la alta concentración en amonio	55
7.2.1 Parámetros zootécnicos	55
7.2.2 Enzimas antioxidantes y peroxidación de lípidos	58
7.2.3 Análisis histológicos	61
7.3 Experimento 3: Evaluación del estrés oxidativo durante el crecimiento compensatorio en el camarón <i>P. vannamei</i> alimentado con dietas suplementadas	64
7.3.1 Parámetros zootécnicos	64
7.3.2 Enzimas antioxidantes y peroxidación de lípidos	68
7.4 Experimento 4: Crecimiento compensatorio en sistema biofloc y estrés oxidativo	72
7.4.1 Parámetros zootécnicos	73
7.4.2 Enzimas digestivas	76
7.4.3 Enzimas antioxidantes y peroxidación de lípidos	77
7.4.4 Comunidades microbianas	79
8.DISCUSIÓN	83
8.1 Inducción del crecimiento compensatorio y su efecto productivo	83
8.2 Evaluación del estrés oxidativo asociado a la estrategia alimenticia restricción y realimentación	86
8.2.1 Consecuencias fisiológicas de la restricción alimenticia	86
8.2.2 Estrés oxidativo durante el crecimiento compensatorio	88
8.3 Evaluación de la resistencia de <i>P. vannamei</i> durante el crecimiento compensatorio a factores de estrés abióticos	90
8.4 Estrategias de mitigación del estrés oxidativo por efecto del crecimiento compensatorio	94
8.4.1 Influencia de las dietas suplementadas	94
8.4.2 Influencia del sistema biofloc	98
9.CONCLUSIONES	104
10.LITERATURA CITADA	105
11.ANEXOS	128
Anexo A.-Altura epitelial de las células hepatopancreáticas y superficie muscular de <i>P. vannamei</i> en condición control y bajo un reto de alta concentración en amonio durante el experimento 2.	128

Anexo B.-Artículo Publicado.-Compensatory growth: fitness cost in farmed fish and crustaceans.....	129
Anexo C.-Artículo Sometido.-Response to hyperthermia and hypoxia stress during compensatory growth in <i>Penaeus vannamei</i>	158

Lista de figuras

Figura 1. Fenómeno de crecimiento compensatorio (Figura <i>modificada</i> de Bavera et al. (2005)).	6
Figura 2. Esquema general de los experimentos de evaluación de estrés abiótico bajo crecimiento compensatorio en los organismos <i>P.vannamei</i>	24
Figura 3. Diseño experimental de los experimentos 1 y 2 realizados en los organismos <i>P. vannamei</i>	26
Figura 4. Fotografía de los tanques de 60 L usados en los experimentos 1 y 2.	28
Figura 5. Sistema de cámaras de flujo continuo utilizado en el experimento 1.....	30
Figura 6. Esquema descriptivo de la metodología empleada en los retos en cámaras metabólicas durante el experimento 1.	30
Figura 7. Homogeneización de las muestras de hepatopáncreas de <i>P. vannamei</i> para los análisis bioquímicas	35
Figura 8. Diseño experimental del experimento 3 realizado con alimentos suplementados.	39
Figura 9. Diseño experimental del experimento 4 realizado en <i>P. vannamei</i> en sistema biofloc.	43
Figura 10. Tanques redondos de 80 L utilizados durante el experimento 4.	46
Figura 11. Tasa de crecimiento específico (TCE) (% día) en organismos de <i>P. vannamei</i> expuestos a diferentes condiciones restrictivas de alimentación durante el experimento 1.	50
Figura 12. Actividad de la CAT en el hepatopáncreas de <i>P. vannamei</i> bajo tratamiento nutricional de referencia (REF) o en crecimiento compensatorio (T50) después de los retos abióticos: hipertermia (34 °C), hipoxia (1.5 mgO ₂ ·L ⁻¹) y normoxia (5 mgO ₂ ·L ⁻¹) y control (28 °C y > 4 mgO ₂ ·L ⁻¹).	54
Figura 13. Contenido de MDA en el hepatopáncreas de <i>P. vannamei</i> bajo tratamiento nutricional de referencia (REF) o en crecimiento compensatorio (T50) después de los retos abióticos: hipertermia (34 °C), hipoxia (1.5 mgO ₂ ·L ⁻¹) y normoxia (5 mgO ₂ ·L ⁻¹) y control (28 °C y > 4 mgO ₂ ·L ⁻¹).	55
Figura 14. Tasa de crecimiento específico (% día) los camarones <i>P. vannamei</i> mantenidos con una alimentación <i>ad libitum</i> considerados como la referencia (REF) y expuestos a restricción alimenticia con el 50% (T50) y 25% (T25) de la porción de REF durante el experimento 2..	58
Figura 15. Actividad de la enzima Superóxido Dismutasa (SOD) (A) y de la Catalasa (CAT) (B) en el hepatopáncreas de organismos <i>P. vannamei</i> expuestos a diferentes condiciones restrictivas de alimentación en condición control y bajo un reto de alta concentración en amonio (20 mg·L ⁻¹) al día 16 del experimento 2.	59
Figura 16. Contenido de malondialdehído (MDA) en el hepatopáncreas en el hepatopáncreas de organismos <i>P. vannamei</i> expuestos a diferentes condiciones restrictivas de alimentación en condición control y bajo un reto de alta concentración en amonio (20 mg·L ⁻¹) al día 16 del experimento 2.	61
Figura 17. Gráfica de la altura de los filamentos branquiales de organismos <i>P. vannamei</i> expuestos a diferentes condiciones restrictivas de alimentación en condición control y bajo un reto de alta concentración en amonio (20 mg·L ⁻¹) al día 16 del experimento 2.	62
Figura 18. Microfotografías de las branquias de organismos <i>P. vannamei</i> expuestos a diferentes condiciones restrictivas de alimentación en condición control (A) y bajo un reto de alta concentración en amonio (20 mg·L ⁻¹) (B) al día 16 del experimento 2.....	63
Figura 19. Tasa de ingestión (% biomasa) de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a diferentes dietas y a una alimentación <i>ad libitum</i> o a restricción alimenticia, durante el periodo de restricción alimenticia (día 1-10), y durante el periodo de realimentación (día 11-40) del experimento 3..	67

Figura 20. Actividad de la SOD en el hepatopáncreas de organismos <i>P. vannamei</i> a diferentes dietas y a una alimentación <i>ad libitum</i> o a restricción alimenticia, al final del periodo de restricción (día 11) y durante el crecimiento compensatorio (día 16) en el experimento 3.....	68
Figura 21. Actividad de la CAT en el hepatopáncreas de organismos <i>P. vannamei</i> a diferentes dietas y a una alimentación <i>ad libitum</i> o a restricción alimenticia, al final del periodo de restricción (día 11) y durante el crecimiento compensatorio (día 16) en el experimento 3.....	69
Figura 22. Contenido de malondialdehído (MDA) en el hepatopáncreas de organismos <i>P. vannamei</i> a diferentes dietas y a una alimentación <i>ad libitum</i> o a restricción alimenticia, al final del periodo de restricción (día 11), durante el crecimiento compensatorio (día 16) y al final del periodo de realimentación (día 41) en el experimento 3.	70
Figura 23. Actividad de la Profenoloxidasa (A) y de la Fenoloxidasa (B) en el plasma de organismos <i>P. vannamei</i> a diferentes dietas y a una alimentación <i>ad libitum</i> o a restricción alimenticia, durante el crecimiento compensatorio (día 16) en el experimento 3.....	72
Figura 24. Pesos húmedos de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a alimentación <i>ad libitum</i> (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), al final del periodo de restricción (día 10) y durante el periodo de realimentación (día 11-40) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.....	74
Figura 25. Tasa de ingestión promedia (% biomasa) de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a alimentación <i>ad libitum</i> (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), durante el periodo de restricción (día 1-10) y durante el periodo de realimentación (día 11-40) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.....	75
Figura 26. Actividad de la tripsina (A), la quimotripsina (B), la lipasa (C) y la amilasa (D) en el hepatopáncreas de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a alimentación <i>ad libitum</i> (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), al final del periodo de restricción (día 10), durante el crecimiento compensatorio (día 14) y al final del periodo de realimentación (día 40) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.....	76
Figura 27. Actividad de las enzimas SOD (A) y CAT (B) en el hepatopáncreas de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a alimentación <i>ad libitum</i> (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), al final del periodo de restricción (día 10), durante el crecimiento compensatorio (día 14) y al final del periodo de realimentación (día 40) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.	78
Figura 28. Contenido de MDA en hepatopáncreas de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a alimentación <i>ad libitum</i> (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), al final del periodo de restricción (día 10), durante el crecimiento compensatorio (día 14) y al final del periodo de realimentación (día 40) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.	79
Figura 29. Diversidad H' de las comunidades microbianas en hepatopáncreas de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a alimentación <i>ad libitum</i> (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), durante el crecimiento compensatorio (día 14) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.	80
Figura 30. Abundancia relativa de los principales filos bacterianos en hepatopáncreas de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a alimentación <i>ad libitum</i> (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), durante el crecimiento compensatorio (día 14) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.	81
Figura 31. Abundancia relativa de <i>Alphaproteobacteria</i> (A) y <i>Gammaproteobacteria</i> (B) en hepatopáncreas de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a alimentación <i>ad libitum</i> (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), durante el crecimiento compensatorio (día 14) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.	82

Figura 32. Esquema general del proceso de estrés oxidativo observado durante los experimentos.
.....103

Lista de tablas

Tabla 1. Composición proximal (%) de los alimentos experimentales del experimento 3.....	41
Tabla 2. Peso, Ganancia de peso (GP), tasa de crecimiento específico (TCE), factor de conversión alimenticia (FCA) y tasa de ingestión promedio (% biomasa) de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a los tratamientos REF y T50 durante el experimento 1.....	49
Tabla 3. Tasa respiratoria (TR) y tasa de excreción de amonio (TE) de <i>P. vannamei</i> bajo tratamiento nutricional de referencia (REF) o en crecimiento compensatorio (T50) después de 8 horas de exposición a los retos (condición post-prandial): hipertermia (34 °C), hipoxia (1.5 mgO ₂ ·L ⁻¹) y normoxia (5 mgO ₂ ·L ⁻¹) y control (28 °C y > 4 mgO ₂ ·L ⁻¹).....	51
Tabla 4. Tasa respiratoria (TR) y tasa de excreción de amonio (TE) de <i>P. vannamei</i> bajo tratamiento nutricional de referencia (REF) o en crecimiento compensatorio (T50) después de 10 horas de exposición a los retos (condición de reposo) : hipertermia (34 °C), hipoxia (1.5 mgO ₂ ·L ⁻¹) y normoxia (5 mgO ₂ ·L ⁻¹) y control (28 °C y > 4 mgO ₂ ·L ⁻¹).....	52
Tabla 5. Actividad de la SOD y de la Gpx en el hepatopáncreas de <i>P. vannamei</i> bajo tratamiento nutricional de referencia (REF) o en crecimiento compensatorio (T50) después de los retos abióticos: hipertermia (34 °C), hipoxia (1.5 mgO ₂ ·L ⁻¹) y normoxia (5 mgO ₂ ·L ⁻¹) y control (28 °C y > 4 mgO ₂ ·L ⁻¹).....	53
Tabla 6. Supervivencia de los camarones <i>P. vannamei</i> mantenidos con una alimentación <i>ad libitum</i> considerados como la referencia (REF) y expuestos a restricción alimenticia con el 50% (T50) y 25% (T25) de la porción de REF durante el experimento 2.....	56
Tabla 7. Peso, factor de conversión alimenticia (FCA) y tasa de ingestión promedio (% biomasa) los camarones <i>P. vannamei</i> mantenidos con una alimentación <i>ad libitum</i> considerados como la referencia (REF) y expuestos a restricción alimenticia con el 50% (T50) y 25% (T25) de la porción de REF durante el experimento 2.....	57
Tabla 8. Actividad de la Glutación Peroxidasa (Gpx) en el hepatopáncreas de organismos <i>P. vannamei</i> expuestos a diferentes condiciones restrictivas de alimentación en condición control y bajo un reto de alta concentración en amonio (20 mg·L ⁻¹) al día 16 del experimento 2.....	60
Tabla 9. Supervivencia de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a dieta de referencia y dietas suplementadas así que alimentados <i>ad libitum</i> (REF, MACA, CUR, CUR/MACA) y expuestos a restricción alimenticia con el 25% de la porción de REF (REF 25, MACA 25, CUR 25, CUR/MACA 25), al final del periodo de restricción (día 11) y al final del periodo de realimentación (día 41) del experimento 3.....	64
Tabla 10. Peso húmedo (g) de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a diferentes dietas y a una alimentación <i>ad libitum</i> o a restricción alimenticia, al día inicial (día 1), al final del periodo de restricción (día 11) y al final del periodo de realimentación (día 41) del experimento 3.....	65
Tabla 11. Tasa de crecimiento específico (% día) de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a diferentes dietas y a una alimentación <i>ad libitum</i> o a restricción alimenticia, durante el periodo de restricción alimenticia (día 1-10), y durante el periodo de realimentación (día 11-40) del experimento 3.....	66
Tabla 12. Factor de conversión alimenticia (FCA) de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a diferentes dietas y a una alimentación <i>ad libitum</i> o a restricción alimenticia durante el experimento 3.....	67
Tabla 13. Supervivencia de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a alimentación <i>ad libitum</i> (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2) al final del periodo de restricción (día 11) y al final del periodo de realimentación (día 41) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.....	73

Tabla 14. Tasa de crecimiento específico (TCE) (% día ⁻¹) de los camarones <i>P. vannamei</i> expuestos a alimentación <i>ad libitum</i> (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), durante el periodo de restricción (día 10) y durante el periodo de realimentación (día 11-40) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.....	74
--	----

Abreviaturas

BFT:	Tecnología de biofloc
CAT:	Catalasa
EROs:	Especies reactivas de oxígeno
FCA:	Factor de conversión alimenticia
FO:	Fenoloxidasa
GP:	Ganancia de peso
GPx:	Glutación peroxidasa
MDA:	Malondialdehído
proFO:	Pro-fenoloxidasa
SOD:	Superóxido dismutasa
TCE:	Tasa de crecimiento específico
TE:	Tasa de excreción de amonio
TR:	Tasa respiratoria

Glosario

Crecimiento compensatorio	Aceleración del crecimiento de un organismo debido al retorno de las condiciones óptimas ambientales y/o nutricionales después de un período de estrés.
Comunidad microbiana	Conjunto de microorganismos presente en un ambiente determinado, que incluye bacterias, hongos, microalgas y protozoarios.
Eficiencia alimenticia	Capacidad de los organismos a digerir el alimento y absorber los nutrientes.
Estrés oxidativo	Desbalance entre la producción de especies reactivas de oxígeno y su eliminación por el sistema antioxidante.
Hiperfagia	Aumento excesivo del consumo de alimento por parte de un organismo.
Hipertermia	Condición de temperatura del ambiente en la cual la temperatura corporal se eleva por encima del nivel fisiológico.
Hipoxia	Estado del ambiente en el cual la concentración de oxígeno disuelto está insuficiente para satisfacer las necesidades metabólicas plenas de los organismos.
Peroxidación lipídica	Proceso en el cual los lípidos son dañados por especies reactivas de oxígeno.
Restricción alimenticia parcial	Porción de alimento inferior a la necesaria para satisfacer completamente los requerimientos nutricionales y energéticos del organismo, sin llegar a ser ayuno completo.
Tasa de excreción de amonio	Medición de la eliminación del amonio como producto del metabolismo de las proteínas y otros compuestos nitrogenados del organismo por unidad de peso y de tiempo.

Tasa metabólica	Tasa a la cual un organismo lleva a cabo sus procesos metabólicos, incluyendo la producción de energía y la síntesis de biomoléculas.
Tasa respiratoria	Medición del consumo de oxígeno por unidad de peso y de tiempo, permite evaluar indirectamente la tasa metabólica.

1. INTRODUCCIÓN

En su informe anual sobre el estado de la pesca y acuicultura mundial del 2022, la FAO declaró que más del 35 % de las pesquerías están sobreexplotadas, subrayando la precariedad de la pesca a largo plazo. Sin embargo, los peces y mariscos se consideran una fuente de proteínas esenciales para la seguridad alimentaria. Además, en congruencia con el aumento de la población mundial, el consumo de pescados y mariscos se duplicó en el último medio siglo, pasando de 9 a 20.2 kg per cápita (FAO, 2022). Por otro lado, la acuicultura actualmente contribuye con más del 50 % de la producción mundial de productos marinos para el consumo humano y debido a su constante expansión podrá contribuir de forma sustancial a satisfacer la demanda futura (FAO, 2020). En particular, la demanda de crustáceos solía estar principalmente concentrada en los países de ingresos altos, atribuible a sus precios elevados. Sin embargo, gracias al aumento en la producción, el consumo mundial se ha incrementado, alcanzando los 2.2 kg per cápita en 2019 (FAO, 2022). El camarón blanco del Pacífico, *Penaeus vannamei* (Boone, 1931), fue la especie acuícola con un mayor volumen de producción en 2020 (5.8 millones de toneladas), lo que representa más del 50 % de la producción total de crustáceos (FAO, 2022).

Sin embargo, la acuicultura, incluyendo la camaronicultura, está vinculada a varias problemáticas, entre ellas la explotación de los recursos naturales para la producción de alimentos balanceados. En este sentido, se estima que la dieta de los camarones en las granjas de camarón contiene entre un 20 a 30 % de harina de pescado (Yildirim y Aktaş, 2019). Además de su impacto ecológico, la alimentación de los organismos cultivados tiene un alto costo, estimado en hasta el 60 % de los costos totales de producción de las granjas acuícolas (Romano y Kumar, 2017; Debbarma *et al.*, 2019).

Los problemas ambientales y económicos del cultivo de camarón resaltan la importancia de realizar investigación sobre nuevas estrategias para el diseño, uso y manejo del alimento. Una de las estrategias relacionadas a la administración del alimento tiene que ver con su restricción temporal que, cuando las condiciones de alimentación son restablecidas, genera un crecimiento acelerado que permite a los camarones en esta condición alcanzar la misma talla de aquellos que se han alimentado convencionalmente en el mismo periodo de tiempo. Este fenómeno se le

conoce como *crecimiento compensatorio* y permite una reducción significativa en los costos de alimentación sin comprometer la talla de cosecha final del camarón en cultivo.

El crecimiento compensatorio implica una fase de crecimiento acelerado causado por las adaptaciones fisiológicas y metabólicas de los organismos después de un periodo de falta de alimento. Por otra parte, la mayoría de los organismos no crecen de forma natural a una tasa de crecimiento máxima (Dmitriew, 2011; Gabriela Jimenez, 2018). Diversos estudios han examinado esta paradoja y apuntan a un importante costo fisiológico asociado a una rápida tasa de crecimiento en diferentes especies, incluida una mayor mortalidad (Munch y Conover, 2003), elevada tasa metabólica (Fischer *et al.*, 2005) y mayor susceptibilidad al estrés oxidativo (Alonso-Alvarez *et al.*, 2007; De Block y Stoks, 2008). La extensión de los periodos y severidad de la restricción alimenticia asociada al crecimiento compensatorio pueden variar y el conocimiento sobre el posible costo fisiológico durante este proceso en el camarón blanco *P. vannamei* es muy limitado.

Por otro lado, en las granjas de camarón, los organismos enfrentan regularmente variaciones de los parámetros del agua, lo que los expone a diversos factores de estrés abiótico como hipoxia, cambios de temperatura o alta concentración en amonio. Se ha demostrado que la exposición a estos estresores tiene un impacto significativo en el desarrollo de los crustáceos, afectando su crecimiento, metabolismo, sistema antioxidante y tasas de sobrevivencia (Li *et al.*, 2016; Duan *et al.*, 2018; Zhao *et al.*, 2020).

Algunas otras estrategias alimenticias o de cultivo son conocidas por tener efectos benéficos en la salud de los camarones. En particular, los alimentos suplementados con plantas con propiedades nutraceuticas han demostrado tener efectos positivos sobre la sobrevivencia y las capacidades antioxidantes de los camarones, especialmente en situaciones de estrés (Van Hai, 2015; Moghadam *et al.*, 2022). Así, el cultivo en sistemas de biofloc ha sido una de las principales soluciones para mejorar la producción, aumentando el rendimiento en términos de crecimiento, sobrevivencia y estado de salud de los camarones, al tiempo que proporciona beneficios económicos y ecológicos (Emerenciano *et al.*, 2021; Yu *et al.*, 2023).

Por lo anterior, el empleo del crecimiento compensatorio se presenta como una posible estrategia para dirigirse hacia una acuicultura sostenible, optimizando los costos económicos y ecológicos del cultivo de camarones. Sin embargo, antes de considerar una posible aplicación de esta estrategia alimenticia en los cultivos de camarones, es necesario evaluar los posibles costos fisiológicos, especialmente en términos de estrés oxidativo, que son poco conocidos en los crustáceos.

Este trabajo se centra en la evaluación de los posibles costos fisiológicos asociados al crecimiento compensatorio en términos de estrés oxidativo, sus posibles repercusiones en la capacidad del camarón *P. vannamei* para hacer frente a factores de estrés abióticos y en posibles soluciones para mitigarlos. El objetivo de este estudio es generar conocimiento para la comprensión y aplicación potencial de esta estrategia en granjas camaronícolas.

2. ANTECEDENTES

2.1 Biología y cultivo del camarón blanco *Penaeus vannamei*

El camarón blanco del Pacífico, *P. vannamei*, es un crustáceo decápodo de la familia Penaeidae. Se trata de una especie tropical nativa de la costa oriental del Océano Pacífico, que se extiende desde México a Perú que habita ambientes estuarinos y marinos dependiendo de la fase de su ciclo de vida (Briggs *et al.*, 2004). La reproducción y vida adulta tienen lugar en el mar, mientras que la fase juvenil ocurre en estuarios (Castille y Lawrence, 1981).

El desarrollo de técnicas acuícolas para la producción de camarones Peneidos en la década de los 70's, permitió la introducción del cultivo de esta especie teniendo la primera reproducción artificial de *P. vannamei* en 1973 (SIAP, 2019). El cultivo del camarón blanco se ha expandido en todo el mundo, incluyendo regiones como Asia desde 1988. Su éxito puede explicarse en parte por su rápido crecimiento y su tolerancia a patógenos. Desde 2001, China se ha convertido en el principal productor de camarón blanco del Pacífico (Jiang *et al.*, 2019a). A nivel nacional, los camarones, incluido *P. vannamei*, representan el grupo de mayor valor acuícola; su producción equivale a más del 35 % de la producción acuícola total y se concentra principalmente en tres estados: Sinaloa, Sonora y Nayarit (SAGARPA, 2017; SIAP, 2019).

2.2 Alimentación del camarón

La ingesta de nutrientes y las condiciones ambientales son los principales factores que afectan al crecimiento de camarones como *P. vannamei*. En su hábitat natural, el camarón blanco del Pacífico tiene una dieta omnívora, basada en organismos bentónicos, pero también en materia orgánica y detritus (Robertson *et al.*, 1993; Zheng *et al.*, 2008). Al igual que todos los organismos marinos, su dieta varía según la disponibilidad de alimento, que regularmente está influenciada por la estacionalidad, corrientes y migraciones. Por esta razón, los camarones pueden estar sujetos a diferentes períodos de ayuno o restricciones dietéticas en su entorno natural (Mehner y Wieser, 1994; Wu y Dong, 2001; Dai *et al.*, 2018).

En el caso de los camarones de cultivo, comúnmente se alimentan hasta la saciedad (Nunes *et al.*, 2006). Algunos de los principales insumos para la elaboración de los alimentos balanceados

utilizados para la engorda de camarón incluyen harina y aceite de pescado. Su uso se explica por su alto valor en aminoácidos y ácidos grasos esenciales, así como otros compuestos nutricionales indispensables para el camarón como el colesterol (Carranza, 1999; Dersjant-Li, 2002). Se estima que el camarón *P. vannamei* requiere un consumo de proteínas en el alimento mayor al 30 % para un crecimiento óptimo (Kureshy y Allen Davis, 2002; Xia *et al.*, 2010; Jatobá *et al.*, 2014; Shahkar *et al.*, 2014). Además de representar hasta el 60 % del costo de producción, el alimento balanceado es responsable del enriquecimiento con nutrientes disueltos en el agua. De hecho, una dieta rica en proteínas implica una alta liberación de amonio, como producto final del catabolismo de proteínas (Shahkar *et al.*, 2014), además de los nitratos, nitritos y fosfatos que se liberan como productos de desecho metabólico de los organismos a través de las heces o de las excreciones branquiales (Burford y Williams, 2001; Casillas-Hernández *et al.*, 2007). También, una parte del alimento, que comúnmente se da en exceso en las granjas camaronícolas (Kittiwanch *et al.*, 2012), no se consume y su degradación contribuye a la carga de materia orgánica en las aguas residuales que a menudo se liberan en las aguas costeras (Tovar *et al.*, 2000). Estos entornos limitados por nitrógeno (N) y fósforo (P) están desequilibrados y pueden presentar fenómenos de eutrofización (Herbeck *et al.*, 2013). Por razones económicas y ecológicas, la investigación de nuevos métodos de alimentación para la cría de camarones es muy activa (Shao *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2020; Moghadam *et al.*, 2022).

2.3 Crecimiento compensatorio

El fenómeno de crecimiento compensatorio se define como una aceleración del crecimiento del animal debido al retorno de las condiciones óptimas ambientales y/o nutricionales después de un período de estrés (Dobson y Holmes, 1984; Ali *et al.*, 2003) (Fig. 1). El estrés aplicado puede ser de naturaleza variada (Wei *et al.*, 2008; Wasielesky *et al.*, 2013), pero el fenómeno de crecimiento compensatorio más estudiado es el que ocurre como consecuencia de la restricción alimenticia (Maciel *et al.*, 2018).

Este fenómeno se ha observado tanto en plantas (Van Staalduinen y Anten, 2005) como en diversas clases de animales, entre ellos aves (Alonso-Alvarez *et al.*, 2007), reptiles (Xu *et al.*, 2014) o animales de granja tales como pollos (Trocino *et al.*, 2015), bovinos (Keogh *et al.*, 2019), cerdos (Mersmann *et al.*, 1987; Madsen y Bee, 2015), peces (Dobson y Holmes, 1984; Kim *et al.*, 2019) y camarones (Wu y Dong, 2001; Abgoun *et al.*, 2023).



Figura 1. Fenómeno de crecimiento compensatorio (Figura *modificada* de Bavera *et al.* (2005))

En el caso específico de *P. vannamei*, diversos estudios sobre el crecimiento compensatorio realizados en juveniles han demostrado un ahorro del 25 % de los costos de alimentación (Lara *et al.*, 2017; Abgoun *et al.*, 2023), una disminución significativa de las descargas de nitrógeno y fósforo (Zhu *et al.*, 2016b) y un aumento de la calidad del músculo (Abgoun *et al.*, 2023).

El ayuno temporal es la vía de restricción alimenticia principalmente utilizada en los estudios de crecimiento compensatorio en el camarón. En *P. vannamei* se ha demostrado la capacidad de compensar tras una estricta restricción a corto plazo. En un estudio realizado por Lin *et al.* (2008) los camarones sometidos a ayunos cortos, de 1 a 3 días, mostraron un crecimiento compensatorio completo después de un retorno a la alimentación normal durante 3 a 9 días, es decir que los organismos alcanzaron el peso de los organismos control al final del experimento.

En otros estudios, se han empleado restricciones por ciclos, basados en días de ayuno y de realimentación *ad libitum* (Wu y Dong, 2001; Zhu *et al.*, 2016b; Abgoun *et al.*, 2023). En un estudio realizado por Abgoun *et al.* (2023) en juveniles de *P. vannamei*, el primer tratamiento consistió en 1 día de ayuno seguido de 4 días de realimentación *ad libitum* (1:4), además de los tratamientos 2:8, 4:16, 8:32 (ayuno:realimentación) y finalmente un control sin periodos de ayuno. Estos ciclos fueron repetidos durante los 40 días del experimento. Al término del ensayo los camarones expuestos a los 3 ciclos más cortos (1:4, 2:8 y 4:16) presentaron un crecimiento compensatorio completo.

También, se han evaluado restricciones cíclicas a largo plazo en los camarones *P. vannamei* y *P. monodon*. Un estudio mostró un crecimiento compensatorio completo después de 119 días de restricción alimenticia en postlarvas de *P. monodon* (Mohanty y Mohapatra, 2017). El ciclo de restricción de la alimentación consistió en una semana de ayuno completo seguido de 3 semanas de realimentación. Sin embargo, el segundo tratamiento con dos semanas de recuperación sólo permitió alcanzar un crecimiento compensatorio parcial. De acuerdo con estos resultados, conforme más largo sea el período de recuperación después de una restricción, mayor será la respuesta de crecimiento compensatorio obtenida. Aunque este estudio muestra que los camarones logran un crecimiento compensatorio total a largo plazo, no siempre es así. En el estudio de Yildirim y Aktaş (2019), juveniles *P. vannamei* fueron sometidos a restricciones dietéticas cíclicas en la forma 1:1 (ayuno:realimentación), 2:2, 4:4, 7:7 durante 8 semanas y posteriormente alimentados normalmente durante 7 semanas. Ninguno de los 4 tratamientos probados logró alcanzar el peso de los organismos control, sin embargo, todos ellos mostraron un crecimiento compensatorio parcial con un aumento de la tasa de crecimiento específico (TCE) durante la fase de realimentación (Yildirim y Aktaş, 2019).

De esta forma, diversos estudios han demostrado los beneficios del uso de la restricción alimenticia para reducir el impacto económico sin modificar la biomasa obtenida. Además, diversos trabajos sugieren la existencia de mecanismos de adaptación de los organismos a la falta de alimento, en particular reduciendo la frecuencia o incluso deteniendo el proceso natural de muda para ahorrar energía (Comoglio *et al.*, 2004; Pascual *et al.*, 2006). Por otra parte, diferentes estudios remarcan la regulación de las actividades de las enzimas digestivas durante el ayuno en

P. vannamei (Muhlia-Almazán y García-Carreño, 2002; Comoglio *et al.*, 2004; Dai *et al.*, 2018). Además, la alteración de la tasa metabólica, que disminuye en los juveniles *F. chinensis* expuestos a ayuno (Zhang *et al.*, 2009), o la explotación de las reservas energéticas (Pascual *et al.*, 2006; Sánchez-Paz *et al.*, 2007) permite a los camarones hacer frente a la falta de alimentos y exhibir una baja pérdida de peso (Muhlia-Almazán y García-Carreño, 2002; Pascual *et al.*, 2006) y baja mortalidad durante estos períodos de estrés (Pascual *et al.*, 2006).

Dentro de los mecanismos de adaptación para sobrevivir a períodos de ayuno, algunos estudios han demostrado un costo fisiológico para el sistema inmune en *P. vannamei*. Así, se ha observado una disminución en diferentes indicadores del sistema inmune, como el número de hemocitos o de enzimas cuya actividad se asocia a la respuesta inmune, como la fenoloxidasa (FO). De igual forma, la actividad de esta enzima se reduce a partir de los 7 días de ayuno (Pascual *et al.*, 2006; Lin *et al.*, 2012). Además, si bien la realimentación después de 7 días de ayuno permitió el retorno a valores similares a los del control, la fatiga inmune no permitió el retorno a la normalidad tras 14 días de ayuno (Lin *et al.*, 2012). En resumen, el declive del sistema inmune durante los períodos de ayuno prolongado expone a los camarones a mayores factores de riesgo de infección con patógenos y a una mayor mortalidad en caso de infección, en particular al virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV) (Lin *et al.*, 2012; Dai *et al.*, 2018).

Como se ha mencionado anteriormente, el fenómeno de crecimiento compensatorio puede ser resultado de estrictas restricciones alimenticias en camarones. El ayuno, por otro lado, tiene importantes consecuencias fisiológicas y metabólicas. Otros estudios intentaron lograr un crecimiento compensatorio mediante restricciones dietéticas menos estrictas (Wu *et al.*, 2001; Lara *et al.*, 2017; Prates *et al.*, 2023). Por un lado, juveniles de *F. chinensis*, sometidos a 10 días de restricción de alimento (al 12 % del peso por día) mostraron un fenómeno de crecimiento compensatorio completo después de 30 días de recuperación respecto a camarones alimentados a saciedad (aproximadamente 16 % del peso por día) (Wu *et al.*, 2001). Las mayores restricciones, correspondientes al 8 y 4 % del peso por día, no alcanzaron el peso de los organismos control al final de los 30 días de recuperación. Sin embargo, se observó una compensación parcial, presentada por una TCE (tasa de crecimiento específico) más alta durante los días de recuperación en comparación con los organismos control (Wu *et al.*, 2001). Un comportamiento

similar se reportó en un estudio realizado con biofloc, en el que sometieron a juveniles de *P. vannamei* a diferentes niveles de restricciones dietéticas durante un período de 21 días, seguido de un período de realimentación *ad libitum* de 29 días (Lara *et al.*, 2017). Los organismos alimentados entre el 0 y el 28.7 % no lograron una compensación total para alcanzar el peso de los organismos control al final del período de recuperación, sin embargo, mostraron un crecimiento compensatorio parcial. Por otro lado, el tratamiento con 42.9 % de alimentación mostró un crecimiento compensatorio completo después de 29 días de recuperación.

2.4 Costos fisiológicos de la restricción alimenticia y del crecimiento compensatorio en términos de estrés oxidativo

Los organismos acuáticos como los crustáceos están comúnmente expuestos a restricciones alimenticias en sus condiciones naturales y para superarlas han desarrollado estrategias que promueven la utilización de las reservas energéticas (Pascual *et al.*, 2006; Stumpf *et al.*, 2019).

En ausencia de estrés nutricional, se acepta comúnmente que la proteína es el principal recurso energético utilizado por los crustáceos (New, 1976; Davis, 2005; Sánchez-Paz *et al.*, 2006). Se sabe que comúnmente un alto nivel de inclusión de proteínas, superior al 32 % en el caso de *P. vannamei*, es necesario para el crecimiento óptimo de los crustáceos en cultivo semi-intensivos (Pascual *et al.*, 2006; Emerenciano *et al.*, 2022). En cuanto a los carbohidratos, el glucógeno y la glucosa están fuertemente involucrados en la formación de quitina durante el ciclo de muda de los crustáceos (Cuzon *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2016). Por otro lado, su uso es limitado, dependiendo de la complejidad de los carbohidratos y a menudo se consideran no esenciales para el crecimiento correcto de los crustáceos (Pascual *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2016). Sin embargo, los carbohidratos se integran en el alimento balanceado por su bajo costo económico (Davis, 2005; Pascual *et al.*, 2006). Los lípidos son componentes esenciales de la dieta de los crustáceos, en particular por su contenido en ácidos grasos, necesario para el desarrollo adecuado de los organismos (Davis, 2005; Glencross, 2009). La ingesta de lípidos influye en particular en el crecimiento de las primeras etapas de la vida, la reproducción, la muda y la capacidad de formar glucosa a través de la glucogénesis (Rosa *et al.*, 2005; Pascual *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2016). Por ejemplo, se ha determinado, que niveles altos de inclusión de lípidos hasta el 10-12 % pueden mejorar el crecimiento del camarón *P. vannamei* (Zhang *et al.*, 2013; Xie *et al.*, 2019).

Por otra parte, los crustáceos decápodos muestran usos distintos de los recursos energéticos durante la aplicación de restricción alimenticia. En el caso de los lípidos, se ha demostrado que son reservas energéticas esenciales y que su uso puede ser prioritario durante la restricción alimenticia. Sin embargo, durante períodos largos de ayuno, se ha visto que las proteínas son los recursos energéticos más utilizados por los crustáceos (Anger, 2001; Simon *et al.*, 2015; Steinberg, 2018; Shao *et al.*, 2020). Por ejemplo, en el estudio de Pascual *et al.*, (2006), el uso de lípidos por *P. vannamei* empezó después de 7 días de ayuno, mientras que el contenido de proteínas sólo disminuyó después de 14 días. También se observó la priorización del uso de los lípidos tras la aplicación de la restricción alimenticia en el cangrejo de río *Sagmariasus verreauxi* (Simon *et al.*, 2015) o en la langosta *Jasus edwardsii* (Ritar *et al.*, 2003). Los estudios sugieren que los lípidos son explotados para sobrevivir a la falta de ingesta de alimentos, seguidos por las proteínas durante el alargamiento del estrés nutricional (Anger, 2001).

La importancia de la utilización de los carbohidratos durante el estrés nutricional también se demostró en diferentes especies de crustáceos. Por ejemplo, se observó que en *P. vannamei* sometido a un ayuno de corta duración de 120 h, los carbohidratos son utilizados prioritariamente por los organismos, seguidos de los lípidos y las proteínas (Sánchez-Paz *et al.*, 2007). Estos resultados están respaldados por la observación del uso rápido de glucógeno de la glándula digestiva después de 3 días de ayuno en el camarón *Palaemonetes argentinus* y la langostina *Munida gregaria* y después de 6 días de ayuno en el cangrejo *Cherax quadricarinatus* (Sacristán *et al.*, 2017). El rápido uso del glucógeno también se demostró en el cangrejo *C. quadricarinatus* bajo restricción dietética a largo plazo (30 días) (Sacristán *et al.*, 2016).

Existe una gran diversidad de resultados sobre la utilización de los recursos energéticos durante los períodos de restricción alimentaria aplicada a los crustáceos. Se mencionan muchos factores que intervienen en este proceso, como la etapa de desarrollo de los organismos (Ritar *et al.*, 2003), la composición del alimento administrado anteriormente (Pascual *et al.*, 2006), la variedad de ambientes o la etapa de muda (Sacristán *et al.*, 2017). Sin embargo, se puede asumir que la movilización de los recursos energéticos es una adaptación de los crustáceos para superar el estrés impuesto por la recesión alimenticia. Dado que la modulación de la utilización de la glucosa

y de los lípidos puede influir en la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) (Fanjulmoles y Gonsebatt, 2011; Najafi *et al.*, 2014; Hidalgo *et al.*, 2017), cabe suponer que la adaptación del metabolismo durante el estrés nutricional puede tener un costo fisiológico en términos de estrés oxidativo.

Actualmente se acepta que el estrés oxidativo ocurre en organismos sometidos a algún factor de estrés significativo (Lushchak, 2011). El estrés oxidativo se define como un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) y su eliminación (Halliwell, 2007). Las EROs son moléculas altamente reactivas que incluyen el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el hidrógeno peróxido (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($\cdot OH$) (Lushchak, 2014) y se producen de forma natural por la reducción parcial del oxígeno y sus fuentes de producción en el organismo son variadas. En primer lugar, son subproductos inevitables de la respiración aeróbica en las mitocondrias (Lushchak, 2014). Sin embargo, otros mecanismos intervienen en la producción de EROs, como la autooxidación, la fagocitosis y la acción de enzimas específicas (NADPH oxidasa, oxidasa dual, xantina oxidasa) (McCord, 1985; Scherz-Shouval y Elazar, 2007; Raman *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2011, 2016). Pocos estudios miden directamente la producción de EROs, sin embargo, recientemente se ha demostrado que los camarones *Neocaridina davidi* sometidos a 14 días de ayuno mostraron un aumento significativo de la producción de EROs en las células del intestino y el hepatopáncreas (Włodarczyk *et al.*, 2019). El aumento significativo de la producción de EROs como resultado de restricción alimenticia también se confirmó en experimentos en el pez payaso canela (*Amphiprion melanopus*) y el pez mandarín (*Siniperca chuatsi*) (Choi *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2020). Las EROs son moléculas ambivalentes y esenciales en bajas concentraciones para el correcto funcionamiento de la célula, particularmente por su función de mensajeros secundarios (Chen *et al.*, 2005; Raman *et al.*, 2008). Al mismo tiempo, en altas concentraciones su alta reactividad es conocida por causar la oxidación de componentes celulares como lípidos, proteínas o ADN (Storey, 1996; Wang *et al.*, 2009; Qiu *et al.*, 2011). Por lo tanto, la concentración de EROs debe mantenerse en un nivel de equilibrio. Para mantener un nivel de EROs estable, los organismos han establecido sistemas antioxidantes responsables de su eliminación (Lesser, 2006). Como enzima antioxidante de primera línea y considerada la más potente de la célula (Ighodaro y Akinloye, 2018), la evaluación de la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) es esencial para evaluar el estrés oxidativo generado por algún estresor. En consonancia con el

aumento de los EROs, se ha demostrado que la concentración la actividad de la SOD aumenta significativamente en crustáceos sometidos a periodos de ayuno (Barim-Oz y Sahin, 2016; Dai *et al.*, 2018; Włodarczyk *et al.*, 2019).

Cuando las EROs generadas no son neutralizadas por el sistema antioxidante, tienden a estabilizarse atacando biomoléculas (Halliwell y Gutteridge, 2015). La peroxidación de los lípidos ocurre cuando las EROs, como el radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), atacan la doble unión de carbono de los lípidos, sustrayendo un átomo de hidrógeno (Ayala *et al.*, 2014; Halliwell y Gutteridge, 2015). Este proceso genera la formación de peróxidos lipídicos. Los lípidos afectados son principalmente ácidos grasos poliinsaturados, pero también moléculas como el colesterol o los fosfolípidos (Ayala *et al.*, 2014) son susceptibles a la peroxidación. Posteriormente, durante la descomposición de los peróxidos lipídicos, se producen varios compuestos reactivos, tales como los aldehídos hidroxinonal (4-HNE) y malondialdehído (MDA) (Ayala *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2014; Tsikas, 2017). Como producto final de la peroxidación de los lípidos, el MDA, altamente mutagénico, se utiliza comúnmente como biomarcador del estrés oxidativo en estudios realizados en camarones (Ayala *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2016; Tsikas, 2017; Duan *et al.*, 2018; Ou *et al.*, 2022). Existen pocos estudios sobre las repercusiones de la restricción alimenticia en el estrés oxidativo de crustáceos. Sin embargo, un estudio realizado con el cangrejo *Astacus leptodactylus* reveló un aumento significativo de la concentración de MDA en el hepatopáncreas de organismos sometidos a 3 días de ayuno (Barim-Oz y Sahin, 2016). La peroxidación de los lípidos aumentó con el tiempo de ayuno hasta alcanzar su máximo después de 78 días de ayuno. En numerosos estudios realizados con diferentes especies de peces, sometidos a períodos de ayuno de entre 3 días y 6 semanas, también se ha observado un aumento de la peroxidación lipídica (Morales *et al.*, 2004; Choi *et al.*, 2012; Najafi *et al.*, 2014; Zheng *et al.*, 2016; Hidalgo *et al.*, 2017; Varju *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2019).

Es importante subrayar que estos resultados muestran que el sistema antioxidante no fue suficiente para combatir la sobreproducción de EROs y, por lo tanto, demuestran que la restricción dietética completa es un factor de estrés oxidativo en organismos acuáticos (Morales *et al.*, 2004; Barim-Oz y Sahin, 2016).

Por otro lado, durante la realimentación se observan dos perfiles principales de restauración del daño provocado durante la peroxidación lipídica. Por un lado, algunos peces muestran una disminución de la concentración de MDA durante la realimentación (Morales *et al.*, 2004; Najafi *et al.*, 2014; Hidalgo *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2019), un mecanismo que permite a los organismos recuperar el estado previo al ayuno (Halliwell y Gutteridge, 2015). Sin embargo, en otros casos el período de realimentación no permitió que tanto peces (*Acipenser naccarii*, *Oncorhynchus mykiss* y *Salmo trutta*) como cangrejos (*Astacus leptodactylus*) disminuyeran la peroxidación de los lípidos producidos durante el periodo de ayuno (Furné *et al.*, 2009; Bayir *et al.*, 2011; Barim-Oz y Sahin, 2016). Se ha sugerido que el tiempo de recuperación pudiera explicar la ausencia de un proceso de restauración del daño provocado por el estrés oxidativo generado durante la restricción alimenticia (Bayir *et al.*, 2011).

Además de ser una consecuencia del ayuno, también se menciona el estrés oxidativo como eventual costo fisiológico del crecimiento compensatorio en diferentes especies de peces (Costantini *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2019), aves (Alonso-Alvarez *et al.*, 2007) o libélulas (De Block y Stoks, 2008; Janssens y Stoks, 2020). Por ejemplo, en peces espinosos (*Gasterosteus aculeatus*) sometidos a estrés hipertérmico, se demostró que el crecimiento acelerado que permitía el crecimiento compensatorio completo de los organismos estaba positivamente correlacionado con la tasa de daño oxidativo del ADN (Kim *et al.*, 2019). Además, en las libélulas *Lestes viridis*, las actividades de las enzimas SOD y catalasa (CAT), la producción del anión superóxido (O_2^-) y por lo tanto la concentración de MDA, fueron significativamente mayores durante el período de crecimiento compensatorio que durante el período de restricción alimenticia o que en el grupo control (De Block y Stoks, 2008; Janssens y Stoks, 2020). El aumento de la producción de EROs podría explicarse por la aceleración del metabolismo durante el período de crecimiento compensatorio (De Block y Stoks, 2008), verificado por un aumento de la tasa respiratoria en libélulas (Stoks *et al.*, 2006).

Por otra parte, se ha reportado que en especímenes del ave *Taeniopygia guttata* que mostraron un crecimiento compensatorio completo después de un período de estrés alimentario, la resistencia de los glóbulos rojos a los radicales libres disminuyó en comparación con los organismos del grupo control (Alonso-Alvarez *et al.*, 2007).

De acuerdo con la literatura citada, el fenómeno de crecimiento compensatorio puede ser responsable de un aumento de la producción de EROs y puede disminuir la resistencia de los organismos a los radicales libres, dos factores que pueden inducir estrés oxidativo.

2.5 Exposición de los camarones a factores abióticos

El estrés, definido como una alteración de la homeostasis (Moberg, 2000) puede ser causado por variaciones de los parámetros del agua en los organismos acuáticos (Cheng *et al.*, 2005; Pan *et al.*, 2007; Qiu *et al.*, 2011). El pH, la temperatura, la concentración de oxígeno o la concentración de amonio pueden actuar como estresores cuando se acercan a los límites de tolerancia de los camarones en los cultivos.

Como la mayoría de los animales marinos, los camarones son organismos poiquiloterms (Hardin *et al.*, 1985), cuya temperatura interna varía con la temperatura externa. Por esta razón, las variaciones de temperatura tienen un impacto significativo en la actividad general de los camarones (Ponce-Palafox *et al.*, 1997). De hecho, el estrés térmico tiene diversos efectos en el camarón incluyendo la alteración del metabolismo (Allan *et al.*, 2006; González *et al.*, 2010), sistema reproductivo (Perez-Velazquez *et al.*, 2001), sistema inmune (Rahman *et al.*, 2007) y crecimiento de los camarones *Penaeus* (Wyban *et al.*, 1995). Por lo tanto, es esencial determinar la temperatura óptima para el cultivo de camarón. Basándose en el crecimiento de los organismos a diferentes temperaturas, se determinó que la temperatura óptima depende en gran medida del tamaño del camarón (Wyban *et al.*, 1995). En *P. vannamei*, una temperatura de entre 27 y 30 °C permite un crecimiento más rápido en camarones juveniles, mientras que se recomienda una temperatura de entre 26 y 27 °C para camarones adultos (Wyban *et al.*, 1995; Ponce-Palafox *et al.*, 1997; Hernández *et al.*, 2006; González *et al.*, 2010). Los estudios de estrés térmico en juveniles *P. vannamei* se realizan comúnmente a temperaturas del agua superior a 32 °C (Duan *et al.*, Estrada-Cárdenas *et al.*, 2021, Rahman *et al.*, 2007).

La concentración del oxígeno disuelto es otro factor ambiental muy importante para el desarrollo del camarón. El oxígeno es un sustrato esencial para el metabolismo aeróbico y, por tanto, para la generación de energía de los organismos. En el caso de *P. vannamei*, la normoxia se establece

por una concentración en oxígeno disuelto encima de $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, pero en las granjas acuícolas puede ser difícil mantener estas condiciones (Nguyen *et al.*, 2022), lo que lleva a situaciones de hipoxia cuando la concentración baja de este nivel (Han *et al.*, 2017). La mayoría de los estudios sobre hipoxia en *P.vannamei* se realizan con concentraciones de oxígeno de $2 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ o menos (Thulasi *et al.*, 2020; Ulaje *et al.*, 2020). En condiciones de hipoxia, se observa un aumento del lactato en *P. vannamei* (Racotta *et al.*, 2002; Pérez-Rostro *et al.*, 2004), que es el producto final de la vía anaeróbica de la glicolisis. La producción de energía por la vía anaeróbica permite producir energía para evadir el estrés, aunque implica una reducción del crecimiento (Ocampo *et al.*, 2000; Han *et al.*, 2017), disminución de la respuesta inmune (Cheng *et al.*, 2002; Hu *et al.*, 2009) y el desencadenamiento de estrés oxidativo (Zenteno-Savín *et al.*, 2006).

El amonio es otro importante factor limitante en la producción de camarones (Xiao *et al.*, 2019). El amonio es uno de los principales productos del catabolismo de las proteínas y está presente principalmente en el agua en dos formas, la ionizada (NH_4^+) y la no ionizada (NH_3) (Harris *et al.*, 1998). El estado no ionizado del amonio (NH_3) es el más peligroso, ya que puede atravesar la membrana por gradiente de presión. La relación $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ está fuertemente influenciada por el pH del agua, con un aumento del pH que tiende a elevar los niveles de NH_3 (Randall y Tsui, 2002).

La exposición a factores de estrés puede aumentar la concentración de EROs en los tejidos. Este fenómeno se observa, por ejemplo, en *P. vannamei* tras la exposición a hipotermia (Qiu *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2014), a períodos de hipoxia y reoxigenación (Zenteno-Savín *et al.*, 2006) y en *Macrobrachium rosenbergii* como consecuencia a la exposición a altas concentraciones de amonio durante 24 h (Zhang *et al.*, 2015). Así, se observaron cambios en las actividades de enzimas antioxidantes al exponerse a un factor estresante abiótico en diferentes animales acuáticos (Paital y Chainy, 2010; Foschi *et al.*, 2011; Madeira *et al.*, 2013). Por ejemplo, se ha reportado una disminución en la actividad de la SOD en camarones (*P. vannamei*) expuestos a hipertermia de $32 \text{ }^\circ\text{C}$ (Cheng *et al.*, 2005). Por otro lado, la actividad de la SOD aumentó en camarones de la misma especie expuestos a la hipoxia (Parrilla-Taylor y Zenteno-Savín, 2011; Li *et al.*, 2016) o tras una exposición de 12 h a una concentración en amonio de $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Lv *et al.*, 2021). La SOD es la enzima antioxidante de primera línea para la eliminación de las EROs; sin embargo otra EROs, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), es el resultado de su reacción (McCord y

Fridovich, 1969). Su eliminación se apoya en otras enzimas antioxidantes como la CAT y la glutatión peroxidasa (GPx) (Mills, 1957; Chance *et al.*, 1979). La actividad de estas enzimas no se alteró cuando los camarones del Pacífico fueron expuestos al estrés por hipoxia, sin embargo, su actividad aumentó significativamente durante la reoxigenación (Parrilla-Taylor y Zenteno-Savín, 2011). En el camarón *P. vannamei*, expuesto a una concentración de amonio de $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, la actividad de la CAT se incrementó significativamente desde las 6 h de exposición, hasta las 24 h, para posteriormente disminuir a un nivel basal después de 48 h de estrés (Jiang *et al.*, 2019b). Por otra parte, las actividades de estas enzimas muestran un aumento durante el estrés hipo e hipertermal (de Souza *et al.*, 2014). El aumento de la actividad de las enzimas antioxidantes es coherente con el aumento de la concentración de EROs y, en algunos casos, es suficiente para prevenir el daño celular causado por ellos (Zenteno-Savín *et al.*, 2006). En otros casos la observación de un aumento de la concentración de MDA (Abele *et al.*, 2012), permite afirmar que la alteración de condiciones de térmicas (hipertermia), oxigénicas (hipoxia) o de concentración en amonio pueden inducir estrés oxidativo en *P. vannamei* (Qiu *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2016; Liang *et al.*, 2016; Lv *et al.*, 2021).

El daño celular causado por el estrés oxidativo también puede observarse mediante análisis histológicos (Sun *et al.*, 2015). Los camarones *P. vannamei* y *Macrobrachium nipponense* expuestos a varios días de hipoxia mostraron lesiones celulares tanto en hepatopáncreas como en intestino y branquias (Sun *et al.*, 2015; Han *et al.*, 2018). Sin embargo, se han realizado pocos estudios histológicos en camarones expuestos a amonio. En el estudio de Liang *et al.* (2016), el camarón *P. vannamei* no mostró daños histológicos después de 96 h de exposición a altas concentraciones de amonio.

También, se ha demostrado que la disminución del crecimiento causada por períodos de estrés hipóxico e hipertérmico temporal, se compensa en los organismos acuáticos mediante fenómenos de crecimiento compensatorio al volver a condiciones óptimas (Van Dijk *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2019). Por ejemplo, la disminución de peso como consecuencia de la exposición a condiciones de hipoxia durante 10 días (entre 2 y $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de oxígeno disuelto) impuesta a juveniles del camarón *Fenneropenaeus chinensis* se compensó plenamente después de 40 días de normoxia (Wei *et al.*, 2008). Por otra parte, se ha observado que tanto en el pez

Rutilus rutilus como en el camarón *F. chinenses* la respuesta de crecimiento compensatorio tras la restricción alimenticia fue influenciada por la temperatura (Van Dijk *et al.*, 2005).

Hasta la fecha, existen pocos estudios sobre el efecto de la restricción dietética en la susceptibilidad de los camarones a factores abióticos. Sin embargo, se sabe que el estado fisiológico de los organismos influye en su respuesta al estrés por hipoxia (Herreid, 1980). Más aún, se ha demostrado que la exposición del *P. vannamei* a un ayuno de 48 h está asociada con un aumento de la dosis letal de oxígeno disuelto (Zhang *et al.*, 2006). Además, se ha demostrado que la exposición de *P. vannamei* a una alta concentración de amonio afecta a la susceptibilidad a otros factores de estrés, incluidos los bióticos (Kathyayani *et al.*, 2019).

2.6 Alimentos suplementados

Las propiedades medicinales de las plantas han sido aprovechadas por los humanos desde al menos 5,000 años (Parasuraman, 2018). En el campo de la acuicultura, en los últimos años se ha observado un notable interés en la investigación sobre la adición de suplementos vegetales en alimentos artificiales para peces y crustáceos (Reverter *et al.*, 2014; Van Hai, 2015; Hernández-Contreras y Hernández, 2020).

Existen numerosas sustancias activas en las plantas que han demostrado tener efectos benéficos en el rendimiento de peces y camarones, especialmente en términos de crecimiento y eficiencia de conversión alimenticia (Reverter *et al.*, 2014). Además, los efectos inmunomoduladores de diferentes dietas suplementadas con plantas han mostrado ser prometedores y podrían, a largo plazo, reemplazar el uso generalizado de antibióticos en la industria acuícola (Lawhavinit *et al.*, 2011; Reverter *et al.*, 2014; Hernández-Contreras y Hernández, 2020).

La cúrcuma (*Cúrcuma longa* Linn.), una planta asiática de la familia Zingiberaceae, posee propiedades medicinales gracias a su compuesto activo: la curcumina (Vanichkul *et al.*, 2010; Kocaadam y Şanlıer, 2017). La cúrcuma se puede incorporar en la dieta de peces y camarones de diversas maneras: en polvo (Moghadam *et al.*, 2022), como extracto (Vanichkul *et al.*, 2010), en polvo de curcumina encapsulado (Bhoopathy *et al.*, 2021; Moghadam *et al.*, 2022) o sin encapsular (Mahmoud *et al.*, 2017; Ming *et al.*, 2020). La administración de alimentos

suplementados con cúrcuma ha demostrado efectos promotores del crecimiento en varios peces, como la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon Idella*) o la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). También en el camarón *P. vannamei*, la inclusión de la cúrcuma en forma de polvo o extracto en el alimento, ha mostrado efectos positivos significativos en el crecimiento después de 9 semanas de periodo experimental (Lawhavinit *et al.*, 2011; Moghadam *et al.*, 2022). Además, se observó la estimulación del sistema inmune de *P. vannamei* al utilizar dietas que contienen cúrcuma, destacándose, entre otros efectos, un aumento en la actividad de la fenoloxidasas o en el número de células hemocíticas (Lawhavinit *et al.*, 2011; Bhoopathy *et al.*, 2021; Andrianti y Mira, 2022). Debido a las propiedades antimicrobianas e inmunomoduladoras asociadas con la cúrcuma, su inclusión en la alimentación de *P. vannamei* ha conferido una mejor resistencia durante la infección por bacterias del género *Vibrio* (Vanichkul *et al.*, 2010; Lawhavinit *et al.*, 2011; Bhoopathy *et al.*, 2021). Una de las propiedades más reconocidas de la curcumina es su capacidad antioxidante (Kocaadam y Şanlıer, 2017). Se sabe que las capacidades de las enzimas antioxidantes están parcialmente vinculadas a los nutrientes ingeridos (Winston y Di Giulio, 1991; Moghadam *et al.*, 2022). Por ejemplo, en el camarón blanco del Pacífico, las actividades de las enzimas antioxidantes SOD y CAT aumentaron significativamente en organismos alimentados con suplementos de cúrcuma (Moghadam *et al.*, 2022). Debido a su estructura hidrofóbica y su rápida metabolización, la curcumina tiene una baja biodisponibilidad, es decir, una gran parte de la cantidad ingerida no es absorbida por el organismo (Anand *et al.*, 2007; Kocaadam y Şanlıer, 2017). La baja biodisponibilidad del principio activo de la cúrcuma es el mayor obstáculo para su aplicación en la alimentación de la industria acuícola (Kotha y Luthria, 2019). Sin embargo, ahora se sabe que la combinación de la cúrcuma con pimienta negra (*Piper nigrum*) permite aumentar la biodisponibilidad de la curcumina gracias a la acción de la piperina (Kocaadam y Şanlıer, 2017). Se ha demostrado que la combinación de piperina y curcumina aumenta la biodisponibilidad de esta última en un 154 % en ratas y un 2000 % en humanos (Shoba *et al.*, 1998). Además, la pimienta ha sido reconocida por tener propiedades benéficas como antioxidantes o antiinflamatorias (Srinivasan, 2007). El pez *Clarias gariepinus* alimentado con una dieta suplementada con un 0.5 % de cúrcuma y un 0.1 % de pimienta negra mostró una mayor resistencia al estrés por cadmio en comparación con la observada en peces alimentados con una dieta normal o suplementada solamente con cúrcuma (El-Houseiny *et al.*, 2019). También, *P. vannamei* alimentado durante 53 días con una dieta suplementada en piperina, demostró un

incremento significativo en la actividad de la SOD en hemolinfa comparada con la de los organismos de referencia (Shin *et al.*, 2023).

Aunque menos estudiada que la cúrcuma, la planta *Lepidium meyenii*, comúnmente conocida como "Maca", también muestra promisorios beneficios para su aplicación en nutrición acuícola (Lee *et al.*, 2004; Gonzales, 2012). Originaria de Perú, la maca es una planta de la familia Brassicaceae que crece a altas altitudes (Sánchez *et al.*, 2017). Aunque generalmente se la conoce por sus supuestas virtudes en la fertilidad masculina y femenina (Lee *et al.*, 2016; Sánchez *et al.*, 2017), se ha demostrado en estudios con *O. mykiss* y *Piaractus brachipomus* que su inclusión en la dieta de estos peces tiene un efecto significativo como promotor del crecimiento (Lee *et al.*, 2004, 2005; Palacios *et al.*, 2006). El efecto de la maca en el crecimiento de los peces parece atribuirse al aumento de la palatabilidad del alimento (Lee *et al.*, 2004, 2005; Palacios *et al.*, 2006), lo que aumenta la ingestión de alimento. Además, se ha demostrado in vitro que la maca tiene propiedades antioxidantes (Lee *et al.*, 2005) y, asociada con la cúrcuma, aumenta la capacidad de resistencia de *P. vannamei* a la infección por la bacteria que provoca la enfermedad de la Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND, por sus siglas en inglés) (Cabrera-Stevens *et al.*, 2022; Quiroz-Guzmán *et al.*, 2022).

2.7 Cultivo de *P. vannamei* en sistema Biofloc

La tecnología de biofloc (BFT) se ha establecido en los últimos años como una respuesta destacada a los desafíos de la acuicultura, incluido el cultivo de camarón (Abakari *et al.*, 2021; El-Sayed, 2021). La producción de efluentes en el cultivo de camarones representa una problemática mayor (Emerenciano *et al.*, 2017; Iber y Kasan, 2021). Especialmente ricos en desechos metabólicos como amonio o urea, los efluentes descargados en el ambiente han demostrado tener impactos negativos en los ecosistemas (Na nakorn *et al.*, 2017; Barcellos *et al.*, 2019; Iber y Kasan, 2021). En contraste, la tecnología de biofloc se caracteriza por requerir cambios de agua mínimos o casi nulos (Lara *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2023). Al introducir una fuente de carbono, se promueve el desarrollo de comunidades microbianas que, a través de procesos como la nitrificación, contribuyen significativamente a la conversión del amonio en nitrato y nitrito (Kumar *et al.*, 2018; Abakari *et al.*, 2021). En un contexto donde la alimentación constituye el componente más costoso del cultivo de camarones (Romano y Kumar, 2017) y donde se busca constantemente

mejorar el rendimiento de los organismos, el biofloc presenta una ventaja significativa. De hecho, las comunidades microbianas se agregan con la materia orgánica y los sustratos físicos para formar los flóculos, que pueden ser ingeridos por los camarones (Emerenciano *et al.*, 2017). Los flóculos son una fuente constante de nutrientes, ricos en proteínas, aminoácidos, lípidos, vitaminas y minerales, disponibles permanentemente para los camarones (Ju *et al.*, 2008; Xu y Pan, 2012; Khanjani *et al.*, 2020). Así, la eficiencia alimenticia de *P. vannamei* se incrementó en condiciones de biofloc (Kumar *et al.*, 2018; Khanjani *et al.*, 2020; Dorothy *et al.*, 2021). La optimización de la eficiencia alimenticia puede atribuirse a la gran proporción de proteínas en los flóculos (Dorothy *et al.*, 2021) y al aumento de las capacidades digestivas debido al aumento de la actividad de las enzimas digestivas en condiciones de biofloc (Xu y Pan, 2012). Por estas características, la ingestión de flóculos promueve el crecimiento de los camarones en comparación el de aquellos en condiciones de cultivo en agua clara (Xu y Pan, 2012; Khanjani *et al.*, 2020; Hussain *et al.*, 2021). Por ejemplo, el cultivo de *P. vannamei* en un sistema de biofloc durante 8 semanas permitió obtener un incremento del 14 % de ganancia de masa en comparación con la observada en camarones mantenidos en agua clara (Hussain *et al.*, 2021). Además de influir en el crecimiento de los camarones, el cultivo en un sistema de biofloc mejora su estado de salud general, como se evidencia en un aumento de la tasa de sobrevivencia (Kumar *et al.*, 2018; Mani *et al.*, 2021). La ingestión de flóculos también tiene un efecto inmunopotenciador al aumentar la capacidad del sistema antioxidante (Xu y Pan, 2013; El-Sayed, 2021). Por ejemplo, las actividades de la SOD, CAT y Gpx fueron significativamente más altas en hepatopáncreas de *P. vannamei* en condiciones de biofloc que en agua clara (Dorothy *et al.*, 2021). Así, se asume que al reforzar el sistema antioxidante, el biofloc proporciona herramientas para combatir el estrés oxidativo (El-Sayed, 2021). Las numerosas ventajas del sistema biofloc promueven esta estrategia de cultivo como muy prometedora para avanzar hacia una acuicultura sostenible y eficiente.

3. JUSTIFICACIÓN

La restricción temporal de alimento seguida del fenómeno del crecimiento compensatorio en el camarón es una estrategia de interés por el uso más eficiente de alimentos balanceados que resulta en una disminución en costos de producción. Sin embargo, varios estudios han revelado consecuencias fisiológicas asociadas al crecimiento compensatorio, especialmente en términos de estrés oxidativo, un aspecto poco conocido en camarones.

Antes de considerar la aplicación de la restricción alimenticia seguida de la realimentación como una estrategia de manejo del cultivo de camarón, es necesario estudiar sus posibles consecuencias. Además, dado que las granjas acuícolas están regularmente expuestas a variaciones extremas de parámetros físicoquímicos del agua como la temperatura, concentración de oxígeno disuelto o concentración de amonio, es esencial que la estrategia alimenticia no afecte la capacidad de resistencia de los camarones a factores de estrés abióticos.

Por otro lado, la aplicación de dietas suplementadas o el cultivo en un sistema de biofloc son métodos reconocidos en la actualidad por sus beneficios para la salud de los camarones y podrían ser considerados para atenuar las posibles consecuencias del crecimiento compensatorio.

4. HIPÓTESIS

Si el crecimiento compensatorio provoca estrés oxidativo en el camarón *Penaeus vannamei*, esta estrategia podría afectar su capacidad de resistencia durante eventos de estrés abiótico.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar la generación de estrés oxidativo en *P. vannamei* durante el crecimiento compensatorio, su impacto en condiciones estresantes y estrategias posibles para disminuirlo.

5.2 Objetivos particulares

- i. Determinar el estrés oxidativo generado durante el crecimiento compensatorio en el camarón blanco del Pacífico *P. vannamei*.
- ii. Evaluar el estatus oxidativo de los camarones en crecimiento compensatorio durante la aplicación de factores de estrés abióticos: hipertermia, hipoxia y reoxigenación y alta concentración de amonio.
- iii. Evaluar estrategias de cultivo para atenuar el estrés causado por el crecimiento compensatorio en *P. vannamei*.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Aplicación de restricción alimenticia continua para promover el crecimiento compensatorio y evaluar la susceptibilidad a factores de estrés abióticos

Se realizaron 2 experimentos en dos etapas principales, 1) la promoción de crecimiento compensatorio y 2) la aplicación de factores de estrés abiótico.

El experimento 1 consistió en la evaluación en cámaras metabólicas de estrés por hipertermia e hipoxia (12 h) en camarones bajo crecimiento compensatorio generado con una restricción alimenticia del 50 % (10 días de restricción y 40 de recuperación *ad libitum*) (Fig. 2). En paralelo, en el experimento 2, se evaluó el estrés por amonio (12 h) en camarones bajo crecimiento compensatorio con restricción alimenticia del 25 y 50 % (10 días restricción y 40 de recuperación *ad libitum*).

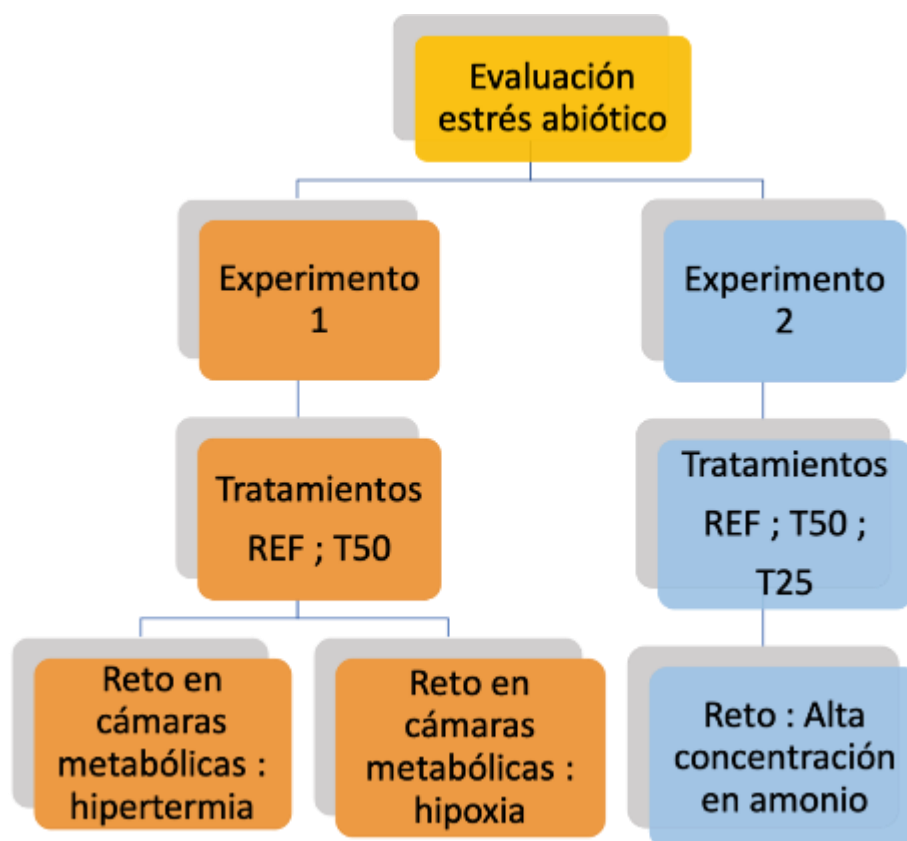


Figura 2. Esquema general de los experimentos de evaluación de estrés abiótico bajo crecimiento compensatorio en los organismos *P. vannamei*

6.1.1 Material biológico y formulación del alimento

Post-larvas de *P. vannamei* (0.0189 ± 0.006 g) fueron obtenidos del laboratorio comercial de camarón Larvas Gran Mar, SA de CV en La Paz, B.C.S., México. Los camarones se aclimataron en el Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola experimental del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), en tanques de fibra de vidrio con capacidad de 1500 L. Los camarones se mantuvieron en las siguientes condiciones de alimentación y de calidad de agua para asegurar un crecimiento sin condiciones restrictivas que pudieran afectar el desarrollo experimental: Se alimentaron a saciedad empleando alimento comercial (Nutrimar®, 35 % de proteína y 9 % de lípidos), ajustando la cantidad de alimento, tamaño de partícula y la frecuencia de las alimentaciones diarias en función del consumo y tamaño de los organismos. Las condiciones de agua se mantuvieron de la siguiente forma: temperatura de 28 ± 0.5 °C, pH 8 ± 0.3 , oxígeno disuelto > 4.5 mg·L⁻¹, 37 ups y concentración de amonio < 0.5 mg·L⁻¹. Los camarones fueron sometidos a un fotoperiodo de 12:12 h (luz:oscuridad).

El alimento balanceado empleado en los experimentos 1 y 2 fue elaborado en la planta de alimentos del laboratorio de nutrición acuícola del CIBNOR. El alimento se formuló de acuerdo a los requerimientos y recomendaciones nutricionales para *P. vannamei* (Jobling, 2012), con la siguiente fórmula: 33 % harina de pescado, 30.8 % harina de trigo, 28 % pasta de soya, 4 % lecitina de soya, 2.5 % aceite de pescado, 1 % alginato de sodio, 0.1 % vitamina C, 0.5 % mezcla de vitaminas y minerales y 0.1 % cloruro de colina (Peña-Rodríguez *et al.*, 2020). Para elaborar el alimento balanceado, los macro ingredientes (harinas que componen más del 2 % de la fórmula) fueron mezclados en una batidora de la marca Kitchen-aid de 1.5 L. Luego, se incorporaron los micronutrientes (que constituyen menos del 2 % de la fórmula) y se mezclaron hasta lograr una mezcla homogénea. Se añadió la emulsión de aceites (de pescado y lecitina de soya), repitiendo el proceso de mezclado y finalmente se agregó agua caliente para hidratar la mezcla (60 °C, 350 mL·kg⁻¹ de alimento). La preparación se pasó dos veces a través de un molino de carne de troquel equipado con un dado con orificios de 2 cm de diámetro. A la salida del molino, se rebanó la mezcla con una espátula al fin de obtener pellets del tamaño deseado. Los pellets se secaron 8 h a 50 °C y posteriormente se almacenaron a 4 °C.

La composición proximal del alimento experimental se determinó utilizando las siguientes técnicas: la materia seca se midió mediante el método 930.15 del AOAC (2005), el contenido de proteína bruta se determinó mediante el método de combustión desarrollado por Dumas (Ebeling, 1968), la fibra bruta se evaluó utilizando el método 978.10 del AOAC (2005) y el contenido de cenizas se determinó según el método 942.05 del AOAC (2005). A través del cálculo por diferencia, se estimaron los extractos libres de nitrógeno (ELN). La dieta experimental presentó un contenido de humedad del 5.2 %, un contenido de proteína bruta del 37.4 %, un contenido en lípidos de 8.2 %, un contenido de fibra bruta del 0.8 %, un contenido de cenizas del 8.5 % y un ELN del 34.9 %. A la muestra de alimento experimental se le realizó el análisis proximal por triplicado.

6.1.2 Condiciones experimentales

La Fig. 3, representa el diseño experimental de los experimentos 1 y 2.

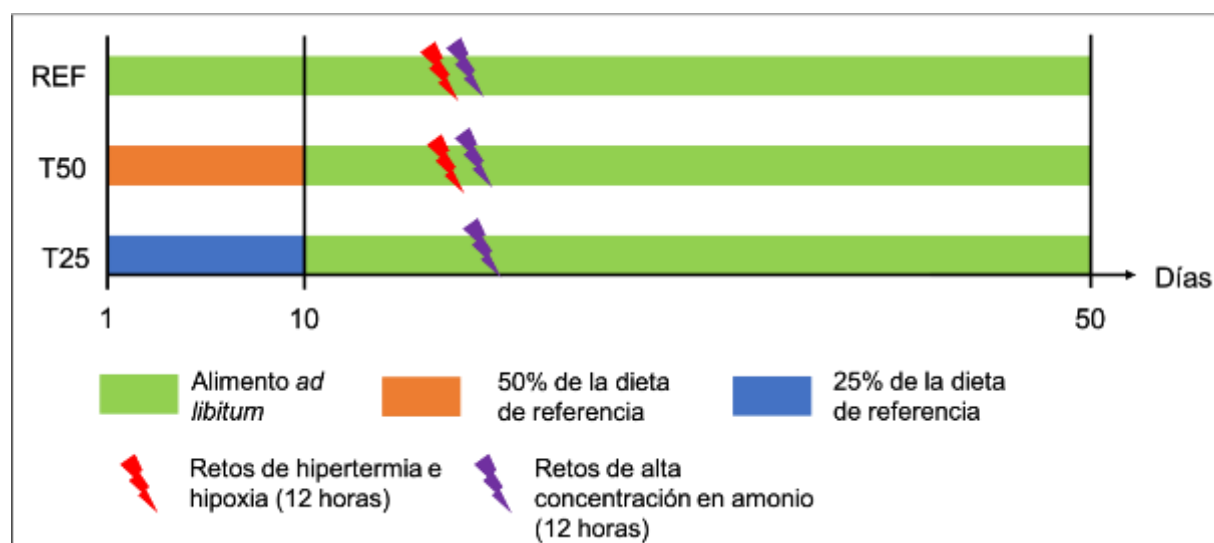


Figura 3. Diseño experimental de los experimentos 1 y 2 realizados en los organismos *P. vannamei*.

6.1.3 Experimento 1. Crecimiento compensatorio e hipertermia o hipoxia

El estudio sobre la ocurrencia del fenómeno de crecimiento compensatorio en el camarón *P. vannamei* del experimento 1 se llevó a cabo en el Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola del

CIBNOR y el estudio sobre retos abióticos se realizó en el Laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos del CIBNOR.

Los juveniles de *P. vannamei* fueron expuestos a 2 tratamientos (referencia y T50) con 6 réplicas de cada uno durante 50 días (Fig. 3). Para los dos tratamientos se distribuyeron al azar 10 camarones con un peso promedio similar (0.81 ± 0.05 g) en 12 tanques de 60 L (Fig. 4). Los camarones del tratamiento de referencia (REF) recibieron alimentación a saciedad durante todo el periodo experimental, iniciando con el 9 % respecto la biomasa de camarón por día. Se ajustó diariamente la ración de alimento de acuerdo al consumo (Ricque-Marie *et al.*, 1998). Para eso, cada mañana, se retiró el alimento no ingerido y las heces de cada tanque por succión. En caso de encontrar alimento sin consumir, se disminuyó el 1 % en relación con la biomasa de los camarones, mientras que, si no se observaba restos de alimento, se aumentó 1 %. Los camarones del tratamiento T50 fueron alimentados con la mitad de la ración de los organismos de referencia durante 10 días, antes de ser realimentados a saciedad durante 40 días. Las condiciones de laboratorio (O.D. >4.5 mgO₂·L⁻¹, 37 ups y 28 ± 0.5 °C) se mantuvieron mediante el uso de aireación constante y calentadores de titanio (120 watts) en el agua, realizando mediciones diarias con un sensor multiparámetro. Los camarones fueron expuestos a un fotoperiodo de 12:12h empleando lámparas led con pantalla roja para minimizar el stress por luminosidad. La concentración de amonio se monitoreo regularmente (kit comercial API®) y se realizó un cambio diario de agua (~50 % del volumen del tanque) para asegurar que los niveles no superaran los 0.5 mg·L⁻¹. Todos los camarones fueron alimentados dos veces al día (9:00 am; 4:00 pm). La sobrevivencia fue monitoreada diariamente. Se realizaron biometrías cada 10 días.



Figura 4. Fotografía de los tanques de 60 L usados en los experimentos 1 y 2.

Durante la fase de realimentación (después de 10 días de restricción), se llevaron a cabo dos retos de estrés abiótico de manera sucesiva en cámaras metabólicas (Fig. 5). Con el fin de comparar los resultados de estrés entre las diferentes condiciones y evitar posibles sesgos asociados a las cámaras metabólicas, se llevó a cabo un tratamiento control sin estrés abiótico, de duración similar, en las mismas cámaras.

En los días 16, 17 y 18 de recuperación de la alimentación a saciedad, se desplazaron 10 camarones de cada tratamiento (REF y T50) en cámaras metabólicas individuales (450 mL) en el Laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos del CIBNOR. Los camarones se aclimataron durante 12 h para minimizar el estrés causado por el manejo (Ulaje *et al.*, 2020). Se utilizaron un total de 24 cámaras metabólicas para cada condición (retos abióticos y condición control), con cuatro cámaras sin camarones utilizadas como blanco para las mediciones de los parámetros del agua. Las cámaras se sellaron y se conectaron a tubos de entrada y salida para crear un sistema de cámara de flujo continuo (Fig. 5). El agua de mar (37 UPS, filtrada a través de una malla de 5 μm) que ingresaba a las cámaras metabólicas se almacenaba previamente en un tanque de 800 L donde los parámetros del agua ($^{\circ}\text{C}$ y DO) eran controlados por un sistema de control automatizado conocido como ECOSIM (Calderon-Llevanos, 2015). La temperatura del tanque y

de las cámaras fue medida vía sensores HOBO (Pendant Data Logger, Bourne, MA). Las cámaras metabólicas se colocaron en un baño de agua para garantizar una temperatura del agua estable (Fig. 5). Una bomba peristáltica mantuvo el flujo de agua a $40\text{-}45\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ durante el experimento. Se realizaron mediciones periódicas del flujo con una probeta y un cronómetro, permitiendo de comprobar la estabilidad del flujo y ajustar manualmente la entrada del agua en caso necesario.

Después de las 12 h de aclimatación, se mantuvieron las condiciones óptimas de temperatura y concentración de oxígeno ($28 \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $> 4\text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$) para la condición control durante 12 h (Fig. 6). El inicio de la aplicación de las diferentes condiciones abióticas empezó a la misma hora. Para el reto de hipertermia, la temperatura se elevó a $31 \pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ en 2 h y luego a $34 \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ en 4 h para el resto del reto. La concentración de oxígeno disuelto se mantuvo en su nivel óptimo ($5\text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$). Para reducir la concentración de oxígeno disuelto para el reto de hipoxia y reoxigenación (recuperación), se burbujeó nitrógeno en el agua que ingresaba a las cámaras metabólicas. La concentración se redujo a $1.5\text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ y se mantuvo durante 9 h, seguido de 3 h de reoxigenación a $5\text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$. Los camarones fueron alimentados 6 h después de comenzar cada reto (5 % de la biomasa) (Fig. 6). La concentración de oxígeno disuelto se midió después de 8 y 10 h del inicio del reto utilizando un sensor de oxígeno de fibra óptica de $50\text{ }\mu\text{m}$ (Microx TX2, PreSens, Regensburg, Alemania) (Fig. 6). Se tomaron muestras de agua de las cámaras metabólicas a las 8 y 10 h del reto y se almacenaron a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ para medir la concentración de amonio posteriormente. Al final del periodo de 12 h en las cámaras para cada condición, se sacrificaron los 20 camarones y se muestreó el hepatopáncreas, que se almacenó a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el análisis. Paralelamente, los camarones restantes en el laboratorio de nutrición acuícola continuaron su periodo de realimentación hasta el día 50.



Figura 5. Sistema de cámaras de flujo continuo utilizado en el experimento 1.

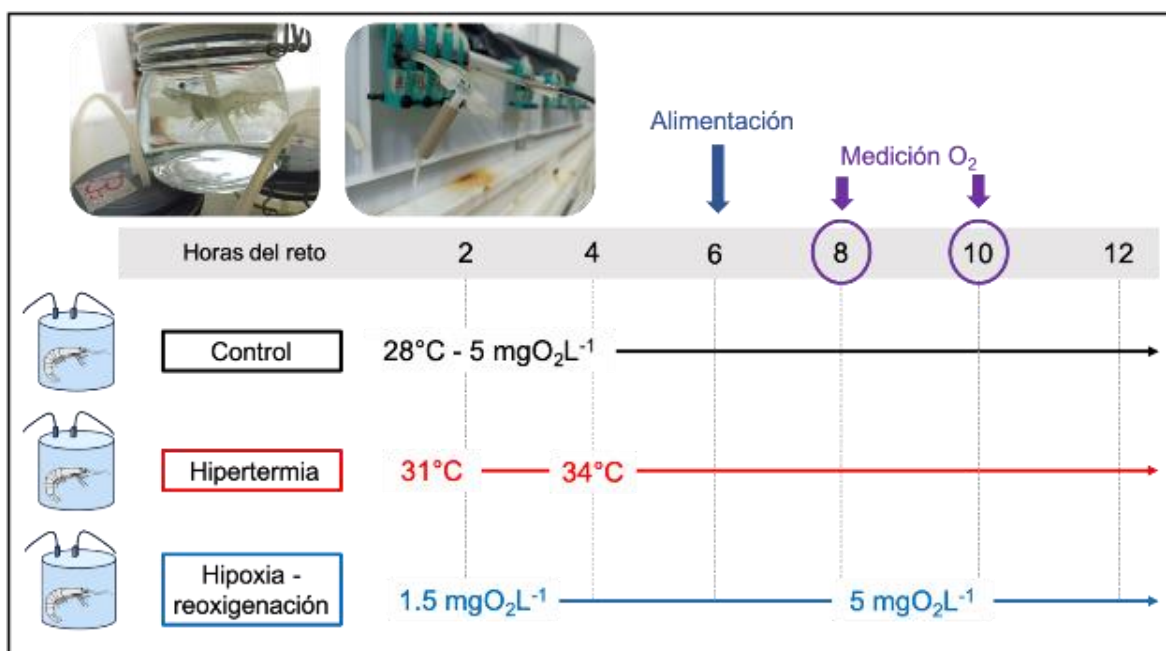


Figura 6. Esquema descriptivo de la metodología empleada en los retos en cámaras metabólicas durante el experimento 1.

6.1.4 Experimento 2. Crecimiento compensatorio y amonio

El Experimento se llevó a cabo en el Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola del CIBNOR. Se seleccionaron 216 juveniles de *P. vannamei* de un peso promedio de 1.02 ± 0.06 g y se colocaron al azar en 18 tanques de 60 L. Los camarones fueron sometidos a 3 tratamientos durante 50 días: Referencia, T50 y T25 (Fig. 3). Cada tratamiento fue representado por 6 réplicas de 12 camarones. Los camarones de los tratamientos REF y T50 fueron alimentados de la misma manera que en el experimento 1. Los organismos del tratamiento T25 fueron alimentados con el 25 % de la ración de los organismos de referencia durante 10 días (correspondiendo a una restricción del 75%) y posteriormente fueron realimentados *ad libitum* hasta el final del bioensayo. Las condiciones de laboratorio fueron controladas diariamente de la misma manera que para el experimento 1. Se monitoreó diariamente la sobrevivencia. Se realizaron biometrías cada 10 días para seguir el crecimiento de los organismos.

Al día 16 del bioensayo, 6 días después de iniciar alimentación a saciedad durante la respuesta compensatoria, se sometieron 3 réplicas de cada tratamiento nutricional a un reto de estrés por alta concentración en amonio de 12 h. Las otras 3 réplicas se consideraron como tratamiento control. Con el fin de elevar la concentración total de amonio (NH_4^+) y nitrógeno (NH_3^+) a $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (TAN, correspondiendo a la suma de NH_4^+ y NH_3^+), se añadió una solución de cloruro de amonio (NH_4Cl , $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) al agua del tanque. Cada dos horas, se controlaron los niveles de TAN utilizando un kit de medición de amonio (API®) y se ajustaron, mediante la adición de NH_4Cl . Los camarones fueron alimentados a una tasa del 2.5% de la biomasa durante el reto y se evaluó la sobrevivencia y el estrés después de 6 y 12 h. Al final del reto, se sacrificaron 9 camarones de cada grupo de tratamiento (REF, T50 y T25) tanto en condiciones de control como de estrés inducido por la alta concentración en TAN. Posteriormente se fijaron 5 camarones de los 9 sacrificados para análisis histológicos. Para facilitar la fijación de los tejidos, se seccionó la parte inferior del músculo a partir del segundo segmento del abdomen y se practicó una incisión de cada lado del cefalotórax. El cefalotórax y los dos primeros segmentos de músculo se sumergieron en solución de Davidson (300 mL de alcohol etílico 95 %, 200 mL de formol al 10 %, 100 mL de ácido acético glacial y 300 mL de agua destilada) durante 24 h y se conservarán hasta su análisis histológico. Para los otros 4 camarones, se extrajo el hepatopáncreas y se almacenó a -40°C hasta los análisis bioquímicos.

6.1.5 Variables biológicas, análisis bioquímicos e histológicos

6.1.5.1 Variables biológicas

Posterior a los experimentos realizados se evaluó el rendimiento productivo de los camarones, por medio de algunos parámetros zootécnicos en respuesta al crecimiento compensatorio.

La sobrevivencia de los organismos fue seguida diariamente lo que permitió calcular la tasa de sobrevivencia (S %) de la siguiente forma:

$$\text{Sobrevivencia (S)} = \frac{Nf}{Ni} * 100 \quad (1)$$

Dónde:

Nf = número final de organismos

Ni = número inicial de organismos

Para seguir el crecimiento de los organismos durante los experimentos 1 y 2, se llevaron biometrías cada 10 días. Los pesos húmedos de los organismos obtenidos se utilizaron para calcular la ganancia de peso (GP) y la tasa de crecimiento específico (TCE % día) según los siguientes cálculos:

$$\text{Ganancia de peso (GP)} = pf - pi \quad (2)$$

Dónde:

pf = peso promedio final húmedo de los organismos

pi= peso promedio inicial de los organismos

$$\text{Tasa de crecimiento específico (TCE \% día)} = 100 * \frac{\ln(pf) - \ln(pi)}{T} \quad (3)$$

Dónde:

T= duración en días

El alimento no consumido se estimó por conteo de pellet, para determinar el alimento consumido (AC) y el factor de conversión alimenticia (FCA) de los camarones en cada uno de los tanques de acuerdo con las fórmulas:

$$\text{Alimento consumido (AC)}((g/\text{camarón})/\text{día}) = \frac{Atc}{(Ni + Nf \div 2T)} \quad (4)$$

Dónde:

Atc = Alimento total consumido (g)

$$\text{Factor de conversión alimenticia (FCA)} = \frac{Aac(g)}{Ip(g)} \quad (5)$$

Dónde:

Aac = Alimento aparentemente consumido

Ip = Incremento en peso

Se calcularon las tasas fisiológicas de los camarones colocados en las cámaras metabólicas cerradas de flujo continuo sometidos a las condiciones de estrés abiótico y al control en el experimento 1. El objetivo de estos cálculos fue evaluar los cambios fisiológicos de los organismos sometidos a los diferentes factores de estrés.

La tasa respiratoria (TR) se calculó por medio del consumo de oxígeno por el flujo de la cámara de incubación en relación con el peso seco del organismo tanto de camarones expuestos al estrés por hipertermia e hipoxia. La cantidad de alimento administrada a los camarones también se colocó en las cámaras como blancos, para evitar el sesgo causado por la descomposición del alimento en los cálculos de consumo de oxígeno y excreción de amonio. El peso de los organismos se determinó en 20 camarones del ensayo de alimentación y se secaron en un liofilizador durante 24 h para obtener la relación entre peso húmedo y peso seco. La tasa respiratoria (TR) del camarón se calculó midiendo el consumo de oxígeno por el flujo de la cámara de incubación en relación con el peso seco del organismo. El consumo de oxígeno se calculó por cada camarón, deduciendo la concentración media de oxígeno a la salida de las cámaras metabólicas blanco (sin organismos) a la concentración de oxígeno saliendo de la cámara metabólica con camarón. Se calculó la TR ($\text{mgO}_2 \text{ g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) a través de la ecuación (Ulaje *et al.*, 2020):

$$TR = \frac{\text{Consumo de oxígeno} * \text{Flujo de la cámara}}{\text{Peso seco de tejidos}} \quad (6)$$

La tasa de excreción de amonio (TE) se calculó midiendo la producción de amonio por el flujo de agua de la cámara y en relación con el peso seco de los organismos. Se utilizó el método de cuantificación del amonio con salicilato de sodio para medir la concentración de amonio en las muestras de agua de las cámaras metabólicas (Bower y Holm-Hansen, 1980; Zhou y Boyd, 2016). Se estandarizó un método espectrofotométrico mediante el uso de un kit de medición de concentración de amonio (API®). Se realizó la curva estándar con agua de mar sintética y cloruro de amonio ($1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (Le y Boyd, 2012). La muestra ($179 \mu\text{L}$), el salicilato de sodio ($10 \mu\text{L}$) y el hipoclorito de sodio ($10 \mu\text{L}$) se agregaron sucesivamente a una microplaca (Le y Boyd, 2012). Después de agregar cada reactivo, la mezcla se agitó utilizando una pipeta multicanal. La absorbancia de la reacción se leyó a 640 nm después de 5 min de incubación (Le y Boyd, 2012). Para obtener la producción de amonio de cada camarón, se restaron las concentraciones de NH_4^+ de las cámaras metabólicas sin organismo (blanco) de las cámaras con camarones. La TE ($\text{mgNH}_4^+ \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$) de cada camarón se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$TE = \frac{\text{Excreción de amonio} * \text{Flujo de la cámara}}{\text{Peso seco del organismo}} \quad (7)$$

6.1.5.2 Análisis bioquímicos

Los análisis de actividad de las enzimas antioxidantes y del contenido de MDA fueron realizados sobre las muestras de hepatopáncreas tomadas durante los experimentos 1 y 2. Se midieron las actividades de las enzimas SOD, CAT y GPx. Para evaluar así el daño celular causado por el estrés oxidativo, se midió el contenido de MDA estimando la peroxidación de los lípidos.

Previamente, cada hepatopáncreas fue pesado y homogeneizado en un buffer de fosfato de potasio ($0.1 \text{ M K}_2\text{HPO}_4$, pH 7) con el homogeneizador de alta velocidad Fastprep-24™ 5G (Fig. 7). Para las análisis de actividad enzimática, las muestras fueron centrifugadas cuatro veces a $3000 \times \text{g}$ durante 10 min a $4 \text{ }^\circ\text{C}$, conservado en cada ciclo el sobrenadante, también conocido como extracto (Parrilla-Taylor y Zenteno-Savín, 2011). La medición de las actividades de las enzimas se realizó en los extractos de hepatopáncreas y se aplicaron triplicados técnicos.

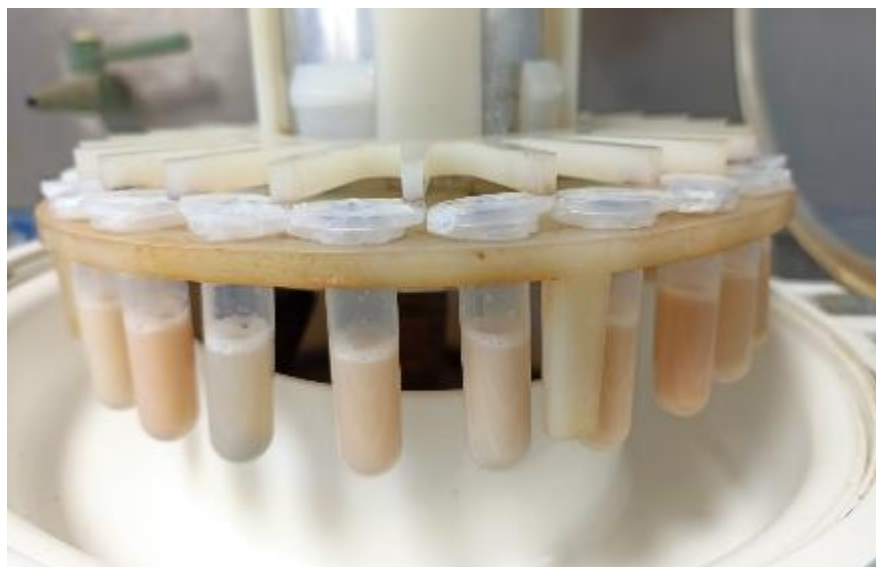


Figura 7. Homogeneización de las muestras de hepatopáncreas de *P. vannamei* para los análisis bioquímicas.

La medición de la actividad de la SOD se realizó con un kit comercial (número de catálogo 706002, Cayman Chemical, EE. UU) siguiendo las instrucciones del proveedor. Para el análisis, los extractos fueron diluidos en una proporción de 1:50 en el buffer del kit (10 μL de muestra y 490 μL de buffer Tris-HCl, 50 mM, pH 8.0). Se agregaron 200 μL de radical detector y 10 μL de la muestra diluida a una microplaca. Para iniciar la reacción, se añadieron 20 μL de xantina oxidasa. Después de 30 min de incubación a temperatura ambiente en un agitador, se tomó lectura a una absorbancia de 440 nm. El método colorimétrico permitió calcular la cantidad de enzima necesaria para la dismutación del 50 % del radical superóxido por minuto, empleando una curva realizada con un estándar de SOD de eritrocitos bovinos.

La medición de la CAT se llevó a cabo midiendo la degradación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Aebi, 1984). La determinación de la actividad de la CAT se realizó mediante un kit comercial (número de catálogo 707002, Cayman Chemical, EE. UU). Previamente a la prueba, las muestras homogeneizadas fueron diluidas en el buffer del kit con una ratio de 1:3 (10 μL de muestra y 290 μL de buffer de fosfato de potasio, 25 mM, pH 7.0). Se agregaron 100 μL de buffer de ensayo (100

mM fosfato de potasio, pH 7.0), 30 μL de metanol y 20 μL de la muestra diluida a una microplaca. Para iniciar la reacción, se añadieron 20 μL de peróxido de hidrógeno a cada pozo y la placa se incubó a temperatura ambiente con agitación durante 20 min. Posteriormente, para detener la reacción, se añadieron 30 μL de hidróxido de potasio y 30 μL de cromógeno (Catalasa purpald). Después de una incubación adicional de 10 min, se agregaron 10 μL de potasio periodato de catalasa y se incubaron 5 min antes de leer la absorbancia a 540 nm. La curva estándar se realizó con una solución stock de formaldehído (4.25 mM). El método colorimétrico empleado permitió determinar la cantidad de enzima necesaria para reducir 1 nmol de formaldehído por minuto a 25 °C, lo que se define como una unidad de actividad CAT.

La actividad de la glutatión peroxidasa se determinó de manera indirecta mediante la oxidación de NADPH a NADP⁺, empleando un kit comercial (número de catálogo 7031012, Cayman Chemical, EE.UU.) siguiendo las instrucciones del proveedor. Las muestras se diluyeron con el buffer del kit en una proporción de 1:25 (10 μL de muestra y 240 μL de buffer Tris-HCl, pH 7.6). Se agregaron 150 μL de buffer de ensayo, 20 μL de glutatión y 20 μL de la muestra diluida a una microplaca. Para iniciar la reacción, se añadieron 10 μL de una solución etanólica de 1-Cloro-2,4-dinitrobenzeno a cada pozo y se tomó la absorbancia a 340 nm cada minuto durante 5 min. Para calcular la actividad de la GPx en $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$, se determinó la diferencia de absorbancias entre los dos tiempos extremos, a la cual se le restó la misma diferencia de los pozos en blanco sin actividad enzimática.

Se determinó la concentración en proteínas de las muestras a fin de normalizar las actividades de las enzimas antioxidantes en el hepatopáncreas de los camarones. Se midió la concentración en proteínas con el método del ácido bicinconínico (BCA) (Smith *et al.*, 1985). Los homogeneizados fueron diluidos 50 veces en agua ultrapura y se colocaron en NaOH (0.1 N) durante 2 h. Se preparó una solución reactiva comercial, a partir de una solución de BCA (número de catálogo B9643, SIGMA) y de una solución de sulfato de cobre (número de catálogo C2284, SIGMA). Se colocaron 25 μL de muestra diluida en microplaca de 96 pozos, a la cual se agregaron 200 μL de la solución reactiva de BCA. Se realizó la curva estándar con solución de albúmina sérica bovina (1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Después de incubar a 60 °C por 15 min, se tomó lectura de la microplaca con un espectrofotómetro a 562 nm.

La peroxidación de los lípidos se evaluó midiendo el contenido de MDA en el hepatopáncreas de los camarones (Janero, 1990). El método de Draper *et al.* (1993) se estandarizó para su uso en muestras de hepatopáncreas de camarones. Se pesaron los órganos y se homogeneizaron de acuerdo con lo descrito previamente. Cada muestra se procesó por triplicado. Se colocaron 400 μL de homogeneizados en tubos de 1 mL, a los cuáles se añadieron 100 μL de ácido tiobarbitúrico (10 %) y 200 μL de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). Después de una agitación con vortex, la mezcla se sumergió en baño maría a 100 °C durante 20 min y posteriormente se transfirió a un baño frío con hielo para detener la reacción. Después de dos ciclos de centrifugación, se tomó la absorbancia a 532 nm. El contenido de MDA en el hepatopáncreas se calculó empleando una curva estándar de MDA y los resultados se expresaron en $\text{nmol}\cdot\text{g}$ de tejido¹.

6.1.5.3 Análisis histológicos

Se disecaron los cefalotórax de los camarones y se fijaron en una solución de Davidson (11.1 % glicerina, 22.2 % formaldehído al 37-40 %, 33.3 % alcohol etílico a 96 %, 33.3 % agua de mar filtrada, 1 parte por 9 de stock de ácido acético) durante 48 h. Posteriormente se dispusieron en cassetes y fueron deshidratados mediante la inmersión en baños de etanol con concentraciones ascendentes (70, 80, 90 y 100 %). Tras la aclaración de las muestras en xileno y la inclusión en parafina, se realizaron cortes a 4.0 μm utilizando un microtomo (Mexía-Salazar *et al.*, 2008). Los tejidos fueron teñidos con hematoxilina-eosina de Harris (Humason, 1979). Las láminas histológicas se montaron con resina sintética Entellan® y fueron observadas bajo un microscopio OLYMPUS BX41 (aumentos de 10, 20 y 40). Se obtuvieron 2 cortes transversales y 2 cortes longitudinales de cada camarón. Se capturaron fotografías de los tejidos utilizando una cámara de microscopio digital Nikon Digital Sight DS-Ri1®. Se tomaron seis fotografías del músculo, tres de las células hepatopancreáticas y tres de las branquias de cada camarón. Las fotografías se analizaron con el software Image Pro-Premier (versión 9.0) de Olympus-Media Cybernetics®. Utilizando este software se calculó la superficie ocupada por el músculo (6 por camarón), la altura epitelial de las células hepatopancreáticas (3 mediciones de cada célula mínimo, 20 células por hepatopáncreas) y la altura de los filamentos branquiales (se midieron 30 branquias por camarón).

6.1.6 Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el software R versión 4.2.3. En el caso del experimento 1, los análisis estadísticos de la zootecnia (peso, TCE, FCA, Tasa de ingestión promedio (% biomasa)) y las tasas fisiológicas (TR y TE) se sometieron a la prueba de t-Student para comparar los promedios de los valores entre los tratamientos REF y T50. Previamente, se verificó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro (95 % de confianza) y la homogeneidad de las varianzas se verificó mediante la prueba F (95 % de confianza). En cuanto a la comparación de las tasas fisiológicas entre cada uno de los retos y del control, tanto para el tratamiento REF como para el T50, los datos no cumplían con las condiciones para aplicar el análisis de varianza (ANOVA) y fueron sometidos a la prueba de Kruskal-Wallis (95 % de confianza). En caso de obtener un valor significativo, se aplicó la prueba de Dunn con corrección de Bonferroni (95 % de confianza).

Los datos de zootecnia del experimento 2 (peso, FCA, tasa de ingestión promedio (% biomasa) y TCE) se sometieron a las pruebas de Shapiro y Bartlett para verificar la normalidad y la homogeneidad de las varianzas de los valores. Se aplicó un ANOVA de una vía: efecto del tratamiento nutricional para cada tiempo estudiado y en caso de ser significativo, se realizó una prueba de comparaciones múltiple de promedios de Tukey (95 % de confianza). Para los datos de sobrevivencia, se aplicó una prueba de Kruskal-Wallis (95 % de confianza).

Respecto a los resultados de los análisis de la actividad de las enzimas antioxidantes (SOD, CAT y GPx) y el contenido de MDA en ambos experimentos, los datos también se sometieron a las pruebas de Shapiro y Bartlett. Luego se aplicó un ANOVA de dos vías, considerando el primer factor el tratamiento nutricional (REF, T50; REF, T50, T25) y el segundo factor el efecto del reto (Control, Hipertermia, Hipoxia; Control, Amonio), así como el efecto de la interacción entre ambos factores. En caso de obtener un valor significativo para el efecto de la interacción ($p < 0.05$), se realizó un análisis de Tukey (95 % de confianza). Los resultados de los análisis de histología en el Experimento 2 también se sometieron a un ANOVA de dos factores, bajo las mismas condiciones explicadas anteriormente.

6.2 Experimento 3. Crecimiento compensatorio con dietas suplementadas para mitigación de estrés oxidativo

El experimento 3 consistió en la inducción del crecimiento compensatorio mediante una restricción alimentaria continua (al 25 % de la ración de control) durante 10 días, seguida de un período de realimentación de 30 días. Durante el bioensayo, los camarones fueron alimentados con una dieta de referencia o dietas suplementadas con cúrcuma y/o maca, empezando con 6 % de la biomasa para el grupo referencia y posteriormente ajustando la ración a saciedad de acuerdo con el consumo (Fig. 8).

El objetivo principal de este experimento fue analizar el estrés generado por la restricción alimenticia y el crecimiento compensatorio en *P. vannamei*, así como la influencia de las dietas suplementadas en el estrés generado por la estrategia alimenticia.

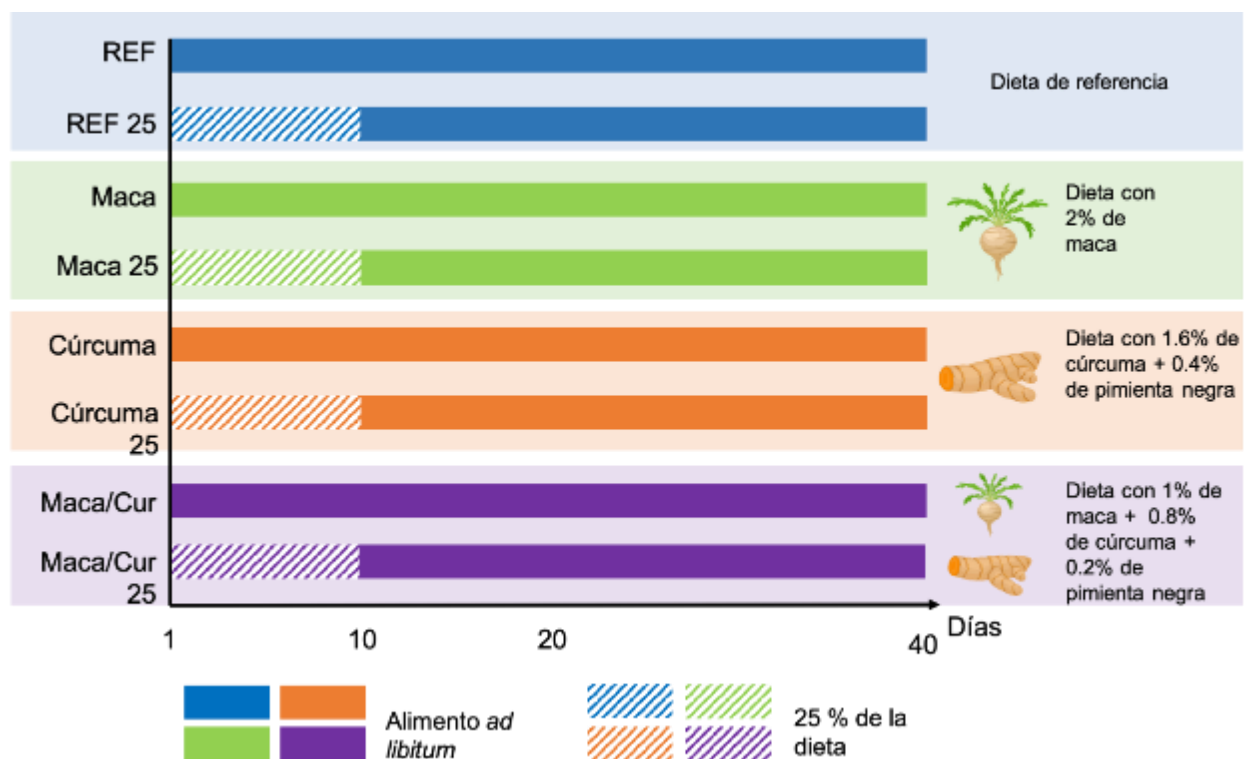


Figura 8. Diseño experimental del experimento 3 realizado con alimentos suplementados.

6.2.1 Material biológico

Postlarvas de *P. vannamei* (0.026 ± 0.009 g) fueron producidas en el laboratorio comercial Biomarina Reproductiva S. de R.L. de C.V., en Mazatlán, Sinaloa México. Los camarones fueron enviados por vía aérea a las instalaciones del CIBNOR y mantenidos en el Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola. Los organismos se mantuvieron de la misma manera que se explicó en la sección 6.1.1, en condiciones óptimas hasta el inicio del experimento. Durante el período de mantenimiento, los camarones fueron alimentados *ad libitum* dos veces al día con un alimento comercial (Nutrimar®, 35 % de proteínas y 9 % de lípidos).

6.2.2 Formulación de los alimentos

Los alimentos balanceados utilizados en el experimento fueron elaborados en el Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola del CIBNOR. El alimento utilizado como referencia (REF) en el experimento 3, fue formulado de acuerdo con las necesidades nutricionales de los camarones, siguiendo la siguiente fórmula: 38.5 % de harina de trigo, 28.5 % de pasta de soya, 25 % de harina de pescado, 3.8 % de lecitina de soja, 2.6 % de aceite de pescado, 1 % de alginato de sodio, 0.5 % de mezcla de vitaminas y minerales y 0.1 % de cloruro de colina. Adicionalmente, se elaboraron 3 alimentos suplementados: 1) 1.6 % cúrcuma y 0.4 % pimienta negra (CUR), 2) 2 % maca (MACA) y 3) 0.8 % de cúrcuma, un 0.2 % de maca y un 1 % de maca (CUR/MACA). Los 3 alimentos fueron formulados con la misma composición base del alimento referencia, sustituyendo harina de trigo por el ingrediente suplementado. El alimento se elaboró siguiendo el mismo procedimiento explicado previamente en la sección 6.1.1. La composición proximal de los alimentos experimentales se evaluó por triplicado utilizando las mismas técnicas analíticas que se detallan en la sección 6.1.1 (Tabla 1).

Tabla 1. Composición proximal (%) de los alimentos experimentales del experimento 3.

	REF	MACA	CUR	CUR/MACA
Humedad (%)	9.89	8.78	9.03	8.83
Proteína bruta (%)	36.15	34.72	36.06	35.79
Lípidos (%)	8.63	8.82	8.57	8.53
Fibra bruta (%)	0.40	0.53	0.37	0.57
Cenizas (%)	7.30	7.42	7.21	7.42
ENF (%)	47.52	48.51	47.80	47.69

6.2.3 Condiciones experimentales

Un total de 440 juveniles de *P. vannamei* (0.69 ± 0.004 g) fueron distribuidos al azar en 32 tanques de fibra de vidrio de 70 L en el Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola del CIBNOR. Los camarones fueron alimentados con 4 dietas: dieta de referencia (REF), dieta suplementada con cúrcuma (CUR), dieta suplementada con maca (MACA) y dieta suplementada con cúrcuma y maca (CUR/MACA). Para cada dieta, una parte de los organismos fue alimentada de manera continua durante 40 días (REF, Maca, Cúrcuma, Maca/Cúrcuma), mientras que la otra parte recibió el 25 % de la ración durante 10 días antes de ser alimentada *ad libitum* hasta el final del experimento (REF 25, Maca 25, Cúrcuma 25, Maca/Cúrcuma 25). Cada uno de los 8 tratamientos estuvo representado por 4 réplicas de 11 camarones. El seguimiento del crecimiento de los organismos se realizó por medio de biometrías cada 10 días.

Para cada tratamiento, se extrajo el hepatopáncreas de 8 camarones al final del período de restricción (día 11), durante el crecimiento compensatorio (día 16) y al final del período de realimentación (día 41). Durante los muestreos del día 11 y del día 16, se extrajo la hemolinfa de los camarones, utilizando jeringas previamente llenadas con 20 μ L de anticoagulante (mezcla de oxalato de amonio al 1.2 % y oxalato de potasio al 0.8 %). Después de cada muestreo, la hemolinfa se centrifugó inmediatamente a 3000 x g durante 10 min a 4 °C para recolectar el plasma (sobrenadante) y se almacenó a -40 °C hasta su análisis.

6.2.4 Parámetros zootécnicos y análisis

Los parámetros zootécnicos, que incluyen la sobrevivencia de los organismos, la tasa de crecimiento específico ($\% \text{ día}^{-1}$) y el factor de conversión alimenticia, se calcularon siguiendo los mismos procedimientos descritos en la sección 6.1.4.

Los hepatopáncreas muestreados en los días 11, 16 y 41 del experimento se utilizaron para cuantificar las actividades de las enzimas antioxidantes SOD y CAT, así como para medir el contenido de MDA, siguiendo el protocolo previamente descrito en la sección 6.1.4. Las hemolinfas recolectadas en los días 10 y 16, se utilizaron para cuantificar la actividad de las enzimas fenoloxidasa (FO) y pro-fenoloxidasa (proFO). La FO se midió analizando la formación de dopacromo mediante el método de Hernandez-Lopez *et al.* (1994) en muestras de hemolinfa. Para ello, se añadieron 200 μL de L-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) a la muestra (20 μL). El cambio en la absorbancia se midió con un espectrofotómetro a 490 nm y la actividad de la enzima se definió como el cambio en la absorbancia por minuto por cada mg de proteína. La actividad de la pro-fenoloxidasa se determinó de la misma manera; sin embargo, 24 h antes del análisis, se añadieron 25 μL de solución de tripsina a cada pozo de la microplaca para activar la proFO en el momento del análisis.

6.2.5 Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software R versión 4.2.3.

Los datos de zootecnia, de actividades de las enzimas antioxidantes y del contenido de MDA se sometieron a un análisis de varianza de una vía (ANOVA) con el fin de determinar diferencias significativas entre los tratamientos por cada tiempo. En caso de obtener un valor p significativo (< 0.05), se realizó una prueba de comparaciones múltiple de promedios de Tukey (95 % de confianza). Previamente, los datos se sometieron a las pruebas de Shapiro y Barlett para verificar la normalidad y la homocedasticidad de los valores.

Los datos de sobrevivencia y de tasa de ingestión promedio (% de biomasa) no cumplían con las condiciones necesarias para la aplicación de un ANOVA, por lo que se sometieron a la prueba de

Kruskal-Wallis (95 % de confianza), seguida de la prueba de Dunn con corrección de Benjamini-Hochberg (95 % de confianza).

6.3 Experimento 4. Crecimiento compensatorio en sistema biofloc para mitigar estrés oxidativo

El experimento 4 consistió en la evaluación de restricción alimenticia continua y cíclica en un sistema de biofloc. El objetivo principal fue evaluar si en tales condiciones, la restricción alimenticia y el crecimiento compensatorio resultante causaban estrés oxidativo en los camarones *P. vannamei*.

6.3.1 Material biológico y formulación del alimento

Los camarones fueron obtenidos y mantenidos en las mismas condiciones que se explican para el experimento 3 (ver sección 6.2.1). El alimento utilizado en este experimento fue el mismo que el alimento de referencia utilizado en el experimento 3 (ver sección 6.2.2).

Los juveniles *P. vannamei* ($0.44 \pm 0.04\text{g}$) fueron expuestos a 4 tratamientos alimenticios: REF, T50, T25 y T1:2 (Fig. 9). Cada tratamiento fue representado por 3 réplicas de 22 organismos, todos repartidos al azar. Los camarones de referencia (REF) fueron alimentados de forma continua durante los 40 días del experimento. Los camarones de los grupos T50 y T25 recibieron respectivamente el 50 % y el 25 % de la ración de los camarones REF durante 10 días, antes de ser realimentados *ad libitum* durante el resto del experimento. Los camarones T1:2 fueron sometidos a una restricción alimenticia cíclica, que comprendía 1 día de ayuno y 2 días de realimentación (ciclo repetido 4 veces).

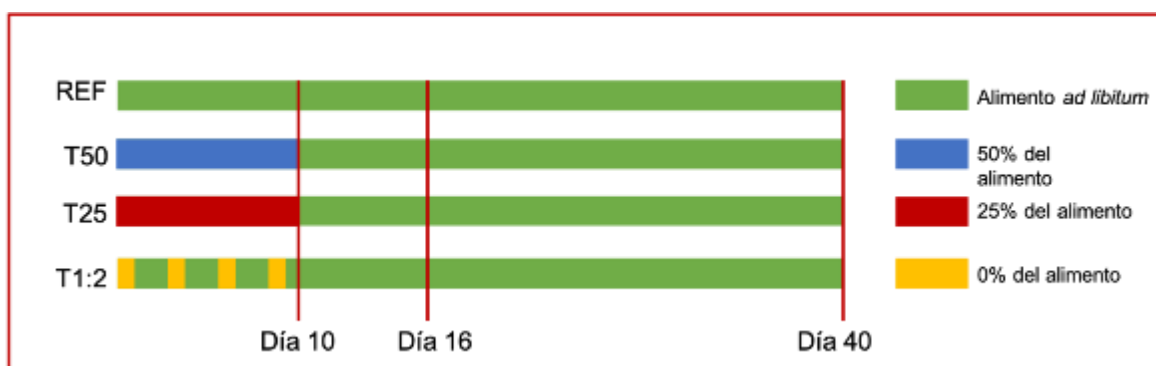


Figura 9. Diseño experimental del experimento 4 realizado en *P. vannamei* en sistema biofloc.

Para preparar el sistema de biofloc, se sembró una dosis inicial de probióticos (Hatchery Prime, Keeton Industries) (2g) y melaza (100 g) en un tanque de 800 L de agua y se dejó madurar durante quince días, transfiriendo diariamente agua residual de un tanque de camarón. Al inicio del experimento, se incluyeron 20 L del preparado de biofloc en los tanques de 80 L que contenían los camarones (Fig. 10). Durante los 40 días del experimento, se añadió diariamente probiótico (0.2 g por tanque de 80 L) y melaza (~3 g). No se realizó recambio de agua, sin embargo, se compensó la evaporación cada 2 días. Se emplearon conos Imhoff para medir la cantidad de sólidos en sedimentación, tomando 1 L de agua de los tanques de cada tratamiento cada 3 días y colocándola en un cono durante 1 h. El pH, la concentración en amonio, en nitrato y en nitrito fue medida a diario usando tiras reactivas para agua marina (Acua Biomar®).

Los organismos se contaron y pesaron cada 10 días del experimento. Se sacrificaron 10 camarones por tratamiento al final del periodo de restricción (día 11), durante el crecimiento compensatorio (día 14) y al final del periodo de realimentación (día 41). Se tomaron muestras del hepatopáncreas. Durante el muestreo del día 14, también se tomaron muestras del intestino, que se colocaron en etanol (90 %). Las muestras se almacenaron a -40 °C hasta su análisis.

6.3.2 Parámetros zootécnicos y análisis

6.3.2.1 Parámetros zootécnicos

Los parámetros zootécnicos, que incluyen la sobrevivencia de los organismos, la tasa de crecimiento específico (% día) y el factor de conversión alimenticia, se calcularon siguiendo los mismos procedimientos descritos en la sección 6.1.4.

6.3.2.2 Análisis bioquímicos

Los hepatopáncreas extraídos en los días 11, 14 y 41 del experimento se utilizaron para cuantificar las actividades de las enzimas antioxidantes SOD y CAT, así como para medir el contenido de MDA, siguiendo el protocolo previamente descrito en la sección 6.1.4. También se usaron las muestras de hepatopáncreas para medir las actividades de las enzimas digestivas. Las muestras de intestinos se usaron para evaluar las comunidades bacterianas de los camarones.

Antes de los análisis bioquímicos, las muestras se homogeneizaron en un buffer de fosfato de potasio con el homogeneizador de alta velocidad Fastprep-24. Las muestras fueron centrifugadas cuatro veces a 3000 x g durante 10 min a 4 °C, el sobrenadante se conservó (Parrilla-Taylor y Zenteno-Savín, 2011). La medición de las actividades de las enzimas antioxidantes y digestivas se realizó en los extractos de hepatopáncreas.

Las actividades de la Tripsina (T) y la Quimotripsina (QT) se llevaron a cabo siguiendo el método descrito por García-Carreño *et al.* (1994). Para determinar la actividad de la T, se utilizó el sustrato benzoil-DL-Arg-p-nitroanilida (BAPNA), mientras que para la QT se empleó el sustrato Succinil-(Ala)²-PRO-Phe-p-nitroanilida (SAPNA). Las muestras se diluyeron en una proporción de 1:50. Las reacciones se midieron a 414 nm (usando un equipo Varioskan Flash) cada 30 s durante 30 min. Cada muestra se analizó por triplicado, junto con tres blancos de prueba. Las unidades de actividad enzimática se definieron como la cantidad de enzima necesaria para hidrolizar 1 μmol de sustrato.

La actividad de la Lipasa (LP) se determinó siguiendo el método descrito por Nolasco-Soria *et al.* (2018). Se utilizó el β-naftil caprilato como sustrato y el análisis se realizó a pH 7.5 con un tiempo de incubación de 10 min. Los resultados se leyeron a 540 nm utilizando el equipo Varioskan Flash. Cada muestra se analizó en triplicado, junto con tres blancos de prueba. Una unidad de LP se definió como la cantidad de enzima necesaria para hidrolizar 1 μmol de sustrato por min.

Para la medición de la actividad de la Amilasa (AM), se siguió el método descrito por Vega-Villasante *et al.* (1993), basado en la hidrólisis del almidón. El análisis se realizó a pH 7.5 y se aplicó un tiempo de incubación de 5 min a 37 °C. Las lecturas se tomaron en un equipo Varioskan Flash a una longitud de onda de 580 nm. Una unidad de AM se definió como la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 μmol de glucosa por min.

El contenido de proteínas se determinó mediante el método de Bradford (1976) para normalizar las actividades de las enzimas digestivas, expresadas todas en unidades por miligramo de proteína (U·mg⁻¹ proteína).



Figura 10. Tanques redondos de 80 L utilizados durante el experimento 4.

6.3.2.3 Determinación de las comunidades microbianas en el intestino de *P. vannamei*

Al día 14 del bioensayo, se tomaron aleatoriamente muestras de tejido intestinal de 6 camarones de cada tratamiento. Las muestras se colocaron en tubos eppendorf 1.5 mL (SSlbio[®]) con etanol al 90 % y se mantuvieron en congelación (-40 °C) hasta su análisis. Para la extracción del ADN bacteriano de intestino de *P. vannamei*, se utilizó el Kit DNeasy[®] UltraClean[®] Microbial de QIAGEN, siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADN resultante de las muestras fue analizado en el espectrofotómetro Nanodrop[™] 2000 (Thermo Scientific[™]) para observar la pureza. Además, se utilizó el fluorómetro Qubit para la cuantificación de ADN y gel de agarosa (1 %) para analizar la integridad.

Se realizó la amplificación PCR de la región hipervariable V3 del gen procariota 16S ARNr utilizando los primers S-D-Bact-0341-b-S-17 (5'-CCT-ACG-GGN-GGC-WGC-A-G-3') y S-D-Bact-0785-a-A-21 (5'-GAC-TAC-HVG-GGT-ATC-TAA-TCC-3') (Klindworth *et al.*, 2013; Fadeev *et al.*,

2021). Se utilizó el kit MiSeq Reagent V3 600 ciclos para la preparación de las librerías. El PCR se realizó con una desnaturalización inicial a 95 °C (5 min), seguida de 35 ciclos de desnaturalización de 30 s a 95 °C, un apareamiento a 55 °C (30 s) y una elongación a 72 °C (1 min), seguido de una etapa final de extensión a 72 °C (5 min). Los amplicones finales fueron secuenciados en el equipo Illumina MiSeq 500 del Laboratorio de Genética y Bioinformática del CIBNOR.

Las lecturas resultantes FASTQ de la secuenciación fueron limpiadas con el programa FastQC y posteriormente alineadas utilizando la base de datos bacterianas SILVA en el software MOTHUR v1.48.0 (Schloss, 2009). Las secuencias quiméricas producidas en la PCR fueron eliminadas mediante el algoritmo V-SEARCH y posteriormente a cada muestra se le dio una asignación taxonómica (a nivel phylum y género) con la base de datos RDP y por último se formaron las unidades taxonómicas operacionales (OTUs). Para determinar la abundancia relativa de las comunidades bacterianas se analizaron las tablas de OTUs en el programa R. De igual manera, se determinó la diversidad α de los tratamientos y se realizó el análisis de varianza molecular (AMOVA) en el software R.

6.3.3 Análisis estadísticos

Con el objetivo de identificar posibles diferencias significativas entre los tratamientos en cada punto temporal, se llevó a cabo un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para evaluar los datos de zootecnia, así como las actividades de las enzimas digestivas (T, QT, LP, AM), las enzimas antioxidantes (SOD y CAT) y el contenido de MDA. En el caso de obtener un valor p significativo (< 0.05), se realizaron pruebas de comparaciones múltiples de promedios de Tukey con un nivel de confianza del 95 %. Previamente, se realizaron pruebas de Shapiro y Barlett para verificar la normalidad y homocedasticidad de los datos.

Debido a que los datos de sobrevivencia y de la actividad de la enzima digestiva lipasa no cumplían con las condiciones necesarias para la aplicación de una ANOVA, se sometieron a la prueba de Kruskal-Wallis (95 % de confianza), en caso de corresponder se siguió con la prueba de Dunn con corrección de Benjamini-Hochberg (95 % de confianza). Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software R versión 4.2.3.

7. RESULTADOS

7.1 Experimento 1: Crecimiento compensatorio y la susceptibilidad a la hipertermia e hipoxia

7.1.1 Parámetros zootécnicos

La temperatura y la concentración en oxígeno disuelto ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) medidas diariamente durante el experimento no difirieron significativamente entre los tratamientos ($p > 0.05$). Los acuarios tenían una temperatura media de 27.8 ± 0.1 °C y una concentración de oxígeno disuelto de 5.4 ± 0.4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

La sobrevivencia de los camarones en los tratamientos REF y T50 durante los 10 primeros días del bioensayo (periodo de restricción alimenticia) fue del 100 %. Durante el periodo de realimentación, la tasa de sobrevivencia fue de 100 % en los camarones REF y de 98 % en T50.

La Tabla 2 indica los valores de los parámetros zootécnicos: peso húmedo (g), ganancia en peso (g), factor de conversión alimenticia (FCA) e ingestión de alimento (% biomasa) durante el experimento 1. A los días 10, 20 y 50 del experimento, los organismos del tratamiento T50 presentaron un peso promedio significativamente inferior al peso de los organismos de REF ($p < 0.05$). La ganancia en peso de los camarones del tratamiento T50 fue significativamente mayor a los camarones de REF durante los 10 primeros días de realimentación ($p < 0.05$). El factor de conversión alimenticia (FCA) no mostró diferencias significativas entre los tratamientos durante los 10 primeros días ($p > 0.05$), pero fue significativamente más bajo en los camarones T50 durante el resto del bioensayo ($p < 0.05$). La ingestión de alimento fue significativamente menor en los camarones sometidos a la restricción alimenticia durante el primer periodo del experimento (1-10 días) ($p < 0.05$). Sin embargo, la ingestión de alimento de los camarones T50 fue significativamente mayor a la de los camarones REF durante los 10 primeros días de realimentación ($p < 0.05$). La tasa de crecimiento específico (TCE) de los organismos expuestos al tratamiento T50 fue significativamente menor que el tratamiento REF durante el periodo 1 ($p < 0.05$) (Fig. 11). En contraste, durante la realimentación, los organismos del tratamiento T50 mostraron una TCE significativamente mayor a la de los organismos de referencia ($p < 0.05$).

Tabla 2. Peso, Ganancia de peso (GP), tasa de crecimiento específico (TCE), factor de conversión alimenticia (FCA) y tasa de ingestión promedio (% biomasa) de los camarones *P. vannamei* expuestos a los tratamientos REF y T50 durante el experimento 1.

	Días	REF	T50	t-Student
Peso (g)	Inicial	1.24 ± 0.02	1.25 ± 0.06	ns
	10	2.14 ± 0.03	1.75 ± 0.04	***
	20	2.95 ± 0.03	2.78 ± 0.06	**
	50	5.72 ± 0.03	5.58 ± 0.05	**
GP (g)	1-10	0.90 ± 0.02	0.51 ± 0.06	***
	11-20	0.83 ± 0.06	1.02 ± 0.06	**
	21-50	2.77 ± 0.04	2.80 ± 0.04	ns
	1-50	4.48 ± 0.05	4.33 ± 0.11	ns
FCA	1-10	1.21 ± 0.02	1.08 ± 0.12	ns
	11-20	1.64 ± 0.07	1.35 ± 0.08	**
	21-50	1.56 ± 0.02	1.50 ± 0.03	*
	1-50	1.51 ± 0.02	1.41 ± 0.02	***
Tasa de ingestión promedio (%biomasa)	1-10	7.74 ± 0.07	3.98 ± 0.15	***
	11-20	6.75 ± 0.13	8.06 ± 0.17	***
	21-50	4.87 ± 0.12	5.04 ± 0.12	ns
	1-50	5.96 ± 0.06	5.46 ± 0.11	***

Los valores representan el promedio de réplicas ± desviación estándar (n=50). (*) valor de $p < 0.05$, (**) valor de $p < 0.01$, (***) valor de $p < 0.001$ entre los tratamientos REF y T50 al periodo de tiempo indicado según la prueba de t-Student.

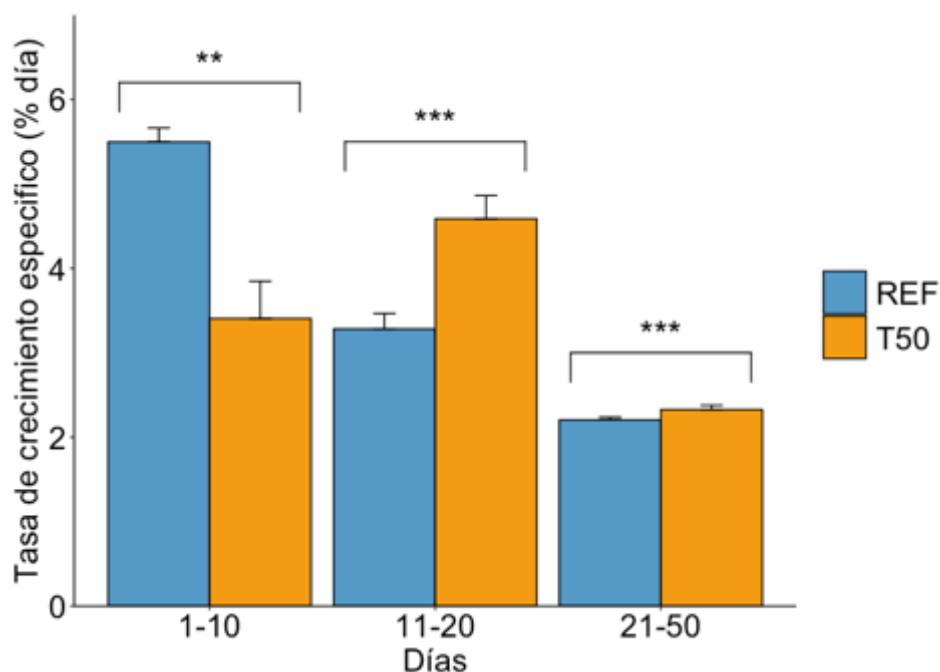


Figura 11. Tasa de crecimiento específico (TCE) (% día) en organismos de *P. vannamei* expuestos a diferentes condiciones restrictivas de alimentación durante el experimento 1. Las barras representan el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar. (*) valor de $p < 0.05$, (**) valor de $p < 0.01$, (***) valor de $p < 0.001$ entre los tratamientos REF y T50 al periodo de tiempo indicado según la prueba de t-Student.

7.1.2 Tasas fisiológicas

La tasa respiratoria (TR) y la tasa de excreción de amonio (TE) de los camarones durante los retos abióticos y el control en condición post-prandial (8 h después del inicio del reto) se presentan en la Tabla 3 y en condición de reposo (10 h después del inicio del reto) en la Tabla 4. En condiciones de control, el grupo T50 mostró una tasa respiratoria significativamente mayor que los camarones de REF ($p < 0.05$) y una TE significativamente mayor después de 8 h y 10 h del reto ($p < 0.05$). A lo largo de la exposición a la hipertermia, las tasas fisiológicas no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos nutricionales ($p > 0.05$). Después de 8 h de hipoxia, los camarones previamente restringidos mostraron una TR y una TE significativamente mayores que los camarones alimentados normalmente ($p < 0.05$). En condiciones de reoxigenación, la TR también fue significativamente mayor en los camarones del grupo T50 que en el grupo REF ($p < 0.05$).

Los camarones de REF exhibieron una TR y una TE significativamente mayores después de 8 h (condición post-prandial) del reto de hipertermia que en condiciones de control ($p < 0.05$) (Tabla

3). Durante las 8 h del reto de hipoxia, la TR de los camarones REF fue significativamente menor que en condiciones de control ($p < 0.05$). Del mismo modo, en los camarones T50, la TR fue significativamente mayor después de 8 h de exposición a 34 °C y significativamente menor después de 8 h de exposición a la hipoxia en comparación con las condiciones de control ($p < 0.05$).

Tabla 3. Tasa respiratoria (TR) y tasa de excreción de amonio (TE) de *P. vannamei* bajo tratamiento nutricional de referencia (REF) o en crecimiento compensatorio (T50) después de 8 horas de exposición a los retos (condición post-prandial): hipertermia (34 °C), hipoxia (1.5 mgO₂·L⁻¹) y normoxia (5 mgO₂·L⁻¹) y control (28 °C y > 4 mgO₂·L⁻¹).

	Condición	REF	T50	t-Student
Tasa respiratoria (mgO₂ g h⁻¹)	Control	2.24 ± 0.44 ^B	3.05 ± 0.55 ^B	**
	Hipertermia	3.39 ± 0.81 ^A	3.86 ± 0.55 ^A	ns
	Hipoxia / normoxia	0.73 ± 0.42 ^C	1.09 ± 0.44 ^C	*
Tasa de excreción de amonio (mgNH₄ g·h⁻¹)	Control	0.062 ± 0.018 ^B	0.107 ± 0.034 ^A	**
	Hipertermia	0.159 ± 0.06 ^A	0.166 ± 0.07 ^A	ns
	Hipoxia / normoxia	0.051 ± 0.02 ^B	0.100 ± 0.04 ^A	*

Los valores representan el promedio de réplicas ± desviación estándar (n=10). Diferentes letras indican una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los retos dentro del mismo tratamiento nutricional según la prueba de Kruskal-Wallis y Dunn. (*) valor de $p < 0.05$, (**) valor de $p < 0.01$, (***) valor de $p < 0.001$ entre los tratamientos REF y T50 al periodo de tiempo indicado según la prueba de t-Student.

Después de 10 h de reto (condición de reposo), la TR y la TE de los camarones expuestos a hipertermia fueron mayores que los del grupo REF en condiciones de control ($p < 0.05$) (Tabla 4). Por otra parte, en los camarones del grupo T50 la TR fue más alta bajo hipertermia y en la reoxigenación que en condiciones de control ($p < 0.05$). En la TE, no se presentaron diferencias significativas bajo ningún tratamiento ($p > 0.05$).

Tabla 4. Tasa respiratoria (TR) y tasa de excreción de amonio (TE) de *P. vannamei* bajo tratamiento nutricional de referencia (REF) o en crecimiento compensatorio (T50) después de 10 horas de exposición a los retos (condición de reposo): hipertermia (34 °C), hipoxia (1.5 mgO₂·L⁻¹) y normoxia (5 mgO₂·L⁻¹) y control (28 °C y > 4 mgO₂·L⁻¹).

	Condición	REF	T50	t-Student
Tasa respiratoria (mgO₂ g h⁻¹)	Control	1.40 ± 0.62 ^B	2.16 ± 0.54 ^B	*
	Hipertermia	3.27 ± 0.53 ^A	3.21 ± 0.60 ^A	ns
	Hipoxia / normoxia	2.12 ± 0.66 ^B	3.14 ± 0.66 ^A	**
Tasa de excreción de amonio (mgNH₄ g·h⁻¹)	Control	0.038 ± 0.02 ^B	0.079 ± 0.03 ^A	**
	Hipertermia	0.119 ± 0.04 ^A	0.118 ± 0.05 ^A	ns
	Hipoxia / normoxia	0.091 ± 0.05 ^A	0.116 ± 0.03 ^A	*

Los valores representan el promedio de réplicas ± desviación estándar (n=10). Diferentes letras mayúsculas una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los retos dentro del mismo tratamiento nutricional según la prueba de Kruskal-Wallis y Dunn. (*) valor de $p < 0.05$, (**) valor de $p < 0.01$, (***) valor de $p < 0.001$ entre los tratamientos REF y T50 al periodo de tiempo indicado según la prueba de t-Student.

Los camarones en la condición de control y el reto de hipertermia consumieron el alimento, independientemente del tratamiento nutricional. En contraste, durante el reto de hipoxia, el alimento ofrecido no se consumió hasta que se restableció la oxigenación a normoxia.

7.1.3 Enzimas antioxidantes y peroxidación de lípidos

La actividad de las enzimas antioxidantes SOD y GPx no se vieron afectadas significativamente por los tratamientos nutricionales (REF y T50), ni por los retos abióticos (hipertermia e hipoxia/reoxigenación), ni por la interacción de ambos ($p > 0.05$) (Tabla 5). La actividad de la CAT no se afectó significativamente por el efecto del tratamiento nutricional ($p > 0.05$) (Fig. 12). Sin embargo, se observó un valor de p significativo ($p < 0.05$) en el efecto de los retos abióticos y en la interacción de los retos abióticos y del tratamiento nutricional en la actividad de la CAT. En condiciones de control, los camarones T50 mostraron una actividad de la CAT significativamente mayor a los camarones de referencia. La actividad de la CAT aumentó significativamente después de 12 h de exposición a la hipertermia en los organismos de referencia.

Tabla 5. Actividad de la SOD y de la Gpx en el hepatopáncreas de *P. vannamei* bajo tratamiento nutricional de referencia (REF) o en crecimiento compensatorio (T50) después de los retos abióticos: hipertermia (34 °C), hipoxia (1.5 mgO₂·L⁻¹) y normoxia (5 mgO₂·L⁻¹) y control (28 °C y > 4 mgO₂·L⁻¹).

Tratamientos	Condición	SOD	Gpx
REF	Control	2.40 ± 0.47	5.83 ± 1.05
	Hipertermia	2.19 ± 0.41	5.19 ± 1.17
	Hipoxia	2.40 ± 0.18	5.57 ± 0.35
T50	Control	2.45 ± 0.49	5.92 ± 1.11
	Hipertermia	2.13 ± 0.13	4.53 ± 0.34
	Hipoxia	2.52 ± 0.16	3.72 ± 0.70
Valor de p	Nutricional	0.731	0.0697
	Reto	0.275	0.0637
	Nutricional x Reto	0.882	0.1881

Los valores representan el promedio de réplicas ± desviación estándar (n=4). La mención ns indica que la diferencia no fue significativa ($p > 0.05$) según la ANOVA a dos vías.

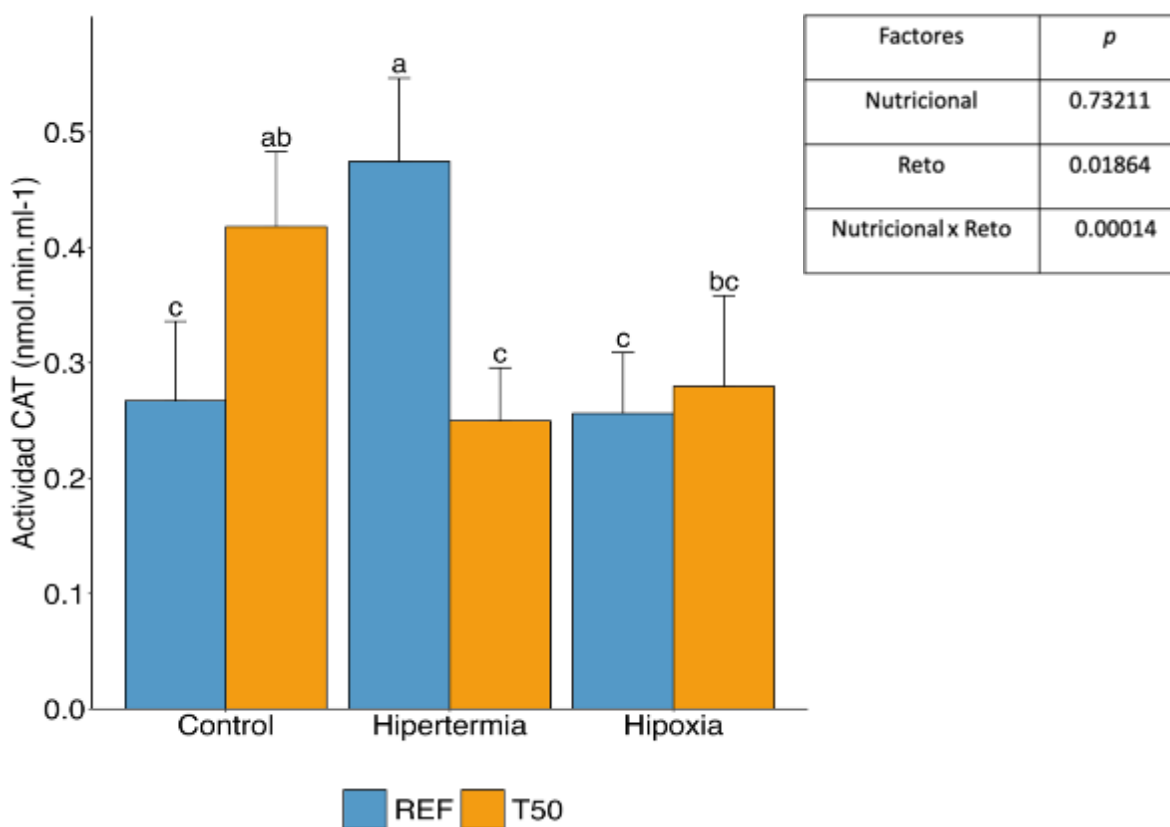


Figura 12. Actividad de la CAT en el hepatopáncreas de *P. vannamei* bajo tratamiento nutricional de referencia (REF) o en crecimiento compensatorio (T50) después de los retos abióticos: hipertermia (34 °C), hipoxia (1.5 mgO₂·L⁻¹) y normoxia (5 mgO₂·L⁻¹) y control (28 °C y > 4 mgO₂·L⁻¹). Cada barra representa el promedio de las réplicas ± la desviación estándar (n=4). Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los promedios bajo el efecto de la interacción de los factores Nutricional x Reto y han sido determinadas mediante una ANOVA a dos vías seguida de la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

El contenido de MDA en el hepatopáncreas de los camarones se vio significativamente afectado por el tratamiento nutricional, el reto abiótico y la interacción de ambos factores, como se ilustra en la Fig. 13. Bajo condiciones de control, los camarones previamente restringidos presentaron un contenido de MDA significativamente mayor que los camarones alimentados normalmente ($p < 0.05$). La exposición a la hipertermia causó un aumento significativo en el contenido de MDA, independientemente del tratamiento nutricional, en comparación con el grupo de referencia en condiciones de control ($p < 0.05$). En cambio, la exposición a la hipoxia y la reoxigenación a normoxia no resultó en diferencias significativas en el contenido de MDA ($p > 0.05$). Se observó que la utilización de las cámaras metabólicas no tuvo impacto en el contenido de MDA en el hepatopáncreas de los camarones. En condición control y alimentación continua (REF) dentro de

las cámaras metabólicas, se midió un contenido de MDA de 32.63 ± 2.72 (Fig. 13), mientras que, en la condición control el contenido de MDA de los camarones de referencia fue de 30.82 ± 2.22 (Fig. 16).

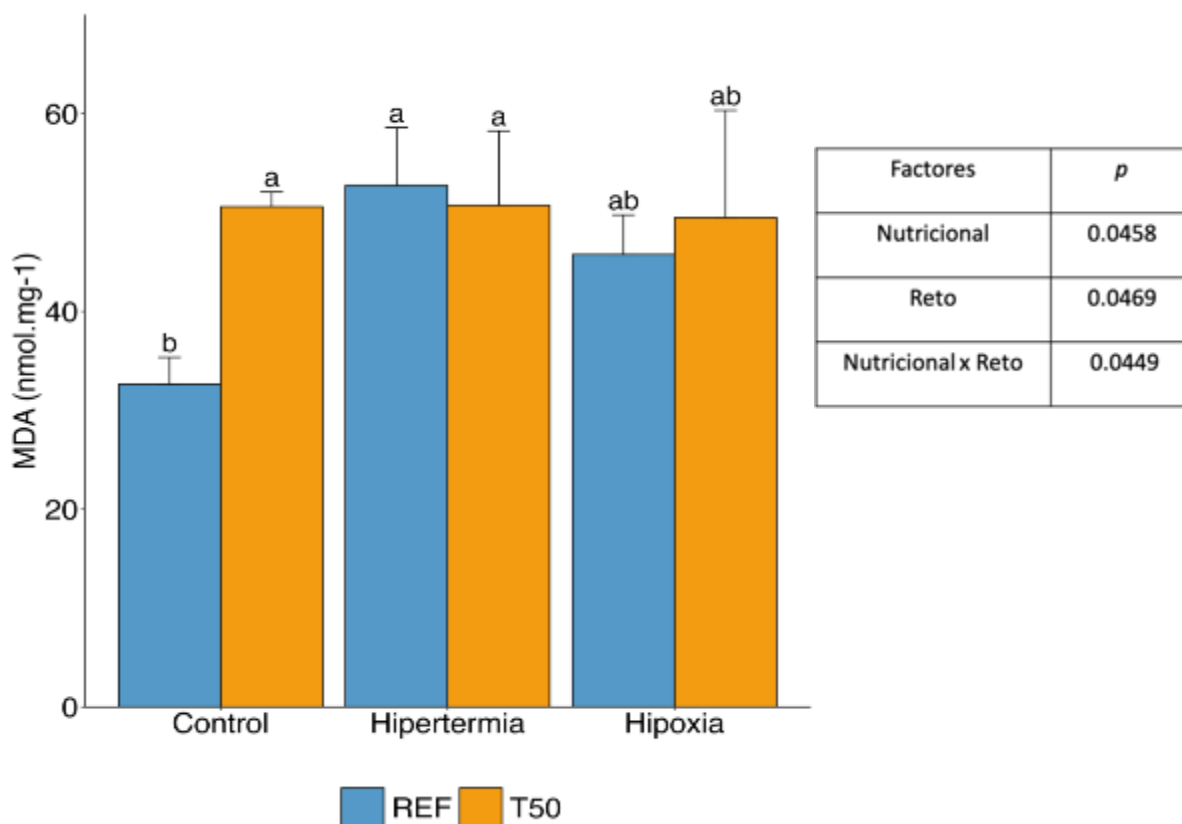


Figura 13. Contenido de MDA en el hepatopáncreas de *P. vannamei* bajo tratamiento nutricional de referencia (REF) o en crecimiento compensatorio (T50) después de los retos abióticos: hipertermia ($34\text{ }^{\circ}\text{C}$), hipoxia ($1.5\text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$) y normoxia ($5\text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$) y control ($28\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $>4\text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$). Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar ($n=4$). Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los promedios bajo el efecto de la interacción de los factores Nutricional x Reto y han sido determinadas mediante una ANOVA a dos vías seguida de la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

7.2 Experimento 2: Crecimiento compensatorio y la susceptibilidad a la alta concentración en amonio

7.2.1 Parámetros zootécnicos

A lo largo del experimento se observó una temperatura media de $28 \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una concentración en oxígeno disuelto de $5.02 \pm 0.26\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ entre los tratamientos ($p > 0.05$). Durante los periodos de restricción alimenticia y de realimentación, la sobrevivencia de los organismos de los tratamientos REF, T50 y T25 no fue significativamente afectada (Tabla 6). Durante el reto de

amonio, el pH se elevó a un promedio de 8.2 ± 0.3 , con un TAN de $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, correspondiendo a un contenido de 1.99 ppm de NH_3^+ (Francis-Floyd *et al.*, 2022).

Tabla 6. Supervivencia de los camarones *P. vannamei* mantenidos con una alimentación *ad libitum* considerados como la referencia (REF) y expuestos a restricción alimenticia con el 50% (T50) y 25% (T25) de la porción de REF durante el experimento 2.

	Periodo restricción (día 1- día 10)	Periodo realimentación (día 11- día 50)
REF	98.6 % ^a	86.1 % ^a
T50	95.8 % ^a	86.1 % ^a
T25	100 % ^a	88.9 % ^a

Las mismas letras indican que las diferencias no fueron significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$) según la prueba de Kruskal-Wallis.

Al final del periodo de restricción, es decir, al día 10, los camarones de los tratamientos T50 y T25 mostraron un peso significativamente inferior al peso de los organismos de referencia (Tabla 7). Después de 40 días de realimentación, se observó que los camarones T50 alcanzaron crecimiento compensatorio completo al presentar un peso sin diferencias no significativas respecto a los camarones REF; mientras que los camarones T25 no lograron alcanzar un peso similar.

Los camarones del tratamiento T25 presentaron un factor de conversión alimenticia (FCA) significativamente mayor que el tratamiento REF durante el periodo de restricción alimenticia (Tabla 7). No se observaron diferencias significativas en los valores de FCA entre los tres tratamientos a lo largo de los 40 días de realimentación (Tabla 7). Las tasas de ingestión promedio (% biomasa) de los camarones de los tratamientos T50 y T25 fueron significativamente inferiores a las de los camarones de referencia durante el periodo de restricción alimenticia (Tabla 7). El grupo T25 presentó una tasa de ingestión promedio significativamente mayor que los grupos REF y T50 durante los primeros 10 días de realimentación. También se observaron valores significativamente más altos ($p < 0.05$) en el grupo T50 en comparación con el grupo REF. Entre los días 21 y 50 del bioensayo, no hubo diferencias significativas en la tasa de ingestión promedio entre los tratamientos ($p > 0.05$). El porcentaje de ahorro de alimento sobre el periodo total del bioensayo fue de $12.08 \pm 0.73 \%$ y de $22.43 \pm 0.29 \%$ respectivamente en los tratamientos T50 y T25.

Tabla 7. Peso, factor de conversión alimenticia (FCA) y tasa de ingestión promedio (% biomasa) los camarones *P. vannamei* mantenidos con una alimentación *ad libitum* considerados como la referencia (REF) y expuestos a restricción alimenticia con el 50% (T50) y 25% (T25) de la porción de REF durante el experimento 2.

	Día	REF	T50	T25
Peso (g)	Inicial	2.08 ± 0.03 ^a	2.08 ± 0.04 ^a	2.07 ± 0.04 ^a
	10	3.04 ± 0.05 ^a	2.61 ± 0.02 ^b	2.24 ± 0.04 ^c
	50	7.57 ± 0.12 ^a	7.14 ± 0.28 ^{ab}	6.65 ± 0.34 ^b
FCA	1-10	1.33 ± 0.11 ^b	1.21 ± 0.08 ^b	1.86 ± 0.10 ^a
	11-50	1.83 ± 0.01 ^a	1.74 ± 0.13 ^a	1.62 ± 0.11 ^a
Tasa de ingestión promedio (%biomasa)	1-10	6.12 ± 0.10 ^a	3.06 ± 0.05 ^b	1.54 ± 0.03 ^c
	11-20	5.08 ± 0.06 ^c	6.16 ± 0.04 ^b	6.74 ± 0.14 ^a
	21-50	4.53 ± 0.08 ^a	4.48 ± 0.12 ^a	4.52 ± 0.21 ^a

Los valores representan el promedio de las réplicas ± desviación estándar. Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos por el periodo de tiempo indicado según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

La TCE de los camarones T50 y T25 fue significativamente menor que la TCE de los organismos REF durante el periodo de restricción alimenticia (Fig. 14). Durante los primeros 10 días de realimentación (día 11-20), la TCE resultó significativamente mayor en los camarones previamente restringidos que en los camarones de referencia (Fig. 14) indicando crecimiento compensatorio. Entre los días 21 y 40, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. Entre los días 41 y 50, los camarones del tratamiento T25 exhibieron una TCE significativamente más alta que los camarones de referencia.

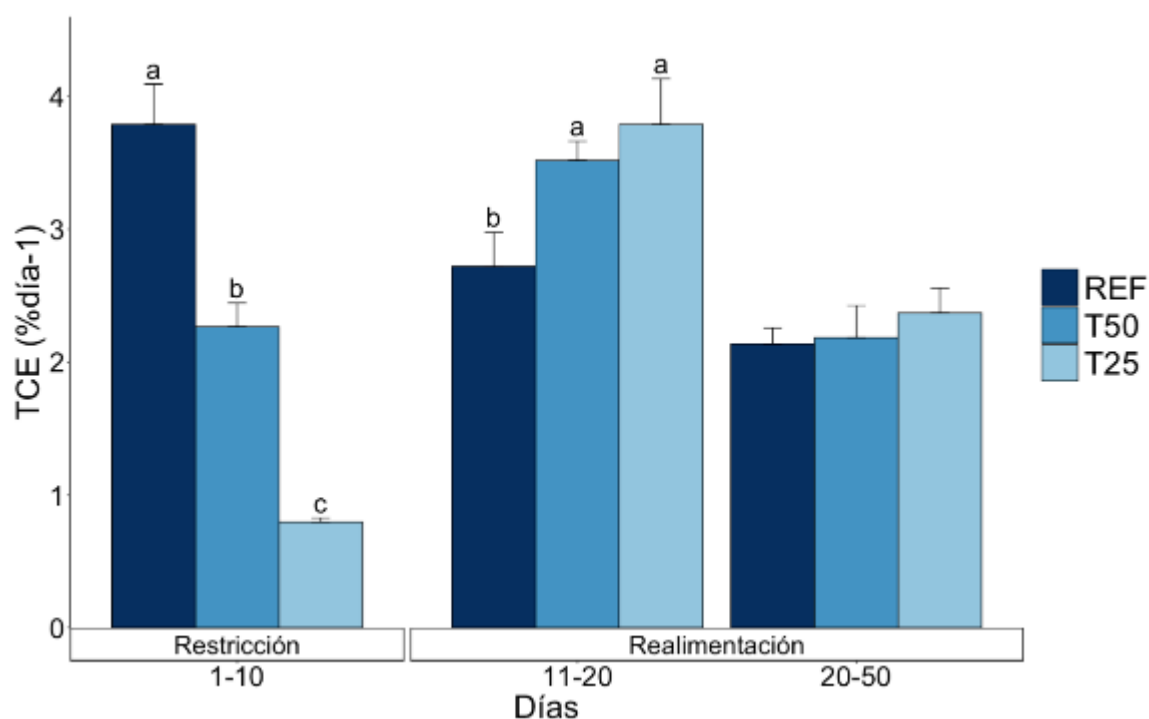


Figura 14. Tasa de crecimiento específico (% día) los camarones *P. vannamei* mantenidos con una alimentación *ad libitum* considerados como la referencia (REF) y expuestos a restricción alimenticia con el 50% (T50) y 25% (T25) de la porción de REF durante el experimento 2. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos por cada tiempo bajo una ANOVA de una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

7.2.2 Enzimas antioxidantes y peroxidación de lípidos

La actividad de la SOD en hepatopáncreas de juveniles de *P. vannamei* fue alterada por la interacción entre el tratamiento nutricional (T25) y la exposición al amonio ($p < 0.05$) (Fig. 15). Mientras que la actividad de la CAT fue afectada por el tratamiento nutricional (T50 y T25) y la exposición al reto y por la interacción de ambos ($p < 0.05$) (Fig. 15).

En condiciones control de crecimiento compensatorio sin estrés abiótico, los camarones del grupo T25 mostraron una actividad de la SOD significativamente menor a la de los camarones de los grupos REF y T50 ($p < 0.05$) (Fig. 15). Por el contrario, en las mismas condiciones, los camarones de los tratamientos T50 y T25 mostraron una actividad de la CAT significativamente mayor a los camarones de REF ($p < 0.05$) (Fig. 15). La actividad de la enzima antioxidante Gpx no fue significativamente afectada por factores nutricionales o de estrés abiótico ($p > 0.05$) (Tabla 8).

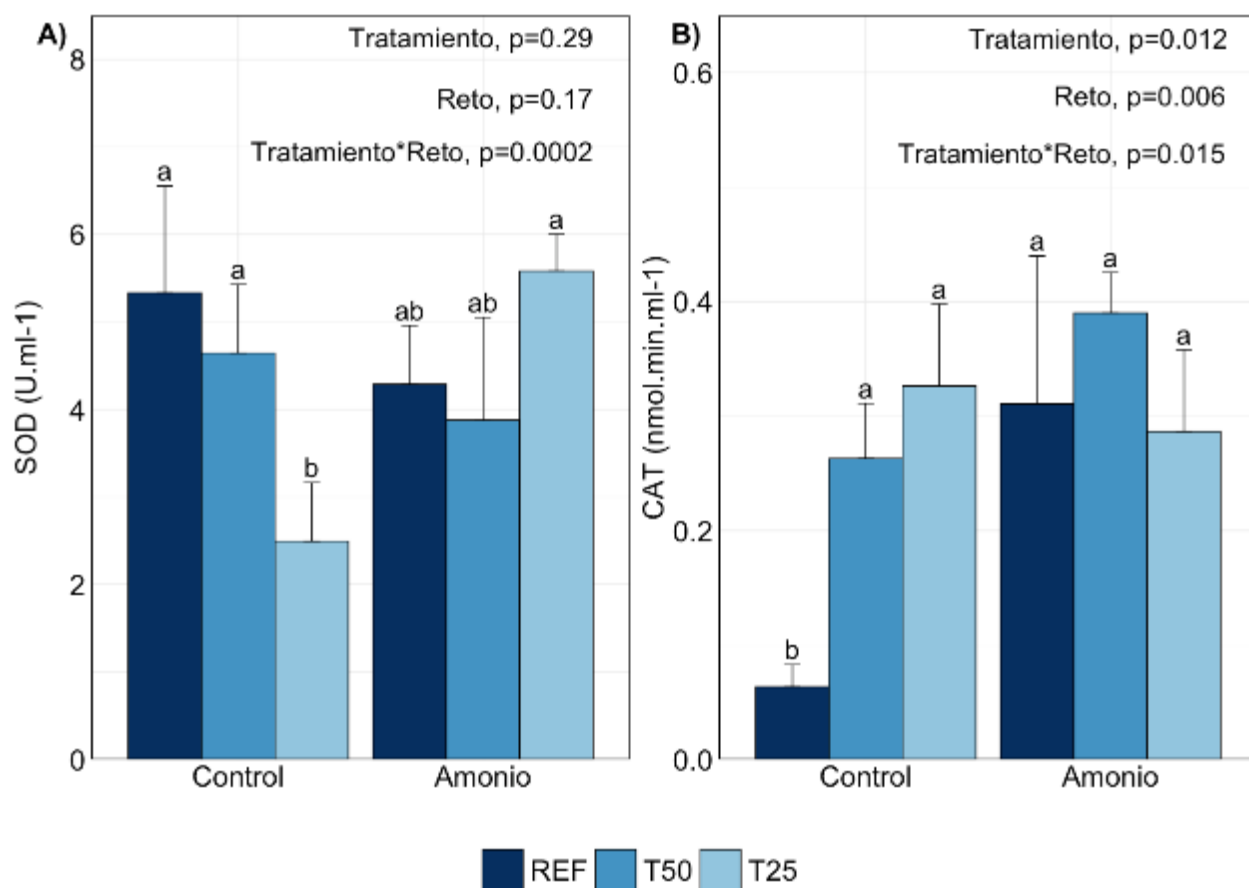


Figura 15. Actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) (A) y de la catalasa (CAT) (B) en el hepatopáncreas de organismos *P. vannamei* expuestos a diferentes condiciones restrictivas de alimentación en condición control y bajo un reto de alta concentración en amonio ($20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) al día 16 del experimento 2. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar ($n=4$). Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos bajo el efecto de la interacción Tratamiento x Reto y han sido determinadas mediante una ANOVA a dos vías seguida de la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Tabla 8. Actividad del glutatión peroxidasa (Gpx) en el hepatopáncreas de organismos *P. vannamei* expuestos a diferentes condiciones restrictivas de alimentación en condición control y bajo un reto de alta concentración en amonio ($20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) al día 16 del experimento 2.

Control			Amonio			Valor de p		
REF	T50	T25	REF	T50	T25	Tratamiento	Reto	Tratamiento x reto
9.33 ± 2.19	6.58 ± 0.77	5.45 ± 1.31	6.26 ± 1.90	5.33 ± 1.51	3.73 ± 1.24	0.0128	0.0177	0.5928

Los valores representan el promedio de las réplicas ± desviación estándar (n=4). Los valores de p han sido determinadas mediante una ANOVA a dos vías.

El contenido de MDA en el hepatopáncreas de los camarones fue significativamente afectado por el factor del tratamiento nutricional y la interacción de los factores tratamiento nutricional y de reto con amonio ($p < 0.05$) (Fig. 16). En condiciones de control, los camarones previamente expuestos a restricciones alimenticias (T50 y T25) mostraron un contenido de MDA significativamente mayor al de los camarones alimentados en continuo (REF) ($p < 0.05$).

Después de 12 h de exposición a una concentración elevada de amonio, la actividad de la SOD no mostró diferencias significativas entre los 3 tratamientos nutricionales, ni diferencias significativas respecto a la actividad de los camarones de REF en condiciones de control ($p > 0.05$) (Fig. 15). En contraste, la actividad de la CAT y el contenido de MDA aparecen significativamente mayores en condiciones de alta concentración de amonio en los 3 tratamientos nutricionales, en comparación con los camarones de referencia en condiciones de control ($p < 0.05$) (Figs 15 y 16).

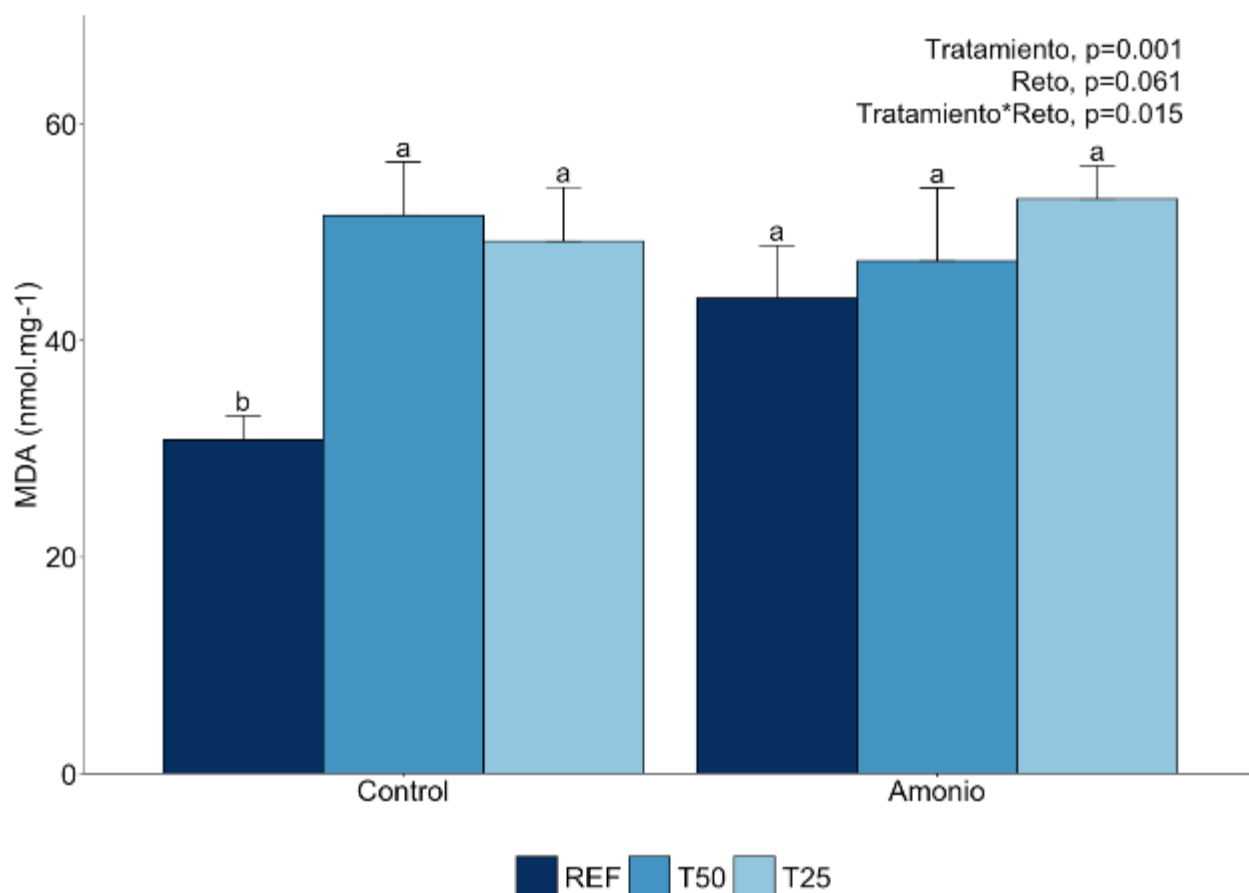


Figura 16. Contenido de malondialdehído (MDA) en el hepatopáncreas de organismos *P. vannamei* expuestos a diferentes condiciones restrictivas de alimentación en condición control y bajo un reto de alta concentración en amonio ($20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) al día 16 del experimento 2. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar ($n=4$). Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos bajo el efecto de la interacción Tratamiento x Reto y han sido determinadas mediante una ANOVA a dos vías seguida de la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

7.2.3 Análisis histológicos

La observación de los cortes histológicos resaltó una disminución en el ancho de las láminas branquiales de los camarones del tratamiento T25 en condiciones de control en comparación con los camarones REF en condiciones de control (Fig. 17). Esta reducción en el espesor de las branquias o atrofia, también se observó en todos los tratamientos nutricionales después de la exposición al reto de alta concentración de amonio (Fig. 17). Las medidas de la altura de los filamentos branquiales confirmaron que en los tratamientos T25 en condiciones de control y REF, T50 y T25 en condiciones de amonio, las branquias eran significativamente más delgadas que las de los camarones de referencia en condiciones de control ($p < 0.05$) (Fig. 18). Por otro lado, no se

observaron diferencias significativas en cuanto a la altura de las células hepatopancreáticas y la superficie muscular entre los tratamientos nutricionales ni entre las condiciones de control y amonio (ver anexo 1).

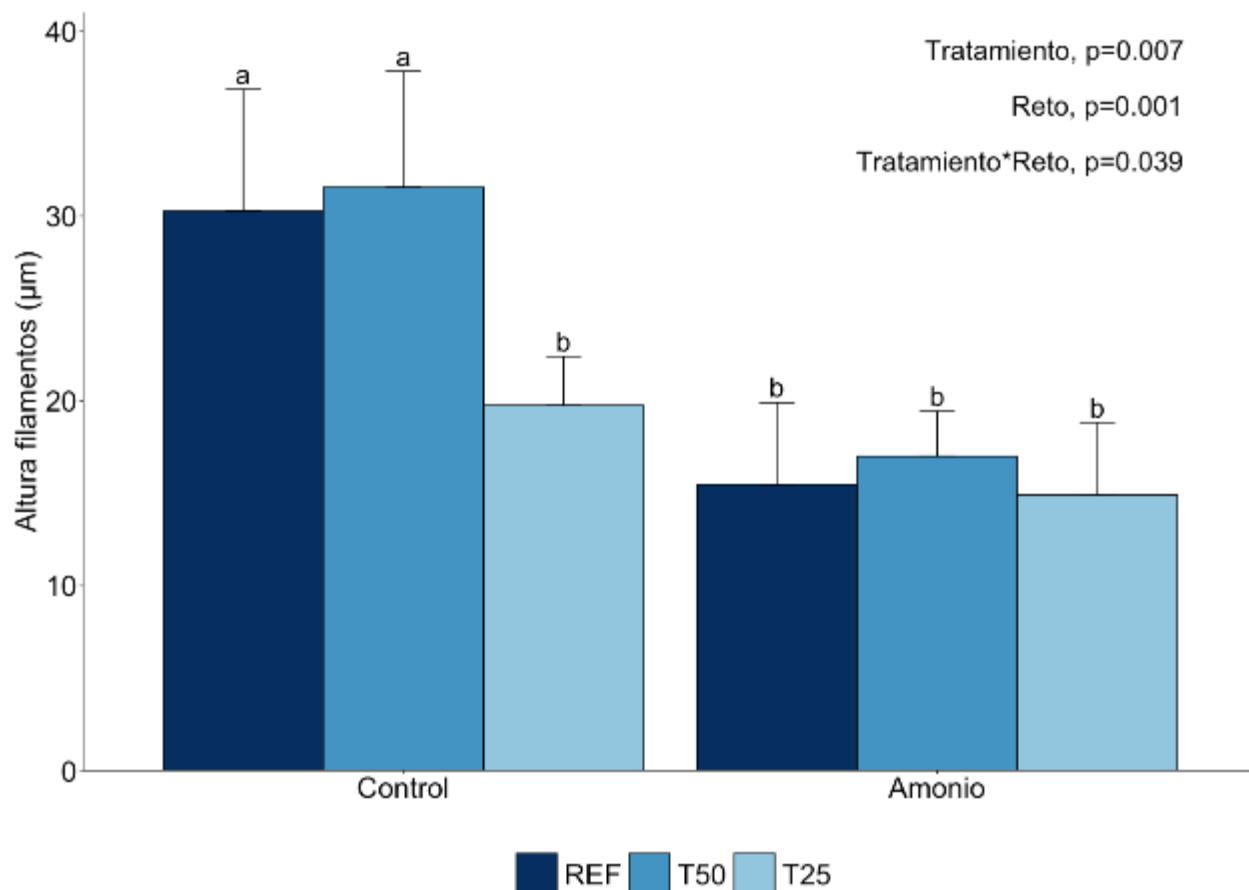


Figura 17. Gráfica de la altura de los filamentos branquiales de organismos *P. vannamei* expuestos a diferentes condiciones restrictivas de alimentación en condición control y bajo un reto de alta concentración en amonio ($20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) al día 16 del experimento 2. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar ($n=5$). Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos bajo el efecto de la interacción Tratamiento x Reto y han sido determinadas mediante una ANOVA a dos vías seguida de la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

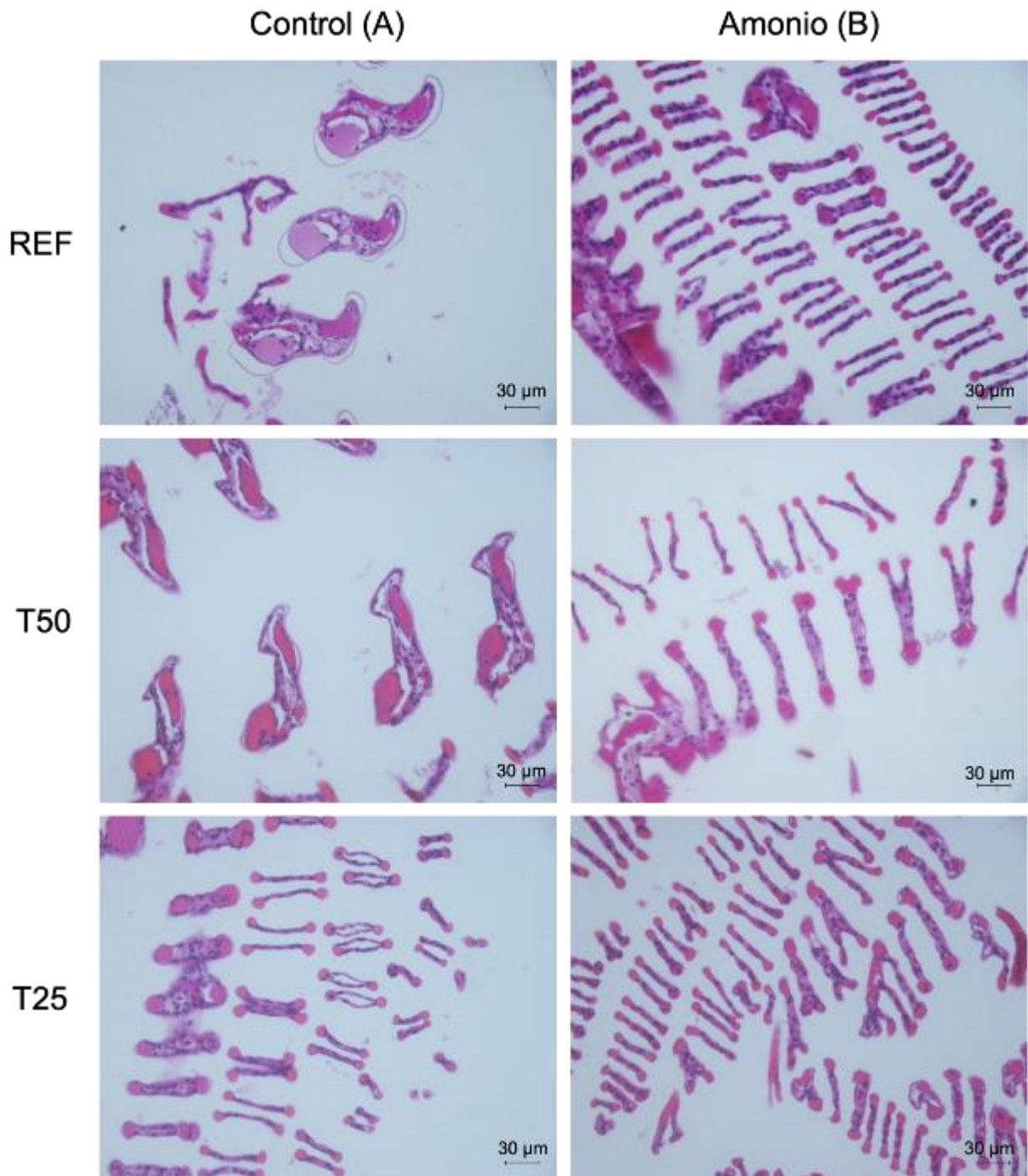


Figura 18. Microfotografías de las branquias de organismos *P. vannamei* expuestos a diferentes condiciones restrictivas de alimentación en condición control (A) y bajo un reto de alta concentración en amonio ($20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (B) al día 16 del experimento 2. Los tejidos se tiñeron con Hx/Eos y se utilizó un objetivo de 400x. Se puede observar una atrofia de los filamentos branquiales de los camarones del tratamiento T25 en condición control. En condición de amonio, la atrofia de los filamentos branquiales se observó en los camarones de los 3 tratamientos nutricionales.

7.3 Experimento 3: Evaluación del estrés oxidativo durante el crecimiento compensatorio en el camarón *P. vannamei* alimentado con dietas suplementadas

7.3.1 Parámetros zootécnicos

A lo largo del experimento se observó una temperatura media de 28.1 ± 0.3 °C y una concentración en oxígeno disuelto de 4.89 ± 0.18 mg·L⁻¹. No se observaron cambios significativos de temperatura o de concentración en oxígeno disuelto entre los tratamientos ($p > 0.05$). Durante los periodos de restricción alimenticia y de realimentación, la sobrevivencia de los organismos de los diferentes tratamientos nutricionales no fue significativamente afectada (Tabla 9).

Tabla 9. Sobrevivencia de los camarones *P. vannamei* expuestos a dieta de referencia y dietas suplementadas así que alimentados *ad libitum* (REF, MACA, CUR, CUR/MACA) y expuestos a restricción alimenticia con el 25% de la porción de REF (REF 25, MACA 25, CUR 25, CUR/MACA 25), al final del periodo de restricción (día 11) y al final del periodo de realimentación (día 41) del experimento 3.

Tratamientos	Sobrevivencia final restricción (%)	Sobrevivencia final realimentación (%)
REF	100 % ^a	86.90 % ^a
REF 25	100 % ^a	95.93 % ^a
MACA	100 % ^a	91.67 % ^a
MACA 25	100 % ^a	95.83 % ^a
CUR	100 % ^a	95.83 % ^a
CUR 25	100 % ^a	91.07 % ^a
CUR/MACA	97 % ^a	82.14 % ^a
CUR/MACA 25	100 % ^a	95.83 % ^a

Las mismas letras indican que las diferencias no fueron significativas entre los tratamientos según la prueba de Kruskal-Wallis y de Dunn ($p > 0.05$).

Al día 11 del experimento, todos los camarones que recibieron restricción alimenticia durante 10 días (REF 25, MACA 25, CUR 25, CUR/MACA 25) mostraron un peso húmedo significativamente inferior a los camarones de los tratamientos de alimento continuo (REF, MACA, CUR, CUR/MACA) ($p < 0.05$) (Tabla 10). Al final del período de realimentación (día 41), los pesos húmedos de los

camarones previamente restringidos no alcanzaron los pesos de los camarones alimentados de manera continua ($p < 0.05$).

Tabla 10. Peso húmedo (g) de los camarones *P. vannamei* expuestos a diferentes dietas y a una alimentación *ad libitum* o a restricción alimenticia, al día inicial (día 1), al final del periodo de restricción (día 11) y al final del periodo de realimentación (día 41) del experimento 3.

Tratamientos	Día 1	Día 11	Día 41
REF	0.69 ± 0.002 ^a	1.41 ± 0.06 ^a	4.20 ± 0.13 ^a
REF 25	0.69 ± 0.004 ^a	0.91 ± 0.05 ^b	3.51 ± 0.32 ^b
MACA	0.69 ± 0.004 ^a	1.39 ± 0.07 ^a	4.18 ± 0.08 ^a
MACA 25	0.69 ± 0.003 ^a	0.91 ± 0.04 ^b	3.64 ± 0.18 ^b
CUR	0.69 ± 0.004 ^a	1.39 ± 0.05 ^a	3.97 ± 0.05 ^{ab}
CUR 25	0.69 ± 0.006 ^a	0.93 ± 0.06 ^b	3.47 ± 0.28 ^b
CUR/MACA	0.69 ± 0.004 ^a	1.44 ± 0.07 ^a	4.21 ± 0.08 ^a
CUR/MACA 25	0.69 ± 0.003 ^a	0.91 ± 0.04 ^b	3.49 ± 0.18 ^b

Los valores representan el promedio de las réplicas ± desviación estándar. Las letras diferentes en las columnas indican una diferencia significativa entre los tratamientos por cada tiempo según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Durante los 10 primeros días del experimento, los camarones sometidos a la restricción alimenticia (25 % de la ración de referencia) mostraron una tasa de crecimiento específico (% día) significativamente inferior a la de los camarones alimentados de manera continua ($p < 0.05$) (Tabla 11). En cambio, durante los primeros 10 días de realimentación, las TCE de los camarones de los tratamientos REF 25, MACA 25, CUR 25 y CUR/MACA 25 fueron significativamente superior a las TCE de los camarones de los tratamientos REF, MACA, CUR y CUR/MACA ($p < 0.05$). Entre los días 21 y 30 de la experiencia, la TCE de los camarones del tratamiento CUR/MACA 25 fue significativamente mayor que la de los camarones del tratamiento CUR ($p < 0.05$). Durante los últimos 10 días de realimentación, no se observaron diferencias significativas en la TCE entre los diferentes tratamientos ($p > 0.05$).

Tabla 11. Tasa de crecimiento específico (% día) de los camarones *P. vannamei* expuestos a diferentes dietas y a una alimentación *ad libitum* o a restricción alimenticia, durante el periodo de restricción alimenticia (día 1-10), y durante el periodo de realimentación (día 11-40) del experimento 3.

Tratamientos	Día 1-10	Día 11-20	Día 21-30	Día 31-40
REF	7.10 ± 0.44 ^a	4.35 ± 0.30 ^b	3.55 ± 0.30 ^{ab}	3.05 ± 0.62 ^a
REF 25	2.73 ± 0.54 ^b	5.88 ± 0.32 ^a	4.14 ± 0.44 ^a	3.46 ± 0.07 ^a
MACA	6.94 ± 0.47 ^a	4.41 ± 0.30 ^b	3.55 ± 0.33 ^{ab}	3.05 ± 0.22 ^a
MACA 25	2.80 ± 0.43 ^b	6.31 ± 0.41 ^a	4.26 ± 0.20 ^{ab}	3.25 ± 0.62 ^a
CUR	6.98 ± 0.32 ^a	4.73 ± 0.23 ^b	3.15 ± 0.13 ^b	2.63 ± 0.28 ^a
CUR 25	2.96 ± 0.59 ^b	5.83 ± 0.52 ^a	4.12 ± 0.44 ^{ab}	3.22 ± 0.23 ^a
CUR/MACA	7.26 ± 0.67 ^a	4.70 ± 0.43 ^b	3.36 ± 0.45 ^{ab}	2.68 ± 0.50 ^a
CUR/MACA 25	2.70 ± 0.15 ^b	6.29 ± 0.44 ^a	3.92 ± 0.54 ^a	3.25 ± 0.44 ^a

Los valores representan el promedio de las réplicas ± desviación estándar. Las diferentes letras en las columnas indican diferencias significativas entre los tratamientos por cada tiempo según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Las tasas de ingestión (% de biomasa) de los camarones de los tratamientos REF, MACA, CUR y CUR/MACA fueron significativamente más altos que las de los camarones sometidos a restricción alimenticia ($p < 0.05$) (Fig. 19). En cambio, durante todo el período de realimentación, los camarones previamente sometidos a restricción alimenticias (REF 25, MACA 25, CUR 25 y CUR/MACA 25) mostraron tasas de ingestión significativamente más altas que los camarones alimentados continuamente ($p < 0.05$). Los factores de conversión alimentaria no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos durante el experimento 3 ($p > 0.05$) (Tabla 12).

Los porcentajes de ahorro de alimento sobre el periodo total del bioensayo fueron de: 14.93 ± 2.55 % para el tratamiento REF 25; 14.61 ± 1.91 % para el tratamiento MACA 25; 15.76 ± 2.34 % para el tratamiento CUR 25 y 17.25 ± 1.15 % para el tratamiento CUR/MACA 25. No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$).

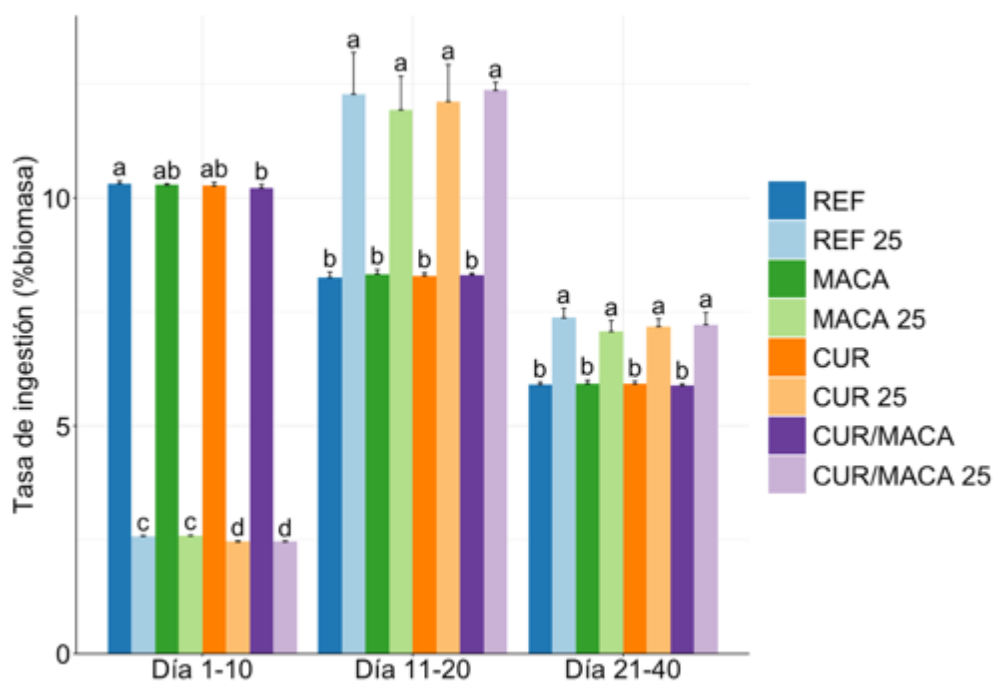


Figura 19. Tasa de ingestión (% biomasa) de los camarones *P. vannamei* expuestos a diferentes dietas y a una alimentación *ad libitum* o a restricción alimenticia, durante el periodo de restricción alimenticia (día 1-10), y durante el periodo de realimentación (día 11-40) del experimento 3. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos por cada tiempo según una prueba de Kruskal-Wallis y Dunn ($p < 0.05$).

Tabla 12. Factor de conversión alimenticia (FCA) de los camarones *P. vannamei* expuestos a diferentes dietas y a una alimentación *ad libitum* o a restricción alimenticia durante el experimento 3.

Tratamiento	Día 1-40
REF	1.6 \pm 0.2 ^a
REF 25	1.4 \pm 0.3 ^a
MACA	1.6 \pm 0.2 ^a
MACA 25	1.3 \pm 0.3 ^a
CUR	1.8 \pm 0.3 ^a
CUR 25	1.3 \pm 0.4 ^a
CUR/MACA	1.7 \pm 0.3 ^a
CUR/MACA 25	1.3 \pm 0.4 ^a

Los valores representan el promedio de las réplicas \pm desviación estándar. Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey (valor $p < 0.05$).

7.3.2 Enzimas antioxidantes y peroxidación de lípidos

En el día 11 del experimento, la aplicación de una alimentación continua con las diferentes dietas REF, MACA y CUR no causó diferencias significativas en la actividad de la SOD ($p > 0.05$) (Fig. 20). En cambio, la actividad de la SOD de los camarones alimentados continuamente con la dieta suplementada CUR/MACA fue significativamente menor a la de los de referencia ($p < 0.05$). Los camarones que recibieron la restricción alimenticia con la dieta de referencia (REF 25) mostraron una actividad SOD similar a los de referencia alimentados continuamente (REF), tanto en el día 10 como en el 16 ($p > 0.05$). En cambio, los organismos que fueron sometidos a la restricción alimenticia con una dieta suplementada mostraron una actividad SOD significativamente superior a la de los alimentados en continuo, independientemente de la dieta ($p < 0.05$), tanto en el día 10 como en el 16 (Fig. 20).

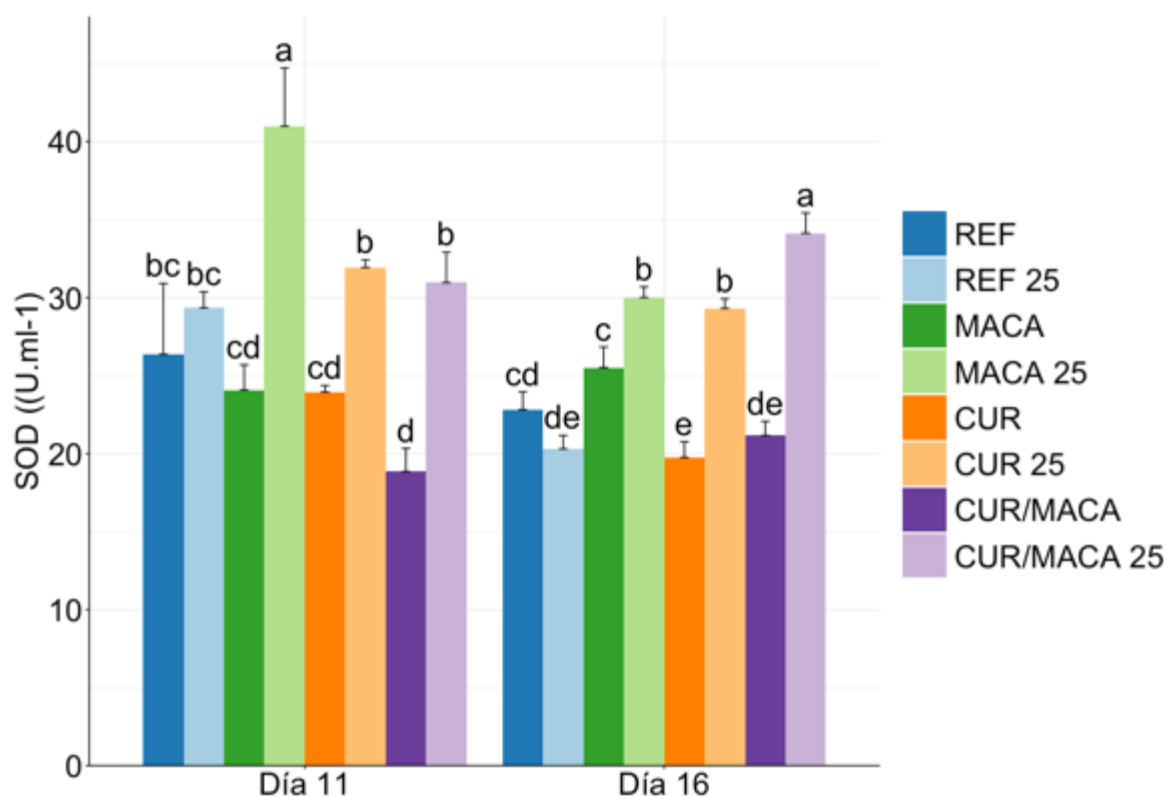


Figura 20. Actividad de la SOD en el hepatopáncreas de organismos *P. vannamei* a diferentes dietas y a una alimentación *ad libitum* o a restricción alimenticia, al final del periodo de restricción (día 11) y durante el crecimiento compensatorio (día 16) en el experimento 3. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar ($n=4$). Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos por cada tiempo según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Los camarones a los que se les suministró alimento referencia mostraron una actividad de la CAT similar, ya sea que se alimentaran de manera continua (REF) o estuvieran sometidos a la restricción alimenticia (REF 25), tanto en el día 11 como en el día 16 ($p > 0.05$) (Fig. 21). Por otro lado, en el día 11, la actividad de la CAT de los camarones alimentados de manera continua las dietas CUR y CUR/MACA fue significativamente superior a la actividad de la CAT de los camarones de REF ($p < 0.05$). Los camarones sometidos a la restricción alimenticia y expuestos a alimentos suplementados mostraron una actividad de la CAT significativamente inferior a la de los camarones alimentados de manera continua, independientemente del régimen, al día 11 ($p < 0.05$). Asimismo, en el día 16, los organismos que previamente habían experimentado la restricción alimenticia y fueron alimentados con una dieta suplementada presentaron una actividad de la CAT significativamente inferior a los alimentados con el alimento de referencia, ya sea con o sin restricciones ($p < 0.05$).

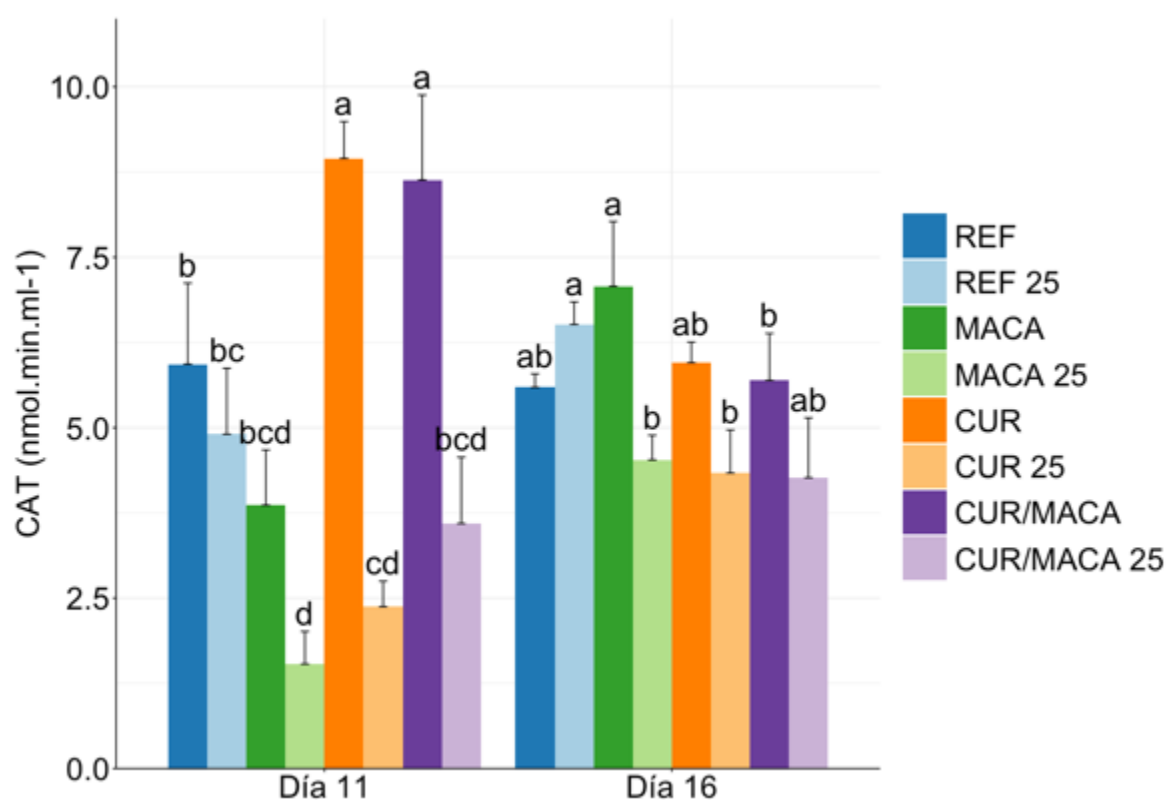


Figura 21. Actividad de la CAT en el hepatopáncreas de organismos *P. vannamei* a diferentes dietas y a una alimentación *ad libitum* o a restricción alimenticia, al final del periodo de restricción (día 11) y durante el crecimiento compensatorio (día 16) en el experimento 3. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar ($n=4$). Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos por cada tiempo según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

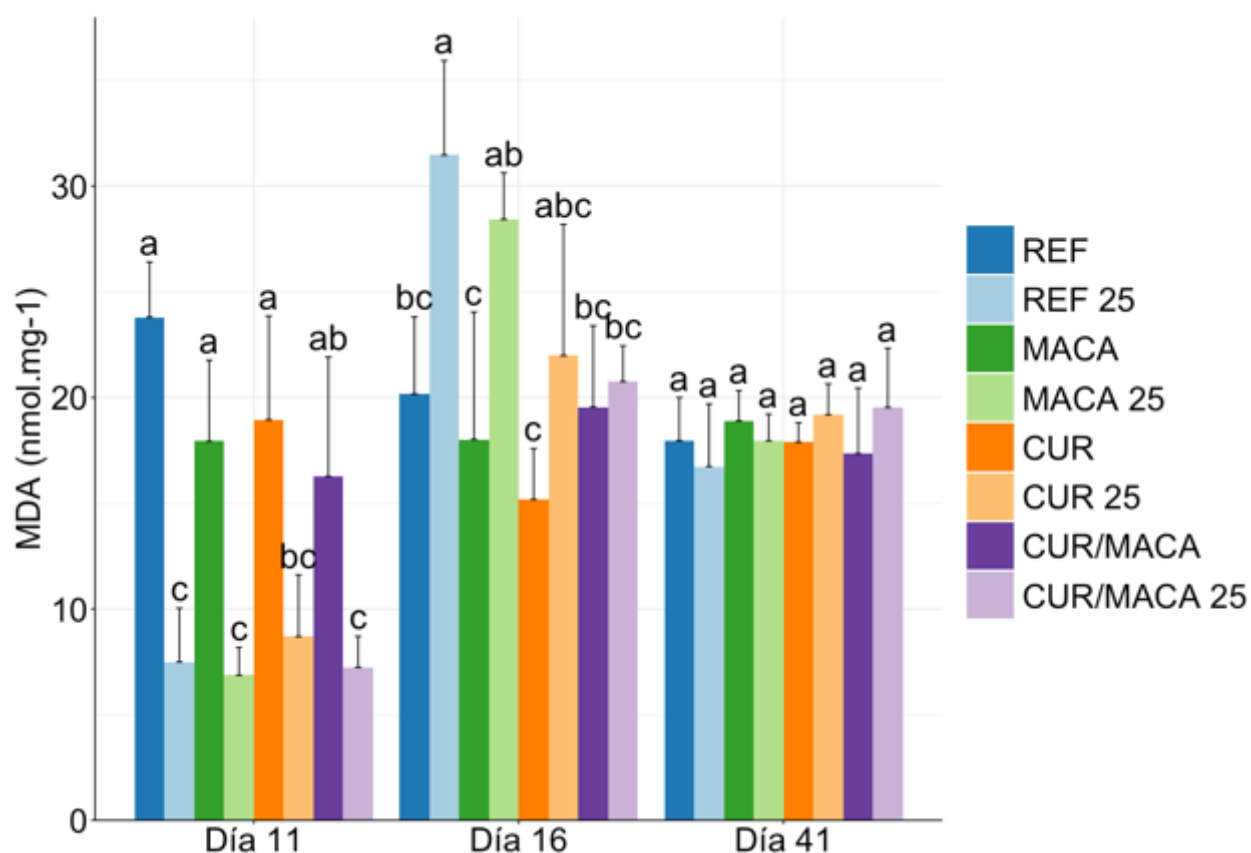


Figura 22. Contenido de malondialdehído (MDA) en el hepatopáncreas de organismos *P. vannamei* a diferentes dietas y a una alimentación *ad libitum* o a restricción alimenticia, al final del periodo de restricción (día 11), durante el crecimiento compensatorio (día 16) y al final del periodo de realimentación (día 41) en el experimento 3. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar ($n=4$). Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos por cada tiempo según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Al día 11, los camarones que recibieron 25 % del alimento durante 10 días, independientemente del tipo de alimento, mostraron un contenido de MDA significativamente inferior al de los camarones alimentados de manera continua, independientemente de la dieta ($p < 0.05$) (Fig. 22). Durante el período de realimentación (día 16), los camarones previamente restringidos y alimentados con el alimento referencia o suplementadas con maca, mostraron un contenido de MDA inferior al de los camarones alimentados de manera continua, respectivamente en los tratamientos REF y MACA ($p < 0.05$). En cambio, los camarones previamente restringidos y alimentados con las dietas CUR o CUR/MACA, mostraron un contenido de MDA similar a los camarones alimentados de manera continua y sometidos a las mismas dietas ($p > 0.05$). Al final del experimento, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$).

La Fig. 23 muestra las actividades de las enzimas pro-fenoloxidasa y fenoloxidasa en el plasma de los camarones durante el periodo de realimentación (día 16). Se observa que, en los camarones alimentados de manera continua, la alimentación suplementada con cúrcuma y maca condujo a una actividad significativamente más alta de la pro-fenoloxidasa que en los camarones de los otros tratamientos ($p < 0.05$). Por otro lado, en los organismos sometidos previamente a la restricción alimenticia y alimentados con el alimento de referencia, se observa una actividad significativamente más alta de la pro-fenoloxidasa en comparación con sus congéneres alimentados de manera continua con el mismo alimento ($p < 0.05$). Además, los camarones que recibieron alimentos suplementados (MACA, CUR, CUR/MACA) y que fueron sometidos a la restricción alimenticia mostraron una actividad significativamente más baja de la pro-fenoloxidasa en comparación con los camarones nunca expuestos a la restricción, independientemente del alimento ($p < 0.05$).

En cuanto a la fenoloxidasa (FO), las actividades enzimáticas en el plasma de los camarones alimentados con el alimento referencia, con o sin restricción previa, fueron significativamente más altas que en los camarones de los otros tratamientos ($p < 0.05$). Los camarones de los tratamientos MACA 25 y CUR/MACA 25, presentaron una actividad significativamente más baja de la FO en comparación con los camarones MACA y CUR/MACA ($p < 0.05$).

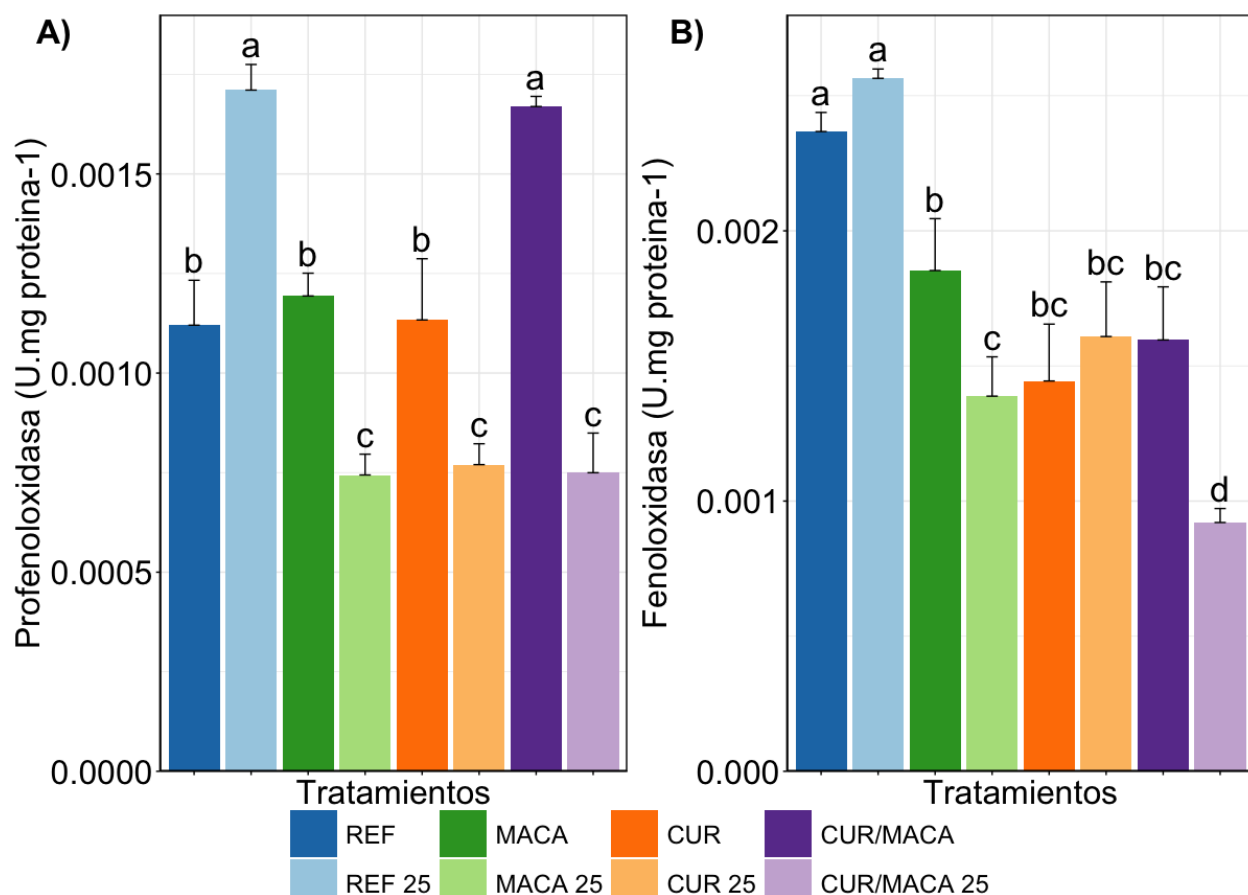


Figura 23. Actividad de la profenoloxidas (A) y de la fenoloxidas (B) en el plasma de organismos *P. vannamei* a diferentes dietas y a una alimentación *ad libitum* o a restricción alimenticia, durante el crecimiento compensatorio (día 16) en el experimento 3. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar ($n=4$). Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos por cada tiempo según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

7.4 Experimento 4: Crecimiento compensatorio en sistema biofloc y estrés oxidativo

A lo largo del experimento se observó una temperatura media de 27.8 ± 0.4 grados, una concentración en oxígeno disuelto de $4.90 \pm 0.40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, un pH de 7.8 ± 0.2 y una cantidad de sólidos en sedimentación de $5.3 \pm 2.4 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$. No se observaron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.05$). Las concentraciones en amonio y en nitrito se quedaron debajo de $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, como la concentración en nitrato se quedó a una concentración entre 0 y $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Los camarones sometidos a 10 días de restricción alimenticia (T50, T25 y T1:2), seguidos de 30 días de realimentación, exhibieron tasas de sobrevivencia que no difirieron significativamente del tratamiento de referencia en este experimento desarrollado en un sistema de biofloc (Tabla 13).

Tabla 13. Supervivencia de los camarones *P. vannamei* expuestos a alimentación *ad libitum* (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2) al final del periodo de restricción (día 11) y al final del periodo de realimentación (día 41) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.

Tratamientos	Final del periodo de restricción (día 11)	Final del periodo de realimentación (día 41)
REF	97 % ^a	80.3 % ^a
T50	100 % ^a	87.9 % ^a
T25	92.4 % ^a	75.8 % ^a
T1:2	93.9 % ^a	77.3 % ^a

Las mismas letras indican que las diferencias no fueron significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$) según la prueba de Kruskal-Wallis.

7.4.1 Parámetros zootécnicos

Los camarones sometidos a restricciones alimenticias continuas (T50 y T25), así como cíclica (T1:2), presentaron un peso húmedo (g) significativamente menor que los camarones de REF después de 10 días de experimento ($p < 0.05$) (Fig. 24). Al día 40, es decir, al final del período de realimentación, todos los camarones previamente restringidos alcanzaron un peso similar al de los camarones alimentados en continuo ($p > 0.05$) (Fig. 24). Durante el período de restricción alimenticia, los grupos T50, T25 y T1:2 mostraron una tasa de crecimiento específico significativamente menor al grupo REF ($p < 0.05$) (Tabla 14). En los primeros 10 días de realimentación, los grupos de camarones previamente restringidos presentaron una TCE (% día⁻¹) significativamente mayor que el grupo REF ($p < 0.05$) (Tabla 14).

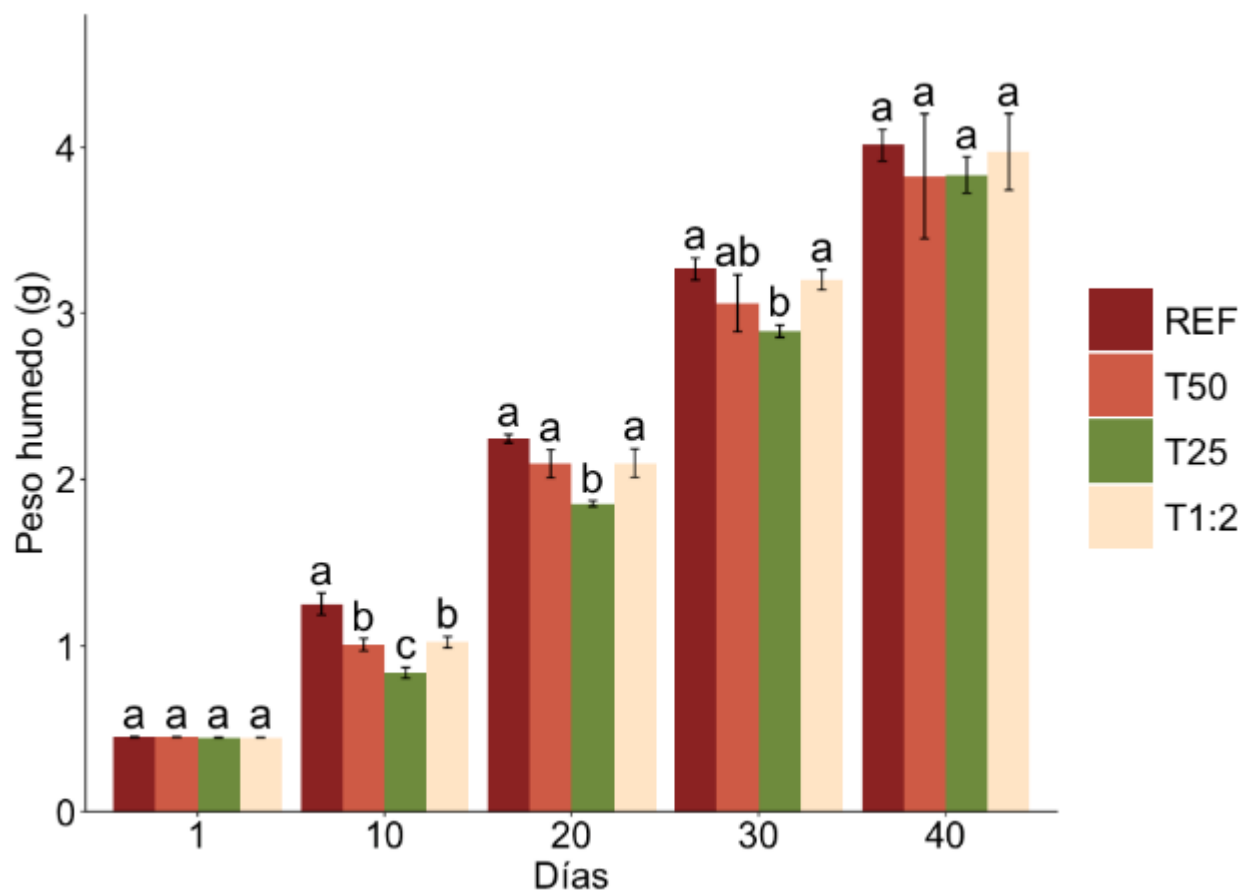


Figura 24. Pesos húmedos de los camarones *P. vannamei* expuestos a alimentación *ad libitum* (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), al final del periodo de restricción (día 10) y durante el periodo de realimentación (día 11-40) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos por cada tiempo según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Tabla 14. Tasa de crecimiento específico (TCE) (% día⁻¹) de los camarones *P. vannamei* expuestos a alimentación *ad libitum* (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), durante el periodo de restricción (día 10) y durante el periodo de realimentación (día 11-40) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.

Tratamientos	Días 1-10	Días 11-20	Días 21-40
REF	10.23 \pm 0.53 ^a	5.86 \pm 0.51 ^b	2.90 \pm 0.26 ^a
T50	8.04 \pm 0.35 ^b	7.34 \pm 0.21 ^a	3.00 \pm 0.44 ^a
T25	6.27 \pm 0.32 ^c	7.97 \pm 0.30 ^a	3.63 \pm 0.10 ^a
T1:2	8.23 \pm 0.35 ^b	7.21 \pm 0.35 ^a	3.19 \pm 0.45 ^a

Los valores representan el promedio de las réplicas \pm desviación estándar. Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos por cada tiempo según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

La tasa de ingestión (% biomasa) fue significativamente más alta en el grupo T25 que en los grupos T50 y T1:2 durante los primeros 10 días de realimentación (Fig. 25). Durante este período, todos los grupos de restricción mostraron una tasa de ingestión mayor al grupo de REF. En el caso de T25, esta diferencia se mantuvo hasta el final del experimento. Además, el grupo T1:2 mostró una tasa de ingestión significativamente mayor que el grupo REF entre los días 31 y 40 del experimento. Al final del experimento, el factor de conversión alimenticia fue de 1.4 ± 0.1 en el tratamiento REF, 1.3 ± 0.1 en el tratamiento T50, 1.2 ± 0.2 en el tratamiento T25 y de 1.3 ± 0.1 en el tratamiento T1:2, no mostró diferencias significativas entre los tratamientos.

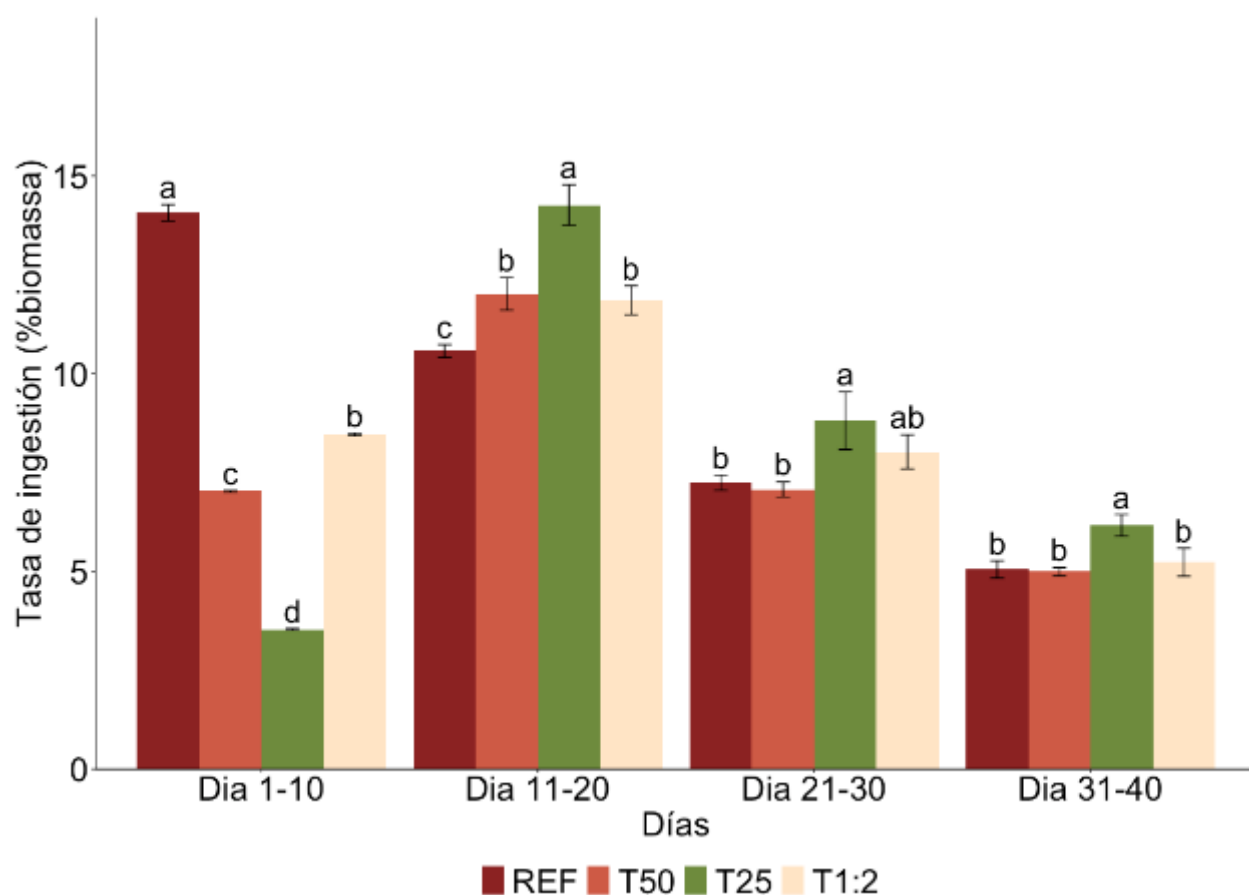


Figura 25. Tasa de ingestión promedio (% biomasa) de los camarones *P. vannamei* expuestos a alimentación *ad libitum* (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), durante el periodo de restricción (día 1-10) y durante el periodo de realimentación (día 11-40) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar. Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos por cada tiempo según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Los porcentajes de ahorro del alimento sobre el periodo total del bioensayo fueron de 12.22 ± 3.43 %; 8.85 ± 3.94 % y 5.08 ± 2.31 % respectivamente para los tratamientos T50, T25 y T1:2.

7.4.2 Enzimas digestivas

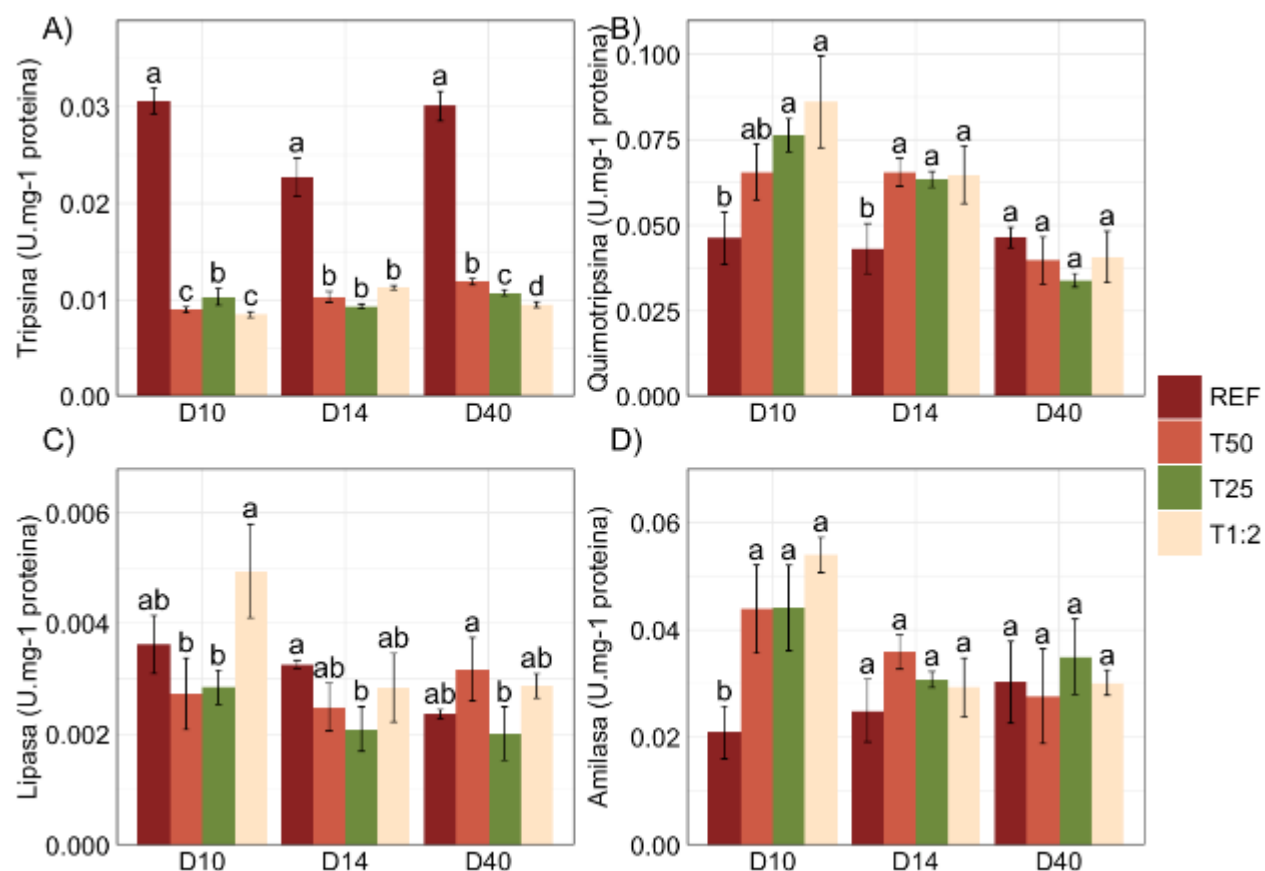


Figura 26. Actividades de tripsina (A), quimotripsina (B), lipasa (C) y amilasa (D) en el hepatopáncreas de los camarones *P. vannamei* expuestos a alimentación *ad libitum* (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), al final del periodo de restricción (día 10), durante el crecimiento compensatorio (día 14) y al final del periodo de realimentación (día 40) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar ($n=4$). Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos por cada tiempo según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Las actividades de las enzimas digestivas fueron evaluadas en tres momentos distintos del experimento: al final del periodo de restricción (día 10), durante el periodo de realimentación y crecimiento compensatorio (día 14) y al día final (día 40) (Fig. 26). La actividad de la enzima tripsina fue significativamente mayor en los hepatopáncreas de los organismos del grupo de referencia que en los camarones de los tratamientos T50, T25 y T1:2, en los tres tiempos estudiados ($p < 0.05$) (Fig. 25). Después de ser alimentados con el 25 % de la ración de referencia y con ciclos de un día de ayuno y dos días de realimentación, los camarones exhibieron una actividad de la quimotripsina significativamente mayor que la observada en los camarones de REF

($p < 0.05$). Durante el periodo de realimentación, todos los camarones previamente restringidos mostraron una actividad de la quimotripsina significativamente mayor a la de los camarones REF ($p < 0.05$). Al final del experimento, no se observaron diferencias significativas en la actividad de la quimotripsina entre los grupos ($p > 0.05$). La actividad de la lipasa en el hepatopáncreas de *P. vannamei* en los grupos de restricción alimenticia T50 y T1:2 y en los tres tiempos estudiados, no mostraron diferencias significativas con respecto al grupo REF ($p > 0.05$) (Fig. 25). Los camarones del tratamiento T25 presentaron una actividad de la lipasa significativamente menor a los camarones de referencia al día 14 ($p < 0.05$). En cuanto a la actividad de la amilasa, se observó un aumento significativo en los grupos de restricción en el día 10 en comparación con el grupo REF ($p < 0.05$). A los días 14 y 40, no se observaron diferencias significativas entre las actividades de la amilasa entre los tratamientos ($p > 0.05$).

7.4.3 Enzimas antioxidantes y peroxidación de lípidos

Se evaluaron las actividades de las enzimas antioxidantes y el contenido de MDA en el hepatopáncreas de los camarones en tres tiempos del experimento (días 10, 14 y 40).

Los resultados revelan una actividad de la SOD menor en camarones de los grupos de restricción en comparación con el grupo REF al final del periodo de restricción ($p < 0.05$) (Fig. 27). Durante el periodo de crecimiento compensatorio, los camarones de los tratamientos T50 y T25 mostraron una actividad de la SOD menor que la del tratamiento REF ($p < 0.05$). Al final del experimento, solo T1:2 mostró una actividad SOD significativamente menor que REF ($p < 0.05$). Después del periodo de restricción, la actividad de la CAT fue menor en los tres grupos de restricción en comparación con el grupo de referencia ($p < 0.05$) (Fig. 27). Contrariamente, la actividad de la CAT fue mayor en los grupos de restricción en relación con el grupo REF, pero solo fue significativa en el grupo T25 ($p < 0.05$). Al final del experimento, los tratamientos T25 y T1:2 exhibieron una actividad menor que los tratamientos REF y T50 ($p < 0.05$).

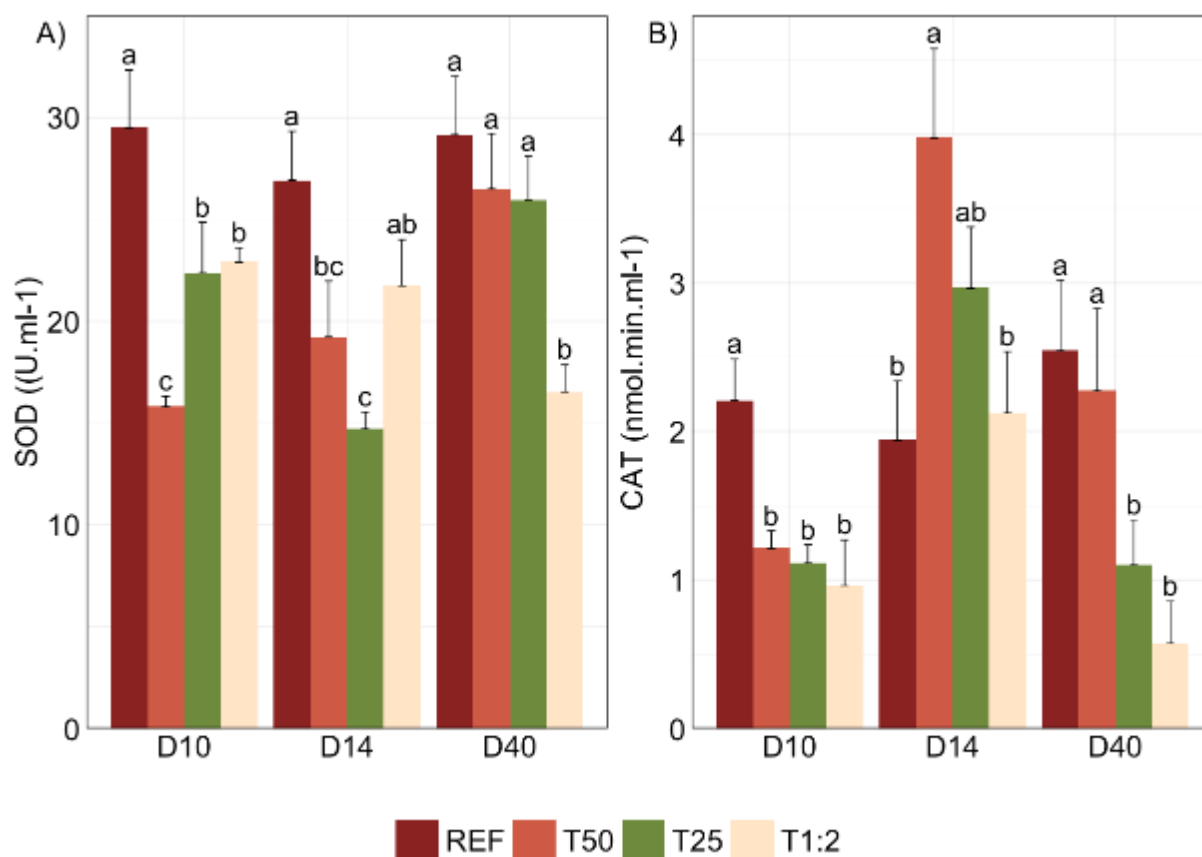


Figura 27. Actividad de las enzimas SOD (A) y CAT (B) en el hepatopáncreas de los camarones *P. vannamei* expuestos a alimentación *ad libitum* (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), al final del periodo de restricción (día 10), durante el crecimiento compensatorio (día 14) y al final del periodo de realimentación (día 40) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar (n=4). Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos por cada tiempo según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

En cuanto al contenido de MDA, los camarones de los tratamientos T50 y T1:2 presentaron una cantidad menor que el tratamiento de referencia al día 10 ($p < 0.05$) (Fig. 28). Durante el crecimiento compensatorio, se observó un contenido de MDA significativamente mayor en los camarones T25 y T1:2 en comparación con los camarones REF y T50 ($p < 0.05$). Al final, no se observaron diferencias entre los tratamientos ($p > 0.05$).

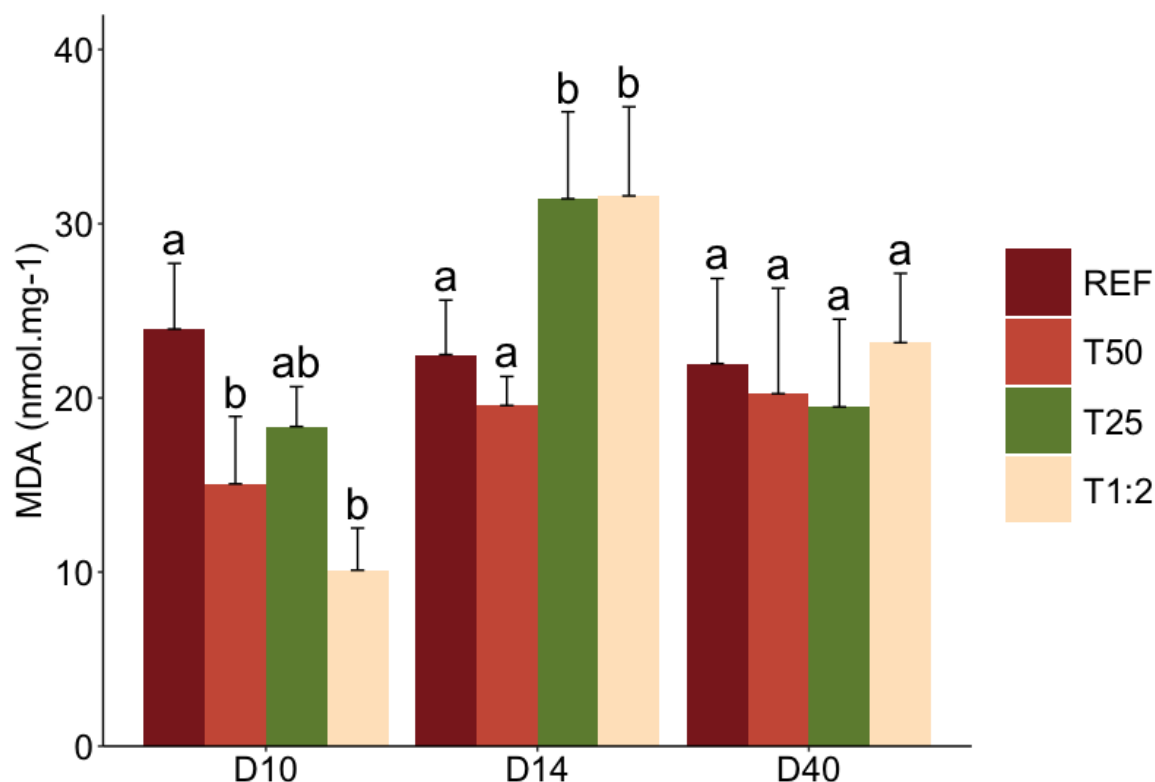


Figura 28. Contenido de MDA en hepatopáncreas de los camarones *P. vannamei* expuestos a alimentación *ad libitum* (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), al final del periodo de restricción (día 10), durante el crecimiento compensatorio (día 14) y al final del periodo de realimentación (día 40) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc. Cada barra representa el promedio de las réplicas \pm la desviación estándar ($n=4$). Las diferentes letras indican una diferencia significativa entre los tratamientos por cada tiempo según una ANOVA a una vía y una prueba de Tukey ($p < 0.05$).

7.4.4 Comunidades microbianas

Las comunidades microbianas de los camarones de los tratamientos REF, T50, T25 y T1:2 no presentaron diferencia significativa en su diversidad α ($p > 0.05$) (Fig. 29). Los principales filos para ambas especies fueron, en orden descendente de abundancia: *Proteobacteria*, *Flavobacteriia*, *Actinobacteria*, Bacterias no clasificadas y *Acidimicrobiia* (Fig. 30). Las *Alphaproteobacterias* representaron 84 % de las bacterias identificadas en el hepatopáncreas de los camarones REF, el 92 % en los tratamientos T50 y T1:2 y el 94 % en el tratamiento T25. Dentro de las *Alphaproteobacterias*, la mayoría de las bacterias identificadas pertenecían a la familia de los *Rhodobacterales* en los 4 tratamientos (Fig. 31). En cuanto al orden de las *Gammaproteobacterias*, se identificaron bacterias de las familias *Alteromonadales*,

Cellvibrionales y *Vibrionales* (Fig. 31). Según el tratamiento nutricional, las comunidades microbianas difieren significativamente en la abundancia de la familia *Vibrionales* ($p < 0.05$), representando el 22 % de las *Gammaproteobacterias* identificadas en los camarones del tratamiento REF, el 6 % en los del tratamiento T50, el 9 % en los del tratamiento T25 y el 3 % en los del tratamiento T1:2.

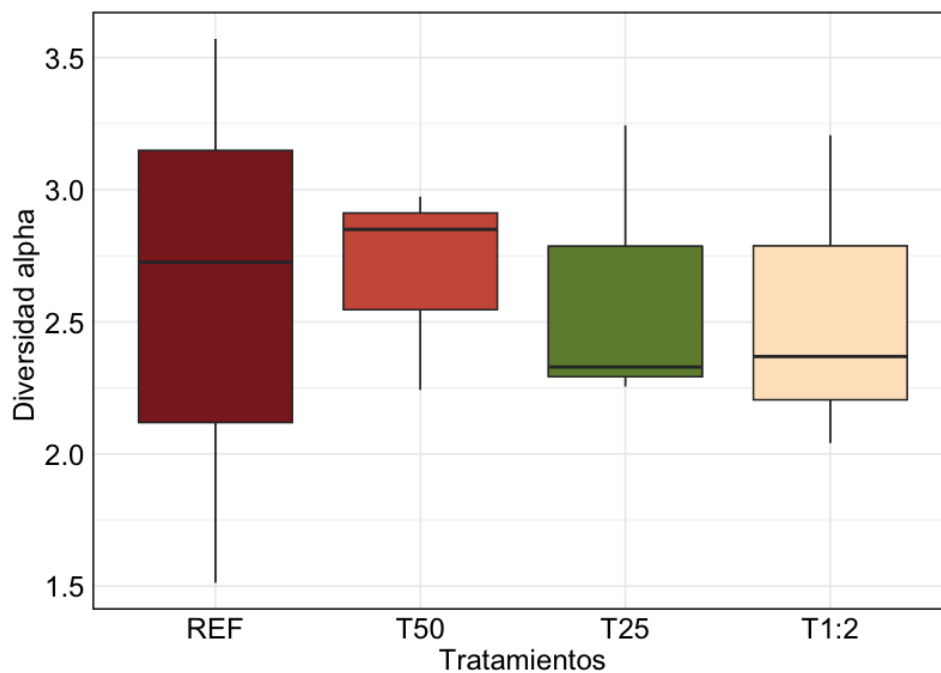


Figura 29. Diversidad α de las comunidades microbianas en hepatopáncreas de los camarones *P. vannamei* expuestos a alimentación *ad libitum* (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), durante el crecimiento compensatorio (día 14) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.

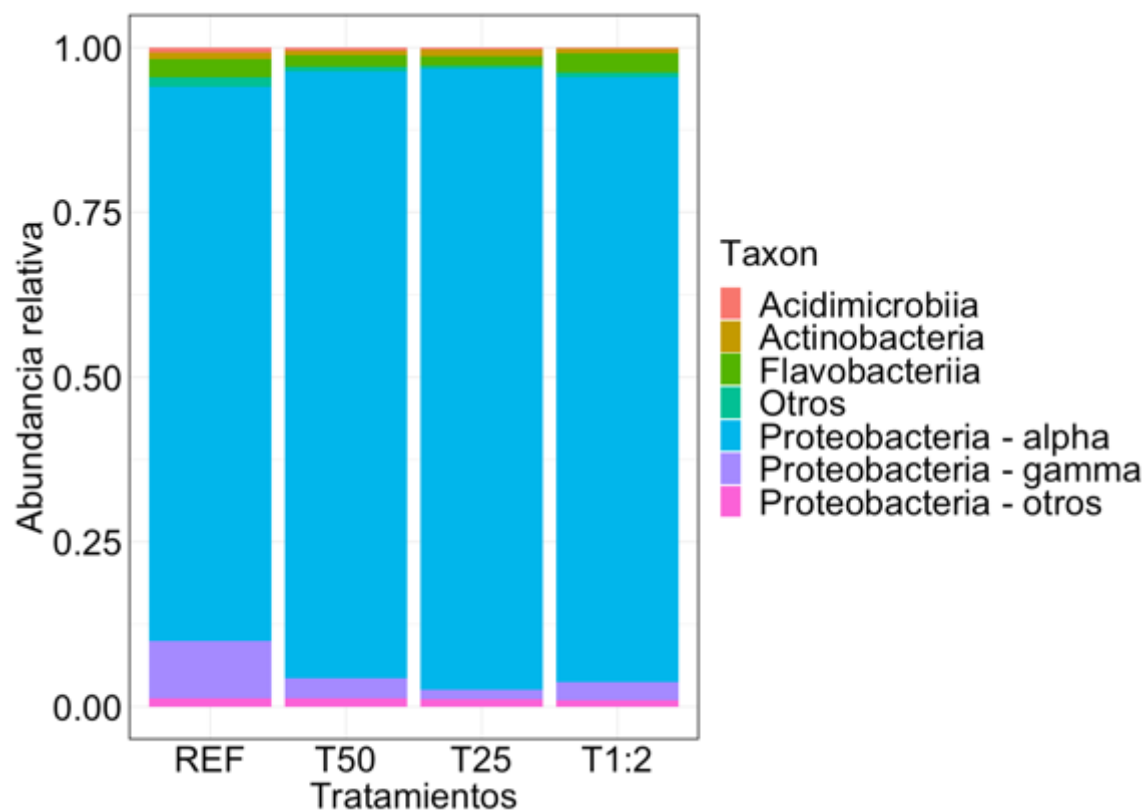


Figura 30. Abundancia relativa de los principales filos bacterianos en hepatopáncreas de los camarones *P. vannamei* expuestos a alimentación *ad libitum* (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), durante el crecimiento compensatorio (día 14) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.

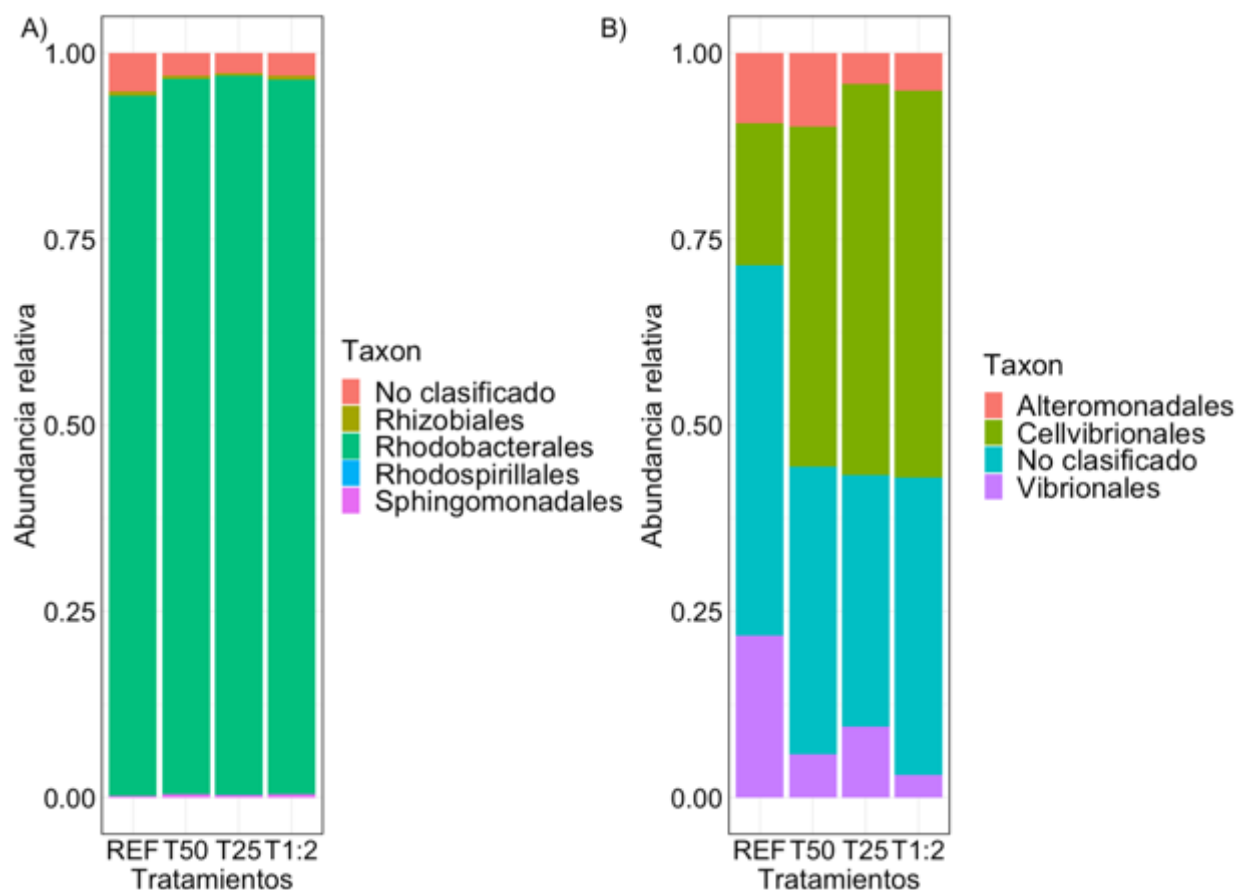


Figura 31. Abundancia relativa de *Alphaproteobacteria* (A) y *Gammaproteobacteria* (B) en hepatopáncreas de los camarones *P. vannamei* expuestos a alimentación *ad libitum* (REF) y a restricciones alimenticias (T50, T25, T1:2), durante el crecimiento compensatorio (día 14) en el experimento 4 realizado en sistema biofloc.

8. DISCUSIÓN

8.1 Inducción del crecimiento compensatorio y su efecto productivo

La aplicación de restricción alimenticia parcial y continua en los diferentes experimentos no afectó la sobrevivencia de juveniles de *P. vannamei*. Lara *et al.* (2017) reportaron que la sobrevivencia de camarones sometidos a varias restricciones alimenticias durante 21 días no se vio afectada. Por otro lado, la aplicación de restricciones alimenticias estrictas puede conducir al fenómeno de canibalismo y afectar significativamente la sobrevivencia de los camarones (Shao *et al.*, 2020), lo cual no sucedió en el presente estudio.

Los camarones pueden soportar la restricción alimenticia utilizando sus propias reservas energéticas y reduciendo su metabolismo (Sánchez-Paz *et al.*, 2007; Włodarczyk *et al.*, 2019), lo que provoca un lento crecimiento en comparación con el observado en camarones alimentados normalmente, como se observó en los organismos sometidos a restricciones alimenticias parciales de 10 días en este estudio. Además, la intensidad de la severidad de la restricción alimenticia afectó negativamente el peso de los camarones. El peso de los organismos alimentados con el 25 % de la ración de los organismos de REF, presentaron un peso significativamente menor al peso de los organismos que recibieron 50 % de la ración. El impacto de la severidad de la restricción sobre el peso de los camarones al final del periodo de restricción alimenticia se ha observado en otros estudios (Wu *et al.*, 2001; Lara *et al.*, 2017).

Durante el periodo de recuperación con alimentación a saciedad, la TCE fue significativamente más alta en los organismos previamente restringidos, lo que confirma la aceleración del crecimiento o crecimiento compensatorio (Ali *et al.*, 2003). En el presente estudio, se demostró que los camarones que recibieron 50 y 25 % de la porción de referencia durante 10 días, mostraron una TCE significativamente mayor a la de los organismos del grupo REF durante los 10 primeros días de realimentación normal. Sin embargo, después de estos 10 días (entre los días 20 y 50 de experimentación), no se observaron diferencias significativas entre las TCE de los diferentes tratamientos. De acuerdo con estudios similares, el crecimiento compensatorio se mostró como un fenómeno de corta duración (Yengkokpam *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2016b; Rocha *et al.*, 2019). Tras la aplicación de 10 días de restricción cuantitativa en *F. chinensis*, también se

observó un TCE significativamente mayor al control solamente durante los 10 primeros días de realimentación (Wu *et al.*, 2001). En cambio, en el primer experimento, aunque la diferencia en la TCE se redujo, permaneció significativamente más alta hasta el final del experimento, mostrando que la duración del fenómeno puede variar dependiendo de las condiciones impuestas durante el experimento. En este sentido, a los 40 días de realimentación *ad libitum* en el experimento 1 no se advirtió un crecimiento compensatorio completo. Por el contrario, en el experimento 2, después del período de realimentación de 40 días, la ocurrencia de un crecimiento compensatorio completo fue muy evidente. Considerando esto, se puede especular que los camarones T50 en el experimento 1, pudieron haber alcanzado un peso similar a los de REF en un tiempo de realimentación más prolongado (Li *et al.*, 2009; Yengkokpam *et al.*, 2014).

El principal atractivo de la utilización del crecimiento compensatorio en producción animal es el potencial ahorro de alimento. En *P. vannamei*, se ha demostrado que se pueden lograr ahorros de hasta el 25 % al aplicar ciclos de ayuno/realimentación durante un período de 40 días (Abgoun *et al.*, 2023). En el presente estudio, el mecanismo de crecimiento compensatorio permitió lograr un ahorro del 12 % en alimento durante un período de 50 días, con una restricción alimenticia parcial del 50 % aplicada de manera continua durante 10 días, sin comprometer el peso final de los organismos. En el caso del tratamiento T25, el ahorro de alimento alcanza el 22 %, sin embargo, los camarones solo mostraron un crecimiento compensatorio parcial. La exposición de los camarones a una restricción severa puede impedirles alcanzar el peso de los organismos controles (Wu *et al.*, 2001; Lara *et al.*, 2017).

Si bien, las bases fisiológicas y metabólicas del proceso de crecimiento compensatorio no se han esclarecido completamente (Won y Borski, 2013; Argüello-Guevara *et al.*, 2020), algunos mecanismos como la hiperfagia y la mejora de la conversión alimenticia han sido identificados como propulsores de la aceleración del crecimiento (Wu y Dong, 2002; Pérez-Jiménez *et al.*, 2012; Zhu *et al.*, 2016b). Durante el periodo de realimentación normal en el experimento 1, se observó un FCA significativamente inferior en los organismos T50, demostrando una mejora de la conversión alimenticia. El aumento de la eficiencia alimenticia durante la realimentación indica una optimización del uso de los nutrientes (Foss *et al.*, 2009). Este mecanismo se consigue mediante una mejora de las capacidades digestivas y de absorción, especialmente debido al

aumento de la actividad de las enzimas digestivas cuando se reintroduce el alimento (Zhu *et al.*, 2016b; Fang *et al.*, 2017; Rocha *et al.*, 2019). En otros estudios, se ha observado regularmente una mejora en el FCA en camarones sometidos a crecimiento compensatorio (Zhu *et al.*, 2016b; Yildirim y Aktaş, 2019; Rahman *et al.*, 2020; Quintino-Rivera *et al.*, 2023). Sin embargo, en los otros experimentos realizados en el presente estudio, aunque el FCA siempre fue más bajo en los camarones que fueron previamente restringidos que en los camarones de REF, no se observaron diferencias significativas. De igual forma, otros estudios realizados en camarones *P. vannamei* no pudieron demostrar este fenómeno durante la realimentación (Wu y Dong, 2001; Wasielesky *et al.*, 2013; Abgoun *et al.*, 2023). Por lo tanto, aunque la mejora del FCA parece ser un mecanismo impulsor del crecimiento acelerado, la evidencia no es suficientemente sólida aún.

En los experimentos realizados, todos los camarones previamente restringidos presentaron una tasa de ingestión de alimento significativamente mayor durante la realimentación a saciedad que la de los organismos alimentados en continuo. La inmediatez de la hiperfagia y la respuesta compensatoria al regresar a la alimentación normal, sugiere que las restricciones aplicadas no afectaron el sistema digestivo de los camarones (Zhu *et al.*, 2003; Gao *et al.*, 2015). La respuesta hiperfágica de los camarones expuestos a los tratamientos T50 y T25 tuvo una duración de 10 días, respaldando la idea de que este fenómeno parece ser de corta duración (Wu y Dong, 2001; Zhu *et al.*, 2005; Py *et al.*, 2022). Sin embargo, en la aplicación de las mismas restricciones en un sistema de biofloc, la respuesta hiperfágica se observó durante los 30 días de realimentación a saciedad. Además, durante el experimento 3 empleando los alimentos suplementados, se observó un aumento significativo en la ingesta en los tratamientos T25 durante los 30 días de realimentación a saciedad. Por lo tanto, parece que la duración de la hiperfagia depende de la severidad de la restricción aplicada (Zhu *et al.*, 2005; Abdel-Tawwab *et al.*, 2006). Además, la intensidad de la respuesta hiperfágica también fue influenciada por la severidad de la restricción aplicada. De hecho, se observó que la hiperfagia de los camarones en los tratamientos T25 fue mayor que la de los camarones en los tratamientos T50 (experimentos 2 y 4). Resultados similares ya han sido reportados en peces (Oh *et al.*, 2007; Gao *et al.*, 2015; Oh y Park, 2019; Fang *et al.*, 2021).

Así, el nivel de crecimiento compensatorio alcanzado dependió del nivel de severidad aplicado y fue impulsado por la respuesta hiperfágica y una mejora de la eficiencia alimenticia.

8.2 Evaluación del estrés oxidativo asociado a la estrategia alimenticia restricción y realimentación

8.2.1 Consecuencias fisiológicas de la restricción alimenticia

Aunque los estudios sobre el crecimiento compensatorio varían, incluyendo períodos de ayuno o restricciones alimenticias parciales o cíclicas, la investigación sobre las consecuencias fisiológicas de estas restricciones se ha centrado principalmente en el ayuno. Estudios realizados en peces y crustáceos han demostrado que la aplicación del ayuno puede provocar una alteración del sistema antioxidante (Furné *et al.*, 2009; Włodarczyk *et al.*, 2019; Cai *et al.*, 2021). Por ejemplo, la aplicación de 3 días de ayuno a la langosta *Procambarus clarkii* causó una disminución en la actividad de las enzimas SOD y Gpx (Cai *et al.*, 2021). Dado que las enzimas antioxidantes son responsables de la eliminación de las EROs, la disminución de su actividad puede llevar al estrés oxidativo (Halliwell y Gutteridge, 2015). Los resultados de este estudio muestran que la aplicación de una restricción alimenticia parcial del 25 % de la ración de referencia durante 10 días a los juveniles de *P. vannamei* no afectó la actividad de las enzimas SOD y CAT, consideradas como parte de los principales indicadores del estrés oxidativo en los crustáceos (Włodarczyk *et al.*, 2019).

Si el estrés oxidativo durante el ayuno puede resultar del agotamiento del sistema antioxidante, también puede derivar de un aumento en la producción de las EROs, creando un desequilibrio entre su producción y su eliminación que conduce al estrés oxidativo (Barim-Oz y Sahin, 2016). La aplicación de 14 días de ayuno causó un aumento significativo en la producción de EROs en el hepatopáncreas y el intestino del camarón *Neocaridina davidi* (Cai *et al.*, 2021). También, en la langosta *P. clarkii* privada de alimento durante 3 días se observó un aumento en la producción de ERO en el músculo (Włodarczyk *et al.*, 2019; Cai *et al.*, 2021). Cuando se desencadena estrés oxidativo, las especies reactivas de oxígeno atacan a las macromoléculas como lípidos, proteínas y ADN (Halliwell y Gutteridge, 2015). Como uno de los subproductos de la reacción, el MDA es uno de los biomarcadores válidos para evaluar la peroxidación de los lípidos (Monaghan *et al.*, 2009; Tsikas, 2017) y se utiliza comúnmente en estudios realizados en peces y crustáceos (Xu *et*

al., 2018; Gou *et al.*, 2023). Se ha demostrado en las langostas *P. clarkii* y *Astacus leptodactylus* que el ayuno a corto y largo plazo causa un aumento significativo en los niveles de MDA (Barim-Öz, 2018; Cai *et al.*, 2021). También se ha demostrado recientemente que el aumento en la producción de EROs durante el ayuno está relacionado con la alteración de las mitocondrias durante la privación de alimento (Włodarczyk *et al.*, 2017, 2019). En nuestro estudio, los camarones sometidos a una restricción alimenticia de 10 días mostraron una reducción significativa en la peroxidación de lípidos en hepatopáncreas. Por lo tanto, la restricción alimenticia aplicada no alteró el funcionamiento de las mitocondrias de los camarones, destacando que la restricción parcial puede evitar algunos de los efectos perjudiciales inherentes al ayuno completo. La reducción observada en el contenido de MDA podría atribuirse a una desaceleración del metabolismo, lo que lleva a una disminución de la actividad de la cadena respiratoria (He *et al.*, 2017). Sin embargo, esta observación no se puede generalizar, ya que la aplicación de una restricción alimenticia (0.5 % de la biomasa) durante 49 días en el pez *Salmo trutta* causó estrés oxidativo en el hígado y las branquias de los peces (Bayir *et al.*, 2011).

Aunque no se observaron daños oxidativos en *P. vannamei* después de la aplicación de la restricción alimenticia, los análisis histológicos revelaron una atrofia de los filamentos branquiales en los camarones que recibieron el 25 % de la porción de referencia. Esta observación se hizo después de 6 días de realimentación. Sin embargo, los camarones que recibieron el 50 % de la ración de alimento no mostraron anomalías en las branquias, lo que sugiere que la severidad de la restricción aplicada fue relacionada con los daños observados. También se ha demostrado en el crustáceo *C. quadricarinatus* que un ayuno de 30 días causó daño en los tejidos, especialmente en las células del hepatopáncreas (Sacristán *et al.*, 2016). Aunque en nuestro caso las células hepatopancreáticas o musculares no fueron afectadas por las restricciones alimenticias.

En resumen, la aplicación de restricciones de 50 y 25 % no afectó la sobrevivencia ni provocó estrés oxidativo en los camarones; sin embargo, la restricción más severa causó cambios estructurales en las branquias de los camarones.

8.2.2 Estrés oxidativo durante el crecimiento compensatorio

En el presente estudio, la tasa de respiración y excreción de amonio de los camarones se utilizaron como indicadores de la tasa metabólica (Barbieri *et al.*, 2016). La TR y la TE de los camarones en crecimiento compensatorio (T50) fueron significativamente mayores que los de referencia en condiciones postprandiales y en reposo. En la libélula *Lestes viridis*, se observó también una aceleración de la tasa respiratoria durante la realimentación tras 8 días de ayuno (Stoks *et al.*, 2006). Dado que las EROs son subproductos de la respiración, un aumento en la TR conduce a una mayor producción de EROs (He *et al.*, 2017). Estos resultados coinciden con resultados previos obtenidos en el pez *Dicentrarchus labrax* donde se registró una producción de EROs significativamente mayor en los organismos en crecimiento acelerado que en los organismos de control (Costantini *et al.*, 2018). El aumento del metabolismo durante el crecimiento compensatorio es consistente con la activación de vías anabólicas para recobrar el crecimiento somático y recuperar las reservas de energía agotadas (Won y Borski, 2013). Para hacer frente a la producción continua de EROs, los organismos están dotados de un sistema antioxidante compuesto por las enzimas SOD, CAT y Gpx, encargadas de eliminarlos continuamente y evitar el estrés oxidativo (He *et al.*, 2017). La CAT y la Gpx reducen el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que es el producto de la dismutación del anión superóxido (O_2^-) por la SOD (Halliwell y Gutteridge, 2015). La aceleración de la respiración debe haber llevado a una mayor producción de O_2^- durante el crecimiento compensatorio (De Block y Stoks, 2008). Sin embargo, la actividad de la SOD no difería entre los grupos de referencia y de restricción alimenticia durante el crecimiento compensatorio. Además, el aumento en la actividad de la CAT en los camarones durante el período de realimentación sugiere un incremento en la producción de H_2O_2 (Najafi *et al.*, 2014; Robles-Romo *et al.*, 2016). Por lo tanto, no se puede descartar la posibilidad de un pico de actividad de la SOD previo al momento de muestreo, lo cual podría haber resultado en una mayor producción de H_2O_2 (Bayir *et al.*, 2011). Esta hipótesis se apoya en observaciones realizadas en varios estudios con camarones, donde se ha observado que el aumento en la actividad de las enzimas antioxidantes puede ser de corta duración en condiciones de estrés (Duan *et al.*, 2015, 2018; Zheng *et al.*, 2019). El aumento de la actividad de la CAT durante el crecimiento compensatorio es coherente con el incremento del metabolismo y de las EROs asociadas, en respuesta al aumento de la producción de H_2O_2 , como se ha observado en camarones y peces

expuestos a estrés nutricional (Li *et al.*, 2009; Hasanpour *et al.*, 2021). Además, en el cangrejo *P. clarkii*, se observó un aumento en la actividad de las enzimas antioxidantes durante la realimentación después de 3 días de ayuno (Cai *et al.*, 2021). Mientras que la Gpx tiene la misma función principal de desintoxicar el H₂O₂, la enzima difiere de la CAT por su mayor afinidad por las EROs, lo que le permite activarse con cantidades menores que la CAT (Duan *et al.*, 2018). Por lo tanto, parece consistente asumir que, en este estudio, el pico de Gpx posiblemente ocurrió antes que el de CAT.

Anteriormente se sugirió que el crecimiento compensatorio podría estar relacionado con el estrés oxidativo debido a la alta actividad celular asociada con este proceso (Monaghan *et al.*, 2009; Costantini *et al.*, 2018). En este sentido, la peroxidación lipídica, comúnmente medida por la concentración de MDA (Florescu *et al.*, 2021; Gou *et al.*, 2023), resultó ser significativamente mayor en hepatopáncreas de camarones que experimentaron crecimiento compensatorio (T50 y T25) que los del grupo control en los diferentes bioensayos realizados en el presente estudio. La mayor actividad de la CAT, en respuesta al aumento de la producción de las EROs durante la aceleración metabólica, no fue suficiente para evitar el estrés oxidativo durante el crecimiento compensatorio (ver Fig. 32). Los resultados del presente estudio respaldan reportes recientes realizados en peces y langostas, que también han demostrado daño oxidativo al experimentar crecimiento compensatorio (Furné *et al.*, 2009; Barim-Oz y Sahin, 2016; Kim *et al.*, 2019; Florescu *et al.*, 2021). Por ejemplo, el esturión *Acipenser stellatus*, sometido a 14 días de ayuno, mostró un contenido de MDA en el intestino significativamente mayor después 14 días de realimentación que en los peces del grupo control alimentados en continuo (Florescu *et al.*, 2021). También, en el pez espinoso (*Gasterosteus aculeatus*), la aceleración del crecimiento se correlacionó con el daño oxidativo del ADN en músculo y esperma (Kim *et al.*, 2019).

El aumento de los marcadores de estrés oxidativo durante el crecimiento compensatorio puede tener graves consecuencias para los organismos (Kim *et al.*, 2019; Janssens y Stoks, 2020). De hecho, el estrés oxidativo puede causar daño celular y alteraciones histológicas, afectando negativamente las funciones fisiológicas de los camarones (Duan *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2018). La peroxidación de los lípidos, observada en el presente estudio, afecta particularmente las membranas celulares. Estas membranas, mayormente compuestas de lípidos poliinsaturados,

son muy sensibles a la peroxidación, lo que puede reducir su fluidez (Van Der Paal *et al.*, 2016; Gaschler y Stockwell, 2017). Además, la peroxidación de lípidos conduce a la formación de nuevos EROs, que a su vez pueden dañar las proteínas y el ADN (Gaschler y Stockwell, 2017). Si el estrés oxidativo persiste, puede llevar a la apoptosis celular e incluso a la necrosis (Seifried *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2018). Sin embargo, durante el experimento 3, se realizó una observación interesante: después de 30 días de realimentación, el contenido de MDA en hepatopáncreas de camarones sometidos a restricción alimenticia volvió a niveles normales. Esto sugiere que el estrés oxidativo observado durante el crecimiento compensatorio en nuestro estudio fue transitorio. En el cangrejo *A. leptodactylus*, que mostró un aumento en la peroxidación de lípidos en el hepatopáncreas después de 3 y 18 días de realimentación, también se observó un retorno a la normalidad después de 33 días de realimentación (Barim-Oz y Sahin, 2016). Dado que la peroxidación de lípidos observada durante el crecimiento compensatorio está relacionada con el aumento del metabolismo y que la aceleración del crecimiento demostró ser de corta duración, se puede asumir que el retorno a tasas de crecimiento similares a las de los controles permitió reducir la producción de EROs, deteniendo así la sobreproducción de lípidos peroxidados.

En el presente estudio, se observó que el crecimiento compensatorio estuvo asociado con estrés oxidativo en el camarón *P. vannamei*, confirmando la hipótesis de que los organismos no crecen a su tasa máxima debido a un costo fisiológico importante (Dmitriew *et al.*, 2011; Smith *et al.*, 2016). Sin embargo, en la presente investigación, el estrés oxidativo resultó ser inherente al crecimiento compensatorio, pero su carácter temporal indica que los organismos pudieron restituir su estado oxidativo inicial cuando regresaron a tasas de crecimiento normales. Es importante tener en cuenta el impacto de la observación del estrés experimentado durante el crecimiento compensatorio, ya que se ha demostrado en el pez *Gasterosteus aculeatus* y en la ardilla *Tamias striatus* que afecta la sobrevivencia de los organismos durante períodos de estrés posteriores (Kim *et al.*, 2019; Careau *et al.*, 2013).

8.3 Evaluación de la resistencia de *P. vannamei* durante el crecimiento compensatorio a factores de estrés abióticos

Los camarones en las granjas acuícolas se enfrentan regularmente a cambios en los parámetros del agua. Estos eventos son fuentes de estrés para los organismos y pueden tener importantes

repercusiones en la producción de camarones. La hipertermia es un factor conocido por generar estrés oxidativo en crustáceos (de Souza *et al.*, 2016). Los resultados de esta investigación confirman la aceleración del metabolismo de los camarones durante la exposición a estrés hipertérmico de 34 °C (Spanopoulos-Hernández *et al.*, 2005). En el estudio de Duan *et al.* (2018) se observó un incremento en la producción de aniones superóxido y un aumento del contenido de MDA en el intestino de *P. vannamei* expuestos a una temperatura de 33 °C durante 6 a 72 h. En el presente estudio, el reto hipertérmico no afectó las actividades de SOD y Gpx en hepatopáncreas de *P. vannamei*. Al contrario, la actividad de la CAT aumentó significativamente en los camarones de referencia expuestos a 12 h de estrés por hipertermia en comparación con los organismos de referencia en condiciones de control. El aumento de la actividad de la CAT demuestra una respuesta antioxidante del camarón *P. vannamei* al aumento de la producción de EROs causado por la aceleración del metabolismo. En otro estudio, las actividades de SOD, CAT y GPx aumentaron significativamente después de 24 h de exposición a 35 °C en el hepatopáncreas de *P. vannamei* (Estrada-Cárdenas *et al.*, 2021). La diferencia con nuestros resultados podría deberse al tiempo de exposición más corto. Sin embargo, otros estudios han demostrado una respuesta antioxidante más compleja en camarones (Duan *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2019). En *P. vannamei* expuestos a 72 h de estrés térmico a 33 °C, la actividad de SOD disminuyó mientras que la de la CAT aumentó a las 6 h antes de volver a los niveles basales y la de la Gpx aumentó entre las 6 y 12 h de exposición (Duan *et al.*, 2018). Asimismo, en el camarón *Marsupenaeus japonicus*, expuesto a una temperatura de 34 °C durante 96 h, se observó una respuesta breve del sistema antioxidante: la actividad de la SOD solo aumentó significativamente después de 12 h de exposición, mientras que la CAT lo hizo entre las 3 y 12 h de exposición, antes de estabilizarse ambas a las 24 h (Zheng *et al.*, 2019). Estos estudios destacan cómo las estrategias antioxidantes implementadas por los camarones pueden ser de corta duración. La observación del aumento significativo en el contenido de MDA en hepatopáncreas de camarones expuestos a hipertermia a 33 °C demuestra la falla de la estrategia antioxidante empleada para prevenir el estrés oxidativo. Estos resultados confirman la peroxidación de lípidos, observada en *P. vannamei* expuesto a la misma temperatura (Duan *et al.*, 2018). La actividad de la CAT de los camarones del grupo T50 no aumentó durante la hipertermia. Se puede suponer que los camarones en crecimiento compensatorio enfocaron su energía en el crecimiento, lo que podría haber impedido el aumento de la actividad de la CAT durante el reto hipertérmico. Sin embargo, esta falta de respuesta

antioxidante no generó más peroxidación lipídica durante el estrés térmico en los camarones en crecimiento compensatorio. Por otro lado, el MDA también desempeña un papel como mensajero de señalización y actúa en la regulación de la expresión de genes (Ayala *et al.*, 2014). En consecuencia, es posible que el incremento en el contenido de MDA esté relacionado con la expresión de genes relacionados al crecimiento compensatorio, por lo que es necesario realizar más estudios al respecto.

La exposición a la hipoxia y la reoxigenación a normoxia también puede provocar estrés oxidativo en *P. vannamei* (Li *et al.*, 2016; Han *et al.*, 2018). En el presente estudio, las actividades de SOD, CAT y Gpx no se alteraron después de 9 h de hipoxia a $1.5 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ y 3 h de reoxigenación. Se ha mencionado previamente que la hipoxia en sí misma podría no incrementar la producción de EROs, ya que, para combatir la falta de oxígeno, los organismos pueden reducir su metabolismo, lo que disminuye el flujo de electrones hacia las mitocondrias (Kniffin *et al.*, 2014; Ulaje *et al.*, 2020). Los resultados de este estudio coinciden con esta afirmación, ya que la respiración fue más baja en camarones del grupo REF o T50 expuestos a la hipoxia que en los camarones en condiciones de control. Esto confirma que *P. vannamei* es eficiente para adaptarse a una disminución de la concentración de oxígeno disuelto (Ulaje *et al.*, 2020). Sin embargo, se menciona con frecuencia que la restauración de la oxigenación es más amenazante, ya que el flujo de oxígeno puede causar una sobreproducción de las EROs (Parrilla-Taylor y Zenteno-Savín, 2011) y llevar a un aumento en el contenido de MDA en el hepatopáncreas de *P. vannamei* (Li *et al.*, 2016). Los resultados presentes mostraron que la concentración de MDA en hepatopáncreas de los camarones del grupo REF y T50 expuestos al reto de hipoxia/reoxigenación fue mayor que en los camarones de referencia en condiciones de control; sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. El camarón blanco del Pacífico es conocido por su tolerancia a las variaciones de oxígeno, debido a su capacidad natural para adaptarse entre ambientes marinos y estuarinos a lo largo de su ciclo de vida (Camacho-Jiménez *et al.*, 2019; Prates *et al.*, 2023). Además, se ha demostrado que *P. vannamei* incrementa la actividad del sistema antioxidante a concentraciones reducidas de oxígeno, lo que ha sido interpretado como una preparación para el retorno a la oxigenación (Parrilla-Taylor y Zenteno-Savín, 2011; Kniffin *et al.*, 2014). Si en nuestro estudio los organismos recurrieron a este mecanismo, entonces la actividad de las enzimas antioxidantes podría haber aumentado antes del punto de muestreo y

prevenir la generación del estrés oxidativo, aunque no hay evidencias al respecto. Sin embargo, nuestros resultados demuestran una capacidad de adaptación de *P. vannamei* en crecimiento compensatorio a un reto de corta duración a hipoxia y reoxigenación.

Por otro lado, el amonio es uno de los principales productos del catabolismo de las proteínas y se considera uno de los compuestos más tóxicos para los sistemas acuáticos (Zhao *et al.*, 2020). Debido al uso común de la sobrealimentación y las altas densidades en las granjas de camarones, se observan a menudo eventos de alta concentración en amonio (Kathyayani *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2020). El amonio, especialmente en su forma no ionizada, es muy peligroso para los organismos acuáticos, pudiendo llevar al estrés oxidativo, e incluso a la muerte de los organismos (Randall y Tsui, 2002). La aplicación de 12 h de exposición a una concentración de amonio de 20 mg·L⁻¹ en *P. vannamei* no provocó un aumento en la mortalidad, en concordancia con otros estudios similares realizados en la misma especie (Jiang *et al.*, 2019b; Lv *et al.*, 2021). Estudios previos realizados en *P. vannamei* han demostrado que la exposición a corto plazo a concentraciones elevadas de amonio provoca modificaciones en las actividades de las enzimas antioxidantes (Liang *et al.*, 2016; Jiang *et al.*, 2019b; Lv *et al.*, 2021). Tras las 12 h del reto, los camarones expuestos, ya sea en crecimiento compensatorio o no, no mostraron modificaciones significativas en las actividades de las enzimas SOD y Gpx. En el estudio de Lv *et al.* (2021), el aumento en la actividad de la SOD en hepatopáncreas de *P. vannamei* en respuesta a una concentración elevada de amonio fue de corta duración, siendo significativo después de 12 h de exposición y llegando a estabilizarse después de 24 h. En contraste, en otro estudio, se observó una reducción en la actividad de la SOD en juveniles de camarón blanco del Pacífico expuestos durante 72 h a una alta concentración de amonio (Jiang *et al.*, 2019b). En el presente estudio, las actividades de la SOD y la Gpx no disminuyeron, indicando que, en las condiciones del experimento, su funcionalidad no se inhibió por el estrés. Por otra parte, la actividad de la CAT aumentó significativamente después de 12 h de exposición a amonio, mostrando una respuesta del sistema antioxidante por el estrés provocado. El aumento en la actividad de la CAT ya se ha observado en la misma especie después de 12 h de exposición a 15 y 20 mg·L⁻¹ de amonio (Jiang *et al.*, 2019b; Lv *et al.*, 2021). Aunque se observó una respuesta del sistema antioxidante, como en otros estudios similares, no fue suficiente para evitar el aumento de la peroxidación de lípidos en hepatopáncreas de los camarones (Liang *et al.*, 2016; Jiang *et al.*, 2019b; Lv *et al.*, 2021). Si

bien el reto generó estrés oxidativo en los camarones, su condición de crecimiento compensatorio no agravó el estrés generado.

En *P. vannamei* expuesto a $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ durante 96 h, observaciones previas en cortes histológicos resaltaron un aumento de las células apoptóticas en hepatopáncreas como posible consecuencia del estrés oxidativo (Liang *et al.*, 2016). En nuestro estudio, no se observaron alteraciones importantes en las células de hepatopáncreas y músculo después de la exposición, lo cual podría atribuirse a la corta duración del periodo de exposición. Sin embargo, la observación de las branquias reveló atrofia de los filamentos branquiales, independientemente del tratamiento nutricional aplicado. Debido a su exposición directa con el ambiente, las branquias son más susceptibles a los compuestos tóxicos en agua que otros órganos (Cong *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2020). Por lo mismo, las branquias se usan a menudo como biomarcadores en toxicología acuática (Zhang *et al.*, 2019). La aplicación de una alta concentración de amonio ha demostrado tener un impacto en la estructura de los filamentos branquiales en el molusco *Ruditapes philippinarum* (Cong *et al.*, 2017), en diferentes especies de peces como *Megalobrama amblycephala* (Zhang *et al.*, 2019) o *Premnas biaculeatus* (Rodrigues *et al.*, 2014). También en el camarón *Macrobrachium amazonicum*, la exposición a altas concentraciones combinadas de amonio y nitrito condujo a la alteración de la estructura de las branquias (Dutra *et al.*, 2017). La alteración de la estructura de las branquias puede causar trastornos respiratorios y de regulación de la osmorregulación en los camarones y así amenazar las funciones biológicas esenciales de los organismos (Duan *et al.*, 2018).

8.4 Estrategias de mitigación del estrés oxidativo por efecto del crecimiento compensatorio

8.4.1 Influencia de las dietas suplementadas

Cúrcuma longa y *Lepidium meyenii* son plantas conocidas por sus múltiples efectos benéficos y se les atribuyen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y promotoras del crecimiento. Aunque su uso como suplementos en la dieta de los organismos ha despertado un interés creciente, se ha investigado poco en crustáceos.

En este estudio, los camarones *P. vannamei* alimentados con dietas suplementadas con cúrcuma, maca o cúrcuma-maca no mostraron tasas de crecimiento o pesos húmedos significativamente superiores en comparación con los alimentados con la dieta de referencia, ya sea en situaciones de restricción alimenticia o no. Sin embargo, ya se ha observado en otros estudios que *P. vannamei* alimentado durante 9 semanas con una dieta suplementada con cúrcuma exhibe un crecimiento significativamente mayor que los camarones alimentados con una dieta normal (Lawhavinit *et al.*, 2011; Moghadam *et al.*, 2022). Aunque las dosis de cúrcuma empleada en el presente estudio se basaron en el estudio de Moghadam *et al.* (2022), no se observó el efecto promotor de crecimiento que ellos reportaron. Una explicación plausible a este hecho podría deberse a la duración del experimento, limitado a 40 días, lo que habría limitado la observación de diferencias significativas entre el peso de los camarones alimentados con diferentes dietas. Estudios realizados en peces han demostrado que la inclusión de maca en la dieta de *O. mykiss* y *P. brachypomus* mejora la palatabilidad del alimento, lo que resulta en un aumento en la tasa de ingestión y, por ende, un mayor crecimiento de los organismos (Lee *et al.*, 2005; Palacios *et al.*, 2006). Sin embargo, en nuestro estudio, las tasas de ingestión de los camarones no se vieron afectadas por la integración de maca en la dieta.

Aunque las dietas suplementadas no tuvieron efecto en el crecimiento de los camarones, se observó un efecto sobre el sistema antioxidante, lo que confirma la buena absorción de los compuestos activos. La investigación sobre la suplementación de las dietas de camarones con plantas con el fin de mejorar su estatus oxidativo es muy activa (Chirawithayaboon *et al.*, 2020; García-pérez *et al.*, 2020; Jakubczyk *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2023). Para eso se evalúa la integración de plantas con alto potencial antioxidante, definido como la capacidad de un compuesto para neutralizar las EROs durante un evento de estrés (Jakubczyk *et al.*, 2020). El aumento de las actividades de las enzimas antioxidantes suele interpretarse como un indicador de estrés oxidativo, ya que los antioxidantes reaccionan ante el aumento de la producción de ROS en condiciones de estrés (ver secciones 8.2.2 y 8.3). Sin embargo, se ha visto que los compuestos activos presentes en las plantas como *Cúrcuma longa* pueden inducir un incremento en la actividad de las enzimas antioxidantes, lo que se interpreta comúnmente como una mejora de la capacidad de los organismos a eliminar las EROs (Iqbal *et al.*, 2003; Chirawithayaboon *et al.*, 2020; Moghadam *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2023). En el presente estudio, los camarones expuestos a la

restricción alimenticia y suplementados con cúrcuma y/o maca mostraron una actividad significativamente mayor de la SOD en comparación con los camarones expuestos a la restricción y alimentados con la dieta de referencia. Además, durante el período de crecimiento compensatorio, se observaron resultados similares. Estos resultados respaldan observaciones anteriores en *P. vannamei*, donde los camarones que recibieron una dieta suplementada con cúrcuma mostraron un aumento en la actividad de la SOD (Moghadam *et al.*, 2022). En diversas especies de peces, se ha observado que el aumento en la actividad del sistema antioxidante, inducido por la suplementación con cúrcuma, está vinculado a la activación de la vía de señalización del factor eritroide nuclear (Nrf2), la cual regula la transcripción de genes que codifican enzimas antioxidantes (Jiang *et al.*, 2016; Akdemir *et al.*, 2017; Ming *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2021). Por otro lado, el efecto de la alimentación suplementada con maca en el sistema antioxidante de los camarones, e incluso de los peces, no se había demostrado anteriormente. En cambio, se ha observado previamente que el estatus antioxidante de las gallinas y las ratas se mejoró tras a una alimentación suplementada con maca (Večeřa *et al.*, 2007; Korkmaz *et al.*, 2016). Sin embargo, interpretar un aumento de la actividad de las enzimas antioxidantes como un reflejo directo de un menor estrés oxidativo se puede cuestionar (Costantini y Verhulst, 2009). Un aumento de estas actividades no excluye un incremento de la producción de las EROs, ni la neutralización de las mismas, por lo que la interpretación de las actividades de las enzimas antioxidante debe ir de la mano con la evaluación de un marcador de daños oxidativos (Costantini y Verhulst, 2009). En el presente estudio, el MDA se utilizó como marcador de daño oxidativo. Así, se observó que los camarones en crecimiento compensatorio, alimentados con la dieta de referencia o suplementada con maca o cúrcuma, mostraron una concentración mayor de MDA en comparación con los camarones alimentados en continuo con la dieta de referencia. Sin embargo, cuando los organismos fueron alimentados con la dieta suplementada con maca y cúrcuma, no se observó un aumento en el contenido de MDA durante en crecimiento compensatorio. El aumento de la actividad de la SOD, significativamente más alto en los camarones alimentados con la suplementación combinada que en los otros tratamientos, permitió combatir las EROs producidas durante el crecimiento compensatorio. La disminución en el contenido de MDA también se observó en los peces *O. mykiss* y la tilapia *O. niloticus* cuando su dieta estaba enriquecida con curcumina (Akdemir *et al.*, 2017; Yonar *et al.*, 2019; Mohamed *et al.*, 2020). Además de estimular el sistema antioxidante, la cúrcuma tiene la capacidad directa de

reducir la concentración de las EROs. La donación de un átomo de hidrógeno por parte del grupo fenol de la curcumina permite estabilizar las EROs, moléculas naturalmente inestables, contribuyendo así a la disminución del contenido de MDA (Jovanovic *et al.*, 1999; Agnihotri y Mishra, 2011; Alagawany *et al.*, 2021). En este sentido, los camarones alimentados con maca y cúrcuma, sugiere que han podido neutralizar la sobreproducción de EROs causada por la aceleración del crecimiento compensatorio, al menos parcialmente a través de la estimulación del sistema antioxidantes y probablemente por su acción directa hacia las EROs.

Dentro del sistema inmune de los camarones Peneidos, la melanización, inducida por el sistema de fenoloxidasa, desempeña un papel crucial en la eliminación de microorganismos (Aguirre-Guzmán *et al.*, 2009; Amparyup *et al.*, 2013). La profenoloxidasa, como precursor inactivo de la fenoloxidasa, es una enzima clave del sistema y se localiza en los hemocitos, siendo activada por una serina proteasa (González-Santoyo y Córdoba-Aguilar, 2012; Cerenius y Söderhäll, 2021). Se sabe que la dieta de los organismos tiene un efecto sobre los parámetros del sistema inmune (Ebrahimi y Ajamhassani, 2020). En el presente estudio, se observó que los camarones alimentados con la dieta de referencia mostraron una reserva de proFO mayor durante el periodo de crecimiento compensatorio. Investigaciones previas, realizadas en el camarón *P. vannamei* y la polilla *Plodia interpunctella*, han demostrado que tanto los periodos de ayuno corto como prolongado tienen un impacto negativo en la actividad de la FO (Lin *et al.*, 2012; Ebrahimi y Ajamhassani, 2020). En nuestro caso, se puede inferir que la restricción alimenticia provocó una disminución en la producción de proFO y que, en respuesta, al momento de realimentar a los camarones, se produjo una sobrecompensación, manifestándose en una reserva de proFO más elevada. En cuanto a la suplementación con cúrcuma y maca, se observó que la proFO y la FO presentaron actividades menores en la hemolinfa de los camarones alimentados con las dietas suplementadas que con la dieta normal, tanto en alimentación continua como en crecimiento compensatorio. Estudios previos en *P. vannamei* describen una mayor actividad de la FO en camarones alimentados con una dieta suplementada con cúrcuma, revelando un efecto inmunoestimulante (Vanichkul *et al.*, 2010; Lawhavinit *et al.*, 2011; Bhoopathy *et al.*, 2021). Las diferencias con nuestro estudio podrían atribuirse a la dosis aplicada y al tiempo de exposición. Por ejemplo, *P. vannamei* mostró una estimulación de la actividad de la FO después de 4 semanas de exposición a una alimentación suplementada con cúrcuma, pero exhibió una menor actividad

después de 8 semanas (Vanichkul *et al.*, 2010). En la misma investigación, se observó que el efecto de la cúrcuma sobre la actividad de la FO era dependiente de la dosis (Vanichkul *et al.*, 2010). Por otra parte, dado que los camarones se mantuvieron en condiciones controladas sin exposición a patógenos, es posible que la FO no se activará debido a la ausencia de reconocimiento de patógenos (Amparyup *et al.*, 2013; Cerenius y Söderhäll, 2021). Además, se ha comprobado en varias especies que la cúrcuma puede tener un efecto antiinflamatorio, ejerciendo una regulación negativa de diferentes vías, como la del NF-Kb, lo que podría haber disminuido la estimulación del sistema inmune (Kakhhaie *et al.*, 2019). Aunque el sistema de la FO está finamente regulado, las regulaciones negativas son poco conocidas en los camarones Peneidos (Amparyup *et al.*, 2013).

Hasta donde sabemos, no existen otros estudios que hayan aplicado una dieta suplementada con maca o cúrcuma para generar crecimiento compensatorio. En este estudio, se demostró que la suplementación combinada de maca y cúrcuma evitó la peroxidación de lípidos observada durante el crecimiento compensatorio de *P. vannamei* (ver Fig. 32). Por lo tanto, el uso de ambas plantas como suplemento combinado parece prometedor para la acuicultura, como se había sugerido anteriormente (Cabrera-Stevens *et al.*, 2022; Quiroz-Guzmán *et al.*, 2022).

8.4.2 Influencia del sistema biofloc

En los últimos años, se han realizado numerosos estudios en camarones cultivados en sistemas de biofloc, demostrando que la ingestión de los flóculos es benéfica tanto para su crecimiento como para su salud (Xu y Pan, 2012; Zhao *et al.*, 2016; Panigrahi *et al.*, 2019; Hussain *et al.*, 2021).

En este estudio, se aplicaron restricciones alimenticias en un sistema de biofloc antes de adoptar una realimentación *ad libitum* para inducir un crecimiento compensatorio. La elección de la restricción alimenticia es crucial para lograr un crecimiento compensatorio completo (Won y Borski, 2013; Py *et al.*, 2022). Además, en BFT, los camarones tienen acceso continuo a una fuente de alimentación (Avnimelech, 2007), lo que reduce la severidad de la restricción aplicada. El estudio realizado por Lara *et al.* (2017) reveló que, tras 21 días sin recibir alimentación adicional, los camarones no lograron recuperar el peso de los organismos control durante los 29 días de realimentación. Esto sugiere que la alimentación exclusiva a través del biofloc durante el período

de restricción fue demasiado restrictiva, provocando que los camarones alcanzaran su punto de no retorno en peso. En el presente estudio, los camarones *P. vannamei* que recibieron el 50 % y el 25 % de la ración de referencia durante 10 días pudieron lograr un crecimiento compensatorio completo a través de 30 días de realimentación. Estos resultados concuerdan con Prates *et al.* (2023), donde camarones de la misma especie, alimentados con un 40 % de la ración normal durante 30 días, seguido de una realimentación *ad libitum* durante 30 días, llevaron a un crecimiento compensatorio completo. Estos resultados demuestran que la aplicación de una restricción parcial moderada parece ser adecuada en el caso de un BFT. En nuestro estudio, los camarones expuestos a una restricción alimentaria cíclica (T1:2) durante 10 días también recuperaron el peso respecto a los alimentados de manera continua. En contraste, recientemente se reportó que camarones de la misma especie expuestos a ciclos de 1 día de ayuno/1 día de realimentación o 2 días de ayuno/1 día de realimentación durante 30 días, seguidos de una realimentación durante 28 días, no alcanzaron el mismo crecimiento que el observado en organismos alimentados de forma regular (Rocha *et al.*, 2019). Así, es posible sugerir que los periodos de alimentación/ayuno considerados dentro del ciclo, así como su duración son factores clave para obtener un resultado óptimo (Py *et al.*, 2022).

Es fundamental destacar que en este estudio la aplicación de restricciones alimenticias en agua clara al 50 % no comprometió el peso de los organismos al final del experimento. Por otro lado, en el BFT, los camarones sometidos a una restricción más rigurosa, del 25 %, lograron un crecimiento compensatorio completo gracias a una respuesta hiperfágica que se mantuvo durante los 30 días de realimentación a saciedad. Así, las propiedades nutricionales del sistema de biofloc permitieron la aplicación de restricciones alimenticias moderadas (T50 y T25) y cíclicas (T1:2) de corta duración, sin comprometer la sobrevivencia ni el peso de los organismos obtenidos al final del experimento.

A lo largo del experimento, se observó una modificación en la actividad de las enzimas digestivas en hepatopáncreas de *P. vannamei*. Las enzimas digestivas están íntimamente relacionadas con la digestión y la absorción de nutrientes y sus actividades pueden ser afectadas en los crustáceos por factores externos como la cantidad y calidad del alimento (Zhang *et al.*, 2010; Sacristán *et al.*, 2016). En este estudio, la variación de las actividades de las enzimas digestivas, tanto al final del

período de restricción alimenticia como durante el período de realimentación *ad libitum* en un BFT, revela una adaptación en los procesos de digestión y absorción de nutrientes. Numerosos estudios han demostrado que la aplicación de varios días de ayuno en los camarones resulta en una disminución de las actividades de las enzimas digestivas (Muhlia-Almazán y García-Carreño, 2002; Comoglio *et al.*, 2004; Dai *et al.*, 2018; Shen *et al.*, 2022). La disminución de las enzimas digestivas durante el ayuno puede explicarse por la pérdida de estimulación del sistema digestivo (Muhlia-Almazán y García-Carreño, 2002; Dai *et al.*, 2018; Shen *et al.*, 2022). Sin embargo, en el presente estudio, las restricciones alimenticias parciales no llevaron a una disminución de la actividad enzimática digestiva. Al final del período de restricción, en el tratamiento T1:2, se observa un aumento de la actividad de la lipasa, responsable de la hidrólisis de los triglicéridos (Rivera-Pérez *et al.*, 2011). Este resultado indica que los organismos sometidos al ayuno intermitente en BFT se apoyaron en las reservas lipídicas del hepatopáncreas, como se ha sugerido por Sánchez-Paz *et al.* (2006). Asimismo, camarones *P. vannamei* expuestos a restricción cuantitativa durante 36 días en un BFT mostraron un uso de las reservas de triglicéridos (Prates *et al.*, 2023). Los otros tratamientos con restricción alimenticia (T50 y T25), no causaron modificaciones en actividad de la lipasa, confirmando que la variación en la actividad depende de la restricción aplicada al camarón (Zhang *et al.*, 2010). En cambio, todas las restricciones alimenticias llevaron a un aumento en las actividades de las enzimas digestivas quimotripsina y amilasa. La tripsina y la quimotripsina son las principales enzimas proteolíticas presentes en la glándula digestiva de los camarones, responsables de más del 60 % de la digestión de las proteínas en *P. vannamei* (Tsai *et al.*, 1986). La quimotripsina mostró una actividad mayor a la de la tripsina, resaltando la importancia de esta enzima en la digestión de las proteínas en *P. vannamei* (Muhlia-Almazán y García-Carreño, 2002). Se ha demostrado previamente que en camarones alimentados continuamente con un alimento comercial en un BFT, la ingesta de los flóculos constituye un aporte adicional de proteínas debido a su alto contenido proteico (Avnimelech y Ph, 2012; Crab *et al.*, 2012; Panigrahi *et al.*, 2019). Durante los períodos de restricción alimenticia, es plausible asumir que los camarones han ingerido más partículas de biofloc (Rocha *et al.*, 2019), ricas en proteínas, lo que potencialmente contribuyó al aumento de la actividad de la quimotripsina. Por otro lado, el aumento de la actividad amilasa en camarones cultivados en sistema biofloc ya ha sido descrito (Xu y Pan, 2013; Anand *et al.*, 2014; Cardona *et al.*, 2015). Este aumento se podría explicar por la ingestión de los microorganismos en el biofloc, que por su capacidad a producir

enzimas extracelulares, estimulan la producción endógena de los camarones (Anand *et al.*, 2014; Cardona *et al.*, 2015). Al regreso de la alimentación a saciedad, los camarones previamente restringidos podrían disminuir la proporción de flóculos ingeridos desde que tenían acceso al alimento balanceado, lo que puede explicar el regreso de la actividad de la amilasa a su nivel basal. Sin embargo, durante el crecimiento compensatorio, se pudo observar que la actividad de la quimotripsina de los camarones fue significativamente mayor a la de los organismos referencia. Lo cual confirma los resultados de otros estudios que han mostrado un aumento en el uso de proteínas durante el crecimiento compensatorio (Zhang *et al.*, 2010; Rahman *et al.*, 2020; Quintino-Rivera *et al.*, 2023).

Por otro lado, el análisis de las comunidades bacterianas reveló que las proteobacterias representan el filo predominante en intestino de *P. vannamei* de los cuatro tratamientos nutricionales, confirmando estudios anteriores que indican que es el filo principal en el intestino de estos organismos (Holt *et al.*, 2021; Quintino-Rivera *et al.*, 2023). Entre las *Alfaproteobacterias*, las *Rodobacterias* fueron el filo más representado, comúnmente observado en camarones saludables (Zhu *et al.*, 2016a; Chen *et al.*, 2017). Solo los *Vibrionales* mostraron una abundancia significativamente mayor en los camarones del grupo REF que en los camarones en crecimiento compensatorio. Estos resultados están en línea con resultados obtenidos en *P. vannamei* y *P. monodon*, donde se sugiere que la disminución de su proporción se ha considerado como una ventaja del crecimiento compensatorio (Simon *et al.*, 2020; Quintino-Rivera *et al.*, 2023). Adicionalmente, aun cuando algunas bacterias del género *Vibrio* son parte de la microbiota natural e inclusive benéfica para los camarones (Thompson *et al.*, 2010), también se les considera como especies patógenas que, bajo ciertas condiciones como aumento de la temperatura, afectan de manera significativa la sobrevivencia de los camarones (Cheng *et al.*, 2005).

Por otro lado, en el presente estudio, los camarones sometidos a una restricción moderada del 50 % mostraron una actividad significativamente más alta de la catalasa que los camarones alimentados de manera continua. Se puede asumir la actividad de la enzima fue aumentada debido a la ingestión mayor de partículas de biofloc por parte de los camarones en crecimiento compensatorio, por su respuesta hiperfágica. Además, en el caso de la restricción moderada (T50), las propiedades antioxidantes del biofloc permitieron evitar el estrés oxidativo. De hecho,

otros estudios han demostrado una estimulación de la actividad antioxidante durante la ingestión de partículas de biofloc por parte de los camarones *P. vannamei* (Zhao *et al.*, 2016; Panigrahi *et al.*, 2019; Soto-Alcalá *et al.*, 2019). Se ha mencionado que los compuestos bioactivos del biofloc, como los carotenoides, la clorofila, los fitoesteroles o los aminoácidos, permiten la estimulación del sistema inmune y antioxidante de los camarones (Zhao *et al.*, 2016; Panigrahi *et al.*, 2019). El aumento del sistema antioxidante permitió a los camarones T50 evitar la peroxidación de los lípidos durante el crecimiento compensatorio, daño inherente a la aceleración del crecimiento (ver sección 8.2.2 y Fig. 32).

En términos de rendimiento productivo, el sistema biofloc permitió aumentar la respuesta de crecimiento compensatorio alcanzado por *P. vannamei* después de una restricción alimenticia. Adicionalmente, el tratamiento T50 permitió lograr un ahorro de más del 12 % en el consumo de alimento con 10 días de restricción y 30 días de realimentación. Esto concuerda con la literatura, ya que se ha informado que 21 días de restricción parcial en BFT han permitido un ahorro del 25 % en *P. vannamei* (Lara *et al.*, 2017). Así, la restricción alimenticia seguida de una realimentación en el BFT parece ser una buena estrategia para optimizar el manejo del alimento en el cultivo de *P. vannamei* sin comprometer su estado oxidativo.

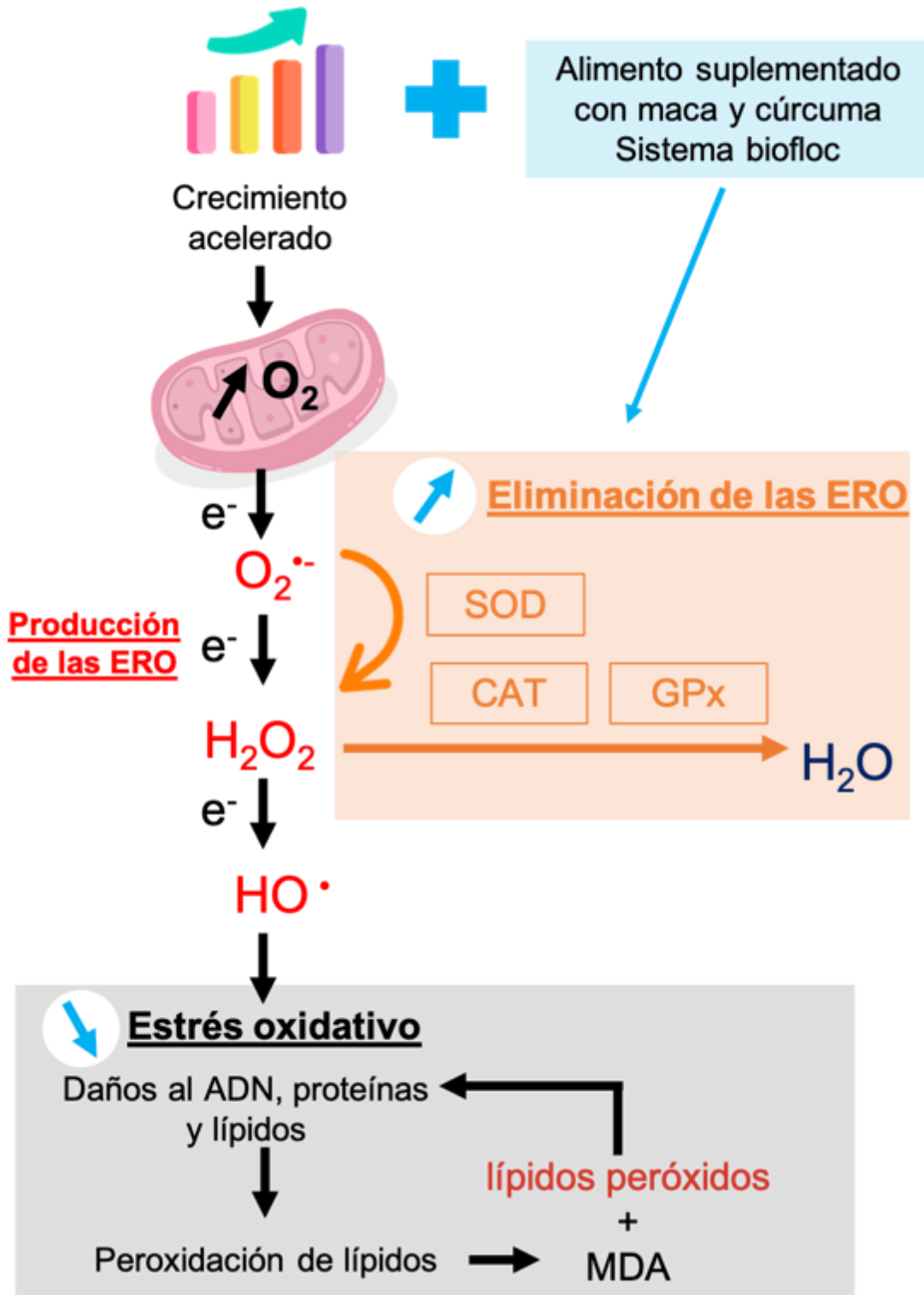


Figura 32. Esquema general del proceso de estrés oxidativo observado durante los experimentos.

9. CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación revelaron los siguientes hallazgos relacionados con el tema del crecimiento compensatorio:

- Los camarones que recibieron 50 % (T50) de la porción de referencia durante 10 días mostraron un crecimiento compensatorio completo tras 40 días de realimentación. Esta estrategia permitió un ahorro del 12 % en el alimento durante un periodo de 40-50 días, sin comprometer el peso final de cosecha.
- El crecimiento compensatorio genera un estrés oxidativo transitorio, que no afectó la resistencia de los camarones a retos de estrés abióticos.
- El uso de maca y de cúrcuma como suplementos en el alimento de *P. vannamei* permitió mitigar el estrés oxidativo generado por el crecimiento compensatorio tras una exposición a 25 % de la porción de referencia durante 10 días (T25).
- El sistema biofloc permitió a los organismos que recibieron 50 % y 25 % de la porción de referencia durante 10 días, y los expuestos a ciclos de ayuno/realimentación de demostrar un crecimiento compensatorio completo tras 30 días de realimentación.
- El sistema biofloc permitió mitigar el estrés oxidativo generado durante el crecimiento compensatorio en los camarones previamente expuestos a 50% de restricción alimenticia durante 10 días (T50).

En resumen, la estrategia alimenticia de restricción parcial bajo estas condiciones parece prometedora para las granjas de cultivo de camarones, ya que no perturba su resistencia frente a eventos de estrés, evidenciando que los cambios en el estado oxidativo son temporales y controlables mediante estrategias de cultivo innovadoras. Sin embargo, esta investigación se centró en el estado oxidativo y sería importante considerar otras consecuencias fisiológicas asociadas a la estrategia alimenticia antes de aplicarla a gran escala.

10. LITERATURA CITADA

- Abakari, G., Luo, G. y Kombat, E.O. (2021). Dynamics of nitrogenous compounds and their control in biofloc technology (BFT) systems: A review. *Aquaculture and Fisheries*, 6(5): 441-447. doi: 10.1016/j.aaf.2020.05.005
- Abdel-Tawwab, M., Khattab, Y.A.E., Ahmad, M.H. y Shalaby, A.M.E. (2006). Compensatory growth, feed utilization, whole-body composition, and hematological changes in starved juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of Applied Aquaculture*, 18(3): 17-36. doi: 10.1300/J028v18n03_02
- Abele, D., Vázquez-Medina, JP. y Zenteno-Savín, T. (2011). *Oxidative stress in aquatic ecosystems*. 1st Ed, Wiley-Blackwell. Chichester, West Sussex, England.
- Abgoun, K., Sourinejad, I. y Akbarzadeh, A. (2023). Influence of induced low-, moderate-, and severe-intensity starvation on compensatory growth, body composition, and economic efficiency of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*, 31(6): 3531-3543. doi: 10.1007/s10499-023-01140-5
- Aebi, H. (1984). Catalase in Vitro. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126. doi: 10.1016/S0076-6879(84)05016-3
- Agnihotri, N. y Mishra, P.C. (2011). Scavenging mechanism of curcumin toward the hydroxyl radical: A theoretical study of reactions producing ferulic acid and vanillin. *Journal of Physical Chemistry A*, 115(49): 14221-14232. doi: 10.1021/jp209318f
- Aguirre-Guzmán, G., Sánchez-Martínez, J.G., Campa-Córdova, Al., Luna-González, A. y Ascencio, F. (2009). Penaeid shrimp immune system. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 39(3): 205-215. doi: 10.56808/2985-1130.2175
- Akdemir, F., Orhan, C., Tuzcu, M., Sahin, N., Juturu, V. y Sahin, K. (2017). The efficacy of dietary curcumin on growth performance, lipid peroxidation and hepatic transcription factors in rainbow trout *Oncorhynchus Mykiss* (Walbaum) reared under different stocking densities. *Aquaculture Research*, 48(8): 4012-4021. doi: 10.1111/are.13223
- Alagawany, M., Farag, M.R., Abdelnour, S.A., Dawood, M.A.O., Elnesr, S.S. y Dhama, K. (2021). Curcumin and its different forms: A review on fish nutrition. *Aquaculture*, 532: 736030. doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.736030
- Ali, M., Nicieza, A. y Wootton, R.J. (2003). Compensatory growth in fishes: A response to growth depression. *Fish and Fisheries*, 4(2): 147-190. doi: 10.1046/j.1467-2979.2003.00120.x
- Allan, E.L., Froneman, P.W. y Hodgson, A.N. (2006). Effects of temperature and salinity on the standard metabolic rate (SMR) of the caridean shrimp *Palaemon peringueyi*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 337(1): 103-108. doi: 10.1016/j.jembe.2006.06.006
- Alonso-Alvarez, C., Bertrand, S., Faivre, B. y Sorci, G. (2007). Increased susceptibility to oxidative damage as a cost of accelerated somatic growth in zebra finches. *Functional Ecology*, 21(5): 873-879. doi: 10.1111/j.1365-2435.2007.01300.x
- Amparyup, P., Charoensapsri, W. y Tassanakajon, A. (2013). Prophenoloxidase system and its role in shrimp immune responses against major pathogens. *Fish and Shellfish Immunology*, 34(4): 990-1001. doi: 10.1016/j.fsi.2012.08.019
- Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Newman, R.A. y Aggarwal, B.B. (2007). Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4(6): 807-818. doi: 10.1021/mp700113r
- Anand, P.S.S., Kohli, M.P.S., Kumar, S., Sundaray, J.K., Roy, S.D., Venkateshwarlu, G., Sinha, A. y

- Pailan, G.H. (2014). Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 418: 108-115. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.09.051
- Andrianti, D.N. y Mira, M. (2022). The effectiveness of white turmeric extract (*Curcuma zedoaria*) against the immune system of vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Fish Health*, 2(1): 14-23. doi: 10.29303/jfh.v2i1.1330
- Anger, K. (2001). *The biology of decapod crustacean larvae*. A.A. Balkema Publisher, Lisse, Netherlands.
- AOAC. (2005). *Official methods of analysis (Vol. 222)*. 18th. ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Argüello-Guevara, W., Chilán, K., Suárez, A., Estay-Moyano, C., Bohórquez-Cruz, M., Reinoso, S. y Sonnenholzner, S. (2020). Lack of compensatory growth response in longfin yellowtail (*Seriola rivoliana*, Valenciennes, 1833) juveniles related to cyclical fasting and refeeding under rearing conditions. *Aquaculture Research*, 51(10): 4381-4385. doi: 10.1111/are.14776
- Avnimelech, Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*, 264(1-4): 140-147. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.11.025
- Avnimelech, Y., Kochba, M., Suryakumar, B., y Ghanekar, A. (2012). Nitrogen isotope : tool to evaluate protein uptake in biofloc systems. *Global Aquaculture Advocate*, 74-75.
- Ayala, A., Muñoz, M.F. y Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014. doi: 10.1155/2014/360438
- Barbieri, E., de Medeiros, A.M.Z. y Henriques, M.B. (2016). Oxygen consumption and ammonia excretion of juvenile pink shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*) in culture: temperature effects. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 49(1): 19-25. doi: 10.1080/10236244.2015.1108057
- Barcellos, D., Queiroz, H.M., Nóbrega, G.N., de Oliveira Filho, R.L., Santaella, S.T., Otero, X.L. y Ferreira, T.O. (2019). Phosphorus enriched effluents increase eutrophication risks for mangrove systems in northeastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 142: 58-63. doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.03.031
- Barim-Oz, O. (2018). The effects on some non-enzymatic antioxidants and oxidative stress of *Astacus leptodactylus* (Esch., 1823) of starvation periods. *Aquaculture Nutrition*, 24(1): 492-503. doi: 10.1111/anu.12582
- Barim-Oz, O. y Sahin, H. (2016). Oxidative stress and some biochemical parameters during starvation and refeeding in *Astacus leptodactylus* (Esch., 1823). *Cellular and Molecular Biology*, 62(13): 35-43. doi: 10.14715/cmb/2016.62.13.7
- Bavera, G., Bocco, O., Beguet, H. y Petryna, A. (2005). Crecimiento y desarrollo compensatorios. Curso Producción bovina de carne. FAV UNRC.
- Bayir, A., Sirkecioglu, A.N., Bayir, M., Haliloglu, H.I., Kocaman, E.M. y Aras, N.M. (2011). Metabolic responses to prolonged starvation, food restriction, and refeeding in the brown trout, *Salmo trutta*: oxidative stress and antioxidant defenses. *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*, 159(4): 191-196. doi: 10.1016/j.cbpb.2011.04.008
- Bhoopathy, S., Inbakandan, D., Rajendran, T., Chandrasekaran, K., Prabha S, B., Reddy, B.A., Kasilingam, R., RameshKumar, V. y Dharani, G. (2021). Dietary supplementation of curcumin-loaded chitosan nanoparticles stimulates immune response in the white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* challenged with *Vibrio harveyi*. *Fish and Shellfish Immunology*, 117: 188-191. doi: 10.1016/j.fsi.2021.08.002

- Boone, L. (1931). *Anomuran, macruran Crustacea from Panama and Canal Zone*. New York: Bulletin of the American Museum of Natural History.
- Bower, C.E. y Holm-Hansen, T. (1980). A salicylate-hypochlorite method for determining ammonia in seawater. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(5): 794-798. doi: 10.1139/f80-106
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2): 248-254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Briggs, M., Funge-Smith, S., Subasinghe, R. y Phillips, M. (2004). Introductions and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the Pacific. *RAP Publication*, 10(2004): 92
- Burford, M.A. y Williams, K.C. (2001). The fate of nitrogenous waste from shrimp feeding. *Aquaculture*, 198(1-2): 79-93. doi: 10.1016/S0044-8486(00)00589-5
- Cabrera-Stevens, M.J., Sánchez-Paz, A., Mendoza-Cano, F., Escobedo-Fregoso, C., Encinas-García, T., Elizondo-González, R. y Peña-Rodríguez, A. (2022). Transcriptome analysis reveals differential gene expression associated with white spot syndrome virus resistance in the shrimp *Litopenaeus vannamei* fed on functional diets. *Aquaculture*, 547: 737434. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.737434
- Cai, M., Zhang, Y., Zhu, J., Li, H., Tian, H., Chu, W., Hu, Y., Liu, B. y Wang, A. (2021). Intervention of re-feeding on growth performance, fatty acid composition and oxidative stress in the muscle of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) subjected to short-term starvation. *Aquaculture*, 545: 737110. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.737110
- Calderon-Llevanos, S. (2015). *Respuestas fisiológicas del abulón azul (Haliotis fulgens) por efecto combinado de hipoxia y estrés térmico*. Tesis (Maestría en Ciencias en el uso, manejo y preservación de los recursos naturales con orientación en acuicultura). La Paz, B.C.S. CIBNOR. 56pp
- Camacho-Jiménez, L., Leyva-Carrillo, L., Peregrino-Uriarte, A.B., Duarte-Gutiérrez, J.L., Tresguerres, M. y Yepiz-Plascencia, G. (2019). Regulation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by hypoxia inducible factor 1 in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* during hypoxia and reoxygenation. *Comparative Biochemistry and Physiology -Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 235: 56-65. doi: 10.1016/j.cbpa.2019.05.006
- Cardona, E., Lorgeoux, B., Geffroy, C., Richard, P., Saulnier, D., Gueguen, Y., Guillou, G. y Chim, L. (2015). Relative contribution of natural productivity and compound feed to tissue growth in blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) reared in biofloc: assessment by C and N stable isotope ratios and effect on key digestive enzymes. *Aquaculture*, 448: 288-297. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.05.035
- Carranza, C.F.C. (1999). Compatibilidad ambiental de la industria de harina de pescado en Paracas - Pisco. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica*, 2(3): 119-134. doi: 10.15381/iigeo.v2i3.2115
- Casillas-Hernández, R., Nolasco-Soria, H., García-Galano, T., Carrillo-Farnes, O. y Páez-Osuna, F. (2007). Water quality, chemical fluxes and production in semi-intensive Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture ponds utilizing two different feeding strategies. *Aquacultural Engineering*, 36(2): 105-114. doi: 10.1016/j.aquaeng.2006.09.001
- Castille, F.L. y Lawrence, A.L. (1981). The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 68(1): 75-80. doi: 10.1016/0300-

9629(81)90320-0

- Cerenius, L. y Söderhäll, K. (2021). Immune properties of invertebrate phenoloxidasas. *Developmental and Comparative Immunology*, 122: 104098. doi: 10.1016/j.dci.2021.104098
- Chance, B., Sies, H. y Boveris, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Reviews*, 59(3): 527-605. doi: 10.1152/physrev.1979.59.3.527527
- Chen, J.J., Huang, W.C. y Chen, C.C. (2005). Transcriptional regulation of cyclooxygenase-2 in response to proteasome inhibitors involves reactive oxygen species-mediated signaling pathway and recruitment of CCAAT/enhancer-binding protein δ and CREB-binding protein. *Molecular Biology of the Cell*, 16(12): 5579-5591. doi: 10.1091/mbc.E05-08-0778
- Chen, W.Y., Ng, T.H., Wu, J.H., Chen, J.W. y Wang, H.C. (2017). Microbiome dynamics in a shrimp grow-out pond with possible outbreak of acute hepatopancreatic necrosis disease. *Scientific Reports*, 7(1): 9395. doi: 10.1038/s41598-017-09923-6
- Cheng, W., Liu, C.H., Hsu, J.P. y Chen, J.C. (2002). Effect of hypoxia on the immune response of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* and its susceptibility to pathogen *Enterococcus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 13(5): 351-365. doi: 10.1006/fsim.2001.0411
- Cheng, W., Wang, L.U. y Chen, J.C. (2005). Effect of water temperature on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* to *Vibrio alginolyticus*. *Aquaculture*, 250(3-4): 592-601. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.04.060
- Chirawithayaboon, P., Areechon, N. y Meunpol, O. (2020). Hepatopancreatic antioxidant enzyme activities and disease resistance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed diet supplemented with garlic (*Allium sativum*) extract. *Agriculture and Natural Resources*, 54(4): 377-386. doi: 10.34044/j.anres.2020.54.4.06
- Choi, C.Y., Shin, H.S., Choi, Y.J., Kim, N.N., Lee, J. y Kil, G.S. (2012). Effect of LED light spectra on starvation-induced oxidative stress in the cinnamon clownfish *Amphiprion melanopus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 163(3-4): 357-363. doi: 10.1016/j.cbpa.2012.07.005
- Comoglio, L.I., Gaxiola, G., Roque, A. y Amin, O. (2004). The effect of starvation on refeeding, digestive enzyme activity, oxygen consumption, and ammonia excretion in juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Shellfish Research*, 23(1): 243-249
- Cong, M., Wu, H., Yang, H., Zhao, J. y Lv, J. (2017). Gill damage and neurotoxicity of ammonia nitrogen on the clam *Ruditapes philippinarum*. *Ecotoxicology*, 26: 459-469. doi: 10.1007/s10646-017-1777-4
- Costantini, D., Angeletti, D., Strinati, C., Trisolino, P., Carlini, A., Nascetti, G. y Carere, C. (2018). Dietary antioxidants, food deprivation and growth affect differently oxidative status of blood and brain in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 216: 1-7. doi: 10.1016/j.cbpa.2017.10.032
- Costantini, D. y Verhulst, S. (2009). Does high antioxidant capacity indicate low oxidative stress? *Functional Ecology*, 23(3): 506-509. doi: 10.1111/j.1365-2435.2009.01546.x
- Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P. y Verstraete, W. (2012). Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*, 356: 351-356. doi: 10.1016/j.aquaculture.2012.04.046
- Cuzon, G., Rosas, C., Gaxiola, G., Taboada, G. y Van Wormhoudt, A. (2000). Utilization of carbohydrates by shrimp. *Avances en Nutrición Acuicola*.
- Dai, W.F., Zhang, J.J., Qiu, Q.F., Chen, J., Yang, W., Ni, S. y Xiong, J.B. (2018). Starvation stress affects the interplay among shrimp gut microbiota, digestion and immune activities. *Fish and*

- Shellfish Immunology*, 80: 191-199. doi: 10.1016/j.fsi.2018.05.040
- Davis, D.A. (2005). *Nutrient requirements of penaeid shrimps*. Global Aquaculture Advocate, USA.
- De Block, M. y Stoks, R. (2008). Compensatory growth and oxidative stress in a damselfly. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1636): 781-785. doi: 10.1098/rspb.2007.1515
- de Souza, D.M., Borges, V.D., Furtado, P., Romano, L.A., Wasielesky, W., Monserrat, J.M. y de Oliveira Garcia, L. (2016). Antioxidant enzyme activities and immunological system analysis of *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc technology (BFT) at different water temperatures. *Aquaculture*, 451: 436-443. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.10.006
- de Souza, D.M., Martins, Á.C., Jensen, L., Wasielesky, W., Monserrat, J.M. y Garcia, L de O. (2014). Effect of temperature on antioxidant enzymatic activity in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in a BFT (Biofloc technology) system. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 47(1): 1-10. doi: 10.1080/10236244.2013.857476
- Debbarma, S., Tiwari, V.K., Reddy, A.K., Pavan Kumar, A. y Babitha Rani, A.M. (2019). Short term ration restriction and re-alimentation: Effect on compensatory growth, body composition and insulin like growth factor gene expression in *Cyprinus carpio*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 20(6): 499-505. doi: 10.4194/1303-2712-v20_6_08
- Dersjant-Li, Y. (2002). The Use of Soy Protein in Aquafeeds. En: *Avances en Nutrición Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México, pp 541-558.
- Dmitriew, C.M. (2011). The evolution of growth trajectories: What limits growth rate? *Biological Reviews*, 86(1): 97-116. doi: 10.1111/j.1469-185X.2010.00136.x
- Dobson, S.H. y Holmes, R.M. (1984). Compensatory growth in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology*, 25(6): 649-656. doi: 10.1111/j.1095-8649.1984.tb04911.x
- Dorothy, M.S., Vungarala, H., Sudhagar, A., Reddy, A.K. y Rani Asanaru Majeedkutty, B. (2021). Growth, body composition and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juveniles reared at different stocking densities in the biofloc system using inland saline groundwater. *Aquaculture Research*, 52(12): 6299-6307. doi: 10.1111/are.15493
- Draper, H.H., Squires, E.J., Mahmoodi, H., Wu, J., Agarwal, S. y Hadley, M. (1993). A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radical Biology and Medicine*, 15(4): 353-363. doi: 10.1016/0891-5849(93)90035-S
- Duan, Y., Wang, Y., Zhang, J. y Xiong, D. (2018). Elevated temperature disrupts the mucosal structure and induces an immune response in the intestine of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) (Decapoda: Dendrobranchiata: Penaeidae). *Journal of Crustacean Biology*, 38(5): 635-640. doi: 10.1093/jcabi/ruy055
- Duan, Y., Zhang, J., Dong, H., Wang, Y., Liu, Q. y Li, H. (2015). Oxidative stress response of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* to *Vibrio parahaemolyticus* challenge. *Fish and Shellfish Immunology*, 46(2): 354-365. doi: 10.1016/j.fsi.2015.06.032
- Duan, Y., Zhang, Y., Dong, H. y Zhang, J. (2016). Effect of desiccation on oxidative stress and antioxidant response of the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Fish and Shellfish Immunology*, 58: 10-17. doi: 10.1016/j.fsi.2016.09.004
- Dutra, F.M., Rönna, M., Sponchiado, D., Forneck, S.C., Freire, C.A. y Ballester, E.L.C. (2017). Histological alterations in gills of *Macrobrachium amazonicum* juveniles exposed to ammonia and nitrite. *Aquatic Toxicology*, 187: 115-123. doi: 10.1016/j.aquatox.2017.04.003

- Ebeling, M.E. (1968). The dumas method for nitrogen in feeds. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 51(4): 766-770. doi: 10.1093/jaoac/51.4.766
- Ebrahimi, M. y Ajamhassani, M. (2020). Investigating the effect of starvation and various nutritional types on the hemocytic profile and phenoloxidase activity in the indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Invertebrate Survival Journal*, : 175-185. doi: 10.25431/1824-307X/isj.v0i0.175-185
- El-Houseiny, W., Khalil, A.A., Abd-Elhakim, Y.M. y Badr, H.A. (2019). The potential role of turmeric and black pepper powder diet supplements in reversing cadmium-induced growth retardation, ATP depletion, hepatorenal damage, and testicular toxicity in *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*, 510: 109-121. doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.05.045
- El-Sayed, A.F.M. (2021). Use of biofloc technology in shrimp aquaculture: a comprehensive review, with emphasis on the last decade. *Reviews in Aquaculture*, 13(1): 676-705. doi: 10.1111/raq.12494
- Emerenciano, M.G.C., Martínez-Córdova, L.R., Martínez-Porchas, M. y Miranda-Baeza, A. (2017). Biofloc Technology (BFT): A tool for water quality management in aquaculture. *Water Quality*, 5: 92-109. doi: 10.5772/66416
- Emerenciano, M.G.C., Miranda-Baeza, A., Martínez-Porchas, M., Poli, M.A. y Vieira, F.D.N. (2021). Biofloc technology (BFT) in shrimp farming: past and present shaping the future. *Frontiers in Marine Science*, 8: 813091. doi: 10.3389/fmars.2021.813091
- Emerenciano, M.G.C., Rombenso, A.N., Vieira, F.D.N., Martins, M.A., Coman, G.J., Truong, H.H., Noble, T.H. y Simon, C.J. (2022). Intensification of Penaeid shrimp culture: an applied review of advances in production systems, nutrition and breeding. *Animals*, 12(3): 236. doi: 10.3390/ani12030236
- Estrada-Cárdenas, P., Cruz-Moreno, D.G., González-Ruiz, R., Peregrino-Uriarte, A.B., Leyva-Carrillo, L., Camacho-Jiménez, L., Quintero-Reyes, I. y Yepiz-Plascencia, G. (2021). Combined hypoxia and high temperature affect differentially the response of antioxidant enzymes, glutathione and hydrogen peroxide in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Comparative Biochemistry and Physiology -Part A : Molecular and Integrative Physiology*, 254: 110909. doi: 10.1016/j.cbpa.2021.110909
- Fadeev, E., Cardozo-Mino, M.G., Rapp, J.Z., Bienhold, C., Salter, I., Salman-Carvalho, V., Molari, M., Tegetmeyer, H.E., Buttigieg, P.L. y Boetius, A. (2021). Comparison of two 16S rRNA primers (V3-V4 and V4-V5) for studies of arctic microbial communities. *Frontiers in Microbiology*, 12: 637526. doi: 10.3389/fmicb.2021.637526
- Fang, L., Ruan, G.L., Guo, K., Fan, W.H. y Yang, D.Q. (2021). Proper duration and intensity of feed deprivation promote a compensatory growth response in the ricefield eel, *Monopterus albus*. *Aquaculture Research*, 52(3): 890-896. doi: 10.1111/are.14943
- Fang, Z., Tian, X. y Dong, S. (2017). Effects of starving and re-feeding strategies on the growth performance and physiological characteristics of the juvenile tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Journal of Ocean University of China*, 16: 517-524. doi: 10.1007/s11802-017-3198-7
- Fanjul-Moles, L. y Gonsebatt, M.E. (2011). Oxidative stress and antioxidant systems in crustacean life cycles. En: *Oxidative Stress In Aquatic Ecosystems*. 1st Ed Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex, England, pp. 208-223
- FAO. (2022). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation*. Rome, FAO. doi: 10.4060/cc0461en
- FAO. (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action*. Rome.

doi: 10.4060/ca9229en

- Fischer, K., Zeilstra, I., Hetz, S.K. y Fiedler, K. (2005). Physiological costs of growing fast: Does accelerated growth reduce pay-off in adult fitness? *Evolutionary Ecology*, 18: 343-353. doi: 10.1007/s10682-004-2004-3
- Florescu, I.E., Georgescu, S.E., Dudu, A., Balaş, M., Voicu, S., Grecu, I., Dediu, L., Dinischiotu, A. y Costache, M. (2021). Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms in response to starvation and refeeding in the intestine of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juveniles from aquaculture. *Animals*, 11(1): 76. doi: 10.3390/ani11010076
- Foschi, J., Mancini, G., Fabbri, M., Rosmini, R., Serrazanetti, G.P. y & Monari, M. (2011). Antioxidant defences role during post anoxic recovery in bivalve mollusc *Scapharca inaequalvis*. *Journal of Biological Research-Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*, 84(1). doi: 10.4081/jbr.2011.4483
- Foss, A., Imsland, A.K., Vikingstad, E., Stefansson, S.O., Norberg, B., Pedersen, S., Sandvik, T. y Roth, B. (2009). Compensatory growth in Atlantic halibut: Effect of starvation and subsequent feeding on growth, maturation, feed utilization and flesh quality. *Aquaculture*, 290(3-4): 304-310. doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.02.021
- Francis-Floyd, R., Watson, C., Petty, D. y Pouder, D. (2022). Ammonia in aquatic systems. *Edis*, 4. doi: 10.32473/edis-fa031-2022
- Furné, M., García-Gallego, M., Hidalgo, M.C., Morales, A.E., Domezain, A., Domezain, J. y Sanz, A. (2009). Oxidative stress parameters during starvation and refeeding periods in Adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 15(6): 587-595. doi: 10.1111/j.1365-2095.2008.00626.x
- Gabriela Jimenez, A. (2018). "The same thing that makes you live can kill you in the end": exploring the effects of growth rates and longevity on cellular metabolic rates and oxidative stress in mammals and birds. *Integrative and Comparative Biology*, 58(3): 544-558. doi: 10.1093/icb/icy090
- Gao, Y., Wang, Z., Hur, J.W., y Lee, J.Y. (2015). Body composition and compensatory growth in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* under different feeding intervals. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 33: 945-956. doi: 10.1007/s00343-015-4246-z
- García-Carreño, F.L., Hernández-Cortés, M.P. y Haard, N.F. (1994). Enzymes with peptidase and proteinase activity from the digestive systems of a freshwater and a marine decapod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(7): 1456-1461. doi: 10.1021/jf00043a013
- García-Pérez, O.D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M., Cruz-Valdez, J.C., Maldonado-Muñiz, M., Guerrero Guerrero, M.L., Cruz-Suárez, E.L. y Marroquín-Cardona, A.G. (2020). Effects of conjugated linoleic acid and curcumin on growth performance and oxidative stress enzymes in juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) feed with aflatoxins. *Aquaculture Research*, 51(3): 1051-1060. doi: 10.1111/are.14451
- Gaschler, M.M. y Stockwell, B.R. (2017). Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 482(3): 419-425. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086
- Glencross, B.D. (2009). Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture*, 1(2): 71-124. doi: 10.1111/j.1753-5131.2009.01006.x
- Gonzales, G.F. (2012). Ethnobiology and ethnopharmacology of *Lepidium meyenii* (Maca), a plant from the peruvian highlands. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2012. doi: 10.1155/2012/193496
- González-Santoyo, I. y Córdoba-Aguilar, A. (2012). Phenoloxidase: a key component of the insect immune system. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 142(1): 1-16. doi: 10.1111/j.1570-

7458.2011.01187.x

- González, R.A., Díaz, F., Licea, A., Re, A.D., Sánchez, L.N. L. y García-Esquivel, Z. (2010). Thermal preference, tolerance and oxygen consumption of adult white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) exposed to different acclimation temperatures. *Journal of Thermal Biology*, 35(5): 218-224. doi: 10.1016/j.jtherbio.2010.05.004
- Gou, N., Wang, K., Jin, T. y Yang, B. (2023). Effects of starvation and refeeding on energy-linked metabolic. *Animals*, 13(7): 1168. doi: 10.3390/ani13071168
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35(5): 1147-1150. doi: 10.1042/BST0351147
- Halliwell, B. y Gutteridge, J.M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. 3rd ed. Oxford University Press, New York, USA.
- Han, S.Y., Wang, M.Q., Liu, M., Wang, B.J., Jiang, K.Y. y Wang, L. (2018). Comparative sensitivity of the hepatopancreas and midgut in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* to oxidative stress under cyclic serious/medium hypoxia. *Aquaculture*, 490: 44-52. doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.02.021
- Han, S.Y., Wang, B.J., Liu, M., Wang, M.Q., Jiang, K.Y. y Qi, C.C., y Wang, L. (2017). Effect of cyclic serious/medium hypoxia stress on the survival, growth performance and resistance against *Vibrio parahemolyticus* of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Invertebrate Survival Journal*, 14(1): 259-270. doi: 10.25431/1824-307X/isj.v14i1.259-270
- Hardin, M.P., Hutchins, D.L., Chamberlain, G.W. y Aldrich, D.V. (1985). Temperature and size effects on the accuracy of estimating postlarval shrimp populations. *Aquacultural Engineering*, 4(2): 85-92. doi: 10.1016/0144-8609(85)90007-X
- Harris, J.O., Maguire, G.B., Edwards, S. y Hindrum, S.M. (1998). Effect of ammonia on the growth rate and oxygen consumption of juvenile greenlip abalone, *Haliotis laevis* Donovan. *Aquaculture*, 160(3-4): 259-272. doi: 10.1016/S0044-8486(97)00249-4
- Hasanpour, S., Oujifard, A., Torfi Mozanzadeh, M. y Safari, O. (2021). Compensatory growth, antioxidant capacity and digestive enzyme activities of Sobaity (*Sparidentex hasta*) and yellowfin seabreams (*Acanthopagrus latus*) subjected to ration restriction. *Aquaculture Nutrition*, 27(6): 2448-2458. doi: 10.1111/anu.13376
- He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T. y Ma, X. (2017). Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44(2): 532-553. doi: 10.1159/000485089
- Herbeck, L.S., Unger, D., Wu, Y. y Jennerjahn, T.C. (2013). Effluent, nutrient and organic matter export from shrimp and fish ponds causing eutrophication in coastal and back-reef waters of NE hainan, tropical China. *Continental Shelf Research*, 57: 92-104. doi: 10.1016/j.csr.2012.05.006
- Hernández-Contreras, Á. y Hernández, M.D. (2020). Application of aromatic plants and their extracts in aquaculture. En : *Feed additives*. Academic Press, pp.239-259
- Hernández-López, J., Gollas-Galván, T. y Vargas-Albore, F. (1994). Activation of the prophenoloxidase system of the brown shrimp *Penaeus californensis* Holmes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 113(1): 61-66. doi: 10.1016/0742-8413(95)02033-0
- Hernández, R.M., Bückle R., L.F., Palacios, E. y Barón, B. (2006). Preferential behavior of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) by progressive temperature-salinity simultaneous interaction. *Journal of Thermal Biology*, 31(7): 565-572. doi: 10.1016/j.jtherbio.2006.05.008

- Herreid, C.F. (1980). Review hypoxia in invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 67(3): 311-320. doi: 10.1016/S0300-9629(80)80002-8
- Hidalgo, M.C., Morales, A.E., Arizcun, M., Abellán, E. y Cardenete, G. (2017). Regional asymmetry of metabolic and antioxidant profile in the sciaenid fish shi drum (*Umbrina cirrosa*) white muscle. Response to starvation and refeeding. *Redox Biology*, 11: 682-687. doi: 10.1016/j.redox.2017.01.022
- Holt, C.C., Bass, D., Stentiford, G.D. y van der Giezen, M. (2021). Understanding the role of the shrimp gut microbiome in health and disease. *Journal of Invertebrate Pathology*, 186: 107387. doi: 10.1016/j.jip.2020.107387
- Hu, F., Pan, L. y Jing, F. (2009). Effects of hypoxia on dopamine concentration and the immune response of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Ocean University of China*, 8: 77-82. doi: 10.1007/s11802-009-0077-x
- Huang, G., Wei, L., Zhang, X. y Gao, T. (2008). Compensatory growth of juvenile brown flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel) following thermal manipulation. *Journal of Fish Biology*, 72(10): 2534-2542. doi: 10.1111/j.1095-8649.2008.01863.x
- Humason, L.G. (1979). *Animal tissue techniques*. W.H. Freeman and Company, San Francisco, USA.
- Hussain, A.S., Mohammad, D.A., Sallam, W.S., Shoukry, N.M. y Davis, D.A. (2021). Effects of culturing the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* in “biofloc” vs “synbiotic” systems on the growth and immune system. *Aquaculture*, 542: 736905. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.736905
- Iber, B.T. y Kasan, N.A. (2021). Recent advances in shrimp aquaculture wastewater management. *Heliyon*, 7(11). doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e08283
- Ighodaro, O.M. y Akinloye, O.A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4): 287-293. doi: 10.1016/j.ajme.2017.09.001
- Iqbal, M., Sharma, S.D., Okazaki, Y., Fujisawa, M. y Okada, S. (2003). Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolizing enzymes in ddY male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Pharmacology and Toxicology*, 92(1): 33-38. doi: 10.1034/j.1600-0773.2003.920106.x
- Jakubczyk, K., Drużga, A., Katarzyna, J. y Skonieczna-żydecka, K. (2020). Antioxidant potential of curcumin—a meta-analysis of randomized clinical trials. *Antioxidants*, 9(11): 1092. doi: 10.3390/antiox9111092
- Janero, D.R. (1990). Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 9(6): 515-540. doi: 10.1016/0891-5849(90)90131-2
- Janssens, L. y Stoks, R. (2020). Oxidative stress mediates rapid compensatory growth and its costs. *Functional Ecology*, 34(10): 2087-2097. doi: 10.1111/1365-2435.13616
- Jatobá, A., da Silva, B.C., da Silva, J.S., do Nascimento Vieira, F., Mouriño, J.L.P., Seiffert, W.Q. y Toledo, T.M. (2014). Protein levels for *Litopenaeus vannamei* in semi-intensive and biofloc systems. *Aquaculture*, 432: 365-371. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.05.005
- Jiang, H., Cheng, H., Liang, Y., Yu, S., Yu, T., Fang, J. y Zhu, C. (2019a). Diverse mobile genetic elements and conjugal transferability of sulfonamide resistance genes (sul1, sul2, and sul3) in *Escherichia coli* isolates from *Penaeus vannamei* and pork from large markets in Zhejiang, China. *Frontiers in Microbiology*, 10: 1787. doi: 10.3389/fmicb.2019.01787
- Jiang, J., Wu, X.Y., Zhou, X.Q., Feng, L., Liu, Y., Jiang, W.D., Wu, P. y Zhao, Y. (2016). Effects of

- dietary curcumin supplementation on growth performance, intestinal digestive enzyme activities and antioxidant capacity of crucian carp *Carassius auratus*. *Aquaculture*, 463: 174-180. doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.05.040
- Jiang, L., Feng, J., Ying, R., Yin, F., Pei, S., Lu, J., Cao, Y., Guo, J. y Li, Z. (2019b). Individual and combined effects of ammonia-N and sulfide on the immune function and intestinal microbiota of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 92: 230-240. doi: 10.1016/j.fsi.2019.06.020
- Jobling, M. (2012). *National Research Council (NRC): Nutrient requirements of fish and shrimp*. The National Academic Press, Washington, DC.
- Jovanovic, S.V., Steenken, S., Boone, C.W. y Simic, M.G. (1999). H-atom transfer is a preferred antioxidant mechanism of curcumin. *Journal of the American Chemical Society*, 121(41): 9677-9681. doi: 10.1021/ja991446m
- Ju, Z.Y., Forster, I., Conquest, L., Dominy, W., Kuo, W.C. y David Horgen, F. (2008). Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquaculture Research*, 39(2): 118-133. doi: 10.1111/j.1365-2109.2007.01856.x
- Kahkhaie, K.R., Mirhosseini, A., Aliabadi, A., Mohammadi, A., Mousavi, M.J., Haftcheshmeh, S.M., Sathyapalan, T. y Sahebkar, A. (2019). Curcumin: a modulator of inflammatory signaling pathways in the immune system. *Inflammopharmacology*, 27: 885-900. doi: 10.1007/s10787-019-00607-3
- Kathyayani, S.A., Poornima, M., Sukumaran, S., Nagavel, A. y Muralidhar, M. (2019). Effect of ammonia stress on immune variables of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* under varying levels of pH and susceptibility to white spot syndrome virus. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 184: 109626. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.109626
- Keogh, K., Kenny, D.A. y Waters, S.M. (2019). Gene co-expression networks contributing to the expression of compensatory growth in metabolically active tissues in cattle. *Scientific Reports*, 9(1): 6093. doi: 10.1038/s41598-019-42608-w
- Khanjani, M.H., Alizadeh, M. y Sharifinia, M. (2020). Rearing of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* in a biofloc system: the effects of different food sources and salinity levels. *Aquaculture Nutrition*, 26(2): 328-337. doi: 10.1111/anu.12994
- Kim, S.Y., Noguera, J.C. y Velando, A. (2019). Carry-over effects of early thermal conditions on somatic and germline oxidative damages are mediated by compensatory growth in sticklebacks. *Journal of Animal Ecology*, 88(3): 473-483. doi: 10.1111/1365-2656.12927
- Kittiwonich, J., Songsangjinda, P., Yamamoto, T., Fukami, K. y Muangyao, P. (2012). Modeling the effect of nitrogen input from feed on the nitrogen dynamics in an enclosed intensive culture pond of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Coastal marine science*, 35(1): 39-51
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M. y Glöckner, F.O. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, 41(1): e1-e1. doi: 10.1093/nar/gks808
- Kniffin, C.D., Burnett, L.E. y Burnett, K.G. (2014). Recovery from hypoxia and hypercapnic hypoxia: impacts on the transcription of key antioxidants in the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 170: 43-49. doi: 10.1016/j.cbpb.2014.01.006
- Kocaadam, B. y Şanlıer, N. (2017). Curcumin, an active component of turmeric (*Curcuma longa*), and its effects on health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(13): 2889-2895.

doi: 10.1080/10408398.2015.1077195

- Korkmaz, S., Eseceli, H., Korkmaz, I.O. y Bilal, T. (2016). Effect of Maca (*Lepidium meyenii*) powder dietary supplementation on performance, egg quality, yolk cholesterol, serum parameters and antioxidant status of laying hens in the post-peak period. *European Poultry Science*, 80: 147. doi: 10.1399/eps.2016.147
- Kotha, R.R. y Luthria, D.L. (2019). Curcumin: biological, pharmaceutical, nutraceutical, and analytical aspects. *Molecules*, 24(16): 2930. doi: 10.3390/molecules24162930
- Kumar, V.S., Pandey, P.K., Anand, T., Bhuvanewari, G.R., Dhinakaran, A. y Kumar, S. (2018). Biofloc improves water, effluent quality and growth parameters of *Penaeus vannamei* in an intensive culture system. *Journal of Environmental Management*, 215: 206-215. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.03.015
- Kureshy, N. y Allen Davis, D. (2002). Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 204(1-2): 125-143. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00649-4
- Lara, G., Hostins, B., Bezerra, A., Poersch, L. y Wasielesky, W. (2017). The effects of different feeding rates and re-feeding of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc culture system. *Aquacultural Engineering*, 77: 20-26. doi: 10.1016/j.aquaeng.2017.02.003
- Lawhavit, O. ard., Sincharoenpokai, P. y Sunthornandh, P. (2011). Effects of ethanol tumeric (*Curcuma longa* linn.) extract against shrimp pathogenic *Vibrio* spp. and on growth performance and immune status of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Agriculture and Natural Resources*, 45(1): 70-77
- Le, P.T.T. y Boyd, C.E. (2012). Comparison of phenate and salicylate methods for determination of total ammonia nitrogen in freshwater and saline water. *Journal of the World Aquaculture Society*, 43(6): 885-889. doi: 10.1111/j.1749-7345.2012.00616.x
- Lee, K.J., Dabrowski, K., Rinchar, J., Gomez, C., Guz, L. y Vilchez, C. (2004). Supplementation of maca (*Lepidium meyenii*) tuber meal in diets improves growth rate and survival of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) alevins and juveniles. *Aquaculture Research*, 35(3): 215-223. doi: 10.1111/j.1365-2109.2004.01022.x
- Lee, K.J., Dabrowski, K., Sandoval, M. y Miller, M.J.S. (2005). Activity-guided fractionation of phytochemicals of maca meal, their antioxidant activities and effects on growth, feed utilization, and survival in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Aquaculture*, 244(1-4): 293-301. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.12.006
- Lee, M.S., Lee, H.W., You, S. y Ha, K.T. (2016). The use of maca (*Lepidium meyenii*) to improve semen quality: a systematic review. *Maturitas*, 92: 64-69. doi: 10.1016/j.maturitas.2016.07.013
- Lesser, M.P. (2006). Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. *Annual Review of Physiology*, 68: 253-278. doi: 10.1146/annurev.physiol.68.040104.110001
- Li, B., Xian, J.A., Guo, H., Wang, A.L., Miao, Y.T., Ye, J.M., Ye, C.X. y Liao, S.A. (2014). Effect of temperature decrease on hemocyte apoptosis of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*, 22: 761-774. doi: 10.1007/s10499-013-9704-z
- Li, J.T., Zhao, Y.H., Lv, Y., Su, X., Mei, W.L., Lu, Y.P., Zheng, P.H., Zhang, Z.L., Zhang, X.X., Chen, H.Q., Dai, H.F. y Xian, J.A. (2023). Evaluating the antioxidant properties of the leaves and stems of *Alpinia oxyphylla* in vitro and its growth-promoting, muscle composition change, and antioxidative stress function on juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Antioxidants*, 12(10): 1802. doi: 10.3390/antiox12101802

- Li, Y., Wei, L., Cao, J., Qiu, L., Jiang, X., Li, P., Song, Q., Zhou, H., Han, Q. y Diao, X. (2016). Oxidative stress, DNA damage and antioxidant enzyme activities in the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) when exposed to hypoxia and reoxygenation. *Chemosphere*, 144: 234-240. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.08.051
- Li, Z.H., Xie, S., Wang, J.X., Sales, J., Li, P. y Chen, D.Q. (2009). Effect of intermittent starvation on growth and some antioxidant indexes of *Macrobrachium nipponense* (De Haan). *Aquaculture Research*, 40(5): 526-532. doi: 10.1111/j.1365-2109.2008.02123.x
- Liang, Z., Liu, R., Zhao, D., Wang, L., Sun, M., Wang, M. y Song, L. (2016). Ammonia exposure induces oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and apoptosis in hepatopancreas of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Fish and Shellfish Immunology*, 54: 523-528. doi: 10.1016/j.fsi.2016.05.009
- Lin, X.T., Pan, J.X., Xu, Z.N., Li, Z.J. y Li, H. (2008). Effect of periodic starvation on feeding, growth and defecation of *Litopenaeus vannamei*. *Acta hydrobiologica sinica*, 32: 403-407
- Lin, Y.C., Chen, J.C., Siti, S.N., Wan, W.Z., Awangku, A.S., Cheng, S.Y. y Hsu, C.H. (2012). Modulation of innate immunity and gene expressions in white shrimp *Litopenaeus vannamei* following long-term starvation and re-feeding. *Results in Immunology*, 2: 148-156. doi: 10.1016/j.rinim.2012.07.001
- Lushchak, V.I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, 101(1): 13-30. doi: 10.1016/j.aquatox.2010.10.006
- Lushchak, V.I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, 224: 164-175. doi: 10.1016/j.cbi.2014.10.016
- Lv, H., Peter, M., Hur, J.W., Gao, Y. y Chu, Z. (2021). Effects of ammonia exposure on oxidative stress, immune enzyme activities, and intestinal microbiota of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*, 29: 2605-2618. doi: 10.1007/s10499-021-00770-x
- Maciel, J.C., Francisco, C.J. y Miranda-Filho, K.C. (2018). Compensatory growth and feed restriction in marine shrimp production, with emphasis on biofloc technology. *Aquaculture International*, 26(1): 203-212. doi: 10.1007/s10499-017-0209-z
- Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H.N., Vinagre, C. y Diniz, M.S. (2013). Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 166(2): 237-243. doi: 10.1016/j.cbpa.2013.06.008
- Madsen, J.G. y Bee, G. (2015). Compensatory growth feeding strategy does not overcome negative effects on growth and carcass composition of low birth weight pigs. *Animal*, 9(3): 427-436. doi: 10.1017/S1751731114002663
- Mahmoud, H.K., Al-Sagheer, A.A., Reda, F.M., Mahgoub, S.A. y Ayyat, M.S. (2017). Dietary curcumin supplement influence on growth, immunity, antioxidant status, and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 475: 16-23. doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.03.043
- Mani, S., Mullaivanam Ramasamy, S., Chakrapani, S., Krishna, A., Shyne Anand, P.S., Lalramchhani, C., Antony, J. y Panigrahi, A. (2021). The effect of natural and artificial periphytic substrates with biofloc system on shrimp *Penaeus vannamei* (Boone 1931) culture: growth and immune response. *Aquaculture International*, 29: 651-668. doi: 10.1007/s10499-021-00646-0
- McCord, J.M. (1985). Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *New England Journal of Medicine*, 312(3): 159-163
- McCord, J.M. y Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte

- (hemocuprein). *Journal of Biological chemistry*, 244(22): 6049-6055. doi: 10.1016/S0021-9258(18)63504-5
- Mehner, T. y Wieser, W. (1994). Energetics and metabolic correlates of starvation in juvenile perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Fish Biology*, 45(2):325-333
- Mersmann, H.J., MacNeil, M.D., Seideman, S.C. y Pond, W.G. (1987). Compensatory growth in finishing pigs after feed restriction. *Journal of Animal Science*, 64(3): 752-764. doi: 10.2527/jas1987.643752x
- Mexía-Salazar, A.L., Hernández-López, J., Burgos-Hernández, A., Cortez-Rocha, M.O., Castro-Longoria, R. y Ezquerro-Brauer, J.M. (2008). Role of fumonisin B1 on the immune system, histopathology, and muscle proteins of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Food Chemistry*, 110(2): 471-479. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.028
- Mills, G.C. (1957). Hemoglobin catabolism I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *Journal of Biological Chemistry*, 229(1): 189-197. doi: 10.1016/S0021-9258(18)70608-X
- Ming, J., Ye, J., Zhang, Y., Xu, Q. y Yang, X. (2020). Optimal dietary curcumin improved growth performance , and modulated innate immunity , antioxidant capacity and related genes expression of NF- κ B and Nrf2 signaling pathways in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) after infection with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 97: 540-553. doi: 10.1016/j.fsi.2019.12.074
- Moberg, G.P. (2000). Biological response to stress: implications for animal welfare. En :*The biology of animal stress: Basic principles and implications for animal welfare*. CABI publishing, Wallingford UK, pp. 1-21.
- Moghadam, H., Sourinejad, I. y Johari, S.A. (2022). Dietary turmeric, curcumin and nanoencapsulated curcumin can differently fight against salinity stress in Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* Boone, 1931. *Aquaculture Research*, 53(8): 3127-3139. doi: 10.1111/are.15825
- Mohamed, A.A.R., El-Houseiny, W., EL-Murr, A.E., Ebraheim, L.L.M., Ahmed, A.I. y El-Hakim, Y.M.A. (2020). Effect of hexavalent chromium exposure on the liver and kidney tissues related to the expression of CYP450 and GST genes of *Oreochromis niloticus* fish: role of curcumin supplemented diet. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 188: 109890. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.109890
- Mohanty, R.K. y Mohapatra, A. (2017). Cyclic feed restriction on growth compensation of *Penaeus monodon* (Fabricius): science meets practice. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 46(10): 2008-2016.
- Monaghan, P., Metcalfe, N.B. y Torres, R. (2009). Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs: mechanisms, measurements and interpretation. *Ecology Letters*, 12(1): 75-92. doi: 10.1111/j.1461-0248.2008.01258.x
- Morales, A.E., Pérez-Jiménez, A., Hidalgo, M.C., Abellán, E. y Cardenete, G. (2004). Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 139(1-3): 153-161. doi: 10.1016/j.cca.2004.10.008
- Muhlía-Almazán, A. y García-Carreño, F.L. (2002). Influence of molting and starvation on the synthesis of proteolytic enzymes in the midgut gland of the white shrimp *Penaeus vannamei*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 133(3): 383-394. doi: 10.1016/S1096-4959(02)00163-X
- Munch, S.B. y Conover, D.O. (2003). Rapid growth results in increased susceptibility to predation

- in *Menidia menidia*. *Evolution*, 57(9): 2119-2127. doi: 10.1111/j.0014-3820.2003.tb00389.x
- Na nakorn, A., Chevakidagarn, P. y Danteravanich, S. (2017). Environmental impact of white shrimp culture during 2012–2013 at Bandon Bay, Surat Thani Province: a case study investigating farm size. *Agriculture and Natural Resources*, 51(2): 109-116. doi: 10.1016/j.anres.2016.08.007
- Najafi, A., Salati, A.P., Yavari, V. y Asadi, F. (2014). Effects of short-term starvation and re-feeding on antioxidant defense status in *Mesopotamichthys sharpeyi* (Günther, 1874) fingerlings. *International Journal of Aquatic Biology*, 2(5): 246-252. doi: 10.22034/ijab.v2i5.136
- New, M.B. (1976). A review of dietary studies with shrimp and prawns. *Aquaculture*, 9: 101-144. doi: 10.1016/0044-8486(76)90055-7
- Nguyen, T.V., Alfaro, A.C., Rodríguez, J., Bayot, B. y Sonnenholzner, S. (2022). Changes in metabolic profiling of whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) under hypoxic stress. *Journal of Invertebrate Pathology*, 193: 107798. doi: 10.1016/j.jip.2022.107798
- Nolasco-Soria, H., Moyano-López, F., Vega-Villasante, F., del Monte-Martínez, A., Espinosa-Chaurand, D., Gisbert, E. y Nolasco-Alzaga, H.R. (2018). Lipase and phospholipase activity methods for marine organisms. En: *Lipases and Phospholipases: Methods and Protocols*. Georgina S ed., New York, pp. 139-167
- Nunes, A.J.P., Sá, M.V.C., Carvalho, E.A. y Neto, H.S. (2006). Growth performance of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared under time- and rate-restriction feeding regimes in a controlled culture system. *Aquaculture*, 253(1-4): 646-652. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.09.023
- Ocampo, L., Villarreal, H., Vargas, M., Portillo, G. y Magallón, F. (2000). Effect of dissolved oxygen and temperature on growth, survival and body composition of juvenile *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes). *Aquaculture Research*, 31(2): 167-171. doi: 10.1046/j.1365-2109.2000.00405.x
- Oh, S.Y., Noh, C.H. y Cho, S.H. (2007). Effect of restricted feeding regimes on compensatory growth and body composition of red sea bream, *Pagrus major*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38(3): 443-449. doi: 10.1111/j.1749-7345.2007.00116.x
- Oh, S.Y. y Park, J. (2019). Effect of feed deprivation on compensatory growth in juvenile rock bream *Oplegnathus fasciatus*. *Fisheries Science*, 85: 813-819. doi: 10.1007/s12562-019-01333-z
- Ou, H., Liang, J. y Liu, J. (2022). Effects of acute ammonia exposure on oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and apoptosis in the kuruma shrimp (*Marsupenaeus japonicus*). *Aquaculture Reports*, 27: 101383. doi: 10.1016/j.aqrep.2022.101383
- Paital, B. y Chainy, G.B.N. (2010). Antioxidant defenses and oxidative stress parameters in tissues of mud crab (*Scylla serrata*) with reference to changing salinity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 151(1): 142-151. doi: 10.1016/j.cbpc.2009.09.007
- Palacios, M.E., Dabrowski, K., Abiado, M.A.G., Lee, K.J. y Kohler, C.C. (2006). Effect of diets formulated with native Peruvian plants on growth and feeding efficiency of red pacu (*Piaractus brachipomus*) juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society*, 37(3): 246-255. doi: 10.1111/j.1749-7345.2006.00035.x
- Pan, L.Q., Zhang, L.J. y Liu, H.Y. (2007). Effects of salinity and pH on ion-transport enzyme activities, survival and growth of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Aquaculture*, 273(4): 711-720. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.07.218
- Panigrahi, A., Sundaram, M., Chakrapani, S., Rajasekar, S., Syama Dayal, J. y Chavali, G. (2019).

- Effect of carbon and nitrogen ratio (C:N) manipulation on the production performance and immunity of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in a biofloc-based rearing system. *Aquaculture Research*, 50(1): 29-41. doi: 10.1111/are.13857
- Parasuraman, S. (2018). Herbal drug discovery: challenges and perspectives. *Current Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 16(1): 63-68. doi: 10.2174/1875692116666180419153313
- Parrilla-Taylor, D.P. y Zenteno-Savín, T. (2011). Antioxidant enzyme activities in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in response to environmental hypoxia and reoxygenation. *Aquaculture*, 318(3-4): 379-383. doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.05.015
- Pascual, C., Sánchez, A., Zenteno, E., Cuzon, G., Gabriela, G., Brito, R., Gelabert, R., Hidalgo, E. y Rosas, C. (2006). Biochemical, physiological, and immunological changes during starvation in juveniles of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 251(2-4): 416-429. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.06.001
- Peña-Rodríguez, A., Pelletier-Morreuw, Z., García-Luján, J., Rodríguez-Jaramillo, M.D.C., Guzmán-Villanueva, L., Escobedo-Fregoso, C., Tovar-Ramírez, D. y Reyes, A.G. (2020). Evaluation of *Agave lechuguilla* by-product crude extract as a feed additive for juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 51(4): 1336-1345. doi: 10.1111/are.14497
- Pérez-Jiménez, A., Cardenete, G., Hidalgo, M.C., García-Alcázar, A., Abellán, E. y Morales, A.E. (2012). Metabolic adjustments of *Dentex dentex* to prolonged starvation and refeeding. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38: 1145-1157. doi: 10.1007/s10695-011-9600-2
- Pérez-Rostro, C.I., Racotta, I.S. y Ibarra, A.M. (2004). Decreased genetic variation in metabolic variables of *Litopenaeus vannamei* shrimp after exposure to acute hypoxia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 302(2): 189-200. doi: 10.1016/j.jembe.2003.10.010
- Perez-Velazquez, M., Bray, W.A., Lawrence, A.L., Gatlin, D.M. y Gonzalez-Felix, M.L. (2001). Effect of temperature on sperm quality of captive *Litopenaeus vannamei* broodstock. *Aquaculture*, 198(3-4): 209-218. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00510-5
- Ponce-Palafox, J., Martinez-Palacios, C.A. y Ross, L.G. (1997). The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture*, 157(1-2): 107-115. doi: 10.1016/S0044-8486(97)00148-8
- Prates, E., Holanda, M., Pedrosa, V.F., Monserrat, J.M. y Wasielesky, W. (2023). Compensatory growth and energy reserves changes in the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared in different temperatures and under feed restriction in biofloc technology system (BFT). *Aquaculture*, 562: 738821. doi: 10.1016/j.aquaculture.2022.738821
- Py, C., Elizondo-González, R. y Peña-Rodríguez, A. (2022). Compensatory growth: fitness cost in farmed fish and crustaceans. *Reviews in Aquaculture*, 14(3): 1389-1417. doi: 10.1111/raq.12656
- Qiu, J., Wang, W.N., Wang, L.J., Liu, Y.F. y Wang, A.L. (2011). Oxidative stress, DNA damage and osmolality in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* exposed to acute low temperature stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 154(1): 36-41. doi: 10.1016/j.cbpc.2011.02.007
- Quintino-Rivera, J.G., Elizondo-González, R., Gamboa-Delgado, J., Guzmán-Villanueva, L.T. y Peña-Rodríguez, A. (2023). Metabolic turnover rate, digestive enzyme activities, and bacterial communities in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* under compensatory growth. *PeerJ*, 11: e14747. doi: 10.7717/peerj.14747

- Quiroz-Guzmán, E., Cabrera-Stevens, M., Sánchez-Paz, A., Mendoza-Cano, F., Encinas-García, T., Barajas-Sandoval, D., Gómez-Gil, B. y Peña-Rodríguez, A. (2022). Effect of functional diets on intestinal microbiota and resistance to *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Journal of Applied Microbiology*, 132(4): 2649-2660. doi: 10.1111/jam.15448
- Racotta, I.S., Palacios, E. y Méndez, L. (2002). Metabolic responses to short and long-term exposure to hypoxia in white shrimp (*Penaeus Vannamei*). *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 35(4): 269-275. doi: 10.1080/1023624021000019333
- Rahman, F., Ghosh, A.K. y Islam, S.S. (2020). Effect of time-restricted feeding and refeeding regimes on compensatory growth, body composition, and feed utilization in prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) culture system. *Journal of Applied Aquaculture*, 32(3): 236-249. doi: 10.1080/10454438.2019.1661328
- Rahman, M.M., Corteel, M., Dantas-Lima, J.J., Wille, M., Alday-Sanz, V., Pensaert, M.B., Sorgeloos, P. y Nauwynck, H.J. (2007). Impact of daily fluctuations of optimum (27 °C) and high water temperature (33 °C) on *Penaeus vannamei* juveniles infected with white spot syndrome virus (WSSV). *Aquaculture*, 269(1-4): 107-113. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.04.056
- Raman, T., Arumugam, M. y Mullainadhan, P. (2008). Agglutinin-mediated phagocytosis-associated generation of superoxide anion and nitric oxide by the hemocytes of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish and Shellfish Immunology*, 24(3): 337-345. doi: 10.1016/j.fsi.2007.12.005
- Randall, D.J. y Tsui, T.K.N. (2002). Ammonia toxicity in fish. *Marine pollution bulletin*, 45(1-12): 17-23. doi: 10.1016/S0025-326X(02)00227-8
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B. y Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433: 50-61. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.05.048
- Ricque-Marie, D., Abdo -de la Parra, M.I., Cruz-Suarez, L.E., Cuzon, G., Cousin, M. y Pike, I.H. (1998). Raw material freshness, a quality criterion for fish meal fed to shrimp. *Aquaculture*, 165(1-2): 95-109. doi: 10.1016/S0044-8486(98)00229-4
- Ritar, A.J., Dunstan, G.A., Crear, B.J. y Brown, M.R. (2003). Biochemical composition during growth and starvation of early larval stages of cultured spiny lobster (*Jasus edwardsii*) phyllosoma. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 136(2): 353-370. doi: 10.1016/S1095-6433(03)00167-3
- Rivera-Pérez, C. y García-Carreño, F. (2011). Purification and characterization of an intracellular lipase from pleopods of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 158(1): 99-105. doi: 10.1016/j.cbpb.2010.10.004
- Robertson, L., Wrence, A.L.L. y Castille, F.L. (1993). Effect of feeding frequency and feeding time on growth of *Penaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture Research*, 24(1): 1-6. doi: 10.1111/j.1365-2109.1993.tb00823.x
- Robles-Romo, A., Zenteno-Savín, T. y Racotta, I.S. (2016). Bioenergetic status and oxidative stress during escape response until exhaustion in whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 478: 16-23. doi: 10.1016/j.jembe.2016.01.016
- Rocha, J.V., Silva, J.F., Barros, C., Peixoto, S. y Soares, R. (2019). Compensatory growth and digestive enzyme activity of *Litopenaeus vannamei* submitted to feeding restriction in a biofloc system. *Aquaculture Research*, 50(12): 3653-3662. doi: 10.1111/are.14323
- Rodrigues, R.V., Romano, L.A., Schwarz, M.H., Delbos, B. y Sampaio, L.A. (2014). Acute tolerance

- and histopathological effects of ammonia on juvenile maroon clownfish *Premnas biaculeatus* (Block 1790). *Aquaculture Research*, 45(7): 1133-1139. doi: 10.1111/are.12054
- Romano, N. y Kumar, V. (2017). Vegetarian shrimp : pellet-free shrimp farming vegetarian shrimp : pellet-free shrimp farming. *World Aquaculture*, 37: 36-38
- Rosa, R., Calado, R., Andrade, A.M., Narciso, L. y Nunes, M.L. (2005). Changes in amino acids and lipids during embryogenesis of European lobster, *Homarus gammarus* (Crustacea: Decapoda). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 140(2): 241-249. doi: 10.1016/j.cbpc.2004.10.009
- Sacristán, H.J., Ansaldo, M., Franco-Tadic, L.M., Gimenez, A.V.F. y Greco, L.S.L. (2016). Long-term starvation and posterior feeding effects on biochemical and physiological responses of midgut gland of *Cherax quadricarinatus* juveniles (Parastacidae). *PLoS ONE*, 11(3): e0150854. doi: 10.1371/journal.pone.0150854
- Sacristán, H.J., Rodríguez, Y.E., De Los Angeles Pereira, N., López Greco, L.S., Lovrich, G.A. y Fernández Gimenez, A.V. (2017). Energy reserves mobilization: Strategies of three decapod species. *PLoS ONE*, 12(9): e0184060. doi: 10.1371/journal.pone.0184060
- SAGARPA. (2017). Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca Publicación, 300. Disponible en : www.conapesca.gob.mx
- Sánchez-Paz, A., García-Carreño, F., Hernández-López, J., Muhlia-Almazán, A. y Yepiz-Plascencia, G. (2007). Effect of short-term starvation on hepatopancreas and plasma energy reserves of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 340(2): 184-193. doi: 10.1016/j.jembe.2006.09.006
- Sánchez-Paz, A., García-Carreño, F., Muhlia-Almazán, A., Peregrino-Uriarte, A.B., Hernández-López, J. y Yepiz-Plascencia, G. (2006). Usage of energy reserves in crustaceans during starvation: status and future directions. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 36(4): 241-249. doi: 10.1016/j.ibmb.2006.01.002
- Sánchez, J.M.L., Serrano, Z.A., Durán, J.A., Morales, H.S.G. y Álvarez, P.B.M. (2017). Peruvian maca and possible impact on fertility. *Journal of Nutritional Health and Food Engineering*, 6(5): 00217. doi: 10.15406/jnhfe.2017.06.00217
- Scherz-Shouval, R. y Elazar, Z. (2007). ROS, mitochondria and the regulation of autophagy. *Trends in Cell Biology*, 17(9): 422-427. doi: 10.1016/j.tcb.2007.07.009
- Schloss, P.D. (2009). A high-throughput DNA sequence aligner for microbial ecology studies. *PLoS ONE*, 4(12): e8230. doi: 10.1371/journal.pone.0008230
- Seifried, H.E., Anderson, D.E., Fisher, E.I. y Milner, J.A. (2007). A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18(9): 567-579. doi: 10.1016/j.jnutbio.2006.10.007
- Shahkar, E., Yun, H., Park, G., Jang, I.K., Kyoung Kim, S., Katya, K. y Bai, S.C. (2014). Evaluation of optimum dietary protein level for juvenile whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Crustacean Biology*, 34(5): 552-558. doi: 10.1163/1937240X-00002267
- Shao, J.C., Zhu, W.Q., Liu, M., Wang, L. y Zhao, W. (2020). Cyclical fasting and refeeding is not an advisable feeding strategy for white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture Reports*, 18: 100429. doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100429
- Shen, W., Qu, Y., Zhang, H., Zhang, X., Masell, F.B. y Ren, G. (2022). Response of gut microbiota, digestive enzyme ability, and immune function to starvation in the oriental river prawn *Macrobrachium nipponense*. *Aquaculture Nutrition*, 2022. doi: 10.1155/2022/6836727
- Shin, J., Yun, K.S., Gunathilaka, B.E., Hasanthi, M., Ko, D., Lim, H., Lim, J., Eom, G., Kim, H.S. y Lee, K.J. (2023). Piperine supplementation in diet improves growth, feed efficiency, innate

- immunity, digestibility and disease resistance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Reports*, 29: 101490. doi: 10.1016/j.aqrep.2023.101490
- Shoba, G., Joy, D., Joseph, T., Majeed Rajendran, M.R. y Srinivas, P. (1998). Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Med*, 64(04): 353-356. doi: 10.1016/j.aaf.2020.05.005
- SIAP. (2019). Food and agricultural overview. Servicio de Informacion Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2019/Agricultural-Atlas-2019
- Simon, C.J., Fitzgibbon, Q.P., Battison, A., Carter, C.G. y Battaglione, S.C. (2015). Bioenergetics of nutrient reserves and metabolism in spiny lobster juveniles *Sagmariasus verreauxi*: predicting nutritional condition from hemolymph biochemistry. *Physiological and Biochemical Zoology*, 88(3): 266-283. doi: 10.1086/681000
- Simon, C.J., Truong, H.H., Noble, T.H., Osborne, S.A., Wynne, J.W. y Wade, N.M. (2020). Microbial biomass, marine invertebrate meals and feed restriction influence the biological and gut microbiota response of shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 520: 734679. doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.734679
- Singh, Z., Karthigesu, I.P., Singh, P. y Kaur, R. (2014). Use of malondialdehyde as a biomarker for assessing oxidative stress in different disease pathologies: a review. *Iranian Journal of Public Health*, 43(3): 7-16
- Smith, P.K., Krohn, R.I., Hermanson, G.T., Mallia, A.K., Gartner, F.H., Provenzano, M.D., Fujimoto, E.K., Goeke, N.M., Olson, B.J. y Klenk, D.C. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*, 150(1): 76-85. doi: 10.1016/0003-2697(85)90442-7
- Soto-Alcalá, J., Álvarez-Ruiz, P., Audelo-Naranjo, J.M., Esparza-Leal, H.M., Luis-Villaseñor, I.E., Estrada-Godínez, J.A., Luna-González, A., Gámez-Jiménez, C. y Diarte-Plata, G. (2019). Transcriptional response of immune-related genes in *Litopenaeus vannamei* post-larvae cultured in recirculating aquaculture systems with and without biofloc. *Aquaculture International*, 27: 209-225. doi: 10.1007/s10499-018-0317-4
- Spanopoulos-Hernández, M., Martínez-Palacios, C.A., Vanegas-Pérez, R.C., Rosas, C. y Ross, L.G. (2005). The combined effects of salinity and temperature on the oxygen consumption of juvenile shrimps *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1874). *Aquaculture*, 244(1-4): 341-348. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.11.023
- Srinivasan, K. (2007). Black pepper and its pungent principle-piperine: a review of diverse physiological effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(8): 735-748. doi: 10.1080/10408390601062054
- Steinberg, C.E.W. (2018). *Aquatic animal nutrition: a mechanistic perspective from individuals to generations*. Springer, Switzerland.
- Stoks, R., De Block, M. y McPeck, M.A. (2006). Physiological costs of compensatory growth in a damselfly. *Ecology*, 87(6): 1566-1574
- Storey, K.B. (1996). Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29: 1715-1733
- Stumpf, L., Sarmiento Cárdenas, P.N., Timpanaro, S. y López Greco, L. (2019). Feasibility of compensatory growth in early juveniles of "red claw" crayfish *Cherax quadricarinatus* under high density conditions. *Aquaculture*, 510: 302-310. doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.05.053
- Sun, S., Xuan, F., Fu, H., Zhu, J., Ge, X. y Gu, Z. (2015). Transcriptomic and histological analysis of hepatopancreas, muscle and gill tissues of oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*)

- in response to chronic hypoxia. *BMC Genomics*, 16(1): 1-13. doi: 10.1186/s12864-015-1701-3
- Thulasi, D., Muralidhar, M. y Saraswathy, R. (2020). Effect of sulphide in Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* under varying oxygen and pH levels. *Aquaculture Research*, 51(6): 2389-2399. doi: 10.1111/are.14582
- Tovar, A., Moreno, C., Manuel-Vez, M.P. y García-Vargas, M. (2000). Environmental impacts of intensive aquaculture in marine waters. *Water Research*, 34(1): 334-342. doi: 10.1016/S0043-1354(99)00102-5
- Trocino, A., Piccirillo, A., Birolo, M., Radaelli, G., Bertotto, D., Filiou, E., Petracci, M. y Xiccato, G. (2015). Effect of genotype, gender and feed restriction on growth, meat quality and the occurrence of white striping and wooden breast in broiler chickens. *Poultry Science*, 94(12): 2996-3004. doi: 10.3382/ps/pev296
- Tsai, I.H., Chuano, K.L. y Chuang, J.L. (1986). Chymotrypsins in digestive tracts of crustacean decapods (shrimps). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 85(1): 235-239. doi: 10.1016/0305-0491(86)90248-8
- Tsikas, D. (2017). Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry*, 524: 13-30. doi: 10.1016/j.ab.2016.10.021
- Ulaje, S.A., Lluch-Cota, S.E., Sicard, M.T., Ascencio, F., Cruz-Hernández, P., Racotta, I.S. y Rojo-Arreola, L. (2020). *Litopenaeus vannamei* oxygen consumption and HSP gene expression at cyclic conditions of hyperthermia and hypoxia. *Journal of Thermal Biology*, 92: 102666. doi: 10.1016/j.jtherbio.2020.102666
- Van Der Paal, J., Neyts, E.C., Verlackt, C.C.W. y Bogaerts, A. (2016). Effect of lipid peroxidation on membrane permeability of cancer and normal cells subjected to oxidative stress. *Chemical Science*, 7(1): 489-498. doi: 10.1039/c5sc02311d
- Van Dijk, P.L.M., Hardewig, I. y Hölker, F. (2005). Energy reserves during food deprivation and compensatory growth in juvenile roach: the importance of season and temperature. *Journal of Fish Biology*, 66(1): 167-181. doi: 10.1111/j.0022-1112.2005.00590.x
- Van Hai, N. (2015). The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: a review. *Aquaculture*, 446: 88-96. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.03.014
- Van Staaldin, M.A. y Anten, N.P.R. (2005). Differences in the compensatory growth of two co-occurring grass species in relation to water availability. *Oecologia*, 146: 190-199. doi: 10.1007/s00442-005-0225-y
- Vanichkul, K., Areechon, N., Kongkathip, N., Srisapoome, P. y Chuchird, N. (2010). Immunological and bactericidal effects of turmeric (*Curcuma longa* Linn.) extract in pacific white shrimps (*Litopenaeus vannamei* Boone). *Agriculture and Natural Resources*, 44(5): 850-858
- Varju, M., Müller, T., Bokor, Z., Žarski, D., Mézes, M. y Balogh, K. (2018). The effects of excessive starvation on antioxidant defence and lipid peroxidation in intensively reared, commercial-size pikeperch (*Sander lucioperca* L.). *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 44(4): 349-352. doi: 10.1016/j.ejar.2018.11.003
- Večeřa, R., Orolin, J., Škottová, N., Kazdová, L., Oliyarnik, O., Ulrichová, J. y Šimánek, V. (2007). The influence of maca (*Lepidium meyenii*) on antioxidant status, lipid and glucose metabolism in rat. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62: 59-63. doi: 10.1007/s11130-007-0042-z
- Vega-Villasante, F., Nolasco, H. y Civera, R. (1993). The digestive enzymes of the Pacific brown shrimp *Penaeus californiensis* - II. Properties of amylase activity in the digestive tract.

- Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 112(1): 123-129.
- Wang, W.N., Zhou, J., Wang, P., Tian, T.T., Zheng, Y., Liu, Y., Mai, W.J. y Wang, A.L. (2009). Oxidative stress, DNA damage and antioxidant enzyme gene expression in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* when exposed to acute pH stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 150(4): 428-435. doi: 10.1016/j.cbpc.2009.06.010
- Wang, X., Li, E. y Chen, L. (2016). A review of carbohydrate nutrition and metabolism in crustaceans. *North American Journal of Aquaculture*, 78(2): 178-187. doi: 10.1080/15222055.2016.1141129
- Wasielisky, W., Froes, C., Fóes, G., Krummenauer, D., Lara, G. y Poersch, L. (2013). Nursery of *Litopenaeus vannamei* reared in a biofloc system: the effect of stocking densities and compensatory growth. *Journal of Shellfish Research*, 32(3): 799-806. doi: 10.2983/035.032.0323
- Wei, L.Z., Zhang, X.M., Li, J. y Huang, G.Q. (2008). Compensatory growth of Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis* following hypoxic exposure. *Aquaculture International*, 16: 455-470. doi: 10.1007/s10499-007-9158-2
- Winston, G.W. y Di Giulio, R.T. (1991). Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, 19(2): 137-161. doi: 10.1016/0166-445X(91)90033-6
- Włodarczyk, A., Sonakowska, L., Kamińska, K., Marchewka, A., Wilczek, G., Wilczek, P., Student, S. y Rost-Roszkowska, M. (2017). The effect of starvation and re-feeding on mitochondrial potential in the midgut of *Neocaridina davidi* (Crustacea, Malacostraca). *PLoS one*, 12(3): e0173563. doi: 10.1371/journal.pone.0173563
- Włodarczyk, A., Wilczek, G., Wilczek, P., Student, S., Ostróзка, A., Tarnawska, M. y Rost-Roszkowska, M. (2019). Relationship between ROS production, MnSOD activation and periods of fasting and re-feeding in freshwater shrimp *Neocaridina davidi* (Crustacea, Malacostraca). *PeerJ*, 7: e7399. doi: 10.7717/peerj.7399
- Won, E.T. y Borski, R.J. (2013). Endocrine regulation of compensatory growth in fish. *Frontiers in Endocrinology*, 4: 45433. doi: 10.3389/fendo.2013.00074
- Wu, L. y Dong, S. (2002). Compensatory growth responses in juvenile Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*, at different temperatures. 22(3): 511-520
- Wu, L. y Dong, S. (2001). The effects of repetitive «starvation-and-refeeding» cycles on the compensatory growth response in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis* (Osbeck, 1765) (Decapoda, Penaeidae). *Crustaceana*, 74(11): 1225-1239. doi: 10.1163/15685400152885200
- Wu, L., Dong, S., Wang, F., Tian, X. y Ma, S. (2001). The effect of previous feeding regimes on the compensatory growth response in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. *Journal of Crustacean Biology*, 21(3): 559-565
- Wu, P., Wang, A., Cheng, J., Chen, L., Pan, Y., Li, H., Zhang, Q., Zhang, J., Chu, W. y Zhang, J. (2020). Effects of starvation on antioxidant-related signaling molecules, oxidative stress, and autophagy in juvenile Chinese perch skeletal muscle. *Marine Biotechnology*, 22: 81-93. doi: 10.1007/s10126-019-09933-7
- Wyban, J., Walsh, W.A. y Godin, D.M. (1995). Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture*, 138(1-4): 267-279. doi: 10.1016/0044-8486(95)00032-1
- Xia, S., Li, Y., Wang, W., Rajkumar, M., Kumaraguru Vasagam, K.P. y Wang, H. (2010). Influence of

- dietary protein levels on growth, digestibility, digestive enzyme activity and stress tolerance in white-leg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), reared in high-density tank trials. *Aquaculture Research*, 41(12): 1845-1854. doi: 10.1111/j.1365-2109.2010.02585.x
- Xiao, J., Li, Q.Y., Tu, J.P., Chen, X.L., Chen, X.H., Liu, Q.Y., Liu, H., Zhou, X.Y., Zhao, Y.Z. y Wang, H.L. (2019). Stress response and tolerance mechanisms of ammonia exposure based on transcriptomics and metabolomics in *Litopenaeus vannamei*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 180: 491-500. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.05.029
- Xie, S., Wei, D., Fang, W., Wan, M., Guo, T., Liu, Y., Yin, P., Tian, L. y Niu, J. (2019). Optimal dietary lipid requirement of postlarval white shrimp, *Litopenaeus vannamei* in relation to growth performance, stress tolerance and immune response. *Aquaculture Nutrition*, 25(6): 1231-1240. doi: 10.1111/anu.12937
- Xu, C., Xu, W. y Lu, H. (2014). Compensatory growth responses to food restriction in the Chinese three-keeled pond turtle, *Chinemys reevesii*. *SpringerPlus*, 3(1): 1-7. doi: 10.1186/2193-1801-3-687
- Xu, W., Xu, Y., Su, H., Hu, X., Xu, Y., Li, Z., Wen, G. y Cao, Y. (2020). Effects of feeding frequency on growth, feed utilization, digestive enzyme activity and body composition of *Litopenaeus vannamei* in biofloc-based zero-exchange intensive systems. *Aquaculture*, 522: 735079. doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735079
- Xu, W.J. y Pan, L.Q. (2012). Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. *Aquaculture*, 356: 147-152. doi: 10.1016/j.aquaculture.2012.05.022
- Xu, W.J. y Pan, L.Q. (2013). Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. *Aquaculture*, 412: 117-124. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.07.017
- Xu, Z., Regenstein, J.M., Xie, D., Lu, W., Ren, X., Yuan, J. y Mao, L. (2018). The oxidative stress and antioxidant responses of *Litopenaeus vannamei* to low temperature and air exposure. *Fish and Shellfish Immunology*, 72: 564-571. doi: 10.1016/j.fsi.2017.11.016
- Yang, H.T., Yang, M.C., Sun, J.J., Shi, X.Z., Zhao, X.F. y Wang, J.X. (2016). Dual oxidases participate in the regulation of intestinal microbiotic homeostasis in the kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*. *Developmental and Comparative Immunology*, 59: 153-163. doi: 10.1016/j.dci.2016.01.024
- Yang, K., Feng, C., Lip, H., Bruce, W.R. y O'Brien, P.J. (2011). Cytotoxic molecular mechanisms and cytoprotection by enzymic metabolism or autoxidation for glyceraldehyde, hydroxypyruvate and glycolaldehyde. *Chemico-Biological Interactions*, 191(1-3): 315-321. doi: 10.1016/j.cbi.2011.02.027
- Yang, S., He, K., Yan, T., Wu, H., Zhou, J., Zhao, L., Wang, Y. y Gong, Q. (2019). Effect of starvation and refeeding on oxidative stress and antioxidant defenses in Yangtze sturgeon (*Acipenser dabryanus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 45(3): 987-995. doi: 10.1007/s10695-019-0609-2
- Yengkokpam, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Debnath, D., Kumar, S. y Jain, K.K. (2014). Compensatory growth, feed intake and body composition of *Labeo rohita* fingerlings following feed deprivation. *Aquaculture Nutrition*, 20(2): 101-108. doi: 10.1111/anu.12056
- Yildirim, M. y Aktaş, M. (2019). Could the growth of *Litopenaeus vannamei* be compensated by long-term cyclic feed deprivation and following refeeding ? *Journal of Applied Aquaculture*, 31(3): 224-235. doi: 10.1080/10454438.2018.1536007

- Yonar, M.E., Mişer Yonar, S., İspir, Ü. y Ural, M.Ş. (2019). Effects of curcumin on haematological values, immunity, antioxidant status and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Aeromonas salmonicida* subsp. achromogenes. *Fish and Shellfish Immunology*, 89: 83-90. doi: 10.1016/j.fsi.2019.03.038
- Yu, Y.B., Choi, J.H., Lee, J.H., Jo, A.H., Choi, C.Y., Lee, D.C., Kang, J.C. y Kim, J.H. (2023). The use, application and efficacy of biofloc technology (BFT) in shrimp aquaculture industry: a review. *Environmental Technology and Innovation*, 33: 103345. doi: 10.1016/j.eti.2023.103345
- Zenteno-Savín, T., Saldierna, R. y Ahuejote-Sandoval, M. (2006). Superoxide radical production in response to environmental hypoxia in cultured shrimp. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 142(3-4): 301-308. doi: 10.1016/j.cbpc.2005.11.001
- Zhang, P., Zhang, X., Li, J. y Gao, T. (2009). Starvation resistance and metabolic response to food deprivation and recovery feeding in *Fenneropenaeus chinensis* juveniles. *Aquaculture International*, 17: 159-172. doi: 10.1007/s10499-008-9188-4
- Zhang, P., Zhang, X., Li, J. y Gao, T. (2010). Effect of refeeding on the growth and digestive enzyme activities of *Fenneropenaeus chinensis* juveniles exposed to different periods of food deprivation. *Aquaculture International*, 18: 1191-1203. doi: 10.1007/s10499-010-9333-8
- Zhang, P., Zhang, X., Li, J. y Huang, G. (2006). The effects of body weight, temperature, salinity, pH, light intensity and feeding condition on lethal DO levels of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*, 256(1-4): 579-587. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.02.020
- Zhang, S.P., Li, J.F., Wu, X.C., Zhong, W.J., Xian, J.A., Liao, S.A., Miao, Y.T. y Wang, A.L. (2013). Effects of different dietary lipid level on the growth, survival and immune-relating genes expression in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 34(5): 1131-1138. doi: 10.1016/j.fsi.2013.01.016
- Zhang, W., Xia, S., Zhu, J., Miao, L., Ren, M., Lin, Y., Ge, X. y Sun, S. (2019). Growth performance, physiological response and histology changes of juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala* exposed to chronic ammonia. *Aquaculture*, 506: 424-436. doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.03.072
- Zhang, Y., Li, F., Yao, F., Ma, R., Zhang, Y., Mao, S., Hu, B., Ma, G. y Zhu, Y. (2021). Study of dietary curcumin on the restorative effect of liver injury induced by carbon tetrachloride in common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture Reports*, 21: 100825. doi: 10.1016/j.aqrep.2021.100825
- Zhang, Y., Ye, C., Wang, A., Zhu, X., Chen, C., Xian, J. y Sun, Z. (2015). Isolated and combined exposure to ammonia and nitrite in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*): effects on the oxidative stress, antioxidant enzymatic activities and apoptosis in haemocytes. *Ecotoxicology*, 24: 1601-1610. doi: 10.1007/s10646-015-1477-x
- Zhao, D., Pan, L., Huang, F., Wang, C. y Xu, W. (2016). Effects of different carbon sources on bioactive compound production of biofloc, immune response, antioxidant level, and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange culture tanks. *Journal of the World Aquaculture Society*, 47(4): 566-576. doi: 10.1111/jwas.12292
- Zhao, M., Yao, D., Li, S., Zhang, Y. y Aweya, J.J. (2020). Effects of ammonia on shrimp physiology and immunity: a review. *Reviews in Aquaculture*, 12(4): 2194-2211. doi: 10.1111/raq.12429
- Zheng, J., Cao, J., Mao, Y., Su, Y. y Wang, J. (2019). Effects of thermal stress on oxidative stress and antioxidant response, heat shock proteins expression profiles and histological changes in *Marsupenaeus japonicus*. *Ecological Indicators*, 101: 780-791. doi: 10.1016/j.ecolind.2018.11.044

- Zheng, J.L., Zhu, Q.L., Shen, B., Zeng, L., Zhu, A.Y. y Wu, C.W. (2016). Effects of starvation on lipid accumulation and antioxidant response in the right and left lobes of liver in large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. *Ecological Indicators*, 66: 269-274. doi: 10.1016/j.ecolind.2016.01.037
- Zheng, Z.H., Dong, S.L. y Tian, X.L. (2008). Effects of intermittent feeding of different diets on growth of *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Crustacean Biology*, 28(1): 21-26. doi: 10.1651/07-2858R.1
- Zhou, L. y Boyd, C.E. (2016). Comparison of Nessler, phenate, salicylate and ion selective electrode procedures for determination of total ammonia nitrogen in aquaculture. *Aquaculture*, 450: 187-193. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.07.022
- Zhu, J., Dai, W., Qiu, Q., Dong, C., Zhang, J. y Xiong, J. (2016a). Contrasting ecological processes and functional compositions between intestinal bacterial community in healthy and diseased shrimp. *Microbial Ecology*, 72: 975-985. doi: 10.1007/s00248-016-0831-8
- Zhu, X., Wu, L., Cui, Y., Yang, Y. y Wootton, R.J. (2003). Compensatory growth response in three-spined stickleback in relation to feed-deprivation protocols. *Journal of Fish Biology*, 62(1): 195-205. doi: 10.1046/j.1095-8649.2003.00019.x
- Zhu, X., Xie, S., Lei, W., Cui, Y., Yang, Y. y Wootton, R.J. (2005). Compensatory growth in the Chinese longsnout catfish, *Leiocassis longirostris* following feed deprivation: temporal patterns in growth, nutrient deposition, feed intake and body composition. *Aquaculture*, 248(1-4): 307-314. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.03.006
- Zhu, Z.M., Lin, X.T., Pan, J.X. y Xu, Z.N. (2016b). Effect of cyclical feeding on compensatory growth, nitrogen and phosphorus budgets in juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 47(1): 283-289. doi: 10.1111/are.12490

11. ANEXOS

Anexo A.-Altura epitelial de las células hepatopancreáticas y superficie muscular de *P. vannamei* en condición control y bajo un reto de alta concentración en amonio durante el experimento 2.

Los valores se presentan como el promedio de las réplicas \pm desviación estándar. Los valores de p han sido determinadas mediante una ANOVA a dos vías.

Tratamientos	Retos	Altura epitelial células hepatopáncreas	Superficie muscular
REF	Control	66.6 \pm 8	846 488 \pm 10 4497
	Amonio	67.9 \pm 8.4	727 887 \pm 89 553
T50	Control	69.3 \pm 5.9	885 671 \pm 76 725
	Amonio	66.1 \pm 6.7	809 659 \pm 97 516
T25	Control	64.7 \pm 4.5	888 429 \pm 80 084
	Amonio	64.8 \pm 6	884 100 \pm 150 199
Factores	Tratamiento	0.579	0.1142
	Reto	0.809	0.0782
	Tratamiento x Reto	0.740	0.4719