# INVESTIGACIÓN RECIENTE EN NUTRICIÓN ACUÍCOLA


EDITORES

Martha Guadalupe Nieto López, Mireya Tapia Salazar, Lucía Elizabeth Cruz Suárez, Maribel Maldonado Muñiz, Alberto Peña Rodríguez y Dariel Tovar Ramírez




*"Un bocado de océano: el pepino de mar en acción"*

**Investigación Reciente en Nutrición Acúicola**
2025, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México

Editores: Martha Guadalupe Nieto López, Mireya Tapia Salazar, Lucía Elizabeth Cruz Suárez, Maribel Maldonado Muñiz, Alberto Peña Rodríguez y Dariel Tovar Ramírez.

Programa Maricultura
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Autónoma de Nuevo León 2025

Copias disponibles en:
Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Ciencias Biológicas
**Programa Maricultura**
Cd. Universitaria
San Nicolás de los Garza, Nuevo León
C.P. 66455
Tel.+Fax. 8183294110 ext. 3682
E-mail: Progmaricultura88@gmail.com

Para citar alguna parte de ésta obra siga el siguiente estilo:

- Autores del escrito. 2025. Nombre del artículo. Editores: Martha Guadalupe Nieto López, Mireya Tapia Salazar, Lucía Elizabeth Cruz Suárez, Maribel Maldonado Muñiz, Alberto Peña Rodríguez y Dariel Tovar Ramírez. Investigación reciente en nutrición acuícola, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, pp. 158, ISBN: 978-607-27-2816-5. El cuidado de la presente edición, así como su realización estuvo a cargo de los editores.

La reproducción total o parcial de ésta obra requiere la autorización escrita por los titulares del derecho de autor.

Los editores hacemos extensivo nuestro profundo agradecimiento:
- A las personas que colaboraron en la edición técnica de estas memorias
- A las personas que proporcionaron sus fotografías para la portada y contraportada de éste libro: Alexia Omont y Ulises Amador Marrero

## Directorio

Dr. Santos Guzmán López
Rector

Dr. Mario Alberto Garza Castillo
Secretario. General

Dr. José Javier Villarreal Alvarez Tostado
Secretario extensión y cultura

Lic. Antonio Ramos Revillas
Director de Editorial Universitaria

Dra. Diana Reséndez Pérez
Cordinadora de la Facultad de Ciencias Biológicas

Editores
Martha Guadalupe Nieto López, Mireya Tapia Salazar, Lucía Elizabeth Cruz Suárez, Maribel Maldonado Muñiz, Alberto Peña Rodríguez, Dariel Tovar Ramirez.

Dirección de edición: Programa Maricultura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Universidad S/N, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P. 66455
Email: Progmaricultura88@gmail.com
Teléfonos: 52 8183294110 ext. 3682.

Primera edición 2025. ©Universidad Autónoma de Nuevo León. ©Martha Guadalupe Nieto López, ©Mireya Tapia Salazar, ©L. Elizabeth Cruz Suárez, ©Maribel Maldonado Muñiz, ©Alberto Peña Rodríguez y ©Dariel Tovar Ramírez.

ISBN: 978-607-27-2816-5. El cuidado y edición estuvo a cargo de los editores. El contenido de cada articulo es responsabilidad de los autores.

Párrafo legal: Reservado todos los derechos conforme a la ley. Prohibida la reproducción total o parcial de la obra sin previa autorización por escrito del titular propietario y editor de la obra.

Índice


| | **Página** |
|---|---|
| *Implementing Automation and Real-Time Feed Management in Shrimp Farming*<br>Khanh Q. Nguyen, Melanie A. Rhodes, Ash Abebe, Luke A. Roy,, D. **Allen Davis** | 1 |
| *Obtaining functional ingredients from Agro-industrial by-products for use in aquaculture*<br>**María del Carmen Monroy Dosta**, José Antonio Mata-Sotres, Sheyla Muñoz Belmont, and Gabriela Ruíz Augudo | 15 |
| *Fructooligosacáridos Mejoran el Desempeño de Postlarvas Penaeus vannamei en Sistemas Productivos con Bioflóculos y Aguas Claras*<br>**Yulaine Corrales Barrios**, Amilcar Arenal Cruz, Hector Cabrera Alarcón, Redimio Pedrasa Mendoza, Leonardo Martin Rios, Marbelis González Saloten, Jesus Omalis López Ortiz | 40 |
| *El Camarón Blanco Peanaeus vannamei y la Respuesta Inmune Entrenada con Extractos de Algas Cafés*<br>**Myriam Ibarra Martínez**, Martha G. Nieto Lopez, Maribel Maldonado Muñiz, Mireya Tapia Salazar, L. Elizabeth Cruz Suárez | 66 |
| *Agavina como Prebiótico Funcional En Tilapias y su Impacto en la Microbiota Intestinal y el Sistema Antioxidante*<br>**Lizeth Carolina Flores-Méndez**, Bruno Gómez-Gil, Erika Y. Sánchez-Gutiérrez, Crisantema Hernández González | 89 |
| *La Alimentación Balanceada Funcional como Estrategia Integral para el Control de Enfermedades Bacterianas en Penaeus vannamei: Enfoque Microbiológico, Filogenético y Nutricional*<br>**Sonnya Patricia Mendoza Lombana** | 113 |
| *Microbiota Sintética: un Posible Aliado en la Nutricion y Salud de Organismos Cultivados*<br>Marcel Martínez-Porchas, Estefanía Garibay-Valdez, Francisco Vargas-Albores, **Luis Rafael Martínez-Córdova** | 127 |
| *Management of Vibrio Vulnificus Infections in Aquaculture Using (PHB) Polyhydroxybutyrate*<br>Aswathi Bharathan, K Karaila Genevieve**,** Yaser Arafat, **Joseph Selvin** | 143 |
| *Daphnia magna as an Alternative Protein Source in Aquaculture: Progress, Challenges and Perspectives*<br>**Alfredo Olivera Gálvez***, Jéssika Lima de Abreu, Barbara de Cassia Soares Brandão, Marianne Beatriz Barros Lima, Sofia Pereira Matos, Clarissa Vilela Figueiredo da Silva Campos | 152 |

# Implementing Automation and Real-Time Feed Management in Shrimp Farming

Khanh Q. Nguyen*[1], Melanie A. Rhodes[1], Ash Abebe[2], Luke A. Roy[1], D. Allen Davis[1]

[1]School of Fisheries, Aquaculture, and Aquatic Sciences, Auburn University, Auburn, AL, 36849

[2]Department of Mathematics and Statistics, Auburn, AL, 36849, Phone: 626-426-3677,

* author corresponde, khanhnguyen@auburn.edu

## Abstract

Automated feeding systems, whether timer-based or using passive acoustic feedback, have garnered attention as significant advances in shrimp feed management. Although passive acoustic monitoring (PAM) has been available for less than a decade, it is now widely utilized in shrimp production. However, the temporal effects of hand feeding, timer feeding, and PAM on shrimp performance and the general benefits of automated feeding have yet to be fully examined. This research aims to fill these gaps by assessing the effects of three principal feeding strategies on the development trajectory of shrimp and overall production results. The study utilized production data from research facilities over an 18-year period. We also highlighted both the benefits and obstacles faced in the implementation of automated feeding technology, based on the experiences of field personnel. The findings showed that total biomass, yield, average weight, and weight gain were significantly higher in production farms using timer and sonic feeding methods compared to hand feeding over three consecutive years ($P < 0.05$). While the genetic background and stocking density were not considered, the 18-year dataset exhibited a consistent trend: shrimp fed with the sonic and timer systems achieved significantly higher survival rates, total biomass, average weight, and total feed input ($P < 0.001$) compared to those reared using hand feeding. The logistic growth model showed that all feeding techniques reached an inflection point around week 7, with average weights of 17.82 g, 13.98 g, and 10.14 g for sonic, timer, and hand feeding, respectively. Weekly weight gain analysis revealed peak performance at eight weeks. Peak performances of 4.1 g/week, 3.2 g/week, 2.0 g/week were achieved for sonic, timer, and hand feeding, respectively. Interestingly, while weight gain began to decline simultaneously across all feeding methods, automated feeding systems consistently produced superior cumulative growth rates compared to the labor-intensive hand feeding approach, with the rate of decline being similar across all feeding regimes. Increased growth rates with automated systems also require almost 50% increase in daily feed input compared to other feeding systems which would require stakeholders to alter their water quality management strategies. The implementation also required greater capital expenditures and specific training for operators. Despite these limitations, temporal data from both research and production contexts demonstrated the benefits of improved technologies, and allowed higher production yields with improved economic returns reported by farmers.

*Keywords:* shrimp, automatized feed, farmer

## Introduction

The evolution of aquaculture feed management, particularly in shrimp farming, has evolved from manual feed delivery to programmable systems, ending in the most recent advancement of real-time feed delivery based on actual animal responses (Ullman, Rhodes, Hanson, *et al*., 2019). Traditional hand feeding practices, while characterized by low investment and maintenance costs, present significant limitations including restricted feeding frequency due to labor constraints, susceptibility to over- or under-feeding, and variable feeding responses dependent on technician skill levels (Jescovitch *et al*., 2018; Ullman, Rhodes, Hanson, *et al*., 2019). Furthermore, hand feeding is a reactive management approach where responses have a considerable time lag after an event has occurred. Timer-based feeding practices offer improvements over manual feeding by enabling flexible feeding schedules through programmable feeders, thereby increasing feeding frequency which is a primary limitation of hand feeding (Napaumpaiporn *et al*., 2013; Ullman, Rhodes, & Davis, 2019; Ullman, Rhodes, Hanson, *et al*., 2019). However, the fundamental disadvantages remain similar to hand feeding, most notably the persistence of reactive feeding management rather than proactive response systems. Despite these limitations, both hand and timer feeding practices can be optimized according to stakeholder needs to balance investment costs with production targets.

Technological improvement has resulted in the development of passive acoustic monitoring (PAM) systems, often known as sonic feeding systems, which are intended to solve the constraints of traditional feeding procedures while increasing production yields significantly (Napaumpaiporn *et al*., 2013; Peixoto, Soares, & Allen Davis, 2020; Peixoto, Soares, Silva, *et al*., 2020; Reis *et al*., 2020; Wei *et al*., 2020; Reis *et al*., 2021; Strebel *et al*., 2023). These devices use submerged hydrophones to detect feeding activities by listening for mandible clicking sounds (Peixoto, Soares, & Allen Davis, 2020). The acoustic signals are analyzed to determine feeding demand, with higher clicking frequency indicating active feeding and improved animal welfare. Sonic feeding systems can integrate with environmental sensors that monitor dissolved oxygen and temperature, as well as aeration control systems (Araujo *et al*., 2025). This connection ensures that feed is delivered only when pond conditions maintain sufficient oxygen levels, and that all operations are carried

out in real time under professional technician supervision, whether on-site or remotely, with extensive data available for management decisions (Araujo *et al*., 2025).

Previous studies have evaluated these three feeding practices over three-year periods, examining growth and production parameters across 120 and 90-day production cycles with varying stocking densities (Reis *et al*., 2019). While effective feeding management can achieve similar feed conversion ratios across all three practices, sonic feeding consistently outperformed both hand and timer feeding n growth rate and overall production metrics. Despite being an established technology with demonstrated benefits over conventional feeding regimes through demand-based feeding and rapid event response capabilities, resulting in improved yields and shortened production cycles, sonic feeding requires skilled labor and enhanced facility infrastructure, particularly regarding aeration capacity to accommodate increased feed input (Reis *et al*., 2022).

Although sonic feeding represents an established and proven technology, comprehensive examination of the temporal effects of hand feeding, timer feeding, and PAM on shrimp performance, as well as the general benefits of automated feeding systems, remains incomplete. The objective of this study was to determine the temporal impact of hand, timer, and sonic feeding systems under research settings while assessing the advantages and limitations of passive acoustic monitoring systems in shrimp aquaculture.

## Methodology

### Data acquisition

Data on shrimp growth, encompassing weekly average body weight and weight gain, were gathered from 2006 to 2024 as part of a longitudinal production research at the Claude Peteet Mariculture Center in Gulf Shores, Alabama. Data from 2012 and 2021 were omitted owing to interruptions caused by construction and hurricanes. Over the 17-year period, yearly experiments included various experimental circumstances, such as different feeding techniques (hand-feeding, timer-based feeding, and acoustic-based feeding) and shrimp genetic lines.

All experiments were conducted in sixteen high-density polyethylene-lined ponds, each with a 25 cm layer of sandy-loam soil at the base. Before each production cycle, pond bottoms were mechanically aerated to improve oxidation and mineralization of organic materials. Ponds were then filled with filtered water (250-µm mesh sock) sourced from the adjacent intracoastal canal (average salinity ~13 ppt). Water levels were regulated using concrete collect basins equipped with internally screened standpipes. Shrimp were sampled weekly utilizing a 1.23 m radius cast net with 0.95 cm mesh to get about 60 individuals per pond for the estimate of mean body weight. Shrimp from each pond were collected during the grow-out phase. Data on shrimp development, including weekly average body weight and weight gain, were collected from 2006 to 2024 as part of a long-term production study at Claude Peteet Mariculture Center in Gulf Shores, Alabama. Data from 2012 and 2021 were excluded due to disruptions caused by construction and storms. Over the 17-year period, annual trials included many experimental conditions, which included nutrition trials as well as feeding techniques (hand-feeding, timer-based feeding, and acoustic-based feeding) and utilized four different sources of shrimp genetic lines (Shrimp Improvement Systems, OceanBoy, American Penaeid, HomeGrown Shrimp). Across the production years the cycle has ranged from ~80 to 120 days but for this work only the first 77 days of pond production were utilized.

Statistical analysis

All data were analyzed and visualized using R 4.3.2 (R Core Team, 2024) and RStudio 2023.12.1.402 (Posit Team, 2024), utilizing tidyverse (Wickham *et al*., 2019), gtsummary (Sjoberg *et al*., 2021), emmeans (Lenth, 2022), multcomp (Graves *et al*., 2019), segmented (Muggeo & Vm, 2008) and ntstools (Baty *et al*., 2015) packages. The dataset was filtered to ensure data quality and consistency. Data from 2006 to 2024 were included, excluding 2012 and 2021 due facility construction and hurricane impact. Despite some production cycles extending beyond 10 weeks, data analysis was limited to 10 weeks to ensure comparability across feeding practices, as sonic feeding typically achieved shorter production cycles. Weekly measurements were restricted to weeks 3-10 of the production cycle to focus on the active growth phase as well as when the animal reached a weighable size. Additionally, week 8 data from 2013 experiments were excluded due to anomalous measurements identified during preliminary analysis.

A logistic growth model was employed for weekly average weight. The model was fitted using the equation (Lugert *et al*., 2016):

$$W_t = \frac{K}{1 + e^{-r(t-t_0)}}$$

where $W_t$ is average weight (in grams) at time *t* (weeks), $K$ is the maximum potential weight (grams), $r$ is the weight gain per week, $t_0$ is the inflection point (weeks), $e$ is the base of natural logarithm. The highest weight gain was estimated at $\frac{K}{2}$ and decreases as weight approaches $K$. Bootstrap resampling with replacement ($n$ = 100,000 iterations) was implemented to generate confidence intervals for both model predictions and parameter estimates.

Weekly weight gain patterns were analyzed using smoothing splines, with the smoothing parameter (λ) optimized using Restricted Maximum Likelihood (REML). The spline models were estimated by minimizing the following penalized objective function

$$\sum_{i=1}^{n}(g(t_i) - y_i)^2 + \lambda \int (g''(t))^2 dt$$

where $g(t)$ is the predicted weekly weight gain at time *t* (in grams), $y_i$ is the observed weekly weight gain at week $t_i$, $\lambda$ is the smoothing parameter, $g''$ is the second derivative of the spline, and $n$ is the number of observations. The smoothing parameter λ was determined to be 0.377 across feeding practices. The inflection point was identified where the second derivative transitions from positive to zero or negative while the first derivative remains positive, which indicated the week at which weight gain began to decline. To determine the rate of increase and rate of decrease before and after reaching the inflection point, the first and second derivatives were calculated as follows:

$g'(t) = \frac{d}{dt} g(t)$ (First derivative)

$g''(t) = \frac{d^2}{dt^2} g(t)$ (Second derivative)

The rate of increase was calculated as the slope from the start point to the inflection point, while the rate of decrease was calculated as the slope from the inflection point to the

end of the observation period. Bootstrap confidence intervals ($n$ = 100,000 iterations) were calculated for both spline predictions and derived parameters to quantify uncertainty in the estimates.

The variation across groups is determined using the pooled standard error (PSE; Baker, 1986), which accounts for within-group variability and the average sample size across groups:

$$Pooled\ standard\ error\ (PSE) = \sqrt{\frac{Mean\ squared\ error}{Mean\ number\ of\ replicate}}$$

Influential observations were flagged and examined by using box-whiskers plot and Cook's distance with median point of the quantile distribution as cut-off threshold (Bollen & Jackman, 1985; Cook, 1977; McGill *et al*., 1978). To compare all parametric means, one-way analysis of variance (ANOVA) was utilized, and significant outcomes were verified post hoc using Tukey's Honest Significant Difference for pairwise comparisons. An *a priori* value of $\alpha$ = 0.05 was used for all statistical analyses.

## Results

The comprehensive analysis of feeding system performance across the 17-year dataset demonstrated that sonic feeding consistently outperformed both hand and timer feeding practices (Figure 1, 2; Table 1).

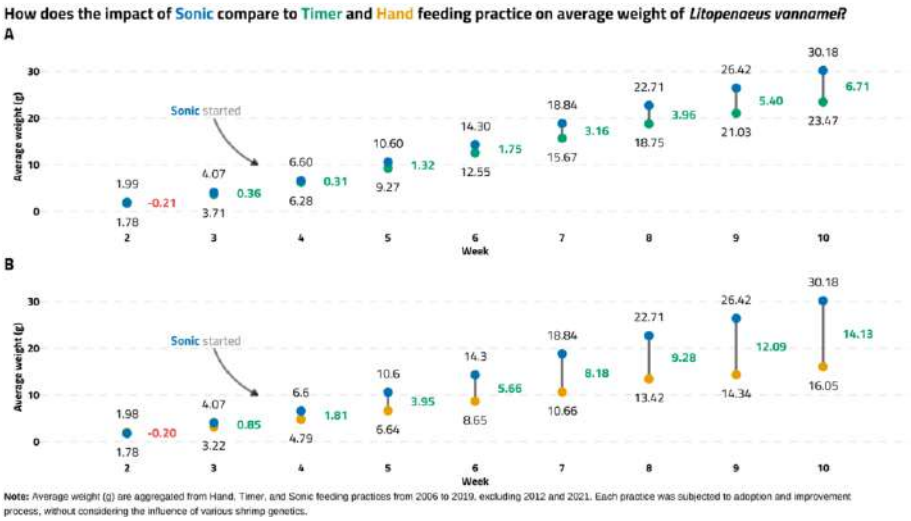



Figure 1. Comparative dumbell plot of weekly average weight (g) of *L. vannamei* under Sonic, Timer, and Hand feeding practices. Figures (**A**) compares Sonic versus Timer, (**B**) compares Sonic versus Hand. Data was aggregated from 2006 to 2024, excluding 2012 and 2021. Hand feeding practice was employed from 2006 to 2019, while Timer and Sonic were from 2016 to 2024. Production cycles were limited to 10 weeks for comparative analysis. Each practice was subjected to adoption and improvement process, without considering the influence of various shrimp genetic sources.

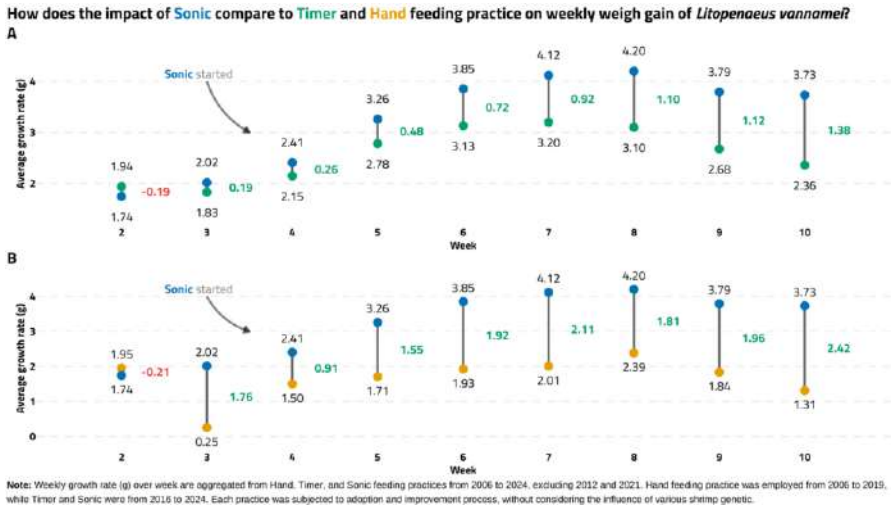



Figure 2. Comparative dumbell plot of average weight gain (g) of *L. vannamei* under Sonic, Timer, and Hand feeding practices. Figures (**A**) compares Sonic versus Timer, (**B**) compares Sonic versus Hand. Data was aggregated from 2006 to 2024, excluding 2012 and 2021. Hand feeding practice was employed from 2006 to 2019, while Timer and Sonic were from 2016 to 2024. Production cycles were limited to 10 weeks for comparative analysis. Each practice was subjected to adoption and improvement process, without considering the influence of various shrimp genetic sources.

Table 1. Production indexes of hand, timer, and sonic feeding practices aggregated from 2006 to 2024, excluding 2012 and 2021. Hand feeding practice was employed from 2006 to 2019, while Timer and Sonic were from 2016 to 2024. Production cycles were limited to 10 weeks for comparative analysis. Each practice was subjected to adoption and improvement process, without considering the influence of various shrimp genetic sources.

| Production | Hand | Timer | Sonic | PSE | p-value |
|---|---|---|---|---|---|
| Survival (%) | 70.41[b] | 69.90[b] | 83.88[a] | 2.97 | 0.002 |
| Feed input (kg) | 567.66[b] | 577.37[b] | 805.33[a] | 28.0 | <0.001 |
| Biomass (kg) | 449[b] | 557[ab] | 663[a] | 26 | <0.001 |
| Final weight (g) | 22.33[b] | 26.51[ab] | 29.29[a] | 1.13 | <0.001 |
| Feed Conversion Ratio | 1.36 | 1.06 | 1.35 | 0.10 | 0.058 |

Note: Values represent the mean of Hand (n=40), Timer (n=9), and Sonic (n=23). Means not sharing any letter are significantly different by Tukey's HSD-test (Parametric ANOVA) at the 5 % level of significance. PSE: pooled standard error.

Temporal data from 2006 to 2024 revealed that sonic feeding significantly enhanced Pacific white shrimp survival to 83.9 % compared to approximately 70 % for both hand and timer feeding techniques ($P$ = 0.002). While sonic and timer feeding practices showed no statistically significant differences in biomass and final weight, sonic feeding yielded approximately 30 % higher performance in both parameters compared to hand feeding ($P$ < 0.001). The superior growth performance of sonic feeding was accompanied by substantially higher feed consumption, averaging 805 kg $ha^{-1}$ compared to approximately 570 kg $ha^{-1}$ for the other two feeding regimes ($P$ < 0.001). Despite this increased feed input requirement, all three feeding practices demonstrated comparable feed conversion efficiency, with no significant numerical differences observed ($P$ = 0.058).

Logistic growth model analysis revealed distinct performance trajectories among the three feeding practices over the production cycle. Sonic feeding demonstrated superior growth characteristics, and achieved a maximum potential weight of 35.84 g with an inflection point which occurred at 6.84 weeks when shrimp reached 17.82 g. Timer feeding showed intermediate performance with a maximum potential weight of 27.96 g, and reached its inflection point slightly earlier at 6.56 weeks when shrimp weighed 13.98 g. Hand feeding exhibited the most constrained growth trajectory, with a maximum potential weight of only 20.28 g and an inflection point at 6.71 weeks which corresponded to 10.14 g individual

weight. Despite the different feeding technologies, all three practices showed remarkably consistent biological timing, with inflection points that clustered around week 7 of the production cycle. However, the weight achieved at these critical growth transition points varied dramatically between feeding methods as demonstrated by confidence intervals.

Sharing similar outcomes, the smoothing spline analysis of weekly weight gain patterns revealed that sonic feeding achieved the highest peak performance among all feeding practices, and attained an inflection point of 4.1 g $week^{-1}$ at approximately week 8. Sonic feeding also demonstrated the most rapid growth acceleration, with a rate of increase of 0.35 g $week^{-2}$ leading up to the peak, followed by a moderate rate of decrease of 0.18 g $week^{-2}$ during the decline phase. Timer feeding showed intermediate performance characteristics, reaching an inflection point of 3.1 g $week^{-1}$ at week 8. The growth acceleration phase proceeded at 0.22 g $week^{-2}$, which was notably slower than sonic feeding, while the subsequent decline occurred at a rate of 0.26 g $week^{-2}$, and indicated a steeper deceleration compared to sonic feeding. Hand feeding exhibited the most constrained weekly weight gain trajectory, with an inflection point of only 2.0 g $week^{-1}$ which occurred around week 8. The rate of increase was substantially lower at 0.10 g $week^{-2}$, and represented less than a third of the acceleration rate of sonic feeding. The decline phase proceeded at 0.16 g $week^{-2}$, and showed a moderate deceleration pattern.

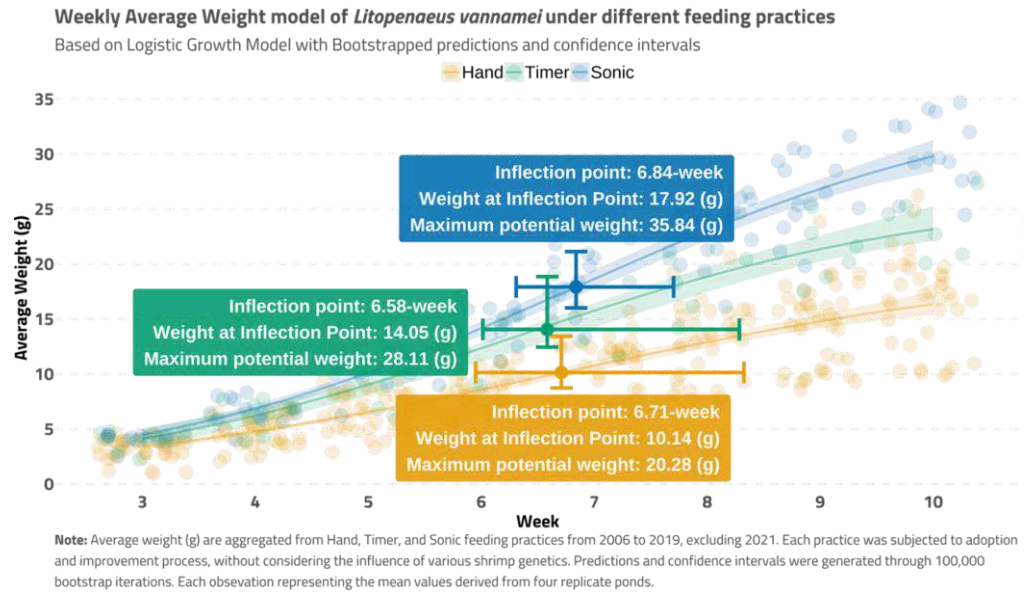



Figure 3. Weekly average weight logistic growth model of *Litopenaeus vannamei* under different feeding practices. Data was aggregated from 2006 to 2024, excluding 2012 and 2021. Hand feeding practice was employed from 2006 to 2019, while Timer and Sonic were from 2016 to 2024. Production cycles were limited to 10 weeks for comparative analysis. Each practice was subjected to adoption and improvement process, without considering the influence of various shrimp genetic sources.

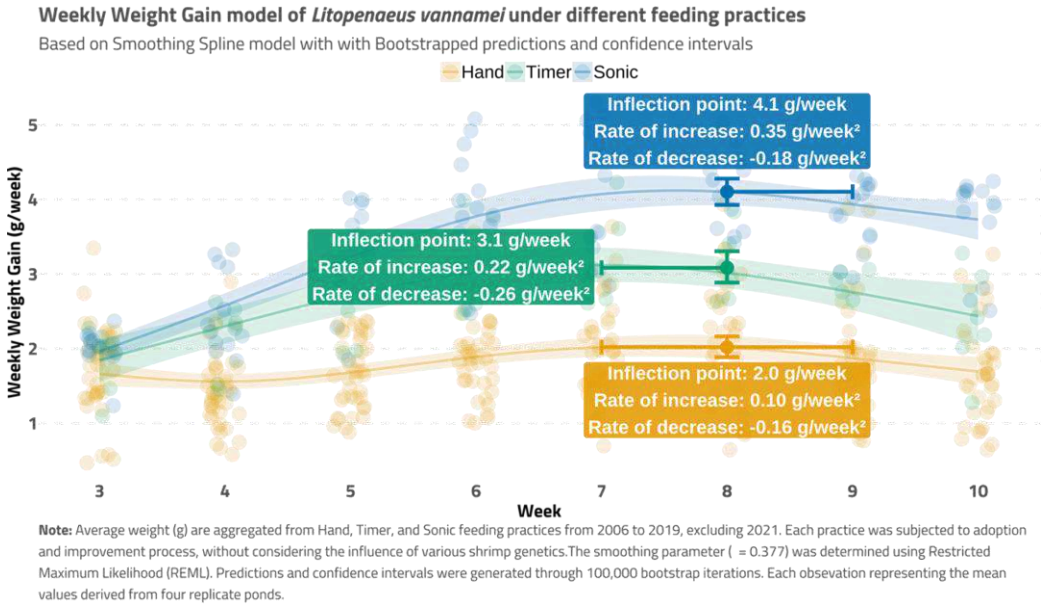



Figure 4. Weekly weight gain smoothing spline model of *Litopenaeus vannamei* under different feeding practices. Data was aggregated from 2006 to 2024, excluding 2012 and 2021. Hand feeding practice was employed from 2006 to 2019, while Timer and Sonic were from 2016 to 2024. Production cycles were limited to 10 weeks for comparative analysis. Each practice was subjected to adoption and improvement process, without considering the influence of various shrimp genetic sources.

## Discussion

Previous studies have demonstrated the consistent superior growth performance and integration of sonic feeding practices under various conditions (Ullman, Rhodes, & Davis, 2019; Walsh *et al*., 2022; Strebel *et al*., 2023; Valle *et al*., 2023; Araujo *et al*., 2025). The 18-year data showed that sonic feeding technology demonstrated better performance compared to traditional feeding methods. While all feeding methods reached their peak growth around week 7, significant differences in shrimp weight at this time showed that sonic feeding helped shrimp attain their full growth potential, which is concurrence with previous studies (Reis *et al*., 2022; Strebel *et al*., 2023). Sonic feeding produced 76% larger shrimp than hand feeding despite hand feeding were pushed to the limit throughout the span of 13 years through feed management optimization. This suggests traditional feeding methods may seriously limit how well farms can produce shrimp. In the current study, all feeding methods reached peak weekly weight gain at week 8, which suggests there is a natural biological limit that could not be changed by feeding technology alone. However, proper feeding technologies and management can dictate how well shrimp perform during this crucial time, as sonic feeding achieved more than twice the weekly weight gain of hand feeding during peak growth (Valle *et al*., 2023).

The differences between feeding systems come from different management approaches. Traditional hand feeding methods require distributing feed multiple times throughout the day, either manually or with mechanical assistance (e.g. feed blower). Feed quantities are then adjusted based on consumption rates from previous feedings, as determined by various observational methods such as feeding tray inspections or gut fill. This reactive management approach inherently lags behind real-time feeding techniques, as it relies on previous feeding outcomes rather than current feeding demands. Moreover, the sparse distribution of monitoring points across the vast production area creates significant blind spots in understanding overall feeding dynamics (Smith & Shahriar, 2013). Furthermore, shrimp pick up feed items and may carry feed away from feeding trays to nearby areas without consuming it entirely. This behavior leads to overestimation of actual feed consumption, resulting in overfeeding issues. Since feed represents more than 50 % of total production costs, such inefficiencies significantly increase operational expenses and

reduce farm profitability. Timer feeding systems, while programmable and capable of reducing labor costs through increased feeding frequency, operate on predetermined schedules that assume consistent animal requirements throughout the production cycle (Reis *et al*., 2020). This approach similarly disregards fluctuating environmental conditions and physiological conditions, can potentially result in the same overfeeding inefficiencies that characterize manual feeding methods. Sonic feeding allows real-time management by constantly monitoring feeding behavior of the animals and the dispensement of feed accordingly. Additionally, as part of an integrated system, sonic feeding technology enables the integration of various telemetric environmental sensors that continuously monitor water quality and automatically apply mechanical aeration while responding immediately to changing conditions, thus restricting feed input under adverse conditions (Reis *et al*., 2022). The fact that all shrimp reached peak growth at week 8, regardless of feeding method, genetics, or environment, showed important biological limits in shrimp growth that cannot be overcome by feeding alone or possible limitation of feed across all systems. Since growth rate declined after week 8, possible limitations should be evaluated. Additionally, as this may be inherent in the shrimp, one should attempt to maximize performance prior to the peak growth phase.

Even though sonic feeding used 41% more feed, all feeding methods had similar feed conversion rates. This suggests that the enhanced performance of sonic feeding was a result of improved feed utilization and growth by allowing the shrimp to dictate their own feeding schedule rather than reduced conversion efficiency. This indicates that the technology enables shrimp to achieve their biological growth potential more effectively within the same production period. Final production analysis confirmed sonic feeding performed better than hand and timer feeding systems. However, this improved performance required much more feed (800 kg $ha^{-1}$ versus 570 kg $ha^{-1}$ on average), which means aeration capacity needs to be improved to cope with such increases in feed input. Oxygen demands in aquaculture production environments depend not only on the cultured animals themselves, but also on microorganisms such as algae and bacteria that consume oxygen cumulatively toward the end of the production cycle (Boyd *et al*., 2018). Higher feeding rates equate to higher amounts of oxygen needed to oxidize the feed, and when daily feed inputs consistently

exceed 30-40 kg $ha^{-1}$, mechanical aeration becomes necessary to prevent dissolved oxygen from falling to stressful levels at night (Boyd *et al*., 2018).

In conclusion, while sonic feeding clearly works better, it requires major changes and large investments. The extra feed needs more aeration equipment, and farms require workers with an additional skill set who can understand, maintain, operate, and manage complex automated systems. This makes sonic feeding best for large operations that can afford the costs and have technical expertise. Smaller farms may still benefit more from improved hand and timer feeding systems where simpler approaches make more economic sense.

## Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest associated with this study.

## Acknowledgments

The authors would like to express our gratitude to those who have reviewed this manuscript and the students and staff who participated in this project from Auburn University and Claude Peteet Mariculture Center. This work was partly supported the Alabama Agricultural Station and the Hatch program (ALA016-1-19102) of the National Institute of Food and Agriculture. The authors thank our fellow graduate students for their assistance with trial preparations. The mention of trademarks and proprietary products does not constitute endorsement by Auburn University and is not intended to exclude other products or services that may be suitable.

## References


Araujo, A. N., San Andres, C. F., Nguyen, K. Q., Corby, T. L., Rhodes, M. A., García, J., Roy, L. A., & Davis, D. A. (2025). Effects of minimum dissolved oxygen setpoints for aeration in semi-intensive pond production of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, *594*, 741376. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741376

Boyd, C. E., Torrans, E. L., & Tucker, C. S. (2018). Dissolved Oxygen and Aeration in Ictalurid Catfish Aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, *49*(1), 7-70. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jwas.12469

Jescovitch, L., Ullman, C., Rhodes, M., & Davis, D. (2018). Effects of different feed management treatments on water quality for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, *49*, 526-531. https://doi.org/10.1111/ARE.13483

Napaumpaiporn, T., Chuchird, N., & Taparhudee, W. (2013). Study on the Efficiency of Three Different Feeding Techniques in the Culture of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Fisheries and Environment*, *37*(2), 8-16. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/JFE/article/view/80653

Peixoto, S., Soares, R., & Allen Davis, D. (2020). An acoustic based approach to evaluate the effect of different diet lengths on feeding behavior of *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering*, *91*, 102114. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102114

Peixoto, S., Soares, R., Silva, J. F., Hamilton, S., Morey, A., & Davis, D. A. (2020). Acoustic activity of *Litopenaeus vannamei* fed pelleted and extruded diets. *Aquaculture*, *525*, 735307. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735307

Reis, J. T., Swanepoel, A., Novriadi, R., Rhodes, M., & Davis, A. (2019). Testing soy-optimized feeds and automated feeding systems in shrimp pond production. Global Seafood Alliance. https://www.globalseafood.org/advocate/testing-soy-optimized-feeds-automated-feeding-systems-shrimp-pond-production/

Reis, J., Novriadi, R., Swanepoel, A., Jingping, G., Rhodes, M., & Davis, D. A. (2020). Optimizing feed automation: improving timer-feeders and on demand systems in semi-intensive pond culture of shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, *519*. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734759

Reis, J., Peixoto, S., Soares, R., Rhodes, M., Ching, C., & Davis, D. A. (2022). Passive acoustic monitoring as a tool to assess feed response and growth of shrimp in ponds and research systems. *Aquaculture*, *546*, 737326. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737326

Reis, J., Quintero, H. E., & Roy, L. A. (2021). Feeding Practices for Automated Systems in Commercial Shrimp Production. *CABI Books*, 357–373. https://doi.org/10.1079/9781800629363.0013

Smith, D. V., & Shahriar, M. S. (2013). A context aware sound classifier applied to prawn feed monitoring and energy disaggregation. *Knowledge-Based Systems*, *52*, 21-31. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.knosys.2013.05.007

Strebel, L. M., Nguyen, K., Araujo, A., Corby, T., Rhodes, M., Beck, B. H., Roy, L. A., & Davis, D. A. (2023). On demand feeding and the response of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to varying dietary protein levels in semi-intensive pond production. *Aquaculture*, *574*, 739698. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739698

Ullman, C., Rhodes, M., & Davis, A. (2019). Feed management and the use of automatic feeders in the pond production of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2018.08.040

Ullman, C., Rhodes, M., Hanson, T., Cline, D., & Davis, A. (2019). Effects of Four Different Feeding Techniques on the Pond Culture of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*, *50*, 54-64. https://doi.org/10.1111/JWAS.12531

Valle, J. C., Molina-Poveda, C., & Jover-Cerdá, M. (2023). The Effects of Manual, Time and Sound Feeding Systems on the Growth and Production of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Semi-intensive Farming Systems in Ecuador. *International Journal of Aquaculture*, *13*.

Walsh, S., Nguyen, K., Strebel, L., Rhodes, M., & Davis, D. A. (2022). Utilising feed effectors and automated feeders for semi-intensive pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production. *Aquaculture, Fish and Fisheries*, *2*(6), 540-551. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/aff2.83

Wei, M., Lin, Y., Chen, K., Su, W., & Cheng, E. (2020). Study on Feeding Activity of *Litopenaeus vannamei* Based on Passive Acoustic Detection. *IEEE Access*, *8*, 156654-156662. https://doi.org/10.1109/ACCESS.2020.3019529

# Obtaining Functional Ingredients from Agro-Industrial By-Products for use in Aquaculture

*María del Carmen Monroy Dosta[1], José Antonio Mata-Sotres[1], Sheyla Muñoz Belmont, and Gabriela Ruíz Augudo.[1]

[1]Departamento El Hombre y su Ambiente. Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso # 1100, City, 04960, Mexico

Corresponding author: mmonroy@correo.xoc.uam.mx

## Abstract

The improper management of waste generated by agroindustry represents a significant environmental and economic challenge. However, these byproducts contain nutrients and bioactive compounds that have not been fully utilized. Therefore, there is a need to generate strategies for their use in areas with potential, such as aquaculture nutrition. This industry requires additives rich in bioactive compounds such as antioxidants, immunostimulants, enzymes, and fermented foods. These additives can be added as functional ingredients and improve the production and health of farmed fish and crustaceans in a natural and economic manner, contributing to improving environmental quality, generating economic benefits, and promoting the circular economy. This review is to expand knowledge about the use of agroindustrial waste to obtain functional ingredients that have been used in the cultivation of farmed fish and crustaceans. For the preparation of this manuscript, an exhaustive search of scientific articles was carried out considering the period from 2020 to 2025, in different databases, including Web of Science, Scopus, Science Direct, Google Scholar and PubMed, using the following keywords: (both in English and Spanish) "functional foods", "agroindustrial waste", "prebiotics in aquaculture", "phytobiotics in aquaculture", "plant-derived antioxidants", "probiotics", "fermented fruits and vegetables in aquaculture" among others. More than 90 citations were retrieved, reviewed and analyzed, including research articles, short communications and research notes.

Keywords: aquaculture, functional ingredients, waste, agroindustria, bioactive compounds

## Introduction

Aquaculture stands out as a rapidly expanding sector and plays a fundamental role in meeting the global demand for animal protein for human consumption, surpassing other food-producing industries (FAO, 2024; Fantatto *et al*., 2024). However, this activity is not exempt from problems that limit its growth, such as infectious and nutritional diseases, dependence on fishmeal, and the consequent misuse of antibiotics as disease control agents contribute to the development of microbial resistance (García-Medel, 2022; Milijasevic *et al*., 2024).

Concerns about antimicrobial resistance and sustainability in aquaculture have driven the search for more sustainable alternatives, including the development of plant-based bioactive compounds for use as functional additives in aquaculture (Moss *et al*., 2025; *Mohammed et al*., 2025) with health benefits and well-being of farmed species and optimize the quality of the final product (Bastos *et al*., 2022; Carvalho *et al*., 2025). Additives can be of natural or synthetic origin; the latter can be expensive and difficult to access. Therefore, obtaining prebiotic compounds, phytobiotics, fatty acids, antibiotics, antiparasitic, flavonoids, antioxidants, from agri-food waste such as fruits, vegetables, cereals and plants, represents a line of interest in rapid progress in aquaculture nutrition since these wastes have vast potential to be valorized, contributing to improve the environmental quality, the generation of economic benefits in the production of aquatic organisms and the promotion of the circular economy (Banwo *et al*., 2021; Salazar-López *et al*., 2023; Mariappan *et al*., 2023).

On the other hand, to maintain the profitability of aquaculture operations, it is necessary to reduce production costs, mainly balanced food, because they represent up to 60% of operating costs. This can be achieved by incorporating vegetable proteins as fishmeal substitutes (Manguana and Ragaza, 2024; Akter *et al*., 2024). Vegetable protein sources such as soybeans and corn have been widely used as partial or total substitutes, but flours derived from fruit peels such as banana, orange, or mesquite pod flour, moringa, or Indian almond can also be included at different inclusion levels (Syed *et al*., 2024; Hussain *et al*., 2024).

Various studies have identified the presence of immunostimulants, antioxidants, antibiotics, antiparasitic, prebiotics, and phytobiotic compounds in plant byproducts or plant waste that are not yet efficiently utilized (Artica *et al*., 2021). Their revaluation can not only contribute to food waste mitigation and environmental sustainability but also offers a promising path

for innovation in aquaculture nutrition (Firmino *et al*., 2021). Despite the growing attention provided to functional ingredients. In the last years the available information about the obtaining of these ingredients from agri-food waste is scarce. Therefore, it is required to expand information on this topic and disseminate the results obtained in aquaculture in recent years.

## Agri-food waste

The agri-food industry generates a variety of byproducts or waste from its activities, which, if not properly treated, become pollutants for the environment and human health (Aguiar *et al*., 2022). According to the Food Bank of Mexico (BAMX, 2022), at least one-third of the food produced is wasted, is equivalent to 38 tons per minute, representing a cost of 750 USD million annually (World Bank, 2017; PNUMA, 2021).

Plant-based agri-food waste can be classified in two ways: agricultural residues or waste (stems, wood, bark, leaves, pods, hulls, roots and grains) and process residues or by-products, which include: pulp, weeds, bagasse, mucilage, pomace, grains, shell, pips, seeds, pastes and fibers (Castro-Muños *et al*. 2022; Díaz-Montes, 2022). Therefore, a wide variety of biodegradable waste is generated, each with different physical-chemical characteristics, which offer great potential for various applications, especially because there is evidence that they contain important nutrients, highlighting lipids, proteins, carbohydrates, vitamins, minerals and phenolic compounds (Salazar *et al*., 2023). Fărcaș *et al*. (2022), in addition to bioactive compounds that, although they are not essential nutrients, are chemical compounds found in small quantities, with antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, or immunomodulatory properties, which can help promote well-being (Robles *et al*., 2020), point out that the peels of soursop, orange, mango, blackberry, tree tomato, among others, may contain fatty acids, phenolic compounds, proteins, bioactive peptides, as well as phytosterols, beta-glucans, vitamins and minerals. Therefore, they can be a valuable source as functional additives in fish and crustacean production, and when they are transformed, allow to diversify the composition of aquaculture feed, which can improve zootechnical parameters, with economic benefits for producers because they are usually cheaper than traditional ingredients (Piazzon *et al*., 2022). Several studies have obtained molecules of

great interest in peels and fruits that are considered residues with important health benefits (Table 1).

Table 1. Biomolecules present in some agro-industrial waste

| **Source** | **Biomolecules of interest** | **Properties** | **Authors** |
|---|---|---|---|
| Banana peel (*Musa* sp) | Fiber, potassium, B vitamins, vitamin C and phenolic compounds, flavonols, carotenoids, hydroxycinnamic acids, and catecholamines | Antioxidants, antifungal and antibacterial activity | Hikal *et al*., 2020. Hana *et al*., 2022. |
| Orange peel | Flavonoids such as narirutin, diosmin, hesperidin, didymin, sinensetin, nobiletin, and tangeretin. Essential oils: limonene, α-dietary fiber, pectin, B vitamins, vitamins C, D, and E. | Antioxidant, antibiotic, prebiotic, and anti-inflammatory properties | Rincón *et al*., 2025 |
| Guava leaves (*Psidium guajava*) | Provide vitamins and minerals such as vitamin C, vitamin A, iron, potassium, phosphorus, and calcium, as well as flavonoids, tannins, terpenoids, and phenolic compounds. | Antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, and anticancer properties | Huynhet *et al*., 2025 |
| Potato peels | Rich in phenolic compounds, such as chlorogenic acid, phenolics and flavonoids, such as quercetin and rutin, non-starch polysaccharides, and starch. Source of dietary fiber and vitamin B (B1, B3, B6). | Antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory properties. | Jiménez-Champi *et al*., 2023 |
| Pumpkin (*Cucurbita moschata*) | Source of dietary fiber, carotenoids, vitamins A, C, and E, potassium, phenolic compounds, flavonoids, tocopherols, and fatty acids. | Antiparasitic, antioxidant, and anti-inflammatory properties | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Hawthorn fruit seed (*Crataegus mexicana*) | Phenol and flavonoid fractions, presence of epicatechin, quercetin 3-D-galactoside and ascorbic acid, catechin, and vitexin | Antioxidant potential, free radical scavengers, anti-inflammatory, vasorelaxant, and antimicrobial properties | Robles-Botero *et al.*, 2020. |
| Pineapple peel | Bromelain, carotenoids (beta-carotene, lycopene, xanthophylls), flavonoids, dietary fiber, phytosterols, ascorbic acid, and dietary fiber | Reduction of lipid oxidation, prebiotic and digestive properties. Antiparasitic properties | Valureddi-Shama *et al*. 2025. Mehraj *et al*. 2024. |
| Purslane leaves (*Portulaca oleracea* L.) | Alpha-tocopherol, ascorbic acid, omega-3 fatty acids, alpha-linolenic acid, gamma-linolenic acid, and beta-carotene | Anti-inflammatory effect, reduce glucose levels, have laxative, deworming, and antiviral properties | Purizaca-Lachira, 2024 |
| Radish (*Raphanus sativus*) | Vitamins, minerals, phenolic compounds, dietary fiber, and phytoanthocyanins, phenol, and flavonoids | Antioxidant properties, which strengthen the immune system and combat cell damage. Improves liver function and increases gut microbiota function | Khan *et al*., 2022 |

## Functional foods

Functional additives are dietary ingredients, microorganisms, and their metabolites that are incorporated into feed formulations, they are not only for the usual contribution of protein, carbohydrates, and lipids, also they offer a range of bioactive components such as phytochemicals (phenolic compounds, coumarins, terpenes, flavonoids), prebiotics (fiber), antioxidants, and fermented foods that improve intestinal health, aquaculture feed digestibility, disease resistance, stress reduction, and suppress the adverse effects associated with antinutrients (Figure 1). (Van Doan *et al*., 2020; Onomu and Okuthe, 2024). Within the range of functional foods, we can mention prebiotics, probiotics, phytobiotics, organic acids, and immunostimulants.

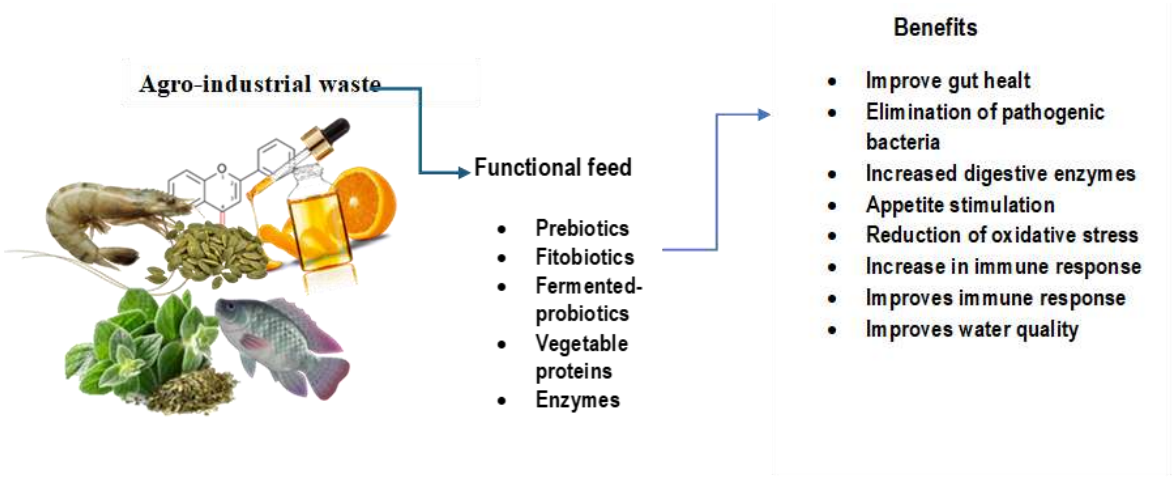



Figure 1. Benefits of functional foods (own source)

Prebiotics obtained from agroindustrial waste

Prebiotics in aquaculture are defined as non-digestible food substances that nourish and stimulate the growth and/or metabolic activity of one or more types of beneficial bacteria in the digestive tract of fish (Mohammad *et al*., 2024). This indirectly limits the presence of potentially pathogenic bacteria, such as *Vibrio*, *Aeromonas*, and *Streptococcus*, improving the intestinal microbial balance and modulating the immune response (Baskar *et al*., 2025). The main prebiotics used in aquaculture are polysaccharides and oligosaccharides such as: fructooligosaccharides (FOS), galactooligosaccharides (GOS), maltooligosaccharides (MOS) and xylooligosaccharides (XOS), which are derivatives of hemicellulose from xylan in the cell wall of different vegetables such as corn cobs, wheat bran, bamboo and wood (Romano *et al*., 2022), isomaltooligosaccharides (IMO), which are mainly obtained from enzymatic processes from starches and inulin, which is mainly derived from chicory root (Goh *et al*., 2022; ). More specifically, inulin and agavin have been widely used in aquaculture because they stimulate the growth of colonic bacteria, preventing the growth of harmful bacteria (Ochoa-Romo *et al*., 2022). Recently, some prebiotic sources from food industry by-products, such as pumpkin peels and seeds, have been added to the list, with better results than those obtained with inulin (Artica *et al*., 2021). Likewise, there are other sources of waste, such as apples, bananas, citrus fruits, corn cobs, and sugarcane bagasse, which, due to their properties, can be used as prebiotics in commercial animal nutrition (Ben-Othman *et al*., 2020; Dawood *et al*., 2022).

Such is the case of the research conducted by Huynh *et al*. (2021), who used sweet yellow potato peels, white potato, sycamore maple, and banana (*Musa balbisiana*) as prebiotics to enhance the growth of the probiotic *Lactobacillus* sp., which was added to the fed of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for 90 days. The white potato extract improved the growth and activity of the probiotic *Lactobacillus* sp., as well as a better shrimp response to pathogenic bacteria such as *Vibrio parahaemolyticus* and *V. harveyi*.

On the other hand, Eakapol *et al*. (2024) administered a diet based on xylan obtained from sugarcane bagasse as a prebiotic in tilapia to evaluate their growth, feed efficiency, protein production, and physiological functions. Innate immunity parameters, including total antioxidant, lysozyme, catalase, and glutathione S-transferase, were higher in fish fed with prebiotics. Furthermore, significant increases were observed in the activities of digestive enzymes such as protease, amylase, and lipase. After the feeding trial, the fish were injected intraperitoneally with *Streptococcus agalactiae*, and the cumulative mortality rate at 14 days was calculated. High survival rates were observed in all groups receiving prebiotic supplementation.

Nipaporn *et al*. (2025) subjected different flours from mango, pineapple, papaya, asparagus, and kale waste to chemical-thermal pretreatment with 3% (w/v) gluconic acid at 121°C to obtain hydrolyzed carbohydrates and use them as substrates for the growth of lactic acid bacteria. Due to the extraction, all nutritional components were successfully released and were available for the growth of lactic acid strains, but the mango and red cabbage hydrolysates had the highest prebiotic activity, especially for *Lactiplantibacillus plantarum* FL10. Furthermore, these flour sources showed free radical scavenging rates of 27,63% to 63,38% and 29,31% to 71,13%, respectively. Therefore, they are good antioxidants.

Other studies demonstrating the benefits of food waste in obtaining prebiotics in aquaculture are summarized below (Table 2).

Table 2. Prebiotics obtained from agri-food waste and their benefits in aquaculture

| **Prebiotic of agroindustrial byproduct** | **organism** | **Dose** | **Effects *** | **Author** |
|---|---|---|---|---|
| Mushroom culture residues (*Schizophyllum commune*) | Tilapia (*Oreochromis niloticus*) | 20% of the diet For 56 days | Modulation of beneficial gut microbiota and defense against *Aeromonas veronii* | Leyva-López *et al*., 2020 |
| Potato (*Ipomea batatas*) and plantain (*Musa acuminata*) varieties | *Litopenaeus vannamei* | 5% in the diet with the probiotic *Lactobacillus* sp. For 90 days | Growth of the probiotic *Lactobacillus* sp. Increased response to pathogenic bacteria Increased protease activity Defense against *Vibrio* spp. | Huynh *et al*., 2021 |
| Organic banana peel (*Musa acuminata*) | *Macrobrachium rosenbergii* | 5% of diet For 4 weeks | Increased immune activity Increased survival Reduced oxidative stress | Naksing *et al*., 2022 |
| Forest onion residues (*Scorodocarpus borneensis*) (in meal) | Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) | 10% of the diet with the probiotic EM4. For 45 days | Greater absolute growth Improved feed conversion ratio and higher survival | Indah *et al.*, 2022 |
| Tomato peel | Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) | 5% of the total diet For 15 days | Increased intestinal villi. Improved nutrient digestibility and absorption, and improved survival. | Dawood *et al*., 2022 |
| Sugarcane bagasse | Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) | 1% prebiotic with 1% probiotic mixture (*Bacillus* | Improved growth performance, including final body | Wangkahart *et al.*, 2024 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | *subtilis* TISTR 008 and *Lactobacillus plantarum* TISTR 1854) For 56 days | weight, weight gain, average daily gain, and protein efficiency index. Significant incrases in digestive enzyme activity were observed. | |
| Dried lemon peel | Seabream (*Sparus aurata*) | Around 1.5% to 3% of the diet For over 4 weeks | Increased antioxidant activity (SOD, CAT, GPx). The diets improved hematological parameters, such as hemoglobin, red blood cells, and white blood cells, resulting in improved immune response and resilience during stress. | Sulaiman *et al*., 2025 |

## Phytobiotics

Phytobiotics are bioactive substances derived from plants (powder, extracts, essential oils, leaves, roots, or fruits) that are used in aquaculture to improve the health and production of aquatic organisms (Pajuelo *et al*., 2024). These compounds possess antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, and antiparasitic properties, making them a sustainable alternative to traditional chemotherapeutics (Bastos *et al*., 2022; Kalaiselvan *et al*., 2024).

Furthermore, previous studies have shown these additives improve feed flavor, digestive enzyme secretion, gastric and intestinal motility, endocrine and immune stimulation. Consequently, improvements in feed intake, digestibility, feed conversion, and animal weight are achieved (Deminicis *et al*., 2021; Ayala *et al*., 2022). In recent years, research has shown that certain phytobiotics are potent immune stimulators, increasing hemocyte counts by more than 60% in healthy animals and in more than 30% during certain diseases (Adeli *et al*.,

2021). In addition to their beneficial effects, the use of plant extracts in aquaculture can reduce treatment costs and align with sustainability principles, as they are easier to degrade compared to synthetic molecules and, due to their diverse chemical composition, minimize the possibility of resistance development (Olusola *et al*., 2019).

There are a wide variety of plants that have been used as phytobiotics in aquatic organisms, including fenugreek, aloe vera, ginseng, basil, eucalyptus, spearmint, marjoram, mint, rosemary, sage, lemon balm, among others, but currently, the use of various extracts, oils and flours from new plant sources continues to be reported. Wigraiboon *et al.* (2024) mention that the use of purple nutsedge extract (*Cyperus rotundus*) at a concentration of 0.8g / kg of feed improves weight gain, feed conversion, and reduces *Streptococcus agalactiae* infection in tilapia. Nassar *et al*. (2024) reported that using extracts of *Ginkgo biloba*, *Moringa oleifera*, *Myristica fragrans*, *Silybum marianum*, and *Astragalus membranaceus* at concentrations of 1,0 and 2,0 g/kg improved the growth, serum protein, and total immunoglobulin levels of *Oreochromis niloticus*.

Silymarin and curcumin, which possess high levels of flavonoid compounds and have hepatoprotective activity and show the capacity to protect mitochondria from oxidative stress (ROS) and lipid peroxidation (El Basuini *et al*., 2023). Likewise, the inclusion of curcumin in the diets of rainbow trout larvae resulted in an increase in weight gain, feed conversion, specific growth rate and survival (90%), and better results were obtained in hematocrit and hemoglobin in the treatments where 100 mg of curcuminoids were added (Romero *et al* 2023). Other successful studies on the application of phytobiotics obtained from plant by-products are shown in Table 3.

Table 3. Agroindustry-derived phytobiotics used in aquaculture

| Phytobiotic used | Species where was applied | Dose | Benefits | Author |
|---|---|---|---|---|
| *Aloysia triphylla* | *Oncorhynchus mykiss* | 7 g/kg of feed | The results showed decreased cortisol levels, improved feed conversion, increased IgM, and improved growth in the fish. | Adeli *et al*., 2021 |
| *Moringa oleifera* | *Oreochromis* sp | 10–15 g/kg of feed | Improved growth, feed conversion ratio, protein content, digestive enzyme activity, innate immunity, and reproductive function with high salinity conditions (32 ppt) | Sallam *et al*., 2025 |
| Rosemary oil | *Chelon ramada* | 0.5-1 g/kg of feed | Significant improvements in growth and survival. Lower feed conversion ratio and improved water quality. Increased levels of white blood cells, total protein, albumin, and immunoglobulin. Also present are greater antioxidant activity. | Elhetawy *et al*., 2025 |
| *Echinacea* and/or vitamin C | *Oreochromis niloticus* | 400 mg/kg of feed | Increased intestinal villi and goblet cells, as well as phagocytic activity and expression of IL-1 and TNF-α genes | Afaf *et al*., 2018 |
| *Citrus sinensis peel* | *Sebastes schlegelii* | 10 g/kg | It significantly improved the final weight, specific growth rate, protein efficiency ratio and protein retention in fish, as well as antioxidant enzyme activity. | Lee *et al*., 2024 |
| *Terminalia catappa* | *Betta splendens* | 1000 ppm of green leaf extract | Inhibition of *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* | Purivirojkul, 2012 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | *aeruginosa*, *Staphylococcus* spp. and *Streptococcus* spp. *in vitro* and increased the survival rate of *Betta splendens* infected with *Aeromonas hydrophila.* | |
| *Extract of Psidium guajava* | *Oreochromis niloticus* | a dose of 7 g/kg−1 | Control of *Pseudomonas aeruginosa* infection and improve growth | Hossain *et al*., 2024 |

Vegetable meals for partial fishmeal replacement

In recent decades, the dependence on raw materials for formulating diets for aquatic organisms, especially fishmeal, has become evident (Muntean *et al*., 2024). Therefore, alternatives are being sought to reduce this dependence and decrease the harvesting pressure on natural fish populations intended for feed production (Piazzon *et al*., 2022). In the search for new ingredients, agrifood waste is being investigated. Silva-Mendes *et al*. (2023) evaluated the digestibility of mesquite and leucaena pods in *Oreochromis niloticus* diets. The results showed significant differences, with protein increases of 20% in mesquite seeds (73% to 92%) and 6% in leucaena seeds (84% to 90%). A 30% substitution of mesquite and leucaena flour could replace animal protein without affecting digestibility and at a lower cost, increasing the economic feasibility of tilapia farming. Rodríguez *et al*. (2024) evaluated the relevance of including cassava flour (15%) in the diet of *Oreochromis mossambicus*. After eight weeks of feeding, 100% survival was obtained and all productive parameters such as weight, size and feed conversion ratio were improved in fish fed with the inclusion of cassava, with a savings of 229.31 USD. Faisal (2024) points out that replacing 10% of *Moringa oleifera* flour in the diet of *Cirrhinus mrigala* larvae improves growth performance, body composition, and hematological parameters of the species. Akter *et al*. (2024) evaluated the substitution of mustard oil, soybean meal, and rice bran as a substitute in the diet of the fish *Labeo rohita* for 90 days. The results showed that replacing fishmeal with rice bran meal generated an increase in productive parameters and a total net economic return of 15,61% higher than the control group that the substitution of 50% of fishmeal with rice bran generates a higher cost benefit, so it can be considered as a new source of unconventional protein, profitable and easily available, without compromising the nutritional quality of the fish.

Fermented feeds from agri-food waste and their application in aquaculture

As described previously, in recent decades, the aquaculture sector has sought alternative sources of nutrients, especially plant-based proteins. However, the presence of antinutritional factors decreases their bioavailability (Siddik *et al*., 2024). Therefore, improving suitability for food is a strategic challenge for aquaculture. In this regard, the recycling of agro-industrial byproducts through fermentation is a tangible proposal to produce microbial proteins and functional metabolites for aquaculture feed (Sampathkumar *et al*., 2023). This is especially due to the possibility of producing probiotic bacteria easier than with the use of high-cost traditional culture media. Probiotics are live microorganisms that, when administered in correct amounts through feed or water, confer benefits to cultured aquatic organisms (El-Saadony *et al*., 2021). They produce bacteriocins, siderophores, lysozymes, proteases, and hydrogen peroxide, inhibiting the growth of harmful pathogens (Shehata *et al*., 2023). They also produce many enzymes that allow better assimilation of nutrients, thus playing an important role in improving growth performance (Figure 2).

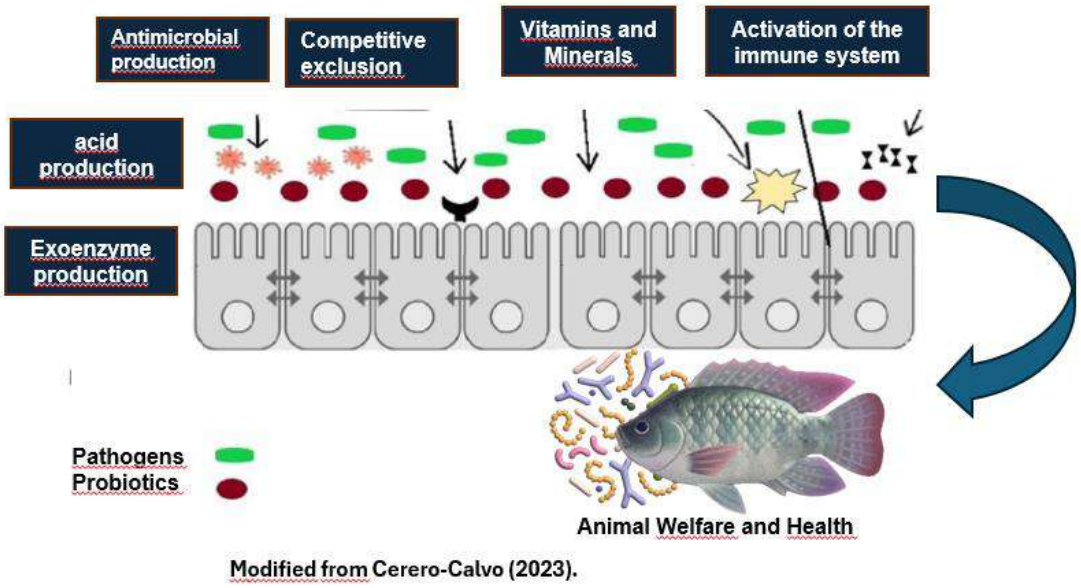



Figure 2. Benefits of probiotics in aquaculture

In accordance with the afore mentioned, the production of probiotics from agri-food waste through fermentation is a widely growing option (Figure 2). Yigit *et al*. (2020) report that soybean meal fermented with whey for a period of 8 hours, at a temperature of 30°C, could

replace up to 40% of the fishmeal protein in the diets of juvenile tilapia. Cahya *et al*. (2022); Londoño-Hernandez *et al*. (2020) mention that the fermentation of nutrient-rich shells, seeds, and fruits is recently being exploited in the production of fermented foods rich in probiotics, enzymes, and organic acids that improve intestinal health, offering an alternative to antibiotics and other chemical treatments. Gómez *et al*. (2024) evaluated the effect of fermented vegetables (carrots, beets, cabbage, lettuce) and corn as feed for *Prochiludus* ssp. larvae. Results after 50 days showed significantly greater growth in the larvae fed with ferments, reaching an average of 50,12 mm in three weeks. Microscopic analysis showed a controlled proliferation of beneficial bacteria that stabilized pH and increased nutrient bioavailability. Andriani *et al*. (2025) evaluated the use of fermented restaurant waste meal (rice, bones, and vegetables) added to the feed to improve the growth of *Pangasius pangasius* alevins. The fermentation process was carried out using probiotics at a dose of 8% of the total weight of the waste for periods of 3,5 and 7 days. The feed was administered three times a day at a dose equivalent to 5% of the biomass for 42 days. The inclusion of 40% of the fermented feed achieved the highest growth rate (1,93%/day) and acceptable survival rates (80-95%). Water quality parameters were maintained within appropriate ranges, promoting accelerated growth and improved fish health. Zhuo *et al*. (2021) demonstrated that dietary supplementation of fermented lemon peels added to a basal diet at 0%, 1%, 3%, and 5% improved lysozyme activity and susceptibility to *Photobacterium damselae* in the groupers Epinephelus *coioides*. Despite extensive research, challenges remain in fully optimizing fermentation processes, particularly regarding the comparative advantages and limitations of submerged fermentation versus solid-state fermentation (Dasari *et al*., 2019; Joshi *et al*., 2018; Manan and Webb, 2017). While submerged fermentation provides greater control over variables, solid-state fermentation has proven to be the best option due to its lower water and energy consumption and improved product stability (Manan and Webb, 2017; Sánchez *et al*., 2024). It is also necessary to consider the substrates used, both plant sources and the microorganisms selected for fermentation, the nutritional quality of the fermented products for aquaculture production, and to continue providing evidence on their impact on nutrition, gut microbiota, immunity, and disease resistance in fish and crustaceans (Siddik *et al*., 2024).

## Conclusions

As can be seen in this review, agroindustrial waste has enormous potential for reutilization to obtain bioactive compounds. Challenges include the variability of byproducts, standardization of extraction methods and fermentation, the doses and the period of administration and the obtaining consistent results. However, there are a lot of benefits, including waste reduction, the creation of value-added products, and the promotion of the health and well-being of cultivated species through functional foods.

## Credit author contribution

María del Carmen Monroy-Dosta: conceptualization, methodology, original draft, and final version; José Antonio Mata Sotres: conceptualization, database creation, and review. All

authors contributed to the study conception and design, commented on previous versions, and read and approved the final manuscript.

## Conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interest regarding this research article.

## References

Adeli, A., Shamloofar, M., & Akrami, R. 2021. Dietary effect of Lemon Verbena (*Aloysia triphylla*) extract on growth performance, some haematological, biochemical, and non-specific immunity and stocking density challenge of rainbow trout juveniles (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Applied Animal Research, 49(1), 382–390. https://doi.org/10.1080/09712119.2021.1990069.

Afaf, N. Abdel Rahman, Alshimaa A. Khalil, H.M. Abdallah, Mohamed ElHady. 2028. The effects of the dietary supplementation of *Echinacea purpurea* extract and/or vitamin C on the intestinal histomorphology, phagocytic activity, and gene expression of the Nile tilapia, Fish & Shellfish Immunology, Volume 82. Pages 312-318.

Aguiar Novillo, S., Estrella, M. E., Uvidia Cabadiana, H., & Aguiar, S. 2022. Residuos agroindustriales: su impacto, manejo y aprovechamiento. AXIOMA. 1(27), 5-11. https://doi.org/10.26621/ra.v1i27.803.

Akter Sumaiya, Haque Md. Ayenuddin, Sarker Md. Al-Amin, Atique Usman, Iqbal Sonia, Sarker Pallab Kumer, Paray Bilal Ahamad, Arai Takaomi, Hossain M. Belal. 2024. Efficacy of using plant ingredients as partial substitute of fishmeal in formulated diet for a commercially cultured fish, *Labeo rohita*. Frontiers in Sustainable Food Systems. Volume 8. DOI=10.3389/fsufs.2024.1376112.

Alok Kumar Gupta, Cristobal Noe Aguilar, Gemilang Lara Utama. 2021. Functional importance of bioactive compounds of foods with Potential Health Benefits: A review on recent trends. Journal Food Bioscience. Volume 43, 101-320P.

Andriani Yuli, Iskandar, Rusky I. Pratama, Muhamad Dwi Cahya, Mochamad Galuh N. 2025. Effect of fermented restaurant waste mea addition on growth performance of pangasius catfish (*Pangasius pangasius*) for promoting sustainable aquaculture. Prima BIO Web Conf. 156 03023 DOI: 10.1051/bioconf/202515603023

Artika, Mallqui Luis; Papa, Hermes; Canchumanya, Mery. 2021. Obtención de prebióticos a partir de subproductos vegetales para uso como ingrediente en alimentos funcionales. Prospectiva Universitaria. 16. 29-39. 10.26490/uncp.prospectivauniversitaria.2019.16.1022.

Ayala, D., Peralvo Vidal, J., Madril, K., & Burgos Mayorga, A. 2022. Suplementos alimenticios en porcicultura como alternativa a los antibióticos. AlfaPublicaciones, 4(3), 39-65.

Bai, Emmanuella, Ijeoma, Nwafor, Sunday, Adoga, Ogo, Ogo, Ogbene, Igbum. 2025. Nutritional Composition, Bioactive Compounds and Antioxidant Potential of Pineapple Rind Flour as Functional Food Ingredient, Journal of Food Biochemistry. 8832878, 10 pages, https://doi.org/10.1155/jfbc/8832878.

Bancos de Alimentos de México (BAMX). Consultado el 28 de abril de 2022 en: https://bamx.org.mx/

Banco Mundial. 2017. Pérdidas y desperdicios de alimentos en México, una perspectiva económica y social. Korea green growth partnership. 143pp

Banwo, Kolawole, Ayoyinka Olufunke Olojede, Adekemi Titilayo, Adesulu-Dahunsi and Deepak Kumar Verma, Mamta Thakur, Soubhagya Tripathy, Smita Singh, Ami R. Patel. 2021. Food Bioscience. volume 43, 101320 p.

Baskar Veeramaruthu, Oyas, Ahmad Asimi, Oyas & Prakash, Samaya & Solomon, Jaberson & Stephen, Ajith & Somasundharam, Iyyappan & Bharathkumar. 2025. Role of Prebiotics and Probiotics in Aquaculture Nutrition. 10.1007/978-3-031-92858-1.

Basto-Silva, C., García-Meilán, I., Couto, A., Serra, C. R., Enes, P., Oliva-Teles, A., Capilla, E., & Guerreiro, I. 2022. Effect of Dietary Plant Feedstuffs and Protein/Carbohydrate Ratio on Gilthead Seabream (Sparus aurata) Gut Health and Functionality. Fishes, 7(2), 59. https://doi.org/10.3390/fishes7020059.

Ben Othman R, Ben Amor N, Mahjoub F. 2023. A clinical trial about effects of prebiotic and probiotic supplementation on weight loss, psychological profile and metabolic parameters in obese subjects. Endocrinol Diab Metab. 6: 402. doi:10.1002/edm2.402

Cahya, M.D, Yuli Andriani, Kiki Haetami, Risdiana.2020. Utilization of Food Waste as Raw Material for Fish Feed (a Review). Global Scientific Journal. 9 (1) 435-4392022. Application of fermented product feed to growth performance of fish: a review. Depik Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan, Pesisir dan Perikanan. Volume 11, Number 3, Page 333-340

Cerero-Calvo Cynthiarel, Sánchez-Medina Marco Antonio, Pérez-Santiago Alma Dolores, Matías-Pérez Diana, García-Montalvo Iván Antonio. Probióticos presentes en bebidas fermentadas mexicanas. 202; 25: e436.

Carvalho, Marta, Montero, Daniel, Betancor, Mónica, Kaur, Kiranpreet, Serradell, Antonio, Izquierdo, Marisol, Ginés, Rafael, Claeyssens, Virginie, Torrecillas, Silvia. 2025. Benefits of dietary krill meal inclusion towards better utilization of nutrients, and response to oxidative stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. Aquaculture V 598. 741957.

Castro-Muñoz R, Díaz-Montes E, Gontarek-Castro E, Boczkaj G, Galanakis CM. 2022. A comprehensive review on current and emerging technologies toward the valorization of bio-based wastes and by products from foods. Compr Rev Food Sci Food Saf. 21(1): 46-105.

Dawood, A., Zuberi, A., & Shi, W. 2022. Plant-based β-mannanase supplemented diet modulates the gut microbiota and up-regulates the expression of immunity and digestion-related genes in *Cyprinus carpio*. Journal of Applied Animal Research, 50(1), 21–30. https://doi.org/10.1080/09712119.2021.2018327.

Dawood, M.A.O. and Koshio, S. 2020, Application of fermentation strategy in aquafeed for sustainable aquaculture. Rev Aquacult, 12: 987-1002. https://doi.org/10.1111/raq.12368

Deminicis, R. G. da S., Meneghetti, C., Oliveira, E. B. de, Garcia Júnior, A. A. P., Farias Filho, R. V., & Deminicis, B. B. 2021. Systematic review of the use of phytobiotics in broiler nutrition. Revista de Ciências Agroveterinárias, 20(1), 098-106. https://doi.org/10.5965/223811712012021098.

Díaz-Montes, E. 2022. Residuos agroalimentarios ¿Qué son? ¿Quién los genera? Y ¿Por qué sin valiosos? Frontera biotecnológica 23(2): 9 – 16.

Eakapol Wangkahart, Supap Nontasan, Janjira Phudkliang, Sirinya Pholchamat, Phitcharat Sunthamala, Nonthiwat Taesuk, Anut Chantiratikul, Hongsen Xu, Zhitao Qi, Wasusit Somsoros, Claudious Gufe, Triwit Rattanarojpong, Pongsak Khunrae. 2024. New insights into the effect of xylooligosaccharide derived from agricultural waste, single or combined dietary supplementation with mixed probiotics on growth, flesh quality, health condition and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, Volume 7, 100471.

Enneb, S. S. Drine, M. Bagues, T. Triki, F. Boussora, F. Guasmi, K. Nagaz, A. Ferchichi 2020. Phytochemical profiles and nutritional composition of squash (*Cucurbita moschata* D.) from Tunisia, South African Journal of Botany, Volume 130, 2020, Pages 165-171, ISSN 0254-6299, https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.12.011.

El Basuini, M.F.; Zaki, M.A.A.; El-Hais, A.M.; Elhanafy, M.G.; El-Bilawy, E.H.; Zaineldin, A.I.; Abdel-Aziz, M.F.A.; Abouelsaad, I.A.; El-Ratel, I.T.; Mzengereza, K. 2024. Microbial, immune and antioxidant responses of Nile tilapia with dietary nano-curcumin supplements under chronic low temperatures. Aquac. Fish. 9, 57–65.

El-Saadony MT, Alagawany M, Patra AK, Kar I, Tiwari R, Dawood MAO, Dhama K, Abdel-Latif HMR. 2021.The functionality of probiotics in aquaculture: An overview. Fish Shellfish Immunol. 2021:117:36-52. doi: 10.1016/j.fsi.2021.07.007.

Elhetawy, AIG, El Basuini, MF, Mansour, AIA. 2025. El aceite de romero dietético con/sin zimógeno forte mejora la calidad del agua, las hormonas de crecimiento, la respuesta inmunofisiológica, la resiliencia al estrés y el estado de salud del *Chelon ramada* cultivado en aguas subterráneas. BMC Vet Res 21, 27. https://doi.org/10.1186/s12917-024-04446-5.

Faisal M, Hussain SM, Sarker PK, Ali S, Al-Ghanim KA and Yousaf Z. 2024. Utilization of *Moringa oleifera* leaf meal as a protein source in diets for *Cirrhinus mrigala*: effects on growth, body composition, and hematology. Front. Sustain. Food Syst. 8:1405614. doi: 10.3389/fsufs.2024.1405614.

FAO. 2024. In Brief to The State of World Fisheries and Aquaculture 2024. Blue Transformation in action. Rome.

Fantatto, Rafaela Regina, Mota, Joana, Ligeiro, Vieira, Carolina Inês, Guilgur, Leonardo Gaston, Santos, Marisa, Murta, Daniel.2024. Exploring sustainable alternatives in aquaculture feeding: The role of insects,

Aquaculture Reports, Volume 37. 102228, ISSN 2352-5134, https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102228.

Fărcaș, Anca Corina, Socaci, Sonia Ancuța, Emeș, Silvia Amalia, Pop, Oana Lelia, Coldea, Teodora Emília, Fogarasi, Melinda, & Biriș- Dorhoi, Elena Suzana. 2022. An update regarding the bioactive compound of cereal by-products: health benefits and potential applications. Nutrients. Online. Vol 14, n.º (17). P. 3470. Doi: 10.3390/nu14173470. Available from. Https://www.mdpi.com/1420-3049/27/22/7977.

Firmino JP, Galindo-Villegas J, Reyes-López FE and Gisbert E. 2021. Phytogenic Bioactive Compounds Shape Fish Mucosal Immunity. Front. Immunol. 12:695973. doi: 10.3389/fimmu.2021.695973.

García-Medel, D. 2022. Seguridad alimentaria: retos y desafíos de la acuicultura en México. Journal of Behavior and Feeding. How, what and why Vol. 2, No. 2.

Goh JXH, Tan T-HL, Law W-FJ. 2022. Harnessing the potentialities of probiotics, prebiotics, synbiotics, paraprobiotics, and postbiotics for shrimp farming. Rev Aquac; 14: 1478–1557. https://doi.org/10.1111/raq.12659.

Ghosh, Rima & Chatterjee, Diptendu & Dey, Sanjit. 2023. Indian Fermented Food: Past, Present & Future. Books XVII and XVIII on JSTOR.. Retrieved June 12, 2023, fromhttps://www.jstor.org/stable/2521042

Hana Mohd Zaini, Jumardi Roslan, Suryani Saallah, Elisha Munsu, Nurul Shaeera Sulaiman, Wolyna Pindi. 2022. Banana peels as a bioactive ingredient and its potential application in the food industry, Journal of Functional Foods, Volume 92. 105054, ISSN 1756-4646, https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105054.

Hernández-Contreras, Angel & Teles, Andressa & Salas-Leiva, Joan & Chaves-Pozo, Elena & Tovar-Ramírez, Dariel. 2023. Feed Additives in Aquaculture. 10.1007/978-3-031-42855-5_28.

Hikal, Wafaa M., Said-Al Ahl, Hussein A. H., Bratovcic, Amra, Tkachenko, Kirill G., Sharifi-Rad, Javad, Kačániová, Miroslava, Elhourri, Mohammed, Atanassova, Maria. 2022. Banana Peels: A Waste Treasure for Human Being, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2022, 7616452, 9 pages, https://doi.org/10.1155/2022/7616452

Hossain MMM, Akter S, Dey BK, Alahmadi TA, Ansari MJ, Rahman N, Rojoni SA, Rubayea U, Bristy SA, Hossain MB, Alam MM, Sen BK, Ghosh RR, Rahman M. 2024. Dietary *Psidium guajava*, guava leaf extract protects *Oreochromis niloticus*, Nile tilapia from *Pseudomonas aeruginosa* infection and enhances growth. Comp Immunol Rep. Aug 13; 7:200164. doi: 10.1016/j.cirep.2024.200164. PMCID: PMC11388192.

Huynh Truong Giang, Vu Hung Hai, Phan Thi Cam Tu, Pham Thi Tuyet Ngan and Vu Ngoc Ut. 2021. Screening utilization of different natural prebiotic extracts by probiotic Lactobacillus sp. for development of symbiotic for aquaculture uses. Vol. 13, Aquaculture and Fisheries 96-105.

Huynh, H. D., Nargotra, P., Wang, H.-M. D., Shieh, C.-J., Liu, Y.-C., & Kuo, C.-H. 2025. Bioactive Compounds from Guava Leaves (*Psidium guajava* L.): Characterization, Biological Activity, Synergistic Effects, and Technological Applications. Molecules, 30(6), 1278. https://doi.org/10.3390/molecules30061278

Indah, W. O. M., Muskita, W. H., & Idris, M. 2022. Efisiensi Pakan dan Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diberi Pakan Bersinbiotik, Prebiotik Bawang Hutan (*Eleutherine bulbosa*) pada Level Probiotik EM4 yang Sama. Media Akuatika: Jurnal Ilmiah Jurusan Budidaya Perairan, 7(4), 193-203.

Irana Mahjabeen, Sharmin Zaman Emon, Nishat Tasnim, Shahid Akhtar Hossain, Md.Anowar Hosen, Md.Mominul Islam, Muhammad Nurul Huda, Md. Tanvir Ahmed Chowdhury. 2024. Microbiological assessment of bioaerosols in the residential areas of Dhaka City, Bangladesh, The Microbe, Volume 5.100188, ISSN 2950-1946

Jimenez-Champi, Diana & Romero-Orejon, Frank & Moran-Reyes, Angie & Jáuregui, Ana & Ramos-Escudero, Fernando. 2023. Bioactive compounds in potato peels, extraction methods, and their applications in the food industry: a review. CyTA - Journal of Food. 21. 418-432. 10.1080/19476337.2023.2213746.

Kalaiselvan, Pandi & Malarvizhi, Kavitha & Ranjan, Amit. 2024. Exploring phytobiotics in aquaculture: sources, mode of action, effects, administration, and its bioavailability in fish. Aquaculture International. 32. 10.1007/s10499-024-01444-0.

Khan, R. S. 2022. Radish (*Raphanus Sativus*): Potential Antioxidant role of Bioactive Compounds extracted from radish leaves -A review. https://doi.org/10.53350/PJMHS221692

Lee, T. H., Kim, K.-T., Oh, H. Y, Park, S. - Y., Lee, G. J., Kim, H.-S., & Kim, H. - S. 2024. Efecto de la naranja de sangre (*Citrus sinensis L*. Osbeck) Peel Waste as adi do Dood Additive on the Growth Performance, Digestive Enzyme Activity, Antioxidant Capacity, and Immune Response in Juvenile Black Rockfish (*Sebastes schlegelii*). Antioxidantes, 13 (12, 1452. https://doi.org/10.3390/antiox13121452

Leyva-López, N., Osuna-García, E., Hernandez, C., Gómez-Gil, B., Soto-Rodríguez, S., & Guerrero, A. 2020. A preliminary study of the effect of total fishmeal replacement with different dietary sources on the gut microbiota of spotted rose snapper juvenile (*Lutjanus guttatus* Steindachner, 1869). Aquaculture Research, 51(11), 4771-4784.

Londoño-Hernandez, L. Héctor A. Ruiz, T. Cristina Ramírez, Juan A. Ascacio, Raúl Rodríguez-Herrera, Cristóbal N. Aguilar. 2020. Fungal detoxification of coffee pulp by solid-state fermentation, Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, Volume 23. 101467, ISSN 1878-8181.

Magbanua, Tzodoq Obrero, Ragaza, Janice Alano. 2024. Selected dietary plant-based proteins for growth and health response of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, Aquaculture and Fisheries. Aquaculture and Fisheries Volume 9, Issue 1, January, Pages 3-19.

Mariappan, B.; Kaliyamurthi, V.; Binesh, A. 2023. Medicinal Plants or Plant Derived Compounds Used in Aquaculture. In Recent Advances in Aquaculture Microbial Technology; Academic Press: Cambridge, MA, USA. pp. 153–207.

Mehraj, Mahrukh & Das, Susmita & Feroz, Fathima & Wani, Ab Waheed & Dar, S.Q & Kumar, Sanjeev & Wani, Atif & Farid, Arshad. 2024. Nutritional Composition and Therapeutic Potential of Pineapple Peel – A Comprehensive Review. Chemistry & Biodiversity. 21. e202400315. 10.1002/cbdv.202400315.

Mohammad Hossein Khanjani, Mansour Torfi Mozanzadeh, Enric Gisbert, Seyed Hossein Hoseinifar. 2024. Probiotics, prebiotics, and symbiotic in shrimp aquaculture: Their effects on growth performance, immune responses, gut microbiome, Aquaculture Reports, Volume 38. 102362, ISSN 2352-5134.

Milijasevic, M., Veskovic-Moracanin, S., Babic Milijasevic, J., Petrovic, J., & Nastasijevic, I. 2024. Antimicrobial Resistance in Aquaculture: Risk Mitigation within the One Health Context. Foods, 13(15), 2448. https://doi.org/10.3390/foods13152448.

Mohammed, E. A. H., Kovács, B., Kuunya, R., Mustafa, E. O. A., Abbo, A. S. H., & Pál, K. 2025. Antibiotic Resistance in Aquaculture: Challenges, Trends Analysis, and Alternative Approaches. Antibiotics, 14(6), 598. https://doi.org/10.3390/antibiotics14060598

Moss, Amina, Peh, Jia Hui,Segaran, Thirukanthan Chandra, Lananan, Fathurrahman, Kari, Zulhisyam Abdul, Wei, Lee Seong, Zekker, Ivar, Dossou, Hunsa Dègnon Serge, Gao, Huan, Azra, Mohamad Nor Noordin, Noordiyana MatAzizi, Mohammad Naeem. 2025. Bioactive compounds in aquaculture. Aquaculture International. Volume 33, article number 414.

Muntean, G.-C., Simedru, D., Uiuiu, P., Tanaselia, C., Cadar, O., Becze, A., & Coroian, A. 2024. Evaluation of Alternative Sources of Proteins and Other Nutrients with Potential Applications in Fish Nutrition. Molecules, 29(10), 2332. https://doi.org/10.3390/molecules29102332.

Naksing, T., Rattanavichai, W., Teeka, J., Kaewpa, D., Borthong, J., & Areesirisuk, A. 2022. Biological activities and potential of organic banana (*Musa acuminata*) peel extract in enhancing the immunity of giant freshwater prawn (Macrobrachium rosenbergii). Aquaculture Research, 53, 2645–2656. https://doi.org/10.1111/are.15781

Nazanin Abbaspour. 2024. Fermentation's pivotal role in shaping the future of plant-based foods: An integrative review of fermentation processes and their impact on sensory and health benefits, Applied Food Research, Volume 4, Issue 2. 100468,

Nassar, A.A.M.A., Gharib, A.A.EA., Abdelgalil, S.Y. 2024. Immunomodulatory, antioxidant, and growth-promoting activities of dietary fermented Moringa oleifera in Nile tilapia (*Oreochromus niloticus*) with in-vivo protection against Aeromonas hydrophila. BMC Vet Res 20, 231. https://doi.org/10.1186/s12917-024-04070-3

Nipaporn Chadathong, Paradorn Chancha, Surasak Siripornadulsil, Wilailak Siripornadulsil. 2025. Prebiotics extracted from fruits and vegetables can be applied to lactic acid bacteria to improve their antioxidant activity, Food Bioscience, Volume 68, 106577.

Ochoa-Romo, J. P., Cornejo-Granados, F., Lopez-Zavala, A. A., Viana, M. T., Sánchez, F., Gallardo-Becerra, L., Luque-Villegas, M., Valdez-López, Y., Sotelo-Mundo, R. R., Cota-Huízar, A., López-Munguia, A., & Ochoa-Leyva, A. 2022. Agavin induces beneficial microbes in the shrimp microbiota under farming conditions. Scientific Reports, 12(1), Artículo 6392. https://doi.org/10.1038/s41598-022-10442-2

Olusola, Sunday & Fakoya, Soji & OY, Aderoboye. 2019. Phytobiotics Effects of Pawpaw (*Carica papaya*) Leaves and Fluted Pumpkin (*Telferia ocidentalis*) Leaves Extracts against Certain Aquatic Pathogens. Medicinal & Aromatic Plants. 08. 10.35248/2167-0412.19.8.328.

Onomu, A. J., & Okuthe, G. E. 2024. The Role of Functional Feed Additives in Enhancing Aquaculture Sustainability. Fishes, 9(5), 167. https://doi.org/10.3390/fishes9050167 Aquaculture Research, 53(7), 2645-2656.

Pajuelo Risco, Fredy, Castro Salinas, Daniel, Honorio Javes, Cesar, Hernández Valdez, Juan, & Vega González, Ramiro Juan. 2024. ¿Cuál es el rol de los fitobióticos en la producción animal?: Beneficios, biodisponibilidad, desafíos actuales y futuros. Manglar, 21(1), 115-126. Epub 02 de abril de 2024.https://doi.org/10.57188/manglar.2024.012.

Piazzon, M.C. Naya-Català, F. Pereira, G.V. Estensoro, I. Del Pozo, R. Calduch-Giner, J.A. Nuez-Ortín, W.G. P alenzuela, O. Sitjà-Bobadilla, A. Dias, J. Conceição, L.E.C. Pérez-. Sánchez, J. Aquaculture 2022. Novel fish meal-free diet formulation supports proper growth and does not impair intestinal parasite susceptibility in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) with a reshape of gut microbiota and tissue-specific gene expression patterns. Aquaculture V. 558 – 738362.

Purizaca-Lachira, Jairo Joel, Cordova-Ramos, Javier S., & Olivera-Montenegro, Luis. 2024. Compuestos bioactivos y actividad antioxidante de hojas de verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) peruana de extractos obtenidos por agitación magnética y ultrasonido. Manglar, 21(4), 413-420.https://doi.org/10.57188/manglar.2024.045

Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). Índice de desperdicios de alimentos 2022. Consultado el 22 de abril de 2022 en: https://www.unep.org/es/resources/informe/indice-de-desperdicio-de-alimentos-2021.

Purivirojkul W. 2012.Potential application of extracts from Indian almond (*Terminalia catappa* Linn.) leaves in Siamese fighting fish (Betta splen- dens Regan) culture. Commun Agric Appl Biol Sci.;77(4): 439-448.

Ray RC, Behera SS, Awogbemi O, Sooch BS, Thatoi H, Rath S, Aguilar-Rivera N. Beyond. 2025. enzymes and organic acids, solid-state fermentation as an alternative for valorizing fruits and vegetable wastes into

novel bio-products in a circular economy: A critical review. AIMS Microbiol.11(2):462-500. doi: 10.3934/microbiol.2025021. PMID: 40600209; PMCID: PMC12207261.

Robles-Botero M. Viviana, Ronquillo-de Jesús Elba, Quiroz-Reyes Cinthya N., Aguilar-Méndez Miguel A. 2020. Caracterización e identificación de compuestos bioactivos con actividad antioxidante de la cáscara, pulpa y semilla del fruto de tejocote (Crataegus mexicana. TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas, 23, e20200233. Epub 07 de octubre de 2020.https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.233.

Rodríguez Tobar, J. M., Burgos Carpio, B. A., Gonzalez Cedeño, W. R., & Acosta Farías, J. M. 2024. Harina de Yuca en la Alimentación de Alevines de Tilapia Roja (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*). Código Científico Revista De Investigación, 5(E4), 39–55. https://doi.org/10.55813/gaea/ccri/v5/nE4/460.

Romano, Nicholas. 2021.Chapter 5 - Probiotics, prebiotics, biofloc systems, and other biocontrol regimens in fish and shellfish aquaculture,Editor(s): Frederick S.B. Kibenge, Bernardo Baldisserotto, Roger Sie-Maen Chong, Aquaculture Pharmacology, Academic Press, Pages 219-242.

Romero, Talavera, Astrid & Alvarez, Moisés & Aquino Tacza, Armando & Torre, Ketty. 2023. Efecto de curcuminoides y carotenoides en el crecimiento y respuesta inmune de alevines de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*. Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar. 7. 10572-10586. 10.37811/cl_rcm. v7i2.6139.

Saini RK, Ranjit A, Sharma K, Prasad P, Shang X, Gowda KGM, Keum YS. Bioactive Compounds of Citrus Fruits: A Review of Composition and Health Benefits of Carotenoids, Flavonoids, Limonoids, and Terpenes. Antioxidants (Basel). 2022 Jan 26;11(2):239. doi: 10.3390/antiox11020239. PMID: 35204122; PMCID: PMC8868476.

Sampathkumar, Kaarunya & Yu, Hong & Loo, Joachim. 2023. Valorization of Industrial Food Waste into Sustainable Aquaculture Feeds. Future Foods. 7. 100240. 10.1016/j.fufo.2023.100240.

Sánchez. 2024. A novel fish meal-free diet formulation supports proper growth and does not impair intestinal parasite susceptibility in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) with a reshape of gut microbiota and tissue-specific gene expression patterns. Aquaculture, Volume 558,738362

Siddik MAB, Julien BB, Islam SMM, Francis DS. 2024. Fermentation in aquafeed processing: Achieving sustainability in feeds for global aquaculture production. Rev Aquac. 2024; 16(3): 1244-1265. doi:10.1111/raq.12894

Salazar-López, N. J. 2023. Residuos agroindustriales como fuente de nutrientes y compuestos fenólicos, EPISTEMUS, 17(34), pp. 60–69.

Sallam, GR, Abdel-Rahim, MM, Lotfy, A. 2025. El extracto de hoja de Moringa oleifera en la dieta a largo plazo de tilapia roja de Florida (*Oreochromis sp*.) mejora el rendimiento, la maduración inmunitaria y la reproducción en agua salada. Sci Rep 15, 20261. https://doi.org/10.1038/s41598-025-06881-2.

Shastak Y., Gordillo A., Pelletier W. 2023.Relación entre el estado de vitamina A y el estrés oxidativo en la producción animal. J. Appl. Anim. Res: 51:546–553. doi: 10.1080/09712119.2023.2239319.

Shehata H. R., Hassane B., Newmaster S. G. 2023. Real-time polymerase chain reaction methods for strain specific identification and enumeration of strain *Lacticaseibacillus paracasei* 8700:2. Front. Microbiol. 13:1076631. doi: 10.3389/fmicb.2022.1076631

Siddik MAB, Julien BB, Islam SMM, Francisco DS. 2024.Fermentación en el procesamiento de alimentos acuícolas: Logrando la sostenibilidad de los alimentos para la producción acuícola global. Rev Aquac: 16 (3): 1244-1265. doi: 10.1111 /raq.12894

Silva-Mendes, Dayse Glóriaa, Cuevas-Rodríguez, Breidy Lizethab; Zavala-Leal, Oscar Iramab; Corde- ro-Ramírez, Jesús Damián; Valdez-González, Francisco Javier. 2023. Efecto de la extrusión en semillas de mezquite y leucaena en dietas para juveniles de tilapia. Acta pesquera. DOI: https://doi.org/10.60113/ap.v9i17.9

Syed Makhdoom Hussain, Aumme Adeeba Bano, Shafaqat Ali, Muhammad Rizwan, Muhammad Adrees, Ameer Fawad Zahoor, Pallab K. Sarker, Majid Hussain, Muhammad Zubair-ul-Hassan Arsalan, Jean Wan Hong Yong, Adan Naeem.2024 Substitution of fishmeal: Highlights of potential plant protein sources for aquaculture sustainability, Heliyon, Volume 10, Issue 4. Pages 3-19.

Sulaiman, M. A., Nin, L. Y., Amin, S. N., Fotedar, R., Yusoff, F. M., & Moh, J. H. Z. 2025. Assessment of fruit waste as feed additives in aquafeed for growth performance and health benefits of fishes under biofloc technology. Reviews in Aquaculture, 17(2).

Van Doan, H.; Hoseinifar, S.H.; Tapingkae, W.; Seel-Audom, M.; Jaturasitha, S.; Dawood, M.A.; Wongmaneeprateep, S.; Thu, T.T.N.2020. Esteban, M.Á. Boosted Growth Performance, Mucosal and Serum Immunity, and Disease Resistance Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fingerlings Using Corncob-Derived Xylooligosaccharide and Lactobacillus Plantarum CR1T5. Probiotics Antimicrob. Proteins. 12, 400–411.

Yigit, N.O., E. Arafatoglu and S. Yasar. 2020. Effect ofPartial Replacement of Fish Meal with FermentedSoybean Meal on Growth, Feed Efficiency, BodyComposition, Amount of Lactic Acid Bacteria in Dietand Intestine in Carp (*Cyprinus carpio L*. 1758). Acta Aquatica Turcica 16:416-422.

Wang, Rui, Feng, Lei, Xu, Qiang, Jiang, Lu, Liu, Yize, Xia, Long Long, Zhu, Yong Guan, Liu, Beibei, Zhuang, Minghao, Yang, Yi. 2024. Sustainable Blue Foods from Rice–Animal Coculture Systems. Environmental Science & Technology doi: 10.1021/acs.est.3c07660.

Wangkahart, E., Nontasan, S., Phudkliang, J., Pholchamat, S., Sunthamala, P., Taesuk, N., & Khunrae, P. 2024. New insights into the effect of xylooligosaccharide derived from agricultural waste, single or combined dietary supplementation with mixed probiotics on growth, flesh quality, health condition and disease resistance in Nile tilapia (Oreochromis niloticus). Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, 7, 100471.

Wigraiboon, S., Panchan, R., Luang-In, V., Ounjit, W., Panase, P., Sookying, S., & Sutthi, N. 2024. Effects of Dietary Tuber Ethanolic Extract of Nut Grass (*Cyperus rotundus Linn*.) on Growth, Immune Response, and Disease Resistance in Nile Tilapia (Oreochromis niloticus). Animals, 14(3), 503. https://doi.org/10.3390/ani14030503.

Zhuo LC, Chen CF, Lin YH. 2021.Dietary supplementation of fermented lemon peel enhances lysozyme activity and susceptibility to *Photobacterium damselae* for orange-spotted grouper, Epinephelus coioides. Fish Shellfish Immunol. Oct: 117:248-252. doi: 10.1016/j.fsi.2021.08.015. Epub 2021 Aug 19. PMID: 34418556.

# Fructooligosacáridos Mejoran el Desempeño de Postlarvas *Penaeus vannamei en* Sistemas Productivos con Bioflóculos y Aguas Claras

C. Yulaine Corrales Barrios, Amilcar Arenal Cruz, Hector Cabrera Alarcón, Redimio Pedrasa Mendoza, Leonardo Martin Rios, Marbelis González Saloten, Jesus Omalis López Ortiz

Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz

Cuba, Email: yulainecorralesbarrios@gmail.com

## Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el desempeño zootécnico de post-larvas *Panaeus vannamei* como resultado de la administración de Fructooligosacárido (FOS 55) en sistemas productivos, con bioflóculos y de aguas claras. Para ello, se determinaron indicadores de crecimiento y desarrollo, actividad enzimática inmunológica y digestiva, además de análisis bacteriológico, de calidad del agua y valoración económico ambiental. La actividad enzimática específica estimulada en proteasas, lisozimas fenoloxidasa y lectina. La aplicación de FOS 55 mejoró significativamente todos los indicadores productivos en tanques y en el pienso (60 ml $kg^{-1}$), además redujo la carga de *Vibrio* spp 1,1 x $10^2$ ± 0,3 x $10^2$ ufc/ml. La actividad prebiótica del FOS 55, como fuente de carbono en bioflóculos y como prebiótico, mejoró el desempeño productivo de post-larvas (PL 2-8) *P. vannamei*. Los bioflóculos, con cero recambios de agua, mantuvieron los niveles de los compuestos nitrogenados por debajo de los valores tóxicos, además se logró una reducción del 50% en la aplicación de pienso comercial. EL FOS 55 incorporado a un sistema de bioflóculos propició ventajas socio-económicas y ambientales al reducir los gastos en electricidad por bombeo de agua, en 800,24 CUP por millón de post-larvas, y la disminución de la emisión de $CO_2$ a la atmósfera, en 132 t.

*Keywords*: fructooligosacáridos, *Penaeus vannamei*, Bioflóculos

## Introducción

Debido a los continuos brotes y la propagación de enfermedades en los sistemas de cultivo de camarones, es urgente identificar el efecto de los factores ambientales en la respuesta inmune de los camarones peneidos**.** Los prebióticos son suplementos metabolizados selectivamente por bacterias benéficas en el tracto digestivo y promueven la modulación dietética del microbiota intestinal, mejora así la salud animal, principalmente al estimular el crecimiento y la actividad de bifidobacterias y lactobacilos. Además, no generan dependencia ni impactos negativos en los organismos de cultivo ni en el medio ambiente (Bi, 2020). La activación de enzimas como la peroxidasa, la superóxido dismutasa y el sistema profenoloxidasa (proPO) puede iniciar varias respuestas inmunológicas (Martín *et al*., 2022). Además, otros tipos de mecanismos de reconocimiento celular y citotóxicos, como proteínas de coagulación, lectinas, péptidos, antimicrobianos, peroxinectinas, generación de especies reactivas de oxígeno, quinonas, opsonización, fagocitosis y nodulación, pueden estimularse para eliminar el patógeno. El sistema inmunológico de los camarones es descrito actualmente por cómo varían ciertos parámetros inmunológicos, por ejemplo, las actividades enzimáticas de enzimas cruciales vinculadas al sistema inmunológico, como la lisozima, la fenoloxidasa, la peroxidasa, la superóxido dismutasa y la lectina. El presente estudio determinó los efectos de la administración de FOS, en condiciones de acuicultura de aguas claras, en el crecimiento y la supervivencia, así como la respuesta inmune de las post-larvas de *Penaeus vannamei*.

El desarrollo de la camaronicultura depende de la eficiencia de la actividad productiva, con rentabilidad económica de forma amigable ambientalmente. Frente a estos retos, surgen opciones tecnológicas innovadoras que mejoran la eficiencia de los cultivos. La tecnología biofloc o los Sistemas Biofloc (BFT) requiere insumos externos, incluida una fuente de carbono exógena, para mantener la proporción adecuada de carbono / nitrógeno (C/N) necesaria para la producción microbiana (Avnimelech, 2009, Martín Ríos *et al*., 2022).
Las opciones innovadoras en la acuicultura mejoran la eficiencia en pro de su sostenibilidad ambiental, económica y social (Hernandez *et al*., 2018); convirtiéndolas en alternativas industriales que van de la mano con altas densidades de cultivo. Los bioflóculos disminuyen la utilización del agua y minimizan el espacio, con lo que se reducen los costos de

producción, y se garantiza un producto de mejor calidad a altas densidades de siembra (Hernández Mancipe *et al*., 2019).

La aplicación de BFT ofrece beneficios en la producción acuícola y podría contribuir para el logro de las metas del desarrollo sostenible que mantengan la salud de los camarones y aporten nutrientes. Sin embargo, la tecnología BFT está todavía en una etapa temprana y requiere de investigación para diseñar sistemas que conserven parámetros fisicoquímicos del agua además de mantener la salud del camarón más altos que los sistemas tradicionales (Mugwanya *et al*., 2021). Estas ventajas sumadas al incremento en los rendimientos, convierte a la BFT en una estrategia económicamente viable, ambientalmente sostenible y socialmente aceptable (Hernández Mancipe, 2019). Sin embargo, no existen experiencias previas de la incorporación de fructooligosacáridos como fuente de carbono en este tipo de sistema.

## Objetivo

Valorar el desempeño zootécnico de post-larvas *Penaeus vannamei* como resultado de la administración de Fructooligosacáridos (FOS 55) en sistemas productivos, con tecnología bioflóculos y de aguas claras.

## Materiales y Métodos:

### Ubicación y siembra

Las post-larvas (PL) obtenidas del centro de incubación Yaguacam se desarrollaron en el área de vivero de post-larvas de Cultisur en Santa Cruz del Sur. Se sembraron 1,5 millones de post-larvas de *P. vannamei* en el estadio 8 días (PL 8) en tanques rectangulares de cemento, con un volumen de agua de 60 $m^3$, el ensayo se realizó a escala productiva en condiciones normales de cultivo según la política de producción de la ECCAM.

El segundo momento de la investigación se desarrolló en el centro de desove y producción de post-larvas de Yaguacam. en el área de precría de post-larvas estadio dos-ocho (PL 2-8). Se sembraron 1,5 millones de post larvas de *P. vannamei* en tanques plásticos con un volumen de agua de 20 m3, el ensayo se realizó a escala productiva en condiciones normales de cultivo.

## Diseño Experimental

Es utilizado un diseño completamente al azar para 34 tanques (17 con tratamiento FOS 55 y 17 como grupo control). En el grupo experimental, el prebiótico (FOS 55) es homogeneizado con agua destilada estéril, luego mezclado con alimento comercial para camarones (35 % de proteína) mediante el método de aspersión (40 g de FOS 55 por kg de alimento). También se añadió FOS 55 al agua del estanque 1 $ml/m^3$ todos los días. El grupo control (sin tratamiento FOS 55) recibió el tratamiento acuícola estándar previamente establecido en el centro.

Fueron seleccionados aleatoriamente en una segunda etapa, 20 tanques de precría post-larvas (PL 2), 10 tanques tratados (BFT+FOS 55) y 10 tanques control aguas claras, el día antes de la siembra fue suministrado al agua un litro de FOS 55. Se sembraron 1.3 millones de PL en grupo aguas claras y 1.5 millones de PL en el grupo tratado, este último sin recambio de agua durante todo el cultivo. La alimentación fue cada dos horas, (12 veces al día) en los tanques de aguas claras, donde se suministró 22 g de pienso engorde comercial (EXIA PERFORM 40) y en los tanques tratados una vez al día con 500 L de BFT madurado 25 días, a las 8:00 am y solo seis alimentaciones de 22 g de pienso engorde. Se administró alimento comercial (EXIA PERFORM 40% proteína), en cantidades recomendadas por el fabricante, según estadio, 2-8 (fibra 8.0%, humedad 12.0%).

## Parámetros de cultivo

La temperatura mantuvo un rango entre 28 y 30 °C durante todo el experimento, salinidad a 30 ups, pH 7,8 y oxígeno disuelto a 5,00 mg/L a partir del tercer día de siembra de PL. Para el recambio de agua es reemplazado el 50% de cada tanque mediante un filtro (1 $mm^2$ de malla) acoplado a la salida de los tanques para eliminar los residuos sólidos y orgánicos. Los animales mantuvieron durante 15 días en estas condiciones (estadio PL 23). El alimento comercial (Malta Cleyton® 35% proteína, México), se suministró 12 veces al día en cantidades recomendadas por el fabricante; la composición del alimento fue: proteína (35,03%), grasa (9,04%), fibra (2,84%), agua (8,84%) y ceniza (6,09%).

## Recolección y conservación de muestras de camarones.

Para la recolección de muestras, 15 días después de iniciado el tratamiento, se tomaron tres muestras de camarones al azar de cada tanque, después de filtrar con una malla de nylon de 1 mm. Las muestras de camarón lavadas dos veces en solución salina tamponada con fosfato (PBS) a pH 7,4. La conservación de las muestras fue realizada en viales sin solución de conservación a −20 °C hasta su evaluación.

Se tomaron al azar aproximadamente 100 PL 8 de cada tanque, cultivadas en BFT- FOS55 y de aguas claras, previo filtrado con malla de nylon de 1 mm por vial de 1,5 ml. Las post-larvas maceradas en tubos de 1,5 mL, lavadas dos veces en solución salina tamponada con fosfato (PBS) a pH7,4. Las muestras conservadas en viales de 1.5 ml (Eppendorf, USA); se trituraron con un homogeneizador Polytron (Bioblock Scientific Francia) en 500 µl de H2Od y finalmente centrifugadas a 8000 × g durante 10 min y los sobrenadantes se almacenaron a -20 °C en viales nuevos de 1,5 ml, hasta ser analizados. Al sobrenadante de las muestras se le determinó la concentración de proteínas totales y las actividades enzimáticas de fenoloxidasa, superóxido dismutasa, peroxidasa y lisozima.

## Evaluación de la Calidad de las Post-Larvas.

La calidad de las post-larvas fue evaluada por la determinación de parámetros de desarrollo: longitud y peso. Lavadas con agua 20 post-larvas por tanque, secadas con papel filtro y pesadas en una balanza analítica (Sartorius, modelo 1205) con una precisión de ±0,1 mg. La longitud de las post-larvas fue determinada midiendo al microscopio desde la base rostral hasta el final del telson (±0,1 mm). Al final de cada bioensayo, se registraron los valores de supervivencia por tanque.

## Procesamiento de muestras.

Para procesar las muestras aproximadamente 100 PL 23 de cada tanque por vial de 1,5 ml las post-larvas fueron maceradas en tubos de 1,5 mL con 200 µL de PBS. Luego, es agregado

200 µL de PBS y se homogeneizaron en un vórtice. Los homogeneizados de las muestras centrifugadas a 8000 × g durante 10 min y el sobrenadante fueron almacenados a -20 °C en viales nuevos de 1,5 ml. La concentración de proteínas totales se determinó por el método de Bradford MM. El sobrenadante también se utilizó para determinar la presencia de lectinas en las larvas.

Análisis Bacteriológico.

Para la evaluación microbiológica de bacterias, presuntivamente del género *Vibrio spp*. se determinó el número de unidades formadoras de colonias (ufc) mL−1 (que crecieron en agar tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa (TCBS) en las muestras al final del experimento. Para determinar el número de ufc $mL^{-1}$ de bacterias en las larvas se tomaron 3 muestras por tanque con un promedio de 50 individuos en cada muestra. Las larvas se desinfectaron con cloruro de benzalconio al 0,1% y se lavaron con $H_2O$ destilada estéril para eliminar las bacterias externas. Los organismos completos se maceraron con un homogeneizador (Wiggenhauser, D- 130, Selangor, Malasia) en 500 µL de PBS estéril. Se realizaron diluciones seriadas de 1:10 para las muestras maceradas. Se sembró una submuestra de 10 µl de cada dilución en las placas TCBS. Todas las placas se incubaron a 28 °C durante 24 a 48 h.

Resultados y Discusión.

Los prebióticos como aditivos orgánicos derivados de ingredientes naturales como el alginato, la inulina y varios oligosacáridos. En la acuicultura, tanto los FOS dietéticos como los FOS de cadena corta (scFOS), han ganado mucho interés debido a sus factores promotores del crecimiento en varias especies acuáticas, incluida *P. vannamei*. Además, es utilizado como únicas fuentes de carbono para evaluar el crecimiento, la longitud y el peso de camarones de edad similar, en relación con su composición bacteriana intestinal Mustafa *et al. (*2019) confirmaron que el peso, la longitud y la supervivencia están relacionados con la administración de prebióticos y el cambio en la composición del microbiota intestinal.
Los prebióticos pueden ser metabolizados por bacterias beneficiosas del género

*Lactobacillus* y por *Bifidobacterium*, que producen ácidos grasos de cadena corta (scFA) y lactato, sin embargo, el efecto de los prebióticos sobre el crecimiento y la ganancia de peso de los camarones es controvertido en la literatura. Mientras que informaron un mayor crecimiento en *P. vannamei*, otros informes no encontraron un aumento significativo en el crecimiento y la supervivencia de *P. vannamei* alimentados con fructooligosacáridos incluidos en la dieta. Por lo tanto, el efecto de los prebióticos en el rendimiento del crecimiento de las especies acuáticas puede ser ambiguo porque algunos estudios con peces no describen mejoras positivas en el rendimiento del crecimiento con los suplementos dietéticos de prebióticos.

En estudios sobre el efecto de la suplementación con scFOS en la microbiota benéfica del tracto digestivo del camarón blanco, no mejoraron la ganancia de peso, la conversión alimenticia o la supervivencia del camarón. Por otro lado, el análisis realizados mostraron que la suplementación con scFOS en la dieta en concentraciones del 0,4% mejoró la tasa de crecimiento y la supervivencia; y estimuló el crecimiento bacteriano y las enzimas inmunitarias.

En este estudio se obtuvieron resultados similares, con la única diferencia de que FOS 55 también es administrado directamente en el agua durante 21 días (Figura2). Existen diferencias significativas en tanques tratados con FOS 55 en comparación con el control sin FOS 55. Los animales tratados con FOS 55 eran más pesados y grandes que el control. Sin embargo, no existen informes sobre el efecto de estimulación del crecimiento o la respuesta inmunitaria de los FOS 55 cuando son administrados directamente en el agua. Quizás uno de los posibles efectos de este prebiótico sea indirecto sobre el microbiota intestinal debido a los microorganismos estimulados en el agua por FOS 55.

A B

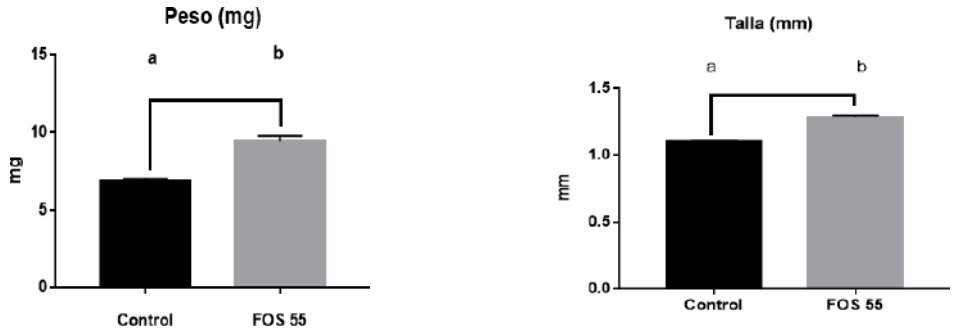



Figura 2. Efecto del FOS 55 en los pesos y las tallas en PL *Penaeus vannamei* tratadas con FOS 55. (n = 340) y los grupos de control (n = 340). Se dan el peso (A) y la longitud (B). Los datos representan la media ± SEM (error estándar de la media) y las barras T indican la SEM ($p < 0,001$, prueba t de Student).

Al analizar los resultados obtenidos (Figura 3), es evidente una mejor supervivencia en el grupo donde es administrado FOS 55, en comparación con el grupo control. Sin embargo, aplicaron este prebiótico a *P. vannamei* durante 35 días de cultivo y no fueron observadas diferencias entre los grupos experimentales en cuanto a supervivencia; el mismo resultado ocurrió cuando otros investigadores usaron este diseño experimental, pero con galactooligosacáridos (GOS). Por el contrario, se ha observado, una mayor tasa de supervivencia al usar miel como prebiótico en *P. vannamei.*

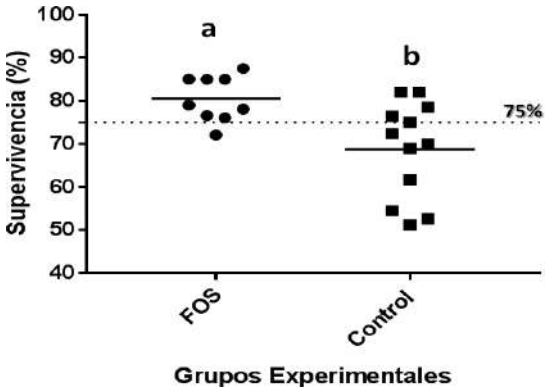



Figura 3. Efecto del FOS 55 en la supervivencia de los tanques. Transformación de escala {arcsen (P/100)1/2)} Letras diferentes, diferencias significativas (p≤0,05) (Prueba t). Supervivencia de post-larvas de *P. vannamei*. Las barras representan la mediana en el control (n = 17) y los grupos tratados con FOS (n = 17) (p <0,001, prueba U de Mann-Whitney). Las barras T indican el rango.

La alta actividad de la fenoloxidasa mejoró la capacidad del camarón blanco del Pacífico para reconocer entidades extrañas que ingresan a sus cuerpos por una mejor respuesta inmune que protegería a los camarones contra las infecciones por patógenos (Li *et al*., 2017) informaron que FOS 55 aumentó la actividad de la fenoloxidasa o la superóxido dismutasa y puede influir positivamente en la tasa de supervivencia de *P. vannamei*. En el experimento, los animales tratados con FOS 55 mostraron valores de actividad de fenoloxidasa superiores al grupo control no tratado (Figura 4). De manera similar, Safari *et al*. (2014) informaron que la administración de FOS puede estimular la tasa de proliferación de hemocitos, ya que un aumento en el número de hemocitos explica la alta actividad de la fenoloxidasa, principales productores de esta enzima.

a b

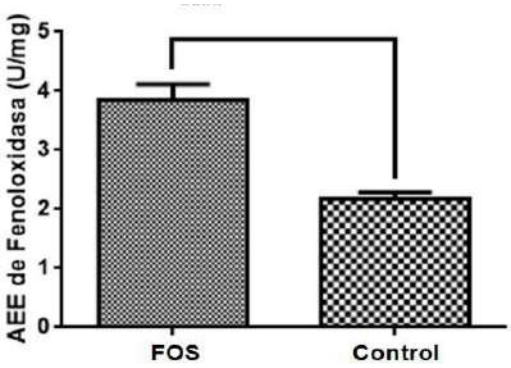



Figura 4. Valor del efecto del FOS 55 en la actividad específica de la enzima de fenoloxidasa. (media ± D) en los animales tratados con FOS 55 (n=17) y en el control (n=17). Letras diferentes muestran diferencias significativas p<0,001 (Prueba t). La barra T indica la desviación estándar.

A partir de los resultados actuales, la actividad de SOD entre los grupos experimentales no mostró diferencias significativas (grupo de control 0,88 ± 0,06 U/mg y grupo FOS 0,95 ± 0,08 U/mg). Puede deberse a que, en ambos grupos, los estados fisiológicos no estuvieron expuestos al estrés. Sin embargo, no coincide con lo obtenido por (Hu *et al.*, 2022), mostrando que la forma de administración de los FOS 55 dentro de la dieta puede tener efectos que dependen de la concentración de FOS 55 y otros factores ambientales. Se ha discutido que las actividades de SOD mejoradas por los prebióticos parecen depender de la dosis. Sin embargo, el manano y los fructooligosacáridos fueron capaces de estimular la SOD en los cangrejos de río, observándose mayores actividades de SOD para la combinación de ambos prebióticos. Por lo tanto, se necesita más investigación para resolver el efecto de los FOS en la respuesta antioxidante de las especies cultivadas.

Existen dos miembros de la familia de la superóxido dismutasa en los invertebrados Cu/Zn ($SOD_1$) y Mn ($SOD_2$). Además, se sabe que factores ambientales como la hipoxia y las altas temperaturas pueden estimular la expresión de $SOD_2$ en camarones. Sin embargo, la expresión de $SOD_1$ es continua, porque su expresión es constitutiva. Aunque la expresión de $SOD_2$ aumenta más rápido frente a patógenos, ambas enzimas ($SOD_1$ y $SOD_2$) aumentan su expresión ante el desafío contra patógenos (Mustafa *et al.* 2019).

La superóxido dismutasa posee la capacidad de disminuir los aniones superóxido, que están en el agua y el peróxido de hidrógeno. La SOD extracelular coopera en la destrucción de los

parásitos ingeridos o encapsulados durante el estallido respiratorio generado con la fagocitosis (Mustafa y Jaradat, 2020). El sistema antioxidante es utilizado con frecuencia como indicador potencial del estrés oxidativo en organismos marinos. Los descubrimientos relacionados con la actividad celular de la SOD muestran que juega un papel crucial como modulador de la respuesta inmune. Esta distribución está estrechamente relacionada con la función antioxidante y encuentra niveles más altos en los lugares donde es producido el estallido respiratorio, lo que confirma su papel en la prevención y eliminación del daño oxidativo.

La administración de FOS en el camarón de agua dulce *Macrobrachium acanthurus* no afecta la actividad de la lisozima, en comparación con el control en alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Por el contrario, los resultados del presente estudio mostraron una estimulación de la actividad de la lisozima en el grupo tratado con FOS 55 en comparación con el grupo de control no tratado (Figura 5). Por otro lado, otras investigaciones mostraron resultados similares a este estudio. Con el prebiótico β-1,4-manobiosa aumentaron expresión de lisozima; dentro de sus investigaciones, el aumento en el número también verificó la circulación de hemocitos en la hemolinfa, específicamente hemocitos granulares. Este aumento en el número de hemocitos granulares, los principales productores de lisozima en camarones, podría explicar el aumento en la actividad de lisozima en el experimento actual.

Estudios previos han demostrado que la suplementación de manano oligosacárido y FOS en un cangrejo de río juvenil de garras estrechas conduce a una mayor actividad de las lisozimas. observaron una mayor actividad de la lisozima cuando se combinaron ambos oligosacáridos, en comparación con las suplementaciones individuales.

También es verificada la circulación de hemocitos en la hemolinfa, específicamente hemocitos granulares. Este aumento en el número de hemocitos granulares, los principales productores de lisozima en camarones, podría explicar el aumento en la actividad de lisozima en el experimento actual. Estudios previos han demostrado que la suplementación de manano oligosacárido y FOS en un cangrejo de río juvenil de garras estrechas conduce a una mayor actividad de las lisozimas. Estos autores observaron una mayor actividad de la lisozima cuando son combinados ambos oligosacáridos, en comparación con las suplementaciones individuales.

a b

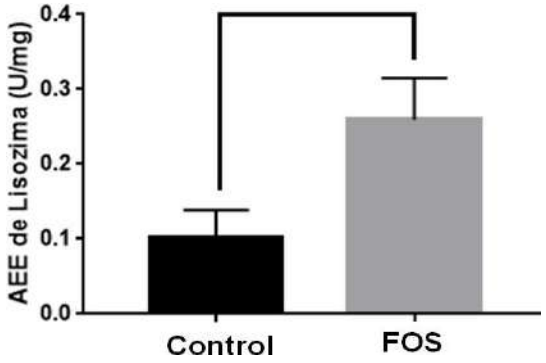



Figura 5. Efecto del FOS55 en el valor de la actividad específica de la enzima lisozima. (media ± DE) letras diferentes existe diferencias ($p<0,05$) en grupos control (n=17) y grupos tratados con FOS (n=17). La barra T indica la desviación estándar de los valores de actividad enzimática específica de lisozima. (Media- 0,1011± 0,1586; DE- 0,03922 ± 0,07142; EE- 0,01132 ±0,02062; IC- Límite inferior 0,07618± 0,1132 Límite superior 0,126 ±0,204; Coeficiente de variación- 38,79% 45,03%),

Es importante resaltar las diferencias en la metodología utilizada aquí, que constituye la primera determinación del efecto de FOS 55 administrado en agua sobre la actividad de la lisozima. La inducción de la expresión de lisozima está ligada a varios factores bióticos y abióticos. La exposición a *Vibrio anguillarum* o *Micrococcus lysodeikticus* induce una regulación positiva significativa de la expresión del gen de la lisozima, sin cambios en el recuento total de hemocitos. Además, incluso cuando el estrés por temperatura no cambia, el perfil de expresión de la lisozima (Song *et al*.,2014) es afectado por parámetros de cultivo como la composición de la dieta y el pH. Por tanto, es necesaria una investigación exhaustiva para estudiar el número de hemocitos en estas condiciones de cultivo, así como su expresión de lisozima.

Las lectinas son proteínas que desempeñan un papel en la reacción del receptor de reconocimiento de patrones (PRR) en los invertebrados y reconocen la totalidad o parte de las moléculas de azúcar. Según Song *et al*., (2014) los prebióticos como FOS 55, manano oligosacáridos, inulina y β-glucano también es clasificada como inmunosacáridos, lo que podría mejorar directamente respuestas inmunitarias no específicas, a través de interacciones con los receptores de reconocimiento de patrones. Además, las bacterias beneficiosas en los intestinos pueden interactuar con el tejido linfoide asociado al intestino (GALT), lo que

podría estimular el sistema inmunitario y mejorar la capacidad del huésped para prevenir infecciones (Wang *et al.*, 2020).

La capacidad de hemaglutinación del grupo tratado con FOS 55 fue mayor ($p < 0,001$) en comparación con el grupo control (Figura 6). Así, los resultados del estudio muestran que la adición de FOS 55 directamente en el agua mejora los parámetros de respuesta inmune en el reconocimiento bacteriano. Esto podría deberse a que los componentes de carbohidratos de la pared y la membrana celular bacteriana se unen a los receptores de lectina en los camarones, lo que podría mejorar directamente los parámetros del sistema inmunológico de los camarones, como la fenoloxidasa y la lisozima. Se encontró que estas enzimas experimentaron un aumento significativo en su actividad en los tanques tratados con FOS 55, en comparación con los no tratados. Ambos se sintetizan en los hemocitos sobre patrones de reconocimiento de patógenos a través de una interacción con lectinas en la superficie de los hemocitos. Además, una mayor estimulación de las células de defensa, debido a un aumento en el crecimiento de bacterias benéficas en los medios de cultivo, podría inducir una sobreexpresión de lectinas en los tanques tratados con FOS 55 (Wang *et al.*, 2020).

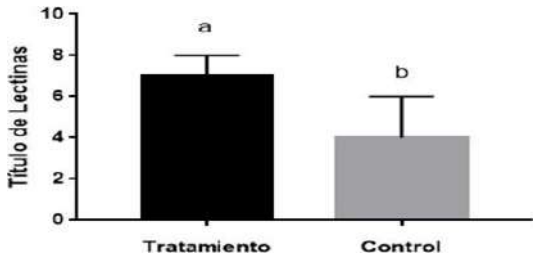



Figura 6. Efecto del FOS 55 en el título de hemo precipitación de eritrocitos de conejo con lectinas de larvas de *P. vannamei.* (mediana ± rango) ($p<0,0001$) en grupos control (n=17) y grupos tratados con 1-kestosa (FOS) (n=17) (Prueba Mann Whitney). La barra T indica el rango de los valores de títulos reportados**.**

La acción de los FOS 55 sobre el sistema inmunológico es indirecta, a través de la estimulación selectiva del crecimiento o actividad de algunas bacterias intestinales. El efecto protector de estos microorganismos, se realiza mediante dos mecanismos: el antagonismo que impide la multiplicación de los patógenos y la producción de toxinas que imposibilitan su acción patogénica. Este antagonismo está basado por la competencia por los nutrientes o los sitios de adhesión. Así, mediante la inmunomodulación, protegen dichos

microorganismos protegen al huésped de las infecciones, incrementando la producción de inmunoglobulinas, y la activación de las células mononucleares y de los linfocitos.

Al comparar el comportamiento de la actividad enzimática específica de las proteasas en este estudio (Figura 7), se evidencia que la respuesta obtenida en el grupo tratado con FOS 55 fue superior, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$). Encontraron que el uso de miel de abeja estimula las enzimas digestivas, como las proteasas, debido a la concentración de oligosacáridos prebióticos en la miel.

Diferentes estudios (Wang *et al*., 2007) respaldan la capacidad de algunos oligosacáridos para estimular las amilasas, en este estudio no hubo estimulación de la actividad de la amilasa usando el prebiótico FOS 55 (grupo control 0,74 ± 0,09 U/mg y grupo FOS 0,65 ± 0,07 U/ mg).

La suplementación con oligosacáridos de manano y FOS en las dietas de cangrejos de río juveniles da como resultado una mayor actividad de las amilasas (Liu, 2007, Safari *et al*., 2014,). Estos autores demostraron que la combinación de ambos oligosacáridos da como resultado una actividad de amilasa aún mayor. Recientemente, se estimuló la actividad de la amilasa en *P. vannamei* utilizando una dieta que contenía 0,5 % de FOS 55. Sin embargo, en ese estudio, el FOS pareció conducir a algunas anomalías hepatopancreáticas, como células *B hipertrofiadas* (Chen *et al*., 2017). Recientemente, se estimuló la actividad de la amilasa en *P. vannamei* utilizando una dieta que contenía 0,5 % de FOS (Wee *et al*., 2022).

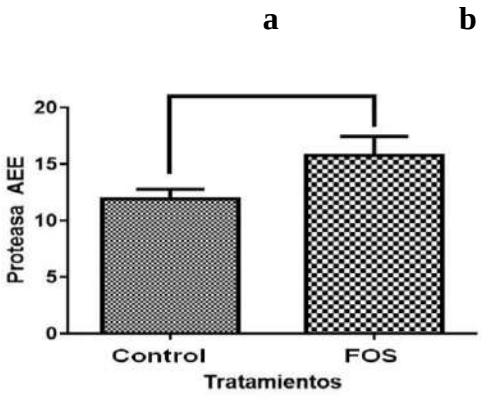



Figura 7 Efecto del FOS 55 en el valor de actividad específica de la enzima Proteasa. Letras diferentes indican diferencias significativas (p‹0,05) entre el grupo control (n=17) y tratado con FOS 55 (n=17) según la prueba t de Student. Las T indica los valores del valor estándar.

La Figura 8 muestra los valores obtenidos ufc/mL en agar TCBS para potenciales patógenos oportunistas. Se observaron cambios en la microbiota al aplicar el prebiótico FOS 55, con reducción de *Vibrio spp*., en comparación con el grupo control (control 2,4 x $10^3$ ± 0,5 $10^3$ ufc/ml; FOS 1,1 x $10^2$ ± 0,3 x $10^2$ ufc/ml). Hubo diferencias significativas entre el grupo tratado respecto al control, resultados también obtenidos por Mustafa y Jaradat, (2020) quienes avalan la capacidad de los fructooligosacáridos para modificar las comunidades microbianas y que pueden suprimir o mejorar el crecimiento de bacterias específicas para favorecer una fisiología saludable de post-larvas de camarón *P. vannamei.*

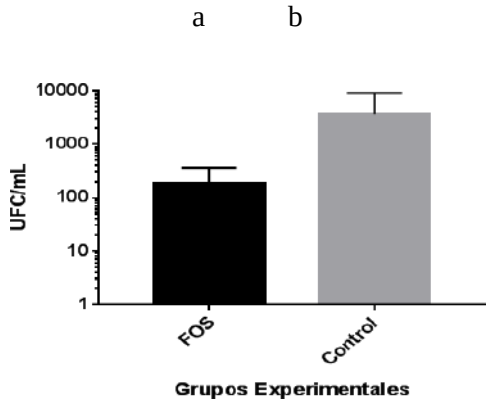



Figura 8. Efecto del FOS 55 en los valores del análisis bacteriológico. Las barras indican los valores obtenidos en el grupo control (n=17) y el grupo tratado con FOS 55 (n=17) p‹ 0.05, según la Prueba t de Student**.**

Los resultados del estudio actual sugieren que FOS 55 no solo puede cambiar las poblaciones. del microbiota intestinal, en particular, una reducción significativa de *Vibrio spp.* puede crear también, una asociación positiva con el microbiota intestinal y las células del tracto digestivo. Por lo tanto, mejora el rendimiento fisiológico y estimula el sistema inmunológico innato de las post-larvas de camarón *P. vannamei*.

Estudios previos han demostrado que la suplementación con oligosacáridos en el agua de cultivo de los animales confiere beneficios para la salud (Wang *et al*., 2007). De igual forma otros autores, han demostrado que pequeñas moléculas (GHRP- 6) añadidas al agua de cultivo de camarón y tilapia pueden mejorar su sistema inmunológico y su crecimiento. Demostraron que, en una hora, las moléculas alcanzan los niveles más altos en el animal objetivo. De acuerdo con esos resultados, puede plantearse la hipótesis de que los FOS 55 pueden seguir la misma ruta después de su suplementación en el agua. Sin embargo, son necesarios más estudios para corroborar su mecanismo de entrada al huésped y su efecto sobre todo el microbiota del huésped y del agua del estanque.

La calidad del agua es un factor fundamental en la acuicultura, por la influencia que ejerce sobre, el crecimiento y supervivencia del cultivo. Por tanto, es importante para todos los sistemas de producción, la disponibilidad del agua con calidad. Determinar estos parámetros en BFT, garantiza la aplicación de prácticas de manejo exitoso, su seguimiento permite aplicar correctivos en el sistema.

Durante el experimento; la temperatura, oxígeno disuelto, salinidad y pH, presentaron valores similares, la temperatura estuvo entre 28 y 30 °C, la salinidad de 32 a 34 ppm, el pH entre 7.8 y 8.1 y el OD de 6.00 a 7.00 mg/l. En este sistema, no se presentaron descensos de oxígeno disuelto, que afectara el crecimiento, ni la supervivencia de las post-larvas. En el análisis estadístico realizado las pendientes en este estudio, las PL mantuvieron en el ciclo las condiciones que fueron descritas para el cultivo del camarón *P. vannamei*.

La aplicación de BFT-FOS 55 mejoró la calidad del agua y originó una alta respuesta productiva, en todos los tanques de tratamientos, mientras que, en los tanques de aguas claras, hubo que realizar recambio de agua diario al 50 %, para mantener las condiciones estables y concentraciones que no afectaran la salud de las post larvas, esto representa mayor gasto de energía por bombeo de agua. Las pos-larvas del BFT mostraron mayor crecimiento (figura 9) respecto al control. El crecimiento y supervivencia del camarón son afectados

directamente por las condiciones climáticas o indirectamente por el manejo del cultivo (densidad de siembra, alimento utilizado, tasa de alimentación, tasa de recambio aplicación de probióticos y prebióticos), aspectos que son necesarios para lograr que el cultivo de camarón sea exitoso. También asegura que la temperatura como factor climático puede afectar la tasa de crecimiento de las larvas y post-larvas.

Las relaciones carbono-nitrógeno mayores de 10:1 estimulan la proliferación de comunidades heterótrofas (Avnimelech, 2009). Esto también coincide con la presente investigación, en que se aplicó una relación C: N 12:1. La adición de carbohidratos da lugar a que las bacterias nitrificantes oxiden el amonio a nitrito, y este mismo a nitrato (Avnimelech, 1999). La relación entre el amonio y el amoniaco se estima por el pH; a mayor pH, los niveles de amoniaco aumentan.

Los sólidos sedimentables (SS) se encuentran en suspensión dentro de un período definido, por lo cual está relacionado con el volumen de flóculos. Demostraron que su tamaño determina la composición nutricional de estos y la recuperación de nitrógeno, mediciones similares. Los compuestos de nitrógeno inorgánico, en particular, en su estudio, expuso a juveniles de *Farfantepenaeus brasiliensis* a concentraciones subletales de toxicidad crónica del amoníaco, nitrito y nitrato, correspondientes a los niveles seguros para la especie, solo es afectada la salud a una exposición prolongada, (Alves *et al.*, 2019), puede aumentar según el comportamiento del pH, siendo la forma química más tóxica para el camarón.

Las fuentes de carbono libre estimulan la mayor ingesta de amoníaco por parte de los microorganismos en los sistemas BFT. El consumo permite la disminución de la concentración de amoníaco (Wei *et al*., 2020, Abakari *et al*., 2021). Para mantener los niveles normales de nitrato, nitrito, amonio por debajo de los valores letales se realiza recambio del agua un 50 %, en aguas claras. Sin embargo, con el empleo de la BFT+ FOS 55, se obtuvieron resultados muy similares al grupo aguas claras, sin recambio de agua durante el cultivo. Este sistema mantuvo los niveles por debajo de los tóxicos 20 mg/l para el camarón, indica que hubo control del nitrógeno, por los microorganismos nitrificantes originalmente presentes en el inóculo o asociados a los bioflóculos durante el experimento (Figura 9).

Resultados que coinciden con estudios reportados por Abakari *et al*. *(*2021), en que el mantenimiento de una calidad óptima del agua para las especies de cultivo, está en el mantenimiento de la relación C/N en los procesos. Lo que incluye el desarrollo de bioflóculos

nutritivos, la reducción de la concentración de nitrógeno amoniacal total (TAN) y, finalmente, la mejora de la calidad del agua (Panigrahi *et al*., 2020).

Otras fuentes de carbono, como la glucosa, el glicerol, el acetato melaza y almidón, se utilizan comúnmente como sustratos carbonosos en sistemas BFT para controlar la relación C/N (Abakari *et al.*, 2021). También reporta que la adición de cantidades adecuadas de carbono orgánico (melaza, azúcares simples, salvado) estimula el crecimiento bacteriano heterótrofo, que coincide con Wei *et al*. (2020).

El BFT mantuvo una buena calidad del agua cuando se utilizaron altas densidades de siembra de PL, lo que sugiere que los bioflóculos, además de establecer condiciones favorables en la calidad del agua, favorece el crecimiento en sistemas de cultivo sin intercambio de agua; al igual que los estudios, que, a su vez, establece un efecto de estimulación sobre las actividades de las enzimas del sistema inmune y digestiva.

Los resultados demuestran que la implementación del sistema de bioflóculos generados en los tanques, con alta oxigenación y enriquecido con FOS 55 como fuente de carbono, ejerce un control sobre la calidad del agua, que permite la producción de proteína bacteriana, de excelente calidad y de mayor aprovechamiento para los camarones.

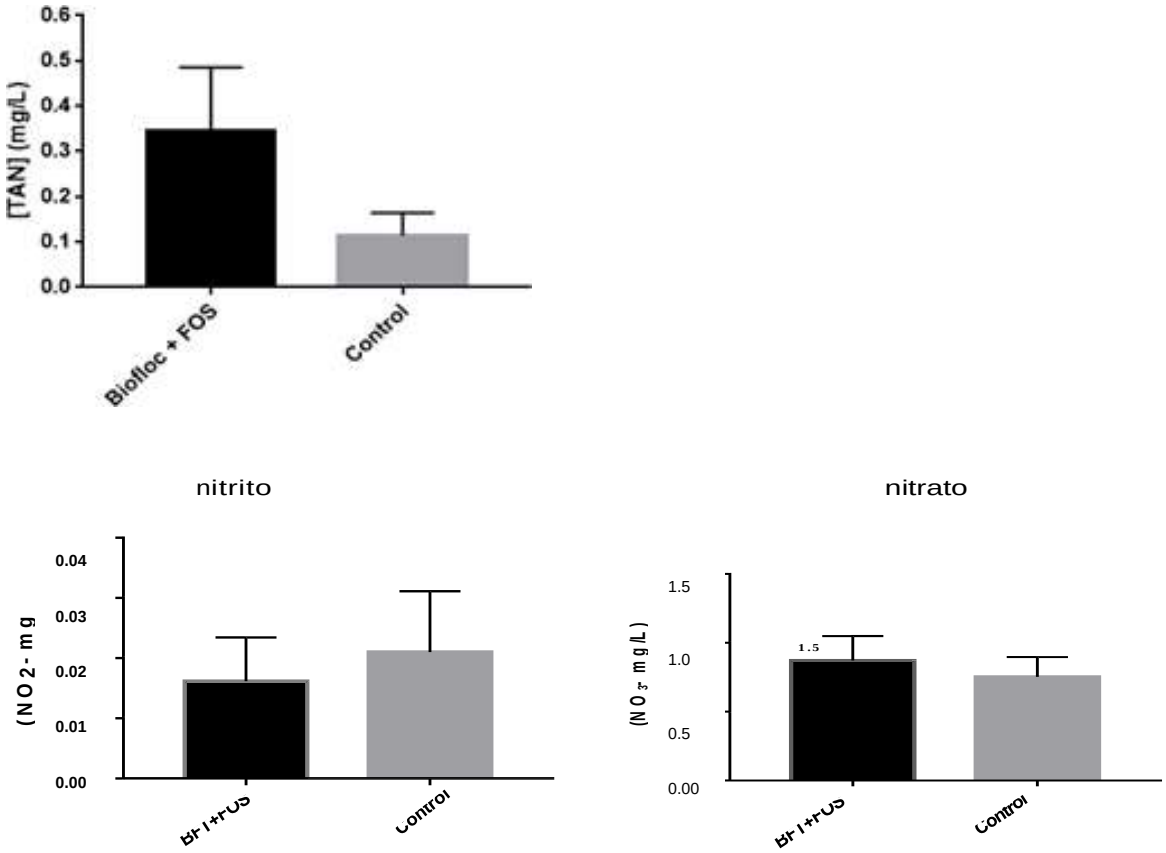



Figura 9: Efecto del BFT en la determinación de amonio. TAN Nitrógeno amoniacal total. Nitrito y Nitratos. (n =10) aguas claras y (n= 10) tratados con BFT+ FOS 55. Las barras representan el valor de la media ± error estándar.

Las concentraciones de nitritos y nitratos también disminuyeron, con la implementación de BFT con FOS 55, esta reducción en la concentración pudiera deberse a un nivel más bajo de amoníaco en los tanques de cultivo. Demostraron que las comunidades heterótrofas también tienen un nivel más bajo de estabilización de amoníaco durante el tiempo experimental, establecidos con los BFT maduros que a su vez mantienen un microbiota intestinal saludable y aumenta su resistencia a *Vibrio spp*..

Presentan calidad proteica, en cuanto a su composición aminoacídica, sirven de suplemento al alimento balanceado para el cultivo. 36.53 % de proteína cruda, esto indica que los bioflóculos aportan a las post-larvas, los nutrientes necesarios para su desarrollo.

Los BFT son ricos en lípidos (ácidos grasos saturados, ácidos grasos insaturados y ácidos grasos volátiles), vitaminas y minerales. Oscilan entre 1,2 % y 9 %, en la mayoría de los

casos, con contenido protéico. Los bioflóculos pueden compensar la reducción de los niveles de lípidos. En relación a esto, se afirma que contienen una mejor concentración de proteínas y aminoácidos, por tanto, constituyen el impacto de fuentes alternativas de proteínas y lípidos para la cría de camarones. Sin embargo, existen pocos estudios al respecto.

Los mecanismos de filtración de los bioflóculos en suspensión, reduce los costos de inversión, esto constituye reciclar los nutrientes, heces y materia orgánica disponibles en el medio acuático, aunque son inferiores a 38.41 % de proteína bruta y 43 %. En tanto, el aporte en lípidos fue bajo al comparar con 2.6 % encontrado y 7.5 % informado, el porciento de proteína puede variar estos autores también coincidieron el peso seco del contenido de proteína puede variar de 25 a 50 %, aunque lo más común es entre 30 y 45 %. El contenido de grasas varía de 0.5 a 10 % y el rango más común se encuentra entre 1.0 a 5 %.

Los BFT mejoran la tasa de ingestión, digestión, absorción y asimilación de los alimentos comerciales. De hecho, mejora la ingesta en camarones y por tanto el peso, con un crecimiento semanal de 2,8 y 3,4 veces más en comparación con los animales criados en sistemas de producción tradicionales. Resultados similares obtuvieron en la mejora la eficiencia de utilización de proteínas y el rendimiento del crecimiento con bioflóculos pero en el cultivo de la tilapia del Nilo.

La reducción del factor de conversión en BFT se debe a diferentes condiciones que llevan a cabo esta tecnología, como la relación C:N, e incluso está muy relacionada con el tamaño de las partículas, lo que da como resultado una gran diversidad de estados nutricionales de un estudio a otro.

Los parámetros de desarrollo en el cultivo, después de los siete días de cultivo se realizó el análisis del crecimiento específico. Las post-larvas mostraron un incremento entre los pesos promedios finales, por tanto, diferencias estadísticamente significativas ($P<0.05$) entre las tasas de crecimiento específico de las post-larvas alimentados con BFT-FOS 55, respecto a aguas claras. Los parámetros indican que los animales criados con el sistema BFT (figura 10) pueden consumir fácilmente los bioflóculos como fuente de alimento natural o sustituto parcial de las dietas.

Se plantea que los bioflóculos son fuentes de proteínas alimentarias y su consumo por las post-larva puede mejorar significativamente su rendimiento, crecimiento y longitud, la tasa

de supervivencia, la actividad de las enzimas digestivas y el sistema inmunitario. Al final del experimento se pesaron las post- larvas en cada tanque.

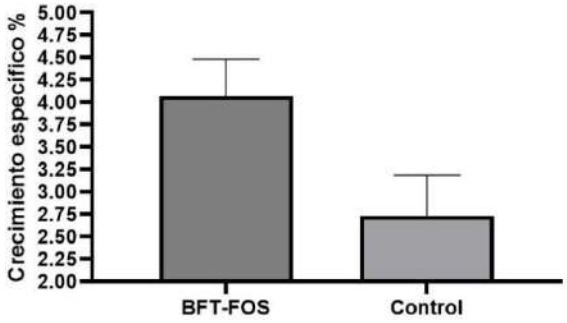



Figura 10 Efecto del BFT en la evaluación de la calidad de las post-larvas de *Penaeus vannamei* tratadas con BFT- FOS 55. (n=10) y los grupos de control (n=10). Se da el crecimiento específico. Los datos representan la media ± SEM (error estándar de la media) y las barras T indican la SEM ($p < 0,001$, prueba t de Student).

Se reporta óptimos resultados al establecer correctamente el momento del día en que, el camarón se encuentra fisiológicamente preparado para aprovechar el alimento. Por esta razón usar frecuencias de alimentación cercanas a los picos de actividad enzimática y en cantidades acordes al estadio, permitirán obtener un máximo aprovechamiento del alimento.

En relación con la supervivencia, se obtuvo un resultado del 95%. Durante el experimento, la supervivencia de las post-larvas fue mayor en los tanques tratados con población de 11,5 millones, resultados similares a los obtenidos, por Rezende *et al. (*2019), quienes reportaron que hubo una tasa de superviviencia superior en menores densidades y la calidad larvaria no fue diferente entre los tratamientos, sólo a través de la observación. Todas las larvas eran activas (alta actividad natatoria). Las larvas tenían reservas de lípidos, color normal el hepatopáncreas e intestinos llenos. La supervivencia al estrés por salinidad y el peso final no difirieron estadísticamente entre los grupos, lo que difiere en este estudio, la calidad de las larvas fue diferente entre los grupos experimentales.

La supervivencia de las post-larvas se muestra en la (Figura 11). No hubo diferencias ($p > 0,05$) entre las post-larvas tratadas con bioflóculos mejorados con FOS 55, respecto a las post-larvas criadas bajo sistema productivo tradicional. Sin embargo, presentaron una menor mortalidad, esto indica que no se produjeron durante ciclo del cultivo sustancias tóxicas que provocaran mortalidad en los animales. Resultados similares fueron obtenidos por otros

autores que tuvieron un 84,97% en sistemas sin recambio de agua.

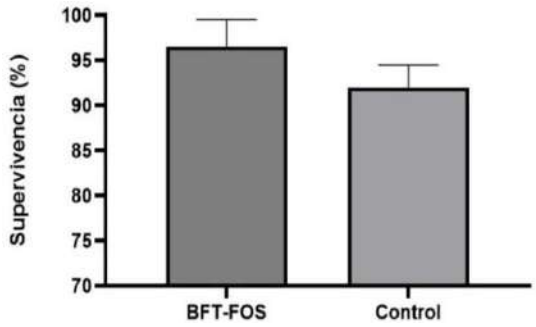



Figura 11: Efecto del BFT en la supervivencia de los tanques. Supervivencia de post-larvas de *P. vannamei*. Las barras representan la mediana en el control aguas claras (n = 10) y los grupos tratados con BFT-FOS (n = 10) (p <0,001, prueba U de Mann-Whitney).

En la presente investigación los resultados del comportamiento zootécnico de los animales fueron más altos que los tradicionales del cultivo del camarón, según registros Empresa Camarón ECCAM. Es necesario tener en cuenta que la supervivencia depende del tiempo de cultivo a lo largo de los estadios.

La implementación de BFT directamente en el rendimiento del camarón a través del análisis de parámetros de supervivencia, constituye una posible estrategia para mejorar el mismo en los camarones, y así mejorar la capacidad para digerir los alimentos y responder a patógenos externos e internos. Los microorganismos presentes en los bioflóculos actúan como factores estimulantes del sistema inmune y del crecimiento.

El BFT influye en la disminución del número de organismos patógenos, debido a la competencia que se establece entre los microorganismos beneficiosos que mejoran los flóculos en los sistemas controlados y favorece su rendimiento fisiológico.

A nivel mundial los productores de camarones están interesados en implementar nuevas tecnologías, para mejorar el rendimiento productivo y disminuir las enfermedades en las prácticas convencionales, los bioflóculos constituyen una opción. Pocos estudios abordan la rentabilidad económica que proporciona el uso de Bioflóculos, aspecto que limita la toma de decisiones para su utilización.

En el presente trabajo se realizó un análisis económico –ambiental sobre la base de la

modificación en el sistema productivo con la aplicación de la tecnología BFT. En aguas claras se observa un total de 52036,04 CUP, en materias primas e insumos y en BFT hubo un total de 52076,04 CUP. Existe una diferencia más en el BFT por la incorporación del FOS 55 por millón de post-larvas para los tratamientos.

Los resultados de electricidad en aguas claras fueron de 2588,23 CUP y en BFT de 1747,95 CUP. Se evidencia una reducción de electricidad por bombeo de agua de 40 CUP ahorrados por millón de post-larvas. En relación con las materias primas e insumos hubo una reducción de 840,24 CUP con la aplicación de BFT, lo que implica al año 500 mil CUP en ahorro de energía en el centro de desove, de 168055,56 kW-h menos de consumo en el año, esto equivale a 300 barriles de petróleo para producir esa cantidad de energía y se dejan de emitir a la atmósfera 132 t de $CO_{2.}$ lo que representa un ahorro en la disminución de los costos al compararlos con el sistema convencional.

Las BFT representan importantes alternativas de inversión, por la reducción de costos. Además, se pueden desarrollar BFT inducidos que mantengan la salud y que aporten nutrientes al camarón, producen un impacto ambiental y social positivo. En este estudio específicamente se demostró por primera vez que la adición de FOS 55 como fuente de carbono en un sistema BFT, es ambiental y económicamente sostenible para el cultivo de post-larvas *P vannamei.*

En los tratamientos no se realiza recambio de agua durante el ciclo del cultivo; por tanto, el beneficio económico radica en la reducción de la energía eléctrica por millón de post-larvas, valorada en 800,24 CUP. La implementación de esta tecnología mantiene durante todo el cultivo los parámetros físico-químicos del agua estables por debajo de los valores letales y mantiene los indicadores productivos más altos que los sistemas tradicionales.

## Conclusiones

La administración del prebiótico FOS 55 durante el cultivo de post-larvas de *P. vannamei* aumenta su longitud, peso y supervivencia, lo que indica una mejora global en la calidad de las post-larvas. Además, FOS 55 mejoró el sistema inmunitario innato en las post-larvas de *P. vannamei* al estimular la actividad de las enzimas fenoloxidasa y lisozima, así como la capacidad de reconocer patógenos al aumentar los títulos de lectina, lo que demuestra una

mejor condición de salud.

El empleo del FOS 55 aumenta la actividad de las proteasas en las post-larvas, mejora su capacidad digestiva para procesar el alimento de los camarones, y reduce las poblaciones de *Vibrio spp*. en post-larvas de camarón.

El empleo de BFT con FOS 55 tiene un efecto positivo en los parámetros de calidad del agua, durante el cultivo de post-larvas de *P. vannamei*, aumenta su longitud, crecimiento y supervivencia.

La BFT es ventajosa, integra aspectos biológicos y ecológicos del cultivo del camarón, optimiza el uso del recurso agua y disminuye los costos por concepto de electricidad al no realizar recambio de agua durante el ciclo.

# Referencias Bibliográficas


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. https://doi.org/10.1016/j.aaf.2020.05.005

Alves, DRS, de Oliveira, SR, Luczinski, TG, Paulo, IGP, Boscolo, WR, Bittencourt, F. y Signor, A. (2019). Palatabilidad de los hidrolizados de proteínas de subproductos industriales para juveniles de tilapia del Nilo. *Animales*, *9* (6), 311.io de uso de la tierra y la marginación de los agricultores locales: conocimientos críticos de la costa suroeste de Bangladesh. *Revista de ciencia del uso de la tierra*, *13* (3), 251-258

Avnimelech, Y. (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. Aquaculture, 176(3-4), 227-235.

Avnimelech, Y. (2009). Tecnología Biofloc: una guía práctica. Sociedad Mundial de Acuicultura.

Bi, C. W., *et al*, (2020). Experimental study on the effects of farmed fish on the hydrodynamic characteristics of the net cage. Aquaculture, 524, 735239.

Hernández Mancipe, L. E., Londoño Velez, J. I., Hernández García, K. A., & Torres Hernández, L. C. (2019). Los sistemas biofloc: una estrategia eficiente en la producción acuícola. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, *14*(1), 70-99

Hernandez, R., Belton, B., Reardon, T., Hu, C., Zhang, X., & Ahmed, A. (2018). The quiet revolution" in the aquaculture value chain in Bangladesh. *Aquaculture*, *493*, 456-468. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.06.006

Hu, F., Wang, Y., Hu, J., Bao, Z., y Wang, M. (2022). A novel c-type lysozyme from *Litopenaeus vannamei* exhibits potent antimicrobial activity. *Fish y Shellfish Immunology*, *131*, 729-735. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.10.056

Martín Ríos, L. D., Corrales Barrios, Y., González Salotén, M., Carrillo Farnés, O., Cabrera Alarcón, H., y Arenal Cruz, A. (2022). Principales factores que modifican el sistema inmune en camarones peneidos estrategias para un cultivo sostenible. *Revista de Producción Animal*, *34*(1), 103-126. https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/rpa/article/view/e4036

Martín, L.D., Espinosa López, G., Carrillo Farnés, O. (2022). Sistema inmune de camarones peneidos de cultivo. Una revisión. Rev. Prod. Anim., 34(1) https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/rpa/article/view/e4036

Mugwanya, M., Dawood, MA, Kimera, F. y Sewilam, H. (2021). Sistemas de biofloc para la producción sostenible de especies acuáticas económicamente importantes: una revisión. *Sostenibilidad* , *13* (13), 7255. https://doi.org/10.3390/su13137255

Mustafa, A., Buentello, A., Gatlin III, D., Lightner, D., Hume, M., & Lawrence, A. (2019a). Effects of fructooligosaccharides (FOS) on growth, survival, gut microflora, stress, and immune response in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in a recirculating system. *Journal of*

*Immunoassay and Immunochemistry*, *41*(1), 45-59. https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15321819.2019.1680386

Mustafa, Z., y Jaradat, M. M. M. (2020). Some remarks concerning D∗-metric spaces.nal of Environmental Management, 290, 112585. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112585

Panigrahi, R. Das, M. Sivakumar, A. Saravanan, C. Saranya, N. Sudheer, *et al*., El bioaumento de bacterias heterótrofas en el sistema biofloc mejora el crecimiento, la supervivencia y la inmunidad de los blancos indios Camarones *Penaeus indicus*, Pescado Marisco Immunol. 98 (2020) 477-487 https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735095

Rezende, P. C., Schleder, D. D., Seiffert, W. Q., Andreatta, E. R., & Vieira, F. N. (2019). Pre-nursery of shrimp post-larvae reared in biofloc system under different stocking densitieS. *Boletim do Instituto de Pesca*, *45*(4).

Safari, O., Shahsavani, D., Paolucci, M., & Atash, M. M. S. (2014). Single or combined effects of fructo-and mannan oligosaccharide supplements on the growth performance, nutrient digestibility, immune responses and stress resistance of juvenile narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823. *Aquaculture*, *432*, 192-203.

Song, S. K., Beck, B. R., Kim, D., Park, J., Kim, J., Kim, H. D., y Ringø, E. (2014). Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: a review. *Fish y shellfish immunology*, *40*(1), 40-48. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.06.016.

Wang, Y. C., Chang, P. S., y Chen, H. Y. (2007). Tissue expressions of nine genes important to immune defence of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish y shellfish immunology*, *23*(6), 1161-1177. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2007.04.004

Wang, Y., Zhang, C., Li, Y., Zhang, H., Wang, J., & Feng, F. (2020). Effects of dietary glycerol monolaurate on the growth performance, digestive enzymes, body composition and non-specific immune response of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Reports*, *18*, 100535. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100535

Wee, W., N. K. A., Mat, K., Khalif, R. I. A. R., Rusli, N. D., Rahman, M. M., ... y Wei, L. S. (2022). The effects of mixed prebiotics in aquaculture: A review. *Aquaculture and Fisheries*. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468550X22000508

Wei, G., Shan, D., Li, G., Li, X., Tian, R., He, J., & Shao, Z. (2020). Prokaryotic communities vary with floc size in a biofloc-technology based aquaculture system. *Aquaculture*, *529*, 735632. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735632

Wei, G., Shan, D., Li, G., Li, X., Tian, R., He, J., & Shao, Z. (2020). Prokaryotic communities vary with floc size in a biofloc-technology based aquaculture system. *Aquaculture*, *529*, 735632. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735632

# El Camarón Blanco *Penaeus vannamei* y la Respuesta Inmune Entrenada con Extractos de Algas Cafés

Myriam C. Ibarra-Martínez *, Martha G. Nieto-López, Maribel Maldonado-Muñiz, Mireya Tapia-Salazar, L. Elizabeth Cruz-Suárez

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Biológicas-Programa Maricultura

Av. Universidad S/N, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L.

C.P. 66455, E-mails: m.c.ibarra@hotmail.com, mgnietol@hotmail.com

## Resumen

El camarón blanco (*Penaeus vannamei*) es una de las especies más importantes en la acuicultura mundial, aunque enfrenta pérdidas significativas por enfermedades bacterianas y virales. Ante las limitaciones del uso de antibióticos, surgen alternativas sostenibles que fortalezcan la salud en cultivo, entre ellas el empleo de inmunoestimulantes derivados de macroalgas pardas.

En crustáceos, la defensa depende exclusivamente de la inmunidad innata, basada en hemocitos, péptidos antimicrobianos y el sistema profenoloxidasa. Aunque carecen de inmunidad adaptativa clásica, se ha descrito la respuesta inmune entrenada (RIE), donde estímulos iniciales inducen reprogramaciones funcionales y epigenéticas en los hemocitos, permitiendo respuestas más rápidas, intensas y duraderas frente a infecciones posteriores, incluso contra patógenos distintos a los iniciales.

Las macroalgas pardas contienen compuestos bioactivos como polisacáridos sulfatados (fucoidanos), β-glucanos (laminarina), florotaninos y alginatos. Estos metabolitos interactúan con receptores de reconocimiento de patrones, modulan rutas de señalización y contribuyen al equilibrio redox. Estudios en *P. vannamei* han demostrado que dietas suplementadas o tratamientos por inmersión con extractos de macroalgas mejoran parámetros inmunológicos, incluyendo incremento del conteo de hemocitos, mayor actividad de fenoloxidasa y superóxido dismutasa, así como regulación positiva de genes asociados a la defensa. Tales efectos se traducen en mayor supervivencia tras retos experimentales con distintos agentes microbianos.

En conjunto, la integración de macroalgas pardas como inductores de la RIE constituye una estrategia valiosa para la acuicultura, al reducir la dependencia de antibióticos y favorecer cultivos más sanos. Sin embargo, es necesario profundizar en la duración de la memoria inmune, los mecanismos epigenéticos implicados y la optimización de protocolos de aplicación

*Palabras clave*: *Penaeus vannamei*, respuesta inmune entrenada, macroalgas pardas, inmunoestimulación, acuicultura sostenible

## Introducción

La producción intensiva de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) se ha consolidado como una de las actividades más dinámicas de la acuacultura, tanto a nivel mundial como en México. Su rápido crecimiento ha venido acompañado de desafíos importantes, entre los que destacan la mayor susceptibilidad a enfermedades bacterianas y virales, el estrés derivado de condiciones ambientales variables y la necesidad de reducir la dependencia en antibióticos por motivos regulatorios y ambientales. Estas limitaciones han impulsado la búsqueda de alternativas sostenibles que fortalezcan la sanidad y resiliencia de los cultivos.

Dentro de las estrategias más prometedoras se encuentra la modulación del sistema inmune del camarón, un organismo que carece de defensas adaptativas basadas en anticuerpos y depende exclusivamente de mecanismos innatos. Estos incluyen la acción de hemocitos, la cascada profenoloxidasa, la producción de péptidos antimicrobianos y enzimas antioxidantes, que en conjunto constituyen las primeras y únicas barreras frente a patógenos. En años recientes, este panorama ha cambiado gracias al concepto de respuesta inmune entrenada (RIE), que plantea que los invertebrados pueden generar una forma de memoria funcional tras un estímulo inicial, de modo que responden de manera más rápida y eficaz a infecciones subsecuentes, incluso frente a agentes distintos al estímulo original.

El estudio de la RIE en *P. vannamei* ha abierto nuevas perspectivas en la acuicultura, especialmente cuando se explora su inducción mediante compuestos naturales. Entre ellos, los derivados de macroalgas pardas ocupan un lugar central por su riqueza en moléculas bioactivas como fucoidanos, laminarina, florotaninos y alginatos, capaces de modular tanto la inmunidad como el balance antioxidante. La investigación reciente ha mostrado que estos compuestos pueden incrementar el número y actividad de hemocitos, estimular la producción de fenoloxidasa y enzimas antioxidantes, inducir la expresión de genes inmunes y reducir la mortalidad tras desafíos con bacterias o virus. Además, en varios casos, los efectos persisten más allá del periodo de administración, lo que sugiere un rol potencial en la inducción de memoria inmune entrenada.

Esta revisión se organiza de manera progresiva contextualizando la importancia del cultivo de camarón y las problemáticas sanitarias actuales. Se describen las particularidades de su sistema inmune innato y se introduce el concepto de RIE en invertebrados, destacando sus

fundamentos y mecanismos. Posteriormente, se examina la evidencia experimental de la RIE en *P. vannamei* y el papel de los compuestos de macroalgas pardas como inmunoestimulantes. Finalmente, se discuten los mecanismos propuestos, las aplicaciones prácticas en acuicultura y la prospección del uso de estas algas en México, subrayando su valor estratégico como recurso local para fortalecer la sostenibilidad del sector.

## Panorama del Cultivo de Camarón en México y el Mundo

El camarón blanco *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) es un crustáceo decápodo de la familia de los peneidos nativo de la costa oriental del Océano Pacífico desde Sonora, al norte de México hacia centro y Sudamérica hasta Tumbes en Perú, en donde el agua se encuentra a temperaturas superiores a 20°C en todo el año.

El cultivo del camarón se inició a gran escala en diversos países del mundo en los años ochenta, a partir de entonces la producción ha ido creciendo hasta convertirse en la industria que es en la actualidad. Los principales mercados del camarón lo constituyen los Estados Unidos de Norteamérica y la Unión Europea (477 000 toneladas y 183 000 toneladas, respectivamente) (FAO, 2018).

La producción de camarón en México ha aumentado en los últimos años, siendo el 7° productor de camarón a nivel mundial, con una producción de 237 mil 647 toneladas. El principal estado productor de camarón en nuestro país es Sinaloa con más de 96 mil toneladas, le sigue Sonora con 75 mil toneladas y Nayarit con 17 mil toneladas En los últimos cinco años el volumen de captura y cosecha de este crustáceo ha tenido una propensión al alza; en 2019 continuó con esta tendencia, aumentando 3.2% respecto a años anteriores (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020).

A pesar del incremento global en la producción de camarón en la última década se ha presentado una constante problemática causado por patologías dentro de las que destaca la infección con el virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV, por sus siglas en inglés) generando grandes pérdidas económicas para los camaronicultores (Morales-Covarrubias *et al*., 2011; Villalobos, 2012). Se han reportado hasta 20 enfermedades virales como patógenas para especies de camarón silvestre o de cultivo y actualmente la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), considera a la enfermedad del Síndrome de Taura (TS), la enfermedad de

la mancha blanca (WSS), la enfermedad de la cabeza amarilla (YH), la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHN), la mionecrosis infecciosa (IMN) y la hepatopancreatitis necrotizante (NHP), como enfermedades de declaración obligatoria (Arulmoorthy *et al*., 2020).

Históricamente, el control se ha basado en antibióticos, pero esta práctica genera resistencia bacteriana, contaminación ambiental y residuos en productos acuícolas. Esto refuerza la necesidad de alternativas sostenibles. Se han utilizado las macroalgas marinas y componentes de éstas en distintas investigaciones adicionadas a la dieta ya que contienen diversos compuestos como polisacáridos sulfatados, vitaminas, compuestos fenólicos, carotenoides y ácidos grasos y minerales en relaciones importantes que pueden mejorar además de parámetros de crecimiento por su valor nutrimental, un beneficio sobre una mayor resistencia a enfermedades por ser compuestos inmunoestimulantes.

## Respuesta Inmune en Camarón Blanco

Los camarones no poseen un sistema inmune específico ni capacidad de generar células de memoria; no obstante, poseen una respuesta inmune rápida y eficiente en donde se distinguen efectores celulares y humorales que actúan en conjunto para eliminar agentes extraños, la respuesta comienza con el reconocimiento de componentes de la pared celular microbiana por las proteínas patrón de reconocimiento (PPR) presentes en la hemolinfa, que posteriormente desencadenan la liberación de péptidos antimicrobianos activando la cascada de la profenoloxidasa llevando la reacción hasta la cicatrización de heridas, melanización y fagocitosis microbiana. Por otra parte, se ha demostrado que existen compuestos de origen fitoquímico y biológico que son capaces de incrementar la eficiencia del sistema inmune (inmunoestimulación), estas sustancias aumentan la resistencia frente a enfermedades infecciosas debido a que provocan una mejora en los mecanismos de defensa no específicos; además de aumentar significativamente la sobrevivencia de los organismos durante su cultivo (Kulkarni *et al*., 2021).




Fig.1 Mecanismos de inmunidad innata del camarón y su modulación por compuestos bioactivos

Fundamentos de la Respuesta Inmune Entrenada (RIE) en invertebrados

**La respuesta inmune entrenada (Trained Immunity)** es un fenómeno mediante el cual organismos que sólo poseen inmunidad innata (como muchos invertebrados y entre ellos el camarón blanco) exhiben una memoria inmunológica. Esto significa que tras una estimulación inicial (priming) no letal posterior provocada por un PAMP (Pathogen Associated Molecular Pattern) o estímulo ambiental, la respuesta inmunitaria se modifica de tal forma que ante un segundo encuentro con patógenos la reacción es más rápida, más intensa o más efectiva (Roy *et al*., 2020).

La **respuesta inmune entrenada (RIE)** se define como la capacidad de la inmunidad innata para desarrollar una memoria funcional tras un estímulo inicial (*priming*), lo que permite una respuesta más rápida y robusta frente a infecciones subsecuentes, incluso heterólogas. Este concepto se describió formalmente por primera vez en vertebrados a inicios de la década de 2010, en estudios pioneros con *Candida albicans* y β-glucanos, donde se documentaron cambios epigenéticos y metabólicos en células mieloides (Netea *et al*., 2011).

*Criterios clave definen la RIE:*

1. Persistencia del efecto: la respuesta mejorada debe mantenerse durante un periodo de días o semanas, luego de haber retirado el estímulo inicial. Ejemplos recientes muestran que invertebrados pueden conservar estados elevados de defensas inmunes después del priming durante periodos que van más allá de unas pocas horas. Por ejemplo, en artrópodos y moluscos se han documentado efectos mejorados en resistencia a infecciones secundarias incluso días después del estímulo inicial, cumpliendo uno de los requisitos esenciales para que se considere memoria innata entrenada (Zhao *et al*., 2023).
2. No especificidad del antígeno: a diferencia de la inmunidad adaptativa (que reconoce antígenos específicos), la RIE no requiere reconocimiento antígeno-específico. La mejora de la respuesta puede ser hacia patógenos distintos al del estímulo inicial. Por ejemplo, se ha observado en un estudio con Artemia, que las descendencias de individuos expuestos a Vibrio presentan resistencia aumentada tanto contra la misma cepa como frente a cepas diferentes, lo que sugiere un carácter parcialmente heterólogo de la memoria (Norouzitallab *et al*., 2016).
3. Mecanismos mediados por cambios epigenéticos y metabólicos: el priming inicial provoca modificaciones en la expresión genética que no se deben a mutaciones permanentes, sino a ajustes epigenéticos como metilaciones del ADN, modificaciones de histonas, cambios en accesibilidad de la cromatina, así como reprogramaciones metabólicas (incremento de rutas de glucólisis, metabolismo mitocondrial, producción de intermediarios metabólicos) que permiten una respuesta rápida y fuerte ante desafíos posteriores (Norouzitallab *et al*., 2016). Diversos estudios de revisión han identificado estos mecanismos como centrales en insectos, moluscos y crustáceos; específicamente, la revisión de Zhao *et al*. (2023) señala que en artrópodos y moluscos la epigenética en conjunto con el metabolismo actúan de manera complementaria para inducir la inmunidad entrenada.

En acuicultura, la aplicación práctica de generar una respuesta inmune entrenada por inmunoestimulantes surgió poco después con el uso experimental de β-glucanos y lipopolisacáridos en crustáceos y moluscos, demostrando mejoras persistentes en

supervivencia y parámetros inmunes. Actualmente, la RIE se explora como alternativa sostenible al uso de antibióticos, mediante dietas funcionales o protocolos de *priming* (la protección aumentada del organismo a la segunda infección (Prigot-Maurice *et al*., 2022) en granjas y estanques, empleando compuestos naturales como β-glucanos, probióticos y extractos de macroalgas pardas (fucoidanos, laminarina), con el fin de fortalecer la resistencia de especies clave como *Penaeus vannamei*, tilapias y peces marinos frente a bacterias y virus de alto impacto en la producción acuícola (Montagnani *et al*., 2024).

Respuesta inmune entrenada en *Penaeus vannamei*

La noción de respuesta inmune entrenada (RIE) describe una memoria funcional de la inmunidad innata que tras un estímulo inicial no letal (*priming*) los organismos muestran una respuesta mejorada, más rápida o más fuerte frente a desafíos posteriores, y esa mejora puede durar desde días hasta semanas. Aunque el concepto se formalizó en vertebrados, la evidencia acumulada en invertebrados (incluyendo crustáceos) indica que procesos análogos operan también en especies de interés acuícola como *P. vannamei*. Las revisiones recientes sitúan la RIE como un fenómeno sustentado por reprogramación epigenética y metabólica de células efectoras innatas, y subrayan su potencial aplicación para el control de enfermedades en acuicultura (Montagnani *et al*., 2024).

En *P. vannamei*, la mayor parte de la evidencia experimental procede de estudios de *priming* con β-glucanos, péptidos microbianos, probióticos y extractos naturales. La administración dietaria intermitente de β-1,3-glucanos ha mostrado mejoras reproducibles en parámetros inmunes (conteo total de hemocitos, actividad de fenoloxidasa, capacidad antioxidante) y en la integridad intestinal bajo estrés de baja salinidad; estas respuestas perduran más allá del periodo de suministro inmediato, lo que encaja con el criterio de persistencia propia de la RIE (Qiao *et al*., 2023).

Los cambios moleculares asociados a la RIE en camarones incluyen el incremento sostenido en la transcripción de genes de defensa tras el priming (por ejemplo, proPO, AMPs como peneidinas y crustinas, lectinas y LGBP), además de modificaciones en marcadores de estrés oxidativo (SOD, CAT) que facilitan la respuesta efectora. Ensayos transcriptómicos recientes demuestran que estos cambios no son transitorios, sino que pueden mantenerse días o

semanas, y que el priming modula rutas de señalización tipo NF-κB/Relish y vías metabólicas vinculadas a la glucólisis y ruta de las pentosas fosfato (Qiao *et al*., 2023; Sha *et al*., 2025).

Mecanísticamente, la RIE parece depender de dos pilares íntimamente conectados: 1) reprogramación epigenética (modificaciones de histonas y cambios en accesibilidad cromatínica que "preparan" loci inmunes para una transcripción más rápida) y 2) reprogramación metabólica (desvío hacia rutas energéticas que facilitan síntesis rápida de efectores y de ROS/NO). Aunque la evidencia directa de marcas epigenéticas en hemocitos de *P. vannamei* aún es poca, trabajos en invertebrados cercanos y en vertebrados muestran patrones consistentes (p. ej. aumento de H3K4me3/H3K27ac en genes inmunes tras priming en *Marsupenaeus japonicus*), y estudios recientes en modelos acuáticos resaltan el papel crítico de la acetilación de histonas en la respuesta antiviral. Estas observaciones respaldan la hipótesis de que mecanismos epigenéticos/metabólicos similares subyacen a la RIE en camarones (Lv *et al*., 2025; Zhao *et al*., 2023).

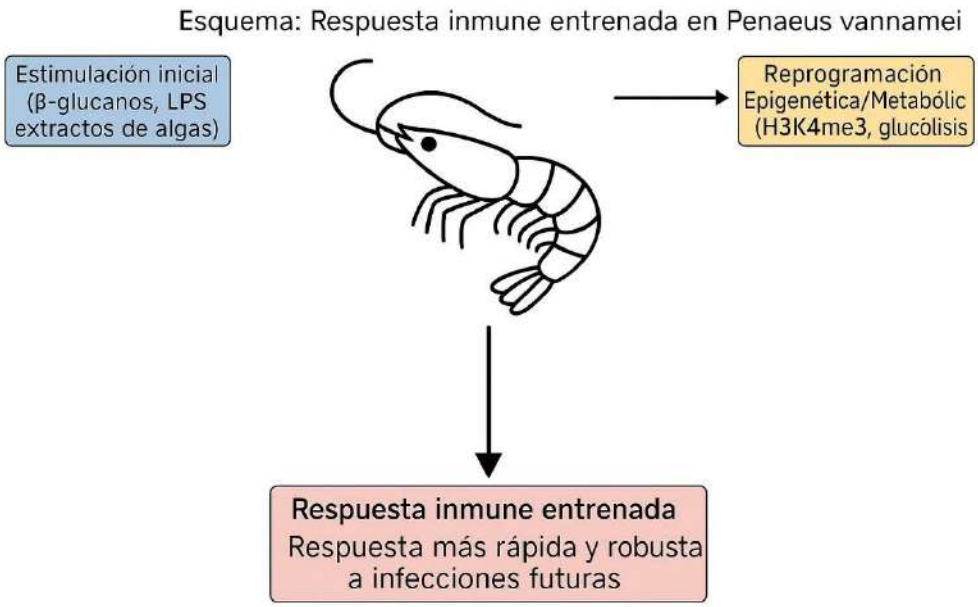



Fig. 2. Mecanismo de la Respuesta Inmune Entrenada en *Penaeus vannnamei.*

Macroalgas pardas como fuentes de inmunoestimulantes

Las macroalgas pardas (Phaeophyceae) constituyen un reservorio natural de polisacáridos sulfatados, β-glucanos, polifenoles marinos (florotaninos) y polímeros aniónicos (alginatos) con reconocida actividad biológica. Por su abundancia, alto contenido en compuestos bioactivos y la factibilidad de cultivo/colecta, estas algas han cobrado atención creciente como ingredientes funcionales para la acuicultura, con especial interés en su capacidad para modular la inmunidad innata de especies como *Penaeus vannamei*. Las aplicaciones van desde inclusión directa en dietas hasta obtención de extractos purificados (fucoidanos, laminarinas) y fraccionamiento para formulaciones con actividad específica (Melchor-Martínez *et al*., 2025; Rocha *et al*., 2022).

Estas algas o sus extractos han sido usadas como suplementos en alimentos de varias especies marinas comercialmente importantes como langostinos de agua dulce (Agarwal *et al*., 2021), tilapia del nilo (Van Doan *et al*., 2018), mero (Yuan *et al*., 2007), dorada (Queiroz *et al*., 2014) y desde luego en camarón blanco (Cheng & Chen, 2002; Huynh *et al*., 2011; Liu *et al*., 2004; Yudiati *et al*., 2016) ya que contienen una gran variedad de compuestos activos que les permiten defenderse de condiciones medioambientales extremas o de patógenos oportunistas (Chojnacka, 2012; Gupta & Abu-Ghannam, 2011). También se ha encontrado que la suplementación de dietas para camarón con harina de Kelp, tal como *Macrocystis pyrifera* o *Ascophyllum nodosum*, mejoran las propiedades físicas de los alimentos en términos de estabilidad, capacidad de absorción de agua y textura, resultando en un mayor consumo de alimento y una mejor ganancia en peso para los organismos (Aguirre-Guzmán *et al*., 2002; L. E. Cruz-Suárez *et al*., 2008; L. Cruz-Suárez & Ricque-Marie, 2000; Rivas-Vega *et al*., 2006).




Fig.3 Flujo de aprovechamiento de polisacáridos de Sargazo: extracción, aplicaciones y retos.

*Principales compuestos bioactivos*

Las macroalgas pardas aportan varios grupos de compuestos con efectos inmunomoduladores y antioxidantes:

- Fucoidán: polisacáridos sulfatados ramificados, abundantes en Sargassum, Undaria y Fucus. Su mecanismo involucra interacción con receptores de la inmunidad innata (lectinas, PRRs), modulación de la cascada proPO y actividad antioxidante indirecta. Estudios recientes muestran que fucoidanos mejoran parámetros hemáticos, actividad de fenoloxidasa y resistencia a Vibrio y WSSV en organismos acuáticos; investigaciones en 2023–2024 han optimizado extracción y caracterización (peso molecular, grado de sulfato) que condicionan su bioactividad (Antonisamy & Rajendran, 2024; Khanzadeh *et al*., 2024a).
- Laminarina: β-1,3-glucano presente en laminarias y en menores cantidades en otras

pardas; es un ligando clásico de PRRs tipo β-glucan-binding que induce priming de fagocitos y activa la ruta proPO. Aunque gran parte de la evidencia funcional proviene de estudios en peces e invertebrados modelo, su uso como aditivo dietario demuestra mejoras en resistencia y marcadores inmunitarios que apuntan al potencial para RIE (Melchor-Martínez *et al*., 2025b).

- Florotaninos — polifenoles exclusivos de pardas (dieckol, eckol, etc.) con alta capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria/antiviral. Se han documentado efectos antivirales *in vitro* y actividad antioxidante que puede proteger a hemocitos frente al estrés redox durante la respuesta inmune; su papel como modulador epigenético es una hipótesis emergente respaldada por evidencia *in vitro* y en modelos animales (Kumar *et al*., 2022).
- Alginatos y oligoalginatos — polímeros aniónicos de ácido gulurónico y manurónico que, además de propiedades físico-químicas (texturizantes), actúan como immunomoduladores indirectos: promueven equilibrio osmótico, integridad intestinal y pueden favorecer microbiomas beneficiosos que median efectos inmune-protectores. Estudios recientes exploran pre-tratamientos y fraccionamientos para incrementar la biodisponibilidad de oligosacáridos activadores (Bai *et al*., 2023).

*Propiedades inmunomoduladoras y antioxidantes*

Se ha encontrado en estudios de los últimos años, que las algas y/o sus compuestos estimulan parámetros inmunes in-específicos. Ensayos con inclusión en la diet a del alga en polvo o extractos, por ejemplo, de Sargassum y otras pardas reportan incrementos en conteo total de hemocitos, actividad de fenoloxidasa (PO), índice de respiración oxidativa (respiratory burst) y niveles de lisozima —marcadores clásicos de la inmunidad innata en decápodos—. Estos cambios se asocian en varios estudios a mayor supervivencia tras desafíos con Vibrio o WSSV (Lee *et al*., 2020; Pourazad *et al*., 2024).

Se ha reportado, asimismo, mejora en la respuesta antioxidante, donde la suplementación con fucoidanos y florotaninos aumenta la actividad de enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx) y reduce biomarcadores de daño oxidativo, lo que protege hemocitos y tejidos durante la respuesta inflamatoria y favorece la recuperación tras infección o estrés ambiental. Esto es crítico en sistemas super-intensivos donde el estrés oxidativo es frecuente (Gorgij *et al*.,

2022; Wu *et al*., 2024)

Se ha visto que los polisacáridos marinos actúan como substrato prebiótico o modulador del microbioma, incrementando bacterias beneficiosas y reduciendo patógenos oportunistas; la mejora microbiológica se traduce en mayor resistencia a enfermedades y mejor digestibilidad de la dieta. Estudios recientes combinan algas pardas con probióticos para lograr estas sinergias (Hoseinifar *et al*., 2024; Khanjani *et al*., 2024)

Tabla1. Macroalgas pardas y sus efectos inmunoestimulantes en camarón blanco.

| Extracto de macroalgas | Vía de administración | Respuesta Inmune Afectada | Efectos observados en *P. vannamei* |
|---|---|---|---|
| Fucoidán de ***Sargassum johnstonii***[1] | Dieta (0.5 %, 1 %, 2 %) | ↑ proPO, ↑ respiración de estallido, ↑ THC; además de mejorar parámetros de crecimiento | Mayor resistencia tras desafío; mejor respuesta inmune general contra *V. parahaemolyticus* |
| Fucoidanos purificados (alto y bajo peso molecular)[2] | Dieta purificada | ↑ transcripción de genes inmunes: proPO, SOD, transglutaminasa | Mejora de parámetros inmunes; potencial contra WSSV |
| alginato + espirulina[3] | Dieta oral tras desafío simulado | ↑ THC, ↑ actividad fagocítica, ↑ PO y SOD | Mejor recuperación inmune tras infección con *V. parahaemolyticus* (AHPND) |
| polisacáridos de *Sargassum dentifolium*[4] | Dieta con 3 $g \cdot kg^{-1}$ | ↑ expresión génica: ProPO, crustina, lisozima | Activación robusta de la inmunidad humoral |
| Fibra de celulosa + probióticos (*vibrio alginolyticus*)[5] | Dieta y/o inmersión | Cambios metabólicos específicos, aumento de lactato como biomarcador | Estimulación inmune mixta detectada por metabolómica |
| Suplementos inmunoestimulantes diversos[6] | Dieta | Estimulación inmune versus costo-economía (modelado bioeconómico) | Análisis de viabilidad e impacto de inmunoestimulantes |
| Fucoidanos[7] | *Sargassum*, *Undaria*, *Fucus* | Ligandos PAMP → PRRs (lectinas/LGBP); activan proPO; actividad antioxidante | ↑ THC, ↑ PO, ↑ SOD/CAT, ↑ supervivencia post-desafío; mejoras en crecimiento en dietas suplementadas. |
| Laminarina (β-1,3 glucano)[8] | *Laminaria/Undaria* | Activación β-glucan oPRRs; priming fagocítico; incremento ROS/estallido respiratorio | Activación proPO, mayor fagocitosis; potencial para RIE (evidencia funcional en invertebrados). |
| Florotaninos (phlorotannins)[9] | *Ecklonia*, *Fucus*, *Sargassum* | Antioxidante potente; antiinflamatorio/antiviral; posible modulación epigenética | Reducción estrés oxidativo, actividad antiviral *in vitro*; protección celular durante respuesta inmune. |
| Alginatos / | *Sargassum*, | Mejora integridad intestinal; | Modulación microbiota |

| | | | |
|---|---|---|---|
| oligoalginatos[10] | *Macrocystis*, *Laminaria* | efecto prebiótico indirecto; señalización inmune indirecta | intestinal; soporte de homeostasis y recuperación tras estrés. |

(JK *et al*., 2025)[1], (Sinurat *et al*., 2016)[2], (Azhar & Yudiati, 2023)[3], (Abbas *et al*., 2023)4, (Alfaro *et al*., 2022)[5], (González-Meza *et al*., 2022)[6] (Fu *et al*., 2025a; Khanzadeh *et al*., 2024)[7], (Melchor-Martínez *et al*., 2025c; Rocha *et al*., 2022b)[8], (Goya & Mateos, 2024; Kim *et al*., 2024)[9], (Melchor-Martínez *et al*., 2025a)[10].

Respuesta inmune entrenada en *Penaeus vannamei* y el potencial de las macroalgas pardas

La defensa inmunológica en crustáceos, incluyendo *P. vannamei*, se fundamenta exclusivamente en mecanismos de inmunidad innata: barreras físicas, respuestas celulares (fagocitosis, encapsulación) y humorales (sistema profenoloxidasa, péptidos antimicrobianos, enzimas antioxidantes y moléculas de reconocimiento), pero ya no se considera una barrera sin memoria. Estudios recientes en invertebrados han evidenciado que pueden desarrollar respuesta inmune entrenada (RIE), es decir, una reprogramación funcional que potencia su capacidad defensiva ante infecciones futuras, incluso heterólogas.

Varios trabajos realizados en la última mitad de la década muestran que la inclusión dietaria o el uso de extractos de macroalgas pardas mejora marcadores inmunológicos y la resistencia a patógenos en *P. vannamei*. Por ejemplo, extractos de *Sargassum dentifolium* administrados por vía oral aumentaron la expresión de genes inmunes y parámetros de defensa inespecífica en camarón, con mejoras en supervivencia tras desafío bacteriano (Abbas *et al*., 2023).

Además de *P. vannamei*, ensayos en otras especies acuáticas (peces ornamentales, peces de cultivo) con fucoidanos y fracciones de pardas han mostrado efectos análogos sobre marcadores inmunitarios y antioxidantes, lo que refuerza la plausibilidad de mecanismos conservados entre grupos y la aplicabilidad transespecífica de estos compuestos (Khanzadeh *et al*., 2024).

*Mecanismos potenciales de RIE inducida por macroalgas pardas*

Las macroalgas pardas (Sargassum, Ecklonia, Undaria) contienen polisacáridos sulfatados (fucoidanos), β-glucanos (laminarina), florotaninos y alginatos que, al incorporarse en dietas o aplicarse como extractos, ejercen efectos inmunomoduladores en camarón blanco. Varios estudios experimentales recientes en *L. vannamei* y especies afines documentan cambios

consistentes a distintos niveles de la respuesta inmune, lo que respalda su uso como inmunoestimulantes con potencial para inducir memoria innata.

*Activación de PRRs*: lectinas y β-glucan binding proteins Los trabajos recientes con extractos de Sargassum y fracciones enriquecidas en fucoidanos muestran inducción de genes de reconocimiento (LGBP, lectinas tipo C) y activación funcional de la vía proPO en *Penaeus* spp. Por ejemplo, Lee y colaboradores (2020) reportaron que extractos de *Sargassum horneri* aumentan la expresión de genes inmunes y la actividad de fenoloxidasa en *P. vannamei*, resultados coherentes con activación de PRRs y priming inmunitario. Estudios de los últimos años confirman que fracciones purificadas (fucoidanos) producen respuestas PRR-dependientes más reproducibles que las harinas crudas, y que la estructura del polisacárido (grado de sulfato, peso molecular) condiciona la magnitud de la respuesta.(Abbas *et al*., 2023; Pourazad *et al*., 2024)

- *A nivel celular*, la suplementación con harinas o fracciones de Sargassum y con polisacáridos purificados incrementa el conteo total de hemocitos (THC) y mejora la proporción de hemocitos efectivos (granulocitos), así como la actividad fagocítica y el índice mitótico de la médula hematopoyética en estudios *in vivo*. Por ejemplo, la inclusión dietaria de polisacáridos de *Sargassum dentifolium* aumentó THC y mejoró biomarcadores de renovación hemocitaria en *P. vannamei*, efectos vinculados a mayor capacidad efectora celular (Abbas *et al*., 2023).
- *Actividad de la fenoloxidasa (PO)*, se ha encontrado que extractos de *Sargassum horneri* y fucoidanos purificados han mostrado elevar la actividad PO en hemolinfa y en ensayos in vitro con hemocitos. Lee y colaboradores (2020) informaron aumentos significativos de PO y de la producción de especies reactivas (respiratory burst) tras exposición a extractos de S. horneri, asociándose con mayor potencial melanizante y opsonización. (Lee *et al*., 2020).
- Se han encontrado hallazgos importantes relacionados a la *respuesta antoxidante* de *Penaeus vannamei*, estos efectos contribuyen a la protección de hemocitos y tejidos durante la activación inmune y que, por su persistencia, puede vincularse al fenómeno de respuesta inmune entrenada. Por ejemplo, la suplementación dietaria con polisacárido extraído de *Sargassum dentifolium* aumentó significativamente la expresión de genes antioxidantes SOD y GPx y redujo biomarcadores de estrés

oxidativo, correlacionándose con aumentos concomitantes en proPO y péptidos antimicrobianos (Abbas *et al*., 2023). Estudios con fucoidanos purificados también reportan incremento de SOD/CAT y disminución de MDA tras el tratamiento, evidenciando un patrón de redox-priming que permite una respuesta efectora potente sin daño colateral (Salehpour *et al*., 2021). Estas respuestas antioxidantes son relevantes para la RIE porque el balance redox regula rutas metabólicas y epigenéticas implicadas en la «memoria» innata, y la co-administración de fracciones ricas en polifenoles (phlorotannins) potencia la protección y la durabilidad del efecto. (Abbas *et al*., 2023; Salehpour *et al*., 2021).

- *A nivel molecular*, varias investigaciones describen la inducción de genes clave: proPO, péptidos antimicrobianos (peneidinas/crustinas), lectinas y genes antioxidantes (SOD). Abbas *et al*. (2023) documentaron aumento de proPO y otros transcritos inmunes en *P. vannamei* alimentado con polisacáridos de Sargassum, mientras que revisiones mecanísticas sitúan la reprogramación (epigenética/metabólica) como base de la persistencia de esos perfiles transcriptómicos (Abbas *et al*., 2023; Zhao *et al*., 2023).
- *A nivel de la microbiota del camarón*, trabajos recientes muestran que polisacáridos de pardas (fucoidanos, oligoalginatos) actúan como prebióticos en camarón, modificando la composición del microbioma intestinal (↑ bacterias beneficiosas, ↓ oportunistas como ciertos Vibrio), y estas diferencias microbianas se correlacionan con marcadores inmunes elevados (PO, AMPs) y mejor supervivencia. Ensayos con mezclas de pardas (Sargassum, Undaria) en dietas de *P. vannamei* han demostrado mejoras en la estabilidad microbiana y tolerancia a estrés, sugiriendo que la microbiota es un mediador clave para prolongar el estado “primed”. Además, trabajos combinando algas + probióticos muestran sinergias (mejor colonización y efecto inmunoestimulante) (González-Meza *et al*., 2023; Schleder *et al*., 2020).
- En sobrevivencia sometiendo a *desafíos bacterianos y virales*, la mayoría de estudios reportan mayor supervivencia y menor carga patógena en camarones suplementados con fucoidanos o dietas cuando se ha suplementado Sargassum. Ensayos de alimentación e inmersión han mostrado reducción de mortalidad frente a *Vibrio parahaemolyticus* y menor susceptibilidad a WSSV en grupos tratados, resultados

que co-ocurren con mejoras en THC, PO y expresión de AMPs, lo que indica un efecto protector multifactorial (Melchor-Martínez *et al*., 2025).

- Finalmente, sobre la persistencia de los efectos (RIE) en varios trabajos se ha visto que los aumentos en PO, THC y expresión de genes persisten días o semanas tras interrumpir la suplementación, y que rechallenges posteriores revelan protección sostenida, cumpliendo criterios funcionales de memoria innata. Aunque la confirmación molecular (marcas epigenéticas directas en hemocitos *de P. vannamei*) aún es limitada, revisiones recientes proponen que la combinación de reprogramación epigenética y metabólica explicaría la duración de estos efectos (Roy *et al*., 2020; Zhao *et al*., 2023).

*Uso en estanques de cultivo*

En criaderos, los protocolos de priming más efectivos combinan un primer estímulo de corta duración (inmersión o administración oral aguda en postlarvas) con una dieta de mantenimiento durante la fase inicial y repetición estratégica antes de etapas de alto riesgo (transferencia, estrés por temperatura/densidad). Estudios recientes con β-glucanos y nuevas fuentes de glucanos muestran que un priming temprano mejora la supervivencia en desafíos posteriores y estabiliza la microbiota intestinal; protocolos experimentales publicados en los últimos años prueban inmersiones breves seguidas por dietas suplementadas como esquema eficaz en condiciones de laboratorio y en pruebas piloto en criaderos (Segarra *et al*., 2025; Uengwetwanit *et al*., 2025). Para engorda, el priming intermitente (p. ej. ciclos de 7–14 d de suplemento cada 4–6 semanas) se está probando para mantener la ventana protectora sin costos de alimentación continuos (Alvarez-Lee *et al*., 2020; Roy *et al*., 2020b)

*Sinergias con probióticos y prebióticos*

La tendencia práctica y experimental más sólida es la integración de algas pardas con probióticos/prebióticos. Los polisacáridos de las macroalgas cafés actúan como prebióticos (substrato) que favorecen la colonización y actividad de probióticos (p. ej. Bacillus, Lactobacillus), y los estudios recientes indican sinergias: mayor estabilización de microbiota, reducción de patógenos oportunistas y amplificación de marcadores inmunes frente al uso aislado de probiótico o alga. Esta estrategia reduce la dosis necesaria de cada insumo y

mejora la persistencia del efecto priming, lo que es ventajoso en términos de costos y eficacia operacional. Revisiones y estudios aplicados 2020–2024 muestran mejoras productivas y de salud cuando se aplican combinaciones bien diseñadas (Nolasco-Alzaga *et al*., 2025; Vijayaram *et al*., 2024).

La oportunidad para incorporar inmunoestimulantes de macroalgas pardas (fucoidanos, laminarinas, phlorotannins, oligoalginatos) en la acuacultura mexicana es hoy notable por tres razones convergentes: disponibilidad de biomasa (repuntes masivos de Sargassum en el Caribe mexicano), el crecimiento continuo de la acuicultura global y la evidencia experimental de efectos inmunomoduladores en camarón y otros organismos acuáticos. El aprovechamiento sistemático de esa biomasa —transformándola de un problema costoso en una materia prima de alto valor— podría convertir una carga ambiental en insumo estratégico para la sanidad de *Penaeus vannamei* (Evers-King *et al*., n.d.; Sun *et al*., 2024; *The State of World Fisheries and Aquaculture* 2024).

En términos tecnológicos y científicos, los polisacáridos de Sargassum y otras especies de algas pardas poseen propiedades antivirales, inmunoestimulantes y antioxidantes que son útiles para formular dietas funcionales y productos de priming. Trabajos sobre extracción y pretratamiento fijan parámetros (grado de sulfato, peso molecular) que condicionan actividad biológica, lo que es clave para estandarizar productos con efecto repetible en campo. México cuenta con capacidad académica y centros de investigación que pueden liderar protocolos de validación y escalado (Flores-Contreras *et al*., 2023; Melchor-Martínez *et al*., 2025)

Desde la perspectiva aplicada al cultivo de camarón, estudios recientes enfatizan dos rutas viables: (i) dietas funcionales con inclusiones estandarizadas de fucoidanos/laminarina para mantenimiento y priming intermitente; y (ii) protocolos hatchery que combinan inmersión rápida (priming) y dietas de seguimiento para consolidar la memoria inmune. Ensayos recientes en *P. vannamei* y modelos afines respaldan mejoras en PO, hemocitos y resistencia a Vibrio/WSSV tras suplementación algal. La adopción práctica requerirá ensayos piloto en condiciones comerciales mexicanas para ajustar dosis, ventanas de protección y costo operativo (Fu *et al*., 2025b; Pourazad *et al*., 2024).

Económicamente, la clave será la valoración integrada: (a) convertir sargazo/biomasa local en extracto estandarizado (cadena de valor), (b) demostrar reducción de mortalidad y/o menor

necesidad de antibióticos en piscinas comerciales, y (c) comparar costo por kg de suplemento *vs* ahorro por menor mortalidad/menor uso de tratamientos. Estudios globales de viabilidad de cultivo de algas y modelos bioeconómicos indican que, en contextos con alta presión de enfermedad, la inversión en inmunoestimulantes puede resultar rentable; en México, las iniciativas públicas-privadas para manejo del sargazo abren oportunidades de cofinanciamiento y economía circular (Bennett *et al*., 2023; Ross *et al*., 2025).

Sin embargo, existen barreras a sortear: variabilidad bioquímica de la materia prima (especie, estación, contaminación por metales o microplásticos), necesidad de normativa y certificados de calidad, infraestructura para extracción/escalado y aceptación de mercados internacionales. Abordarlas requiere protocolos de estandarización (análisis de sulfatos, perfiles fenólicos), controles de seguridad (residuos, toxinas) y estudios de riesgo/beneficio que incluyan análisis de ciclo de vida y modelos de rentabilidad específicos para granjas mexicanas (de la Barreda-Bautista *et al*., 2023).

## Conclusiones

La evidencia científica reciente demuestra que los compuestos bioactivos de macroalgas pardas, como fucoidanos, laminarina, florotaninos y alginatos, tienen un papel relevante en la modulación del sistema inmune de *Penaeus vannamei*. Sus efectos abarcan desde el incremento en parámetros celulares y humorales hasta la activación de vías antioxidantes y moleculares que, en conjunto, sugieren la inducción de una respuesta inmune entrenada con efectos persistentes frente a infecciones bacterianas y virales. Estos hallazgos respaldan el potencial de las macroalgas pardas como inmunoestimulantes naturales y sostenibles, capaces de fortalecer la sanidad en la camaronicultura y reducir la dependencia de antibióticos, abriendo una vía prometedora hacia sistemas productivos más resilientes y responsables con el ambiente.

**Agradecimientos**

El presente trabajo se realizó gracias al apoyo del **Programa Maricultura** por el apoyo brindado en el desarrollo de este trabajo.

# Bibliografía


Abbas, E. M., Al-Souti, A. S., Sharawy, Z. Z., El-Haroun, E., & Ashour, M. (2023). Impact of dietary administration of seaweed polysaccharide on growth, microbial abundance, and growth and immune-related genes expression of the pacific whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Life*, *13*(2). https://doi.org/10.3390/life13020344

Agarwal, P., Kayala, P., Chandrasekaran, N., Mukherjee, A., Shah, S., & Thomas, J. (2021). Antioxidant and antibacterial activity of *Gelidium pusillum* (Stackhouse) against *Aeromonas caviae* and its applications in aquaculture. *Aquaculture International*, *29*(2), 845–858. https://doi.org/10.1007/s10499-021-00661-1

Aguirre-Guzmán, G., Ricque-Marie, D., & Cruz-Suárez, L. E. (2002). Survival of agglomerated *Saccharomyces cerevisiae* in pelleted shrimp feeds. *Aquaculture*. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00711-6

Alfaro, A. C., Nguyen, T. V., Rodríguez, J. A., Bayot, B., Domínguez-Borbor, C., Sonnenholzner, S., Azizan, A., & Venter, L. (2022). Evaluation of immune stimulatory products for whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) by a metabolomics approach. *Fish and Shellfish Immunology*, *120*, 421–428. https://doi.org/10.1016/J.FSI.2021.12.007

Alvarez-Lee, A., Martínez-Díaz, S. F., Gutiérrez-Rivera, J. N., & Lanz-Mendoza, H. (2020). Induction of innate immune response in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) embryos. *Developmental & Comparative Immunology*, *105*, 103577. https://doi.org/10.1016/J.DCI.2019.103577

Antonisamy, A. J., & Rajendran, K. (2024). Comparative study on the extraction methods, characterization, and bioactivity of crude fucoidan, a polysaccharide derived from *Sargassum ilicifolium*. *Biochemical Engineering Journal*, *209*, 109398. https://doi.org/10.1016/j.bej.2024.109398

Arulmoorthy, M. P., Anandajothi, E., Vasudevan, S., & Suresh, E. (2020). Major viral diseases in culturable penaeid shrimps: a review. *Aquaculture International*, *28*(5), 1939–1967. https://doi.org/10.1007/S10499-020-00568-3/METRICS

Azhar, N., & Yudiati, E. (2023). Outbreak simulation of *Litopenaeus vannamei* recovery rate with oral alginate and spirulina diet supplementation against *Vibrio parahaemolyticus* AHPND. *Aquaculture International*, *31*(3), 1659–1676. https://doi.org/10.1007/S10499-023-01050-6/METRICS

Bai, N., Deng, W., Qi, Z., Pan, S., Li, Q., & Gu, M. (2023). The effect of alginate oligosaccharides on intestine barrier function and *Vibrio parahaemolyticus* infections in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, *141*, 109011. https://doi.org/10.1016/J.FSI.2023.109011

Bennett, J. P., Robinson, L. F., & Gomez, L. D. (2023). Valorisation strategies for brown seaweed biomass production in a European context. *Algal Research*, *75*, 103248. https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2023.103248

Cheng, S.-Y., & Chen, J.-C. (2002). Study on the oxyhemocyanin, deoxyhemocyanin, oxygen affinity and acid–base balance of *Marsupenaeus japonicus* following exposure to combined elevated nitrite and nitrate. *Aquatic Toxicology*, *61*, 181–193. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.02.003

Chojnacka, K. (2012). Biologically Active Compounds in Seaweed Extracts - the Prospects for the Application. *The Open Conference Proceedings Journal*, *3*(1), 20–28. https://doi.org/10.2174/1876326x01203020020

Cruz-Suárez, L. E., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M. G., Ricque-Marie, D., Maricultura, P., Autónoma, U., León, D. N., Universitaria, C., Garza, S. N. D. L., & León, N. (2008). A Review of the Effects of Macroalgae in Shrimp Feeds and in Co-Culture. *Avances En Nutrición Acuícola IX. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*.

Cruz-Suárez, L., & Ricque-Marie, D. (2000). Uso de harina de kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos para camarón. *Nutrición Acuícola V …*, 227–266.

de la Barreda-Bautista, B., Metcalfe, S. E., Smith, G., Sjögersten, S., Boyd, D. S., Cerdeira-Estrada, S., López-Ramírez, P., Magaldi, A., Ressl, R., Perera-Valderrama, S., Caballero-Aragón, H., Siordia, O. S., Couldridge, J., Gray, P., Silva, R., Van Tussenbroek, B. I., Escalante-Mancera, E., & Foody, G. (2023). Monitoring holopelagic Sargassum spp. along the Mexican Caribbean coast: understanding and addressing user requirements for satellite remote sensing. *Frontiers in Marine Science*, *10*, 1166000. https://doi.org/10.3389/FMARS.2023.1166000/BIBTEX

Evers-King, H., Loveday, B., Jackson, T., Monzon, A., & Morell, J. (n.d.). *2025 — a record year for sargassum seaweed | EUMETSAT - User Portal*. Retrieved September 22, 2025, from

https://user.eumetsat.int/resources/case-studies/2025-a-record-year-for-sargassum-seaweed?utm_source=chatgpt.com

Flores-Contreras, E. A., Araújo, R. G., Rodríguez-Aguayo, A. A., Guzmán-Román, M., García-Venegas, J. C., Nájera-Martínez, E. F., Sosa-Hernández, J. E., Iqbal, H. M. N., Melchor-Martínez, E. M., & Parra-Saldivar, R. (2023). Polysaccharides from the Sargassum and Brown Algae Genus: Extraction, Purification, and Their Potential Therapeutic Applications. *Plants*, *12*(13), 2445. https://doi.org/10.3390/PLANTS12132445

Fu, Z., Chen, Q., Ye, Y., Zhao, H., Lin, G., & Lu, J. (2025a). Characterization of Gut and Gill Microbiomes in Fast-Growing Pacific White Shrimp *Penaeus vannamei*. *Journal of Ocean University of China*, *24*(5), 1386–1400. https://doi.org/10.1007/S11802-025-6160-0/METRICS

González-Meza, G. M., Elizondo-Luevano, J. H., Cuellar-Bermudez, S. P., Sosa-Hernández, J. E., Iqbal, H. M. N., Melchor-Martínez, E. M., & Parra-Saldívar, R. (2023). New Perspective for Macroalgae-Based Animal Feeding in the Context of Challenging Sustainable Food Production. *Plants*, *12*(20), 3609. https://doi.org/10.3390/PLANTS12203609

González-Meza, G. M., Herrera-Acosta, K., Casillas-Hernández, R., Rentería-Mexía, A., Gortáres-Moroyoqui, P., Gil-Núñez, J. C., Ibarra-Gámez, J., & Ulloa-Mercado, G. (2022). Dietary supplementation effect of three microalgae on *Penaeus vannamei* growth, biochemical composition, and resistance to Vibrio parahaemolyticus (AHPND). *Latin American Journal of Aquatic Research*, *50*(1), 88–98. https://doi.org/10.3856/vol50-issue1-fulltext-2773

Gorgij, S., Sharifian, S., & Loghamin, M. (2022). Antioxidant properties of fucoidan extracted from brown alga Sargassum (*Sargassum tenerrimum*) and its ability to inhibit vannamei shrimp polyphenol oxidase enzyme. *Aquatic Physiology and Biotechnology*, *10*(2), 103–119. https://doi.org/10.22124/JAPB.2021.20417.1434

Goya, L., & Mateos, R. (2024). Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of Marine Phlorotannins and Bromophenols Supportive of Their Anticancer Potential. *Nutrition Reviews*, *83*(3), e1225. https://doi.org/10.1093/NUTRIT/NUAE066

Gupta, S., & Abu-Ghannam, N. (2011). Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 22, Issue 6, pp. 315–326). Elsevier. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.03.011

Hoseinifar, S. H., Hoseini, S. M., Taheri Mirghaed, A., Ghelichpour, M., Shirzad-Aski, H., Van Doan, H., El-Haroun, E., Safari, R., & Khanzadeh, M. (2024). Comparison of the effects of host-associated (autochthonous) and commercial probiotics on immune responses, growth parameters and intestinal microbiota of Caspian whitefish (*Rutilus frisii kutum*) fry. *Frontiers in Marine Science*, *11*, 1446927. https://doi.org/10.3389/FMARS.2024.1446927/BIBTEX

Huynh, T. G., Yeh, S. T., Lin, Y. C., Shyu, J. F., Chen, L. L., & Chen, J. C. (2011). White shrimp *Litopenaeus vannamei* immersed in seawater containing *Sargassum hemiphyllum* var. chinense powder and its extract showed increased immunity and resistance against *Vibrio alginolyticus* and white spot syndrome virus. *Fish and Shellfish Immunology*, *31*(2), 286–293. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.05.014

JK, P., PV, P., M, A., VC, B., VM, C., HV, P., RP, N., VJ, R., & MP, K. (2025). Effect of fucoidan extracted from the brown seaweed, *Sargassum johnstonii* on growth, survival, immune response and disease resistance to *vibrio parahaemolyticus* in *Penaeus vannamei* Boone, 1931. *International Journal of Agriculture and Food Science*, *7*(1), 258–267. https://doi.org/10.33545/2664844x.2025.v7.i1d.266

Khanjani, M. H., Mozanzadeh, M. T., Gisbert, E., & Hoseinifar, S. H. (2024). Probiotics, prebiotics, and synbiotics in shrimp aquaculture: Their effects on growth performance, immune responses, and gut microbiome. *Aquaculture Reports*, *38*, 102362. https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2024.102362

Khanzadeh, M., Hoseinifar, S. H., Zargari, A., Tabibi, H., Van Doan, H., & Rabetimarghezar, N. (2024a). Fucoidan derived from *Sargassum ilicifolium* affects growth and hemato-immunological parameters and antioxidant defense in Oscar (*Astronotus ocellatus*). *Frontiers in Marine Science*, *11*, 1370871. https://doi.org/10.3389/FMARS.2024.1370871/BIBTEX

Kim, Y. S., Kim, K. A., Seo, H. Y., Kim, S. H., & Lee, H. M. (2024). Antioxidant and anti-hepatitis A virus activities of Ecklonia cava Kjellman extracts. *Heliyon*, *10*(3), e25600. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25600

Kulkarni, A., Krishnan, S., Anand, D., Kokkattunivarthil Uthaman, S., Otta, S. K., Karunasagar, I., & Kooloth Valappil, R. (2021). Immune responses and immunoprotection in crustaceans with special reference to shrimp. *Reviews in Aquaculture*, *13*(1), 431–459. https://doi.org/10.1111/raq.12482

Kumar, L. R. G., Paul, P. T., Anas, K. K., Tejpal, C. S., Chatterjee, N. S., Anupama, T. K., Mathew, S., & Ravishankar, C. N. (2022). Phlorotannins–bioactivity and extraction perspectives. *Journal of Applied Phycology*, *34*(4), 2173–2185. https://doi.org/10.1007/S10811-022-02749-4/METRICS

Lee, P. T., Quan Tran, H. T., Huang, H. T., Nan, F. H., & Lee, M. C. (2020a). Sargassum horneri extracts stimulate innate immunity, enhance growth performance, and upregulate immune genes in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, *102*, 276–285. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.04.049

Liu, C. H., Cheng, W., Hsu, J. P., & Chen, J. C. (2004). *Vibrio alginolyticus* infection in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* confirmed by polymerase chain reaction and 16S rDNA sequencing. *Diseases of Aquatic Organisms*, *61*(1–2), 169–174. https://doi.org/10.3354/dao061169

Lv, L. X., Zhang, P., Ma, Y., Sun, Y., Wang, H., Zhao, X. F., & Wang, J. X. (2025). Histone H3K27 acetylation mediated by KAT8 maintains antiviral trained immunity in shrimp induced by inactivated white spot syndrome virus. *Communications Biology*, *8*(1), 1–17. https://doi.org/10.1038/S42003-025-08767-5;TECHMETA

Melchor-Martínez, E. M., Reyes, A. G., Peña-Rodríguez, A., Delgado-Cortez, I. G., & Flores-Contreras, E. A. (2025a). Utilization of brown algae and pre-treatment strategies as a source of bioactive nutrients for aquaculture species. *Journal of Applied Phycology*, *37*(3), 2121–2146. https://doi.org/10.1007/S10811-025-03508-X/TABLES/3

Montagnani, C., Morga, B., Novoa, B., Gourbal, B., Saco, A., Rey-Campos, M., Bourhis, M., Riera, F., Vignal, E., Corporeau, C., Charrière, G. M., Travers, M. A., Dégremont, L., Gueguen, Y., Cosseau, C., & Figueras, A. (2024). Trained immunity: Perspectives for disease control strategy in marine mollusc aquaculture. In *Reviews in Aquaculture* (Vol. 16, Issue 4, pp. 1472–1498). John Wiley and Sons Inc. https://doi.org/10.1111/raq.12906

Morales-Covarrubias, M. S., Ruiz-Luna, A., Pereira, A. M. L., Montiel, V. T. S., & Conroy, G. (2011). Prevalencia de enfermedades de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado en ocho regiones de Latinoamérica. *Revista Cientifica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, *21*(5), 434–446.

Netea, M. G., Quintin, J., & Van Der Meer, J. W. M. (2011). Trained Immunity: A Memory for Innate Host Defense. *Cell Host & Microbe*, *9*(5), 355–361. https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2011.04.006

Nolasco-Alzaga, H. R., Monreal-Escalante, E., Gullian-Klanian, M., de Anda-Montañez, J. A., Luna-González, A., Aranceta, F., Araneda-Padilla, M. E., & Angulo, C. (2025). Use of Immunostimulants in Shrimp Farming—A Bioeconomic Perspective. *Animals*, *15*(2). https://doi.org/10.3390/ANI15020124

Norouzitallab, P., Baruah, K., Biswas, P., Vanrompay, D., & Bossier, P. (2016a). Probing the phenomenon of trained immunity in invertebrates during a transgenerational study, using brine shrimp Artemia as a model system. *Scientific Reports*, *6*. https://doi.org/10.1038/SREP21166

Pourazad, M., Bagheri, D., Sotoudeh, E., & Ghasemi, A. (2024a). Effects of dietary sulfated polysaccharides extracted from brown macroalgae *Sargassum ilicifolium* on growth indices, antioxidant status, and immune genes expression in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Reports*, *39*, 102387. https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2024.102387

Prigot-Maurice, C., Beltran-Bech, S., & Braquart-Varnier, C. (2022). Why and how do protective symbionts impact immune priming with pathogens in invertebrates? *Developmental & Comparative Immunology*, *126*, 104245. https://doi.org/10.1016/J.DCI.2021.104245

Qiao, Y., Han, F., Lu, K., Zhou, L., Rombenso, A., & Li, E. (2023). Effects of Dietary β-Glucan Feeding Strategy on the Growth, Physiological Response, and Gut Microbiota of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, under Low Salinity. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, *13*(24), 3778. https://doi.org/10.3390/ANI13243778

Rivas-Vega, M. E., Goytortúa-Bores, E., Ezquerra-Brauer, J. M., Salazar-García, M. G., Cruz-Suárez, L. E., Nolasco, H., & Civera-Cerecedo, R. (2006). Nutritional value of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) meals as ingredients in diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). *Food Chemistry*. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.021

Rocha, D. H. A.;, Pinto, D. C., Silva, G. A. ;, Macroalgae, A. M. S., Rocha, D. H. A., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2022a). Macroalgae Specialized Metabolites: Evidence for Their Anti-Inflammatory Health Benefits. *Marine Drugs 2022, Vol. 20, Page 789*, *20*(12), 789. https://doi.org/10.3390/MD20120789

Ross, F. W. R., Malerba, M. E., & Macreadie, P. I. (2025). Global potential for seaweed aquaculture on existing offshore infrastructure. *Heliyon*, *11*(1), e41248. https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2024.E41248

Roy, S., Bossier, P., Norouzitallab, P., & Vanrompay, D. (2020a). Trained immunity and perspectives for shrimp aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, *12*(4), 2351–2370. https://doi.org/10.1111/RAQ.12438

Salehpour, R., Amrollahi Biuki, N., Mohammadi, M., Dashtiannasab, A., & Ebrahimnejad, P. (2021). The dietary effect of fucoidan extracted from brown seaweed, *Cystoseira trinodis* (C. Agardh) on growth and disease resistance to WSSV in shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, *119*(September), 84–95. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.09.005

Schleder, D. D., Blank, M., Peruch, L. G. B., Poli, M. A., Gonçalves, P., Rosa, K. V., Fracalossi, D. M., Vieira, F. do N., Andreatta, E. R., & Hayashi, L. (2020). Impact of combinations of brown seaweeds on shrimp gut microbiota and response to thermal shock and white spot disease. *Aquaculture*, *519*, 734779. https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2019.734779

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2020). *Producción de camarón crece para alimentar a México*. http://divulgacionacuicola.com.mx/blog/2020/12/15/produccion-de-camaron-crece-para-alimentar-a-mexico/

Segarra, S., Calvo-Perez, J. D., Talledo, J. A., Chau, T., Hoang, P., & Tran, L. (2025). Supplementation with nucleotides and seaweed meal enhances immunity, growth performance and resistance to *Vibrio parahaemolyticus* in pacific white shrimp. *Aquaculture Reports*, *45*, 103081. https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2025.103081

Sha, H. N., Lu, Y. M., Zhan, P. P., Chen, J., Qiu, Q. F., & Xiong, J. B. (2025). Beneficial effects of probiotics on *Litopenaeus vannamei* growth and immune function via the recruitment of gut Rhodobacteraceae symbionts. *Zoological Research*, *46*(2), 388. https://doi.org/10.24272/J.ISSN.2095-8137.2024.364

Sinurat, E., Saepudin, E., Peranginangin, R., & Hudiyono, S. (2016). Immunostimulatory activity of brown seaweed-derived fucoidans at different molecular weights and purity levels towards white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *6*(10), 082–091. https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.601011

Sun, Y., Wang, M., Liu, M., Li, Z. B., Chen, Z., & Huang, B. (2024). Continuous Sargassum monitoring across the Caribbean Sea and Central Atlantic using multi-sensor satellite observations. *Remote Sensing of Environment*, *309*. https://doi.org/10.1016/J.RSE.2024.114223

*The State of World Fisheries and Aquaculture 2024*. (2024, June 7). The State of World Fisheries and Aquaculture 2024; FAO. https://doi.org/10.4060/CD0683EN

Uengwetwanit, T., Uawisetwathana, U., Angthong, P., Phanthura, M., Phromson, M., Tala, S., Thepsuwan, T., Chaiyapechara, S., Prathumpai, W., & Rungrassamee, W. (2025). Investigating a novel β-glucan source to enhance disease resistance in Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Scientific Reports*, *15*(1), 15377. https://doi.org/10.1038/S41598-025-00157-5

Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Faggio, C., Chitmanat, C., Mai, N. T., Jaturasitha, S., & Ringø, E. (2018). Effects of corncob derived xylooligosaccharide on innate immune response, disease resistance, and growth performance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquaculture*, *495*, 786–793. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.068

Vijayaram, S., Ringø, E., Zuorro, A., van Doan, H., & Sun, Y. (2024). Beneficial roles of nutrients as immunostimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture and Fisheries*, *9*(5), 707–720. https://doi.org/10.1016/J.AAF.2023.02.001

Villalobos, J. (2012). Utilizaci ón de las macroalgas Ulva lactuca y Gracilaria en la formulaciòn de dietas balanceadas para el camaròn blanco *Litopenaeus vannamei*. 1–72. https://doi.org/B1011762

Wu, Z., Wu, W., Yang, S., Cheng, F., Lv, J., Shao, Y., Tang, X., Li, E., & Zhao, Q. (2024). Safety evaluation and effects of dietary phlorotannins on the growth, health, and intestinal microbiota of *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, *150*, 109569. https://doi.org/10.1016/J.FSI.2024.109569

Yuan, C., Li, D., Chen, W., Sun, F., Wu, G., Gong, Y., Tang, J., Shen, M., & Han, X. (2007). Administration of a herbal immunoregulation mixture enhances some immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*). *Fish Physiology and Biochemistry*, *33*(2), 93–101. https://doi.org/10.1007/s10695-006-9120-7

Yudiati, E., Isnansetyo, A., Handayani, C. R., Murwantoko, Ayuningtyas, Triyanto, & Handayani, C. R. (2016). Innate immune-stimulating and immune genes up-regulating activities of three types of alginate from *Sargassum siliquosum* in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, *54*, 46–53. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.03.022

Zhao, M., Lin, Z., Zheng, Z., Yao, D., Yang, S., Zhao, Y., Chen, X., Aweya, J. J., & Zhang, Y. (2023a). The mechanisms and factors that induce trained immunity in arthropods and mollusks. *Frontiers in Immunology*, *14*, 1241934. https://doi.org/10.3389/FIMMU.2023.1241934/FULL

# Agavina como Prebiótico Funcional En Tilapias y su Impacto en la Microbiota Intestinal y el Sistema Antioxidante

Lizeth Carolina Flores-Méndez[1,2], Bruno Gómez-Gil [1], Erika Y. Sánchez-Gutiérrez[1], Crisantema Hernández González[1*]

[1] Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Unidad Mazatlán, Av. Sábalo Cerritos s/n., Mazatlán, Sinaloa 82112, México.

[2] Universidad Autónoma de Occidente. Av. del Mar 1200, Tellería, 82100. Mazatlán, Sinaloa. Autor de correspondencia: chernandez@ciad.mx

## Resumen

La microbiota es clave para el bienestar y desarrollo de los peces, sin embargo, factores como los cultivos de alta densidad pueden inducir estrés oxidativo y alterar la composición de la microbiota, afectando negativamente el crecimiento y supervivencia. La agavina, un fructano con propiedades prebióticas, podría favorecer bacterias benéficas, regular la respuesta antioxidante y mitigar alteraciones en metabolitos sanguíneos relacionados con el estrés, como el cortisol. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inclusión dietética de la agavina sobre la microbiota intestinal y la respuesta antioxidante en la tilapia del Nilo cultivada en condiciones de alta densidad. Para ello, una dieta control (control negativo y control positivo) y dos dietas experimentales con inclusión de 20 y 40 g $kg^{-1}$ de agavina fueron formuladas. Las tilapias del Nilo (peso inicial: 1.04±0,01 g) fueron alimentadas durante 80 días en condiciones de baja densidad (1.73 kg $m^{-3}$) para evaluar la microbiota intestinal y la respuesta antioxidante. Al día 90, los peces fueron expuestos a condiciones de alta densidad (63 kg $m^{-3}$) durante 20 días, excepto el control negativo y se evaluaron los mismos parámetros. La dieta con 20g $kg^{-1}$ de agavina promovió bacterias como *Sphingomonadaceae*, *Oxalobacteriaceae*, *Chitinophagaceae*, y redujo *Vibrionaceae* y *Aeromonadaceae.* Además, los niveles de cortisol permanecieron estables en los peces alimentados con agavina, en contraste con el control positivo (alta densidad). La actividad de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa aumentó significativamente, mientras que, la concentración de malondialdehído disminuyó respecto a ambos controles. Estos resultados sugieren que la agavina favorece la presencia de bacterias intestinales benéficas, reduce el crecimiento de bacterias patógenas y mejora la respuesta antioxidante en tilapia del Nilo bajo condiciones de estrés por alta densidad, gracias a sus propiedades prebióticas y probablemente antioxidantes.

*Palabras clave*: Acuicultura, fructano, estrés oxidativo, microbiota, peroxidación lipídica, bienestar animal.

## 1. Introducción

La tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) es una de las especies acuícolas más producidas a nivel mundial, debido a su importancia como fuente de proteínas para el consumo humano y a sus características favorables como la alta capacidad de adaptación, reproducción y tolerancia a condiciones adversas (FAO, 2022). No obstante, el crecimiento de la acuicultura para satisfacer la creciente demanda alimentaria ha traído consigo desafíos importantes, como la exposición de los organismos a condiciones estresantes que pueden inducir estrés oxidativo, comprometer la salud de los peces y reducir la productividad en las granjas, lo que se traduce en pérdidas económicas significativas (Lim and Webster, 2006; El-sayed, 2020).

En la acuicultura, diversos factores afectan la salud y rendimiento de los organismos acuáticos, siendo los cultivos de alta densidad una de las prácticas más utilizadas (FAO, 2022). Este tipo de cultivos puede desencadenar respuestas fisiológicas complejas en los peces, como el incremento de los niveles de cortisol, alteraciones en la homeostasis redox, disbiosis en la microbiota intestinal, mayor susceptibilidad a enfermedades y, en casos muy severos, aumento de mortalidad (Dediu *et al*., 2021). En peces, la respuesta fisiológica al estrés se manifiesta en tres niveles: primero, se generan cambios endocrinos como la liberación de catecolaminas y corticosteroides, como el cortisol; posteriormente, se modifican parámetros sanguíneos relacionados con la movilización energética en fase de alerta, además de producir cambios en la homeostasis redox; por último, el desequilibrio no controlado de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS y RNS, por sus siglas en inglés,  respectivamente), así como el agotamiento de recursos, puede conducir a estrés oxidativo, generando daño tisular, así como deterioro de biomoléculas esenciales (Birnie-Gauvin *et al*., 2017; Ighodaro *et al*., 2018). Esta respuesta sostenida puede derivar en crecimientos deficientes y menor resistencia a enfermedades, afectando la supervivencia y comportamiento de los peces (El-sayed, 2020).

En este contexto, la microbiota cobra relevancia, ya que desempeña un papel clave en la salud general del hospedador. La microbiota está compuesta por una comunidad diversa de microorganismos que contribuyen a la digestión, absorción de nutrientes y fortalecimiento del sistema inmune. Asimismo, participa en la integridad de la barrera intestinal, impidiendo la translocación de patógenos y regula el eje intestino-cerebro, lo que puede modular la

respuesta al estrés (Molinari *et al*., 2003; Haygood *et al*., 2018). En conjunción a esto, los peces cuentan con mecanismos de defensa antioxidantes que incluyen al sistema de defensa antioxidante enzimático, el cual está formado por enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa, que estabilizan la producción de ROS y reducen el estrés oxidativo (Nayak, 2010; Haygood *et al*., 2018; Bereded *et al*., 2020). La microbiota y sus mecanismos antioxidantes representan una oportunidad viable para la acuicultura para mejorar la salud y productividad de los peces (Zheng *et al*., 2018). Por ello, el uso de aditivos con propiedades bioactivas, como antioxidantes y prebióticas ha cobrado relevancia, especialmente aquellos derivados de residuos agroindustriales como la cáscara de mango, hoja de maíz y el agave (Lizárraga-Velázquez *et al*., 2018; Romero *et al*., 2018).

Las especies de agave contienen agavina, un fructano formado por polímeros de fructosa y glucosa con una estructura no lineal, un grado de polimerización de 2-30 unidades y enlaces en posiciones β-2,1 y β-2,6, estas características lo convierten en candidato para su uso como prebiótico (López *et al*., 2003; López-Romero *et al*., 2018). Diversos estudios han evaluado la adición de compuestos prebióticos, como los fructanos, entre los que se encuentran la inulina, los fructooligosacáridos y la agavina. En este sentido, se ha descrito que la suplementación dietética con agavina desempeña varias funciones biológicas, como la prevención de la obesidad y efectos inmunoestimulantes y antioxidantes (Franco-Robles *et al*., 2015, 2016). Estudios previos en mamíferos han demostrado que los fructanos pueden promover el rendimiento del crecimiento y reducir los niveles de cortisol, glucosa y lípidos en sangre, principalmente por su resistencia a la hidrólisis por las enzimas digestivas (Franco-Robles *et al*., 2016; Liu *et al*., 2021).

Adicionalmente, se ha reportado el efecto prebiótico de la agavina el cual es atribuido a su capacidad de regular la microbiota intestinal de los peces a través del eje hipotalámico-hipofisario-interrenal, que contribuye a promover el crecimiento de comunidades bacterianas potencialmente probióticas y reducir la abundancia de bacterias patógenas (Fuentes-Quesada *et al*., 2018; Zhou *et al*., 2020). Además, la agavina promueve la producción de metabolitos bioactivos a partir de la fermentación de los fructanos, incluidos los ácidos grasos de cadena corta, que a su vez pueden estimular la respuesta antioxidante enzimática al activar la expresión de enzimas antioxidantes, mejorando el estado redox del organismo y, por lo tanto,

la resistencia al estrés (Van den Ende *et al*., 2011; Jones *et al*., 2018). Con base a esto, el objetivo de estudio fue evaluar el efecto de la agavina en la dieta sobre la microbiota intestinal y la respuesta antioxidante de la tilapia del Nilo en condiciones de cría de baja y alta densidad.

## 2. Antecedentes

### 2.1. Producción acuícola de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Las tilapias del género *Oreochromis* se han catalogado como una de las especies más cultivadas en México, dentro de estas, *O. niloticus* (tilapia del Nilo), es una de las más representativas debido a su importancia comercial acuícola (Abdel, 2020). La tilapia del Nilo es un pez teleósteo del orden *Perciforme* perteneciente a la familia *Cichlidae*, y se desarrolla en ambientes tropicales, con temperaturas ideales de 28 a 30°C (FAO, 2022). En su ambiente natural, la tilapia es omnívora, y se alimenta de fitoplancton, perifiton, plantas acuáticas, pequeños invertebrados, fauna béntica, desechos y capas bacterianas asociadas a los detritus, posee poca selectividad alimentaria, y depende de la disponibilidad del alimento (Abdel, 2020).

Se ha reportado que, de las 9 mil 230 Unidades Productivas que existen en el país, cerca de la mitad (4 mil 623) producen tilapia, por medio de tres sistemas de producción de cultivo: extensivo, semi-extensivo e intensivo y, además, puede ser cultivada en diferentes medios, como jaulas, tanques, lagunas, entre otros (Abdel, 2020; FAO, 2022). Lo anterior posiciona al país en el décimo lugar a nivel mundial en producción de tilapia, con producciones cercanas a las 72 mil toneladas, tan solo en el año 2020, así como también, se encuentra entre los principales consumidores de este producto (FAO, 2022).

A pesar de las ventajas que ofrece el cultivo de tilapia, el esfuerzo por intensificar y mantener las condiciones óptimas de cultivo, sobre todo en cultivos de alta densidad de siembra, produce un aumento de estrés, crecimiento limitado y un bienestar pobre en los especímenes cultivados, lo que afecta los costos de producción (Lim and Webster, 2006; El-sayed, 2020). El estrés provoca un desorden fisiológico, deprime el sistema inmunológico, y aumenta la susceptibilidad para contraer enfermedades como vibriosis, streptococcosis, septicemia, entre otras, así como también puede generar estrés oxidativo (Biller *et al*., 2018).

## 2.2.Estrés oxidativo en peces

El estrés oxidativo se produce por el desequilibrio entre los niveles de prooxidantes tales como los ROS, las especies reactivas de nitrógeno (RNS, por sus siglas en inglés: Reactive Nytrogen Species) y la generación de antioxidantes en favor de los prooxidantes (Biller *et al*., 2018). ROS/RNS, están involucradas en la regulación de actividades celulares fundamentales, como en la producción de energía, fagocitosis, regulación de crecimiento celular, señalización intracelular y síntesis de importantes moléculas biológicas (Birnie-Gauvin *et al*., 2017). Sin embargo, el aumento de ROS/ RNS pueden incrementar su reactividad y emitir efectos tóxicos que pueden causar peroxidación de lípidos de membrana, deterioro de proteínas en tejidos, membranas, enzimas, carbohidratos y ADN, y, por lo tanto, interrumpir la integridad y la capacidad estructural celular (Schieber y Chandel 2014).

Para prevenir el daño celular causado por ROS / RNS, los organismos cuentan con un sistema de defensa endógeno antioxidante. Un antioxidante es una sustancia que retrasa o impide la oxidación de un sustrato oxidable (Ighodaro *et al*., 2018). Los peces presentan un complejo sistema de defensa antioxidante que comprende varias enzimas, entre ellas superóxido dismutasa (SOD), catalasas (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx). La SOD es encontrada en el citosol ($Cu^{2+}$ SOD y $Zn^{2+}$-SOD) y en las mitocondrias ($Mn^{2+}$-SOD), y actúa sobre el anión superóxido ($O_2^{\bullet}$) transformándolo en $H_2O_2$, evitando su acumulación y daños en la célula (Schieber y Chandel 2014). El $H_2O_2$ producido puede ser eliminado por CAT, GPx y peroxidasas unidas a la tiorredoxina, o puede ser liberado en el citoplasma de las células (Ighodaro *et al.,* 2018). La enzima CAT (derivado de las mitocondrias y los peroxisomas) cataliza la descomposición de $H_2O_2$ en $H_2O$ y $O_2$, que se produce en abundancia por los fagocitos, y mantiene el equilibrio ideal de formación y eliminación de ROS, es esencial para el funcionamiento del sistema de defensa innato (Biller *et al*., 2018).

Adicionalmente, los cultivos en altas densidades pueden desencadenar respuestas fisiológicas complejas en los peces, como el incremento de los niveles de cortisol, alteraciones en la homeostasis redox, disbiosis en la microbiota intestinal, mayor susceptibilidad a enfermedades y, en casos muy severos, aumento de mortalidad. En este

contexto, la microbiota cobra relevancia, ya que desempeña un papel clave en la salud general del hospedador, regulando diversos procesos fisiológicos, como la respuesta al estrés a través del eje intestino-cerebro y el eje hipotalámico-hipofisario-interrenal (Nayak, 2010; Haygood *et al*., 2018; Bereded *et al*., 2020).

### 2.3.Funciones de la Microbiota intestinal en peces

La microbiota es la comunidad microbiana compleja que albergan todos los animales, y consiste principalmente en bacterias, dentro del tracto gastrointestinal (TGI) (Egerton *et al*., 2018). El intestino del pez puede albergar de $10^7$ a $10^{11}$ bacterias por gramo de contenido intestinal, con microorganismos aerobios y anaerobios facultativos que son más abundantes que los anaerobios obligados (Nayak *et al*., 2010). Estos microorganismos se dividen entre las especies autóctonas que se unen a la mucosa intestinal y los alóctonos que no se unen debido a la falta de capacidad o competencia de las bacterias adheridas a la mucosa (Egerton *et al*., 2018).

La microbiota intestinal influye en el metabolismo, crecimiento y resistencia la estrés en los peces, al modular el eje intestino-cerebro y competir con bacterias patógenas, reduciendo así la susceptibilidad a enfermedades (Nayak *et al*., 2010; Ray *et al*., 2017). También participa en funciones fisiológicas y metabólicas clave, como la digestión, el apetito y la respuesta al estrés, mediante la regulación del eje hipotalámo-hipófisis-interrenal (HPI), responsable de la liberación de catecolaminas y corticosteroides, como el cortisol en situaciones de estrés (Rusch *et al*., 2023; Uren *et al*., 2020). Las alteraciones en la microbiota pueden generar disbiosis (desequilibrio en la microbiota), afectando al eje HPI y provocando desequilibrios energéticos, menor actividad antioxidante y cambios en el comportamiento (Williams *et al*., 2020; Ming *et al*., 2025). En especies como la corvina, la trucha arcoiris y tilapia del Nilo, se ha observado que estos cambios microbianos reducen la capacidad alimenticia y el sistema antioxidante (Naderi *et al*., 2018; Zhou *et al*., 2020; Wang *et al*., 2025).

Así mismo, se ha reportado que la dieta puede modificar la abundancia y riqueza de la microbiota de acuerdo con la cantidad, los tipos de ingredientes y niveles de nutrientes (Romero *et al*., 2014). Estudios recientes reportaron que, inclusiones dietéticas de fructanos en niveles de 0.025 a 10 g $kg^{-1}$ incrementan la tasa de supervivencia, la actividad

de enzimas digestivas (lipasas y amilasas) y modifican la riqueza y abundancia de bacterias, como *Lactobacillus*, Pseudomonas, Vibrio y Burkholderi, Proteobacterias, Firmicutes y Cyanobacterias, así como disminuyen los taxones microbianos nocivos (*Streptococcaceae*) en especies como la carpa y tilapia del Nilo (Hoseinifar *et al.,* 2016; Guerreiro *et al.,* 2018). Con base a lo anterior, existe un creciente esfuerzo por contrarrestar los problemas de salud de los peces han avanzado considerablemente, destacando el uso de productos naturales para mejorar las condiciones y el bienestar de los organismos cultivados, sobre todo, aquellos con potencial para ser empleado en el desarrollo de alimentos funcionales.

### 2.4.Alimentos funcionales en acuicultura

La implementación del desarrollo de alimentos funcionales en el sector acuícola, se ha convertido en una alternativa para promover el crecimiento y mejorar el estado de salud y bienestar de los organismos a través de la modulación de la microbiota y/o activación de las respuestas antioxidante e inmune, sin afectar sus procesos digestivos (Wang *et al*., 2018). Existen diversas fuentes naturales (animal y vegetal) en México que pueden ser utilizadas para la identificación y extracción de metabolitos bioactivos, sin embargo, las fuentes vegetales se han catalogado como la principal fuente de extracción de estos compuestos bioactivos (Soto *et al*., 2015).

Las plantas producen una gran cantidad de compuestos bioactivos, tales como alcaloides, péptidos, saponinas, compuestos fenólicos y carbohidratos no digestibles, como los fructanos (agavina), por mencionar algunos (López-Romero *et al*., 2018). En su mayoría estos compuestos bioactivos se encuentran en residuos agroindustriales de frutas, verduras, tubérculos, semillas, raíces, y hojas, utilizados en las industrias de néctares, vinos, bebidas alcohólicas, como el tequila, entre otros (Leyva-López *et al*., 2020). Recientes investigaciones han dirigido su atención al descubrimiento de nuevos compuestos bioactivos provenientes de residuos agroindustriales, como el agave, el cual posee pigmentos, compuestos fenólicos, saponinas, terpenos, y fructanos (agavina) que pueden exhibir ciertas bioactividades con aplicaciones en el sector acuícola (Puente *et al*., 2017; López-Romero *et al*., 2018).

## 2.5.La agavina como prebiótico en la acuicultura

La agavina, también denominado como fructano de agave, son polímeros de glucosa y fructosa altamente ramificada, y con enlaces ß (2 → 1) y ß (2 → 6), propiedad que los hace no digeribles para el intestino y por lo tanto ideales para su uso como prebióticos (López *et al*., 2003). Estos compuestos, son extraídos de la planta de agave y representan hasta un 32% de su peso total, son producidas gracias al metabolismo ácido propio de su especie (Crasuláceas) que durante la fotosíntesis produce una gran cantidad de polímeros de fructosa mediante la fijación del dióxido de carbono de la atmósfera para su almacenamiento, y que además le permite crecer y sobrevivir a grandes altitudes y temperaturas extremas (Arrizon *et al*., 2010).

Los fructanos, principalmente los de menor grado de polimerización (DP), contribuyen a la salud del huésped por su efecto prebiótico, ya que, pueden actuar como sustratos selectivos para las bacterias probióticas, lo que podría estimular su crecimiento e inducir efectos sistémicos beneficiosos para el huésped (Franco-Robles *et al*., 2015). Asimismo, los fructanos y sus derivados fermentados también, pueden actuar como inmunomoduladores, o como estabilizadores de las ROS a través de la disminución de la inflamación y mejoramiento del estado redox (Franco-Robles *et al*., 2016; Biller *et al.,* 2018). Diversos estudios han demostrado que los fructanos, como la inulina y agavina, actúan como prebióticos al modificar la microbiota de los peces. La estructura de estos compuestos está caracterizada por contener enlaces beta (β) que los vuelven indigeribles por enzimas endógenas y les permite llegar al intestino distal, donde son fermentados por la microbiota y producir metabolitos como los ácidos grasos de cadena corta, compuestos que favorecen la salud de los organismos (Ringø *et al*., 2016; Franco-Robles *et al*., 2015; Orozco *et al*., 2015; Huazano-García *et al*., 2017). Se ha reportado que la inclusión de fructooligosacáridos en concentraciones entre 0.4 y 3 g $kg^{-1}$ incrementa la actividad antioxidante (SOD, CAT, GPx), promueve el crecimiento y reduce los niveles hepáticos de malondialdehído en especies como la carpa y la tilapia del Nilo (Zhang *et al*., 2014; Abd *et al*., 2016). Asimismo, la suplementación con agavina (10 a 30 g $kg^{-1}$) ha demostrado beneficios en totoaba, incluyendo mayor crecimiento y abundancia de géneros benéficos (*Sinorhizobium*, *Clostridium*

*butyricum* y *Enterococcus cecorum*), así como, la reducción de enteritis inducida por harina de soya (Fuentes-Quesada *et al*., 2020).

Estos hallazgos respaldan el uso de compuestos naturales con propiedades biológicas para mejorar la salud intestinal y el desempeño productivo de los peces, especialmente bajo condiciones adversas como el estrés oxidativo. Considerando los antecedentes que señalan el interés de identificar y aplicar componentes naturales bioactivos como aditivos en la alimentación animal, es necesario generar conocimiento de otras fuentes, como el agave, para contribuir a comprender los mecanismos de regulación de respuestas antioxidantes y protectoras de la tilapia del Nilo.

## 3. Métodos

### 3.1. Condiciones experimentales

Un total de 200 tilapias masculinizadas (1.04 g ± 0.01 g) fueron asignadas a cuatro tratamientos: un grupo control negativo mantenido a baja densidad (sin estrés por densidad), un control positivo sometido a estrés por alta densidad, ambos alimentados con una dieta sin suplementación con agavina, y dos grupos experimentales alimentados con dietas suplementadas con agavina a 20 g $kg^{-1}$ (D20) y 40 g $kg^{-1}$ (D40), respectivamente (Tabla 1). Todos los tratamientos incluyeron cinco réplicas, con una densidad inicial de peces de 1.73 kg $m^{-3}$. Los peces fueron alimentados al 10 % de su peso corporal, tres veces al día. La tasa de alimentación y el volumen de agua se ajustaron cada quince días con base en la biometría de los peces.

El experimento se llevó a cabo en dos etapas para evaluar la microbiota intestinal y la respuesta antioxidante en condiciones de baja y alta densidad. En la primera etapa, las tilapias de todos los tratamientos se mantuvieron en baja densidad (1.73 kg $m^{-3}$) durante 80 días de alimentación. Al día 90, todos los peces fueron sometidos a estrés por alta densidad (63 kg $m^{-3}$) mediante la reducción del volumen de agua en los tanques de cultivo, siguiendo el método de Mirghaed (2018), excepto el control negativo (baja densidad). Se mantuvieron en estas condiciones durante 20 días. Se tomaron muestras de los peces antes (día 80) y después (día 110) del periodo de estrés por alta densidad. La composición de la microbiota intestinal y la respuesta antioxidante de los peces se analizaron en ambos puntos de muestreo.

Tabla 1. Formulación y composición química de las dietas experimentales.

| **Ingredientes (g/100 g)** | **D0** | **D20** | **D40** |
|---|---|---|---|
| Harina de pescado[a] | 32.60 | 32.60 | 32.60 |
| Harina se soya[b] | 33.00 | 33.00 | 33.00 |
| Harina de pulido de arroz[b] | 4.00 | 4.00 | 4.00 |
| Harina de trigo [c] | 5.00 | 5.00 | 5.00 |
| Harina de sorgo[b] | 3.00 | 3.00 | 3.00 |
| Harina de carne y hueso[b] | 7.00 | 7.00 | 7.00 |
| Hidrolizado de pescado [g] | 3.00 | 3.00 | 3.00 |
| Aceite vegetal:pescado | 0.20 | 0.20 | 0.20 |
| Lecitina de soya [b] | 0.65 | 0.65 | 0.65 |
| Fosfato de calcio dibásico[d] | 0.20 | 0.20 | 0.20 |
| Mezcla de vitaminas y minerales [h,] | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| Harina de maíz[b] | 8.40 | 6.20 | 4.00 |
| Harina de krill[b] | 2.00 | 2.00 | 2.00 |
| Agavina[h] | 0.0 | 2 | 4 |
| **Composición proximal** | | | |
| Proteína cruda | 35.9 ± 0.30 | 35.8 ± 0.06 | 35.6 ± 0.35 |
| Lípidos crudo | 6.98 ± 0.20 | 7.01 ± 0.49 | 6.90 ± 0.47 |
| Ceniza | 18.96 ± 0.49 | 18.79 ± 0.16 | 18.49 ± 0.13 |
| Humedad | 6.59 ± 0.29 | 65.93 ± 0.47 | 6.21 ± 0.07 |
| Extracto libre de Nitrógeno (NFE) | 28.57 | 32.47 | 32.87 |

*****D20: dieta con 20 g/kg de agavina; D40: dieta con 40 g/kg de agavina. Media ± DE (n = 3). a Harina de pescado de primera calidad, Selecta de Guaymas, S.A. de C.V., Guaymas, Sonora, México. b Proteínas Marinas y Agropecuarias, S.A. de C.V., Guadalajara, Jalisco, México. c PROAQUA, S.A. de C.V., Mazatlán, Sinaloa, México. d Sigma-Aldrich Chemical, S.A. de C.V., Toluca, México, México. e Trouw Nutrition México S.A. de C.V. Mezcla de vitaminas: Vitamina A, 10 000 000 UI o mg/g; Vitamina D3, 2 000 000 UI; Vitamina E, 100 000 g; Vitamina K3, 4,00 g; Tiamina (B1), 8,00 g; riboflavina (B2), 8,70 g; piridoxina (B6), 7,30 g; vitamina B12, 20,00 mg; niacina, 50,00 g; ácido pantoténico, 22,20 g; inositol, 153,80 g; ácido nicotínico, 160,00 g; ácido fólico, 4,00 g; biotina, 500 mg; vitamina C, 100,00 g; colina, 300,00 g. Excipiente c.s.p. 2000,00 g. Mezcla mineral: Manganeso, 100 g; Magnesio, 45,00 g; Zinc, 160 g; Hierro, 200 g; Cobre, 20 g; Yodo, 5 g; Selenio, 400,00 mg; Cobalto, 600,00 mg. Excipiente c.s.p. 1500,00 g. f DSM Nutritional Products México S.A. de C.V., El Salto, Jalisco, México. g Hidrolizado enzimático de subproductos de pescado. h IMAG S.A. de C.V., Guadalajara.

### 3.2.Composición de la microbiota

Para evaluar la composición de la microbiota intestinal se recolectaron heces de 5 peces por tanque de cada tratamiento al día 80 (baja densidad) y 110 (alta densidad). Las heces intestinales se recogieron en tubos separados con etanol al 96 % y se almacenaron a − 80 °C. El ADN se extrajo utilizando el método CTAB (bromuro de cetiltrimetilamonio), y la calidad y concentración del ADN se midieron en un espectrofotómetro DeNovix DS-11 (Navarro-Barrón *et al*., 2019). Posteriormente, se evaluó el efecto de la agavina sobre la microbiota utilizando secuenciación de nueva generación (NGS). La biblioteca de secuenciación se preparó siguiendo el protocolo de preparación de bibliotecas de secuenciación metagenómica 16S de Illumina (Yarza *et al*., 2014). Los resultados de la microbiota fueron comparados mediante análisis estadísticos multivariado (PERMANOVA Y ADONIS) y por abundancia diferencial (Log2FoldChange) y un análisis de enriquecimiento de OTUs (GSEA).

## 3.3. Análisis de respuesta antioxidante

### 3.3.1. Cortisol plasmático

Los días 80 y 110, se tomó una muestra aleatoria de un pez de cada tanque y se anestesiaron con 0.2 ml $L^{-1}$ de aceite de clavo. Se extrajeron muestras de sangre de la vena caudal utilizando jeringas heparinizadas (5 mg de heparina por ml de sangre), y se vertieron en viales estériles, posteriormente se centrifugaron a 1200 g durante 10 minutos. La concentración de cortisol en plasma se estimó utilizando el método ELISA y un kit comercial (NEOGEN, Gesellschaft fur Immunchemieund Immunbiologie, Hamburgo, Alemania).

### 3.3.2. Actividad de enzimas antioxidantes

Para la respuesta antioxidante hepáticas, se sacrificó un pez por tanque con aceite de clavo (0.5 ml $L^{-1}$) los días 80 y 110; se extrajo el hígado para analizar las enzimas antioxidantes y la peroxidación lipídica. Los hígados se homogeneizaron (Ultra-Turrax D25 basic, IKA-Werke GmbH & Co., Staufen, Alemania) con tampón PBS (pH 7,4). Las muestras homogeneizadas se centrifugaron (Beckman Allegra X-30R) a 12 000 rpm durante 15 minutos a 4 °C; a continuación, se recuperaron los sobrenadantes y se analizaron para determinar las enzimas antioxidantes y la peroxidación lipídica (Lizárraga-Velázquez et al., 2018).

La actividad de la superóxido dismutasa (SOD) se determinó utilizando el kit SOD-WST (19160 Sigma Aldrich, St. Louis, MA, EE. UU.) siguiendo las instrucciones del kit. Mientras que, la actividad de la catalasa (CAT) se determinó según el método de Aebi (1984) con ligeras modificaciones. Para evaluar la peroxidación lipídica, se determinó la concentración de malondialdehido siguiendo la metodología descrita por Lizárraga-Velázquez (2018). Por último, para expresar la actividad enzimática como U/mg de proteína, la concentración de proteínas en el sobrenadante se determinó según el método de Bradford (1976). Los resultados fueron comparados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías y una prueba de Tukey pos-hoc, bajo los supuestos de normalidad (Shapiro- Wilk) y homocedasticidad (Levene´s).

## 4. Resultados y Discusiones

### 4.1.Composición de la microbiota

La Figura 1 muestra los análisis de enriquecimiento por abundancia (GSEA) entre las dietas suplementadas con agavina (20 y 40 g $kg^{-1}$) comparadas con la dieta control en condiciones de baja densidad. La adición de 20 g $kg^{-1}$ de agavina promovió el crecimiento de bacterias potencialmente benéficas, como *Sphingomonadaceae* y *Chitinophagaceae*, las cuales participan en la producción de esfingolípidos de los tejidos nerviosos, la señalización celular, la producción de SCFA, como el acetato, así como en la descomposición de quitina y liberación de nutrientes en el medio acuático (Rosenberg *et al*., 2014; Wong *et al*., 2015). Por otra parte, la adición de 40 $gKg^{-1}$ de agavina incrementó las familias Burkholderiaceae (participan en el mantenimiento de la comunidad microbiana) y Beijerinckiaceae (asimiladores claves de acetato) (Bernardet *et al*., 2015; Nawaz *et al*., 2018).

Por otra parte, se observó que el estrés por alta densidad incrementó significativamente la abundancia de familias potencialmente patógenas como Vibrionaceae e inhibió a las familias Oxalobacteriaceae, Comamonadaceae, Sutterellaceae, Chromobacteriaceae y Flammeovirgaceae en el control positivo (Figura 2A). Se ha documentado que, en organismos no saludables o sometidos a condiciones de estrés térmico, las familias más destacadas son *Vibrionaceae*, *Aeromonadaceae*, *Shewenella* y *Cetobacterium*, esto observado en especies como el salmón (*Salmo salar L*.) y la trucha arcoíris (*Oncorhynchus*

*mykiss*) (Wang *et al.,* 2018; Zhou *et al.,* 2022). Este efecto se ha atribuido al hecho de que el estrés en organismos acuáticos puede alterar la estructura y perturbar la mucosa intestinal, así como el tejido linfoide asociado al intestino. Además, el estrés reduce las bacterias con funciones protectoras y aumenta la permeabilidad de la membrana, lo que facilita la colonización de patógenos oportunistas (Wang *et al.,* 2018; Zhou *et al.,* 2020).

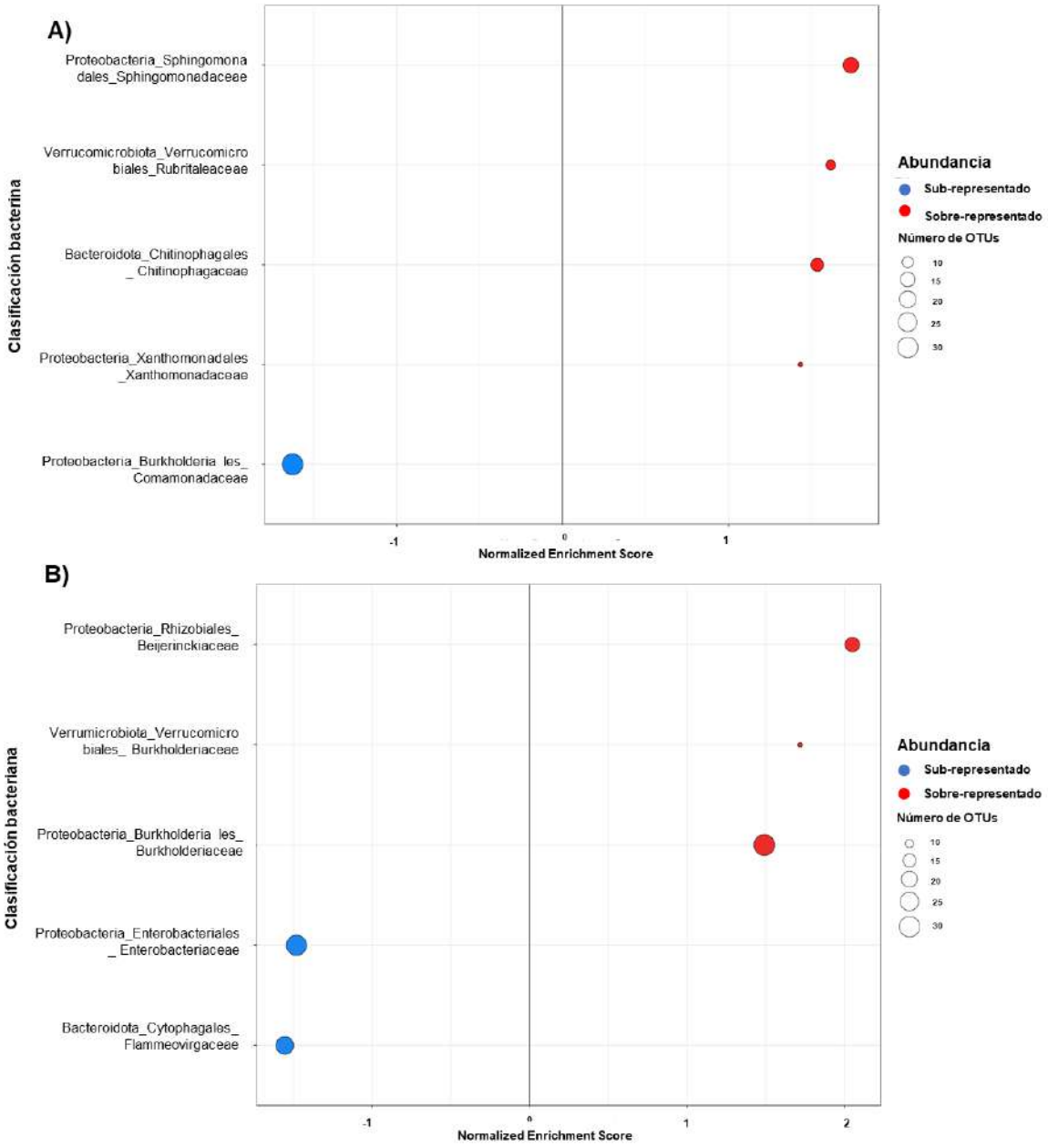



Figura 1. Análisis de enriquecimiento de conjuntos de abundancia (GSEA). (A) Dieta suplementada con 20 g $kg^{-1}$ de agavina y sin estrés por alta densidad frente al control; (B) Dieta suplementada con 40 g $kg^{-1}$ de agavina y sin estrés por alta densidad frente al control.

En este mismo contexto, la suplementación con agavina de 20 g $kg^{-1}$ incrementó la abundancia de bacterias potencialmente probióticas (*Sphingomonadacea*e y *Oxalobacteriaceae*) y redujo familias potencialmente patógenas (*Vibrionaceae* y *Aeromonadaceae*) durante el reto de estrés por alta densidad en comparación con el control positivo ($P<0.05$) (Figura 2B). Sin embargo, no se observó el mismo efecto en la dieta con 40 g $kg^{-1}$ de gavina, esto podría atribuirse al nivel de inclusión de fibra dietética que puede digerir y utilizar la tilapia del Nilo, en donde niveles cercanos y/o mayores a 5% reducen la utilización y digestibilidad de dieta (Lim y Webster, 2006).

Estudios previos han demostrado que la inclusión de fructanos como la inulina, fructooligosacáridos y agavina en concentraciones de 2.5 a 20 g $kg^{-1}$, favorece la abundancia de bacterias potencialmente probióticas como *Bifidobacterium spp., Fusobacterium, Bacteroidetes, Sphingomonadaceae, Xanthomonadaceae, Sinorhizobium* y *Clostridium* en especies como tilapia, lubina asiática y totoaba (Tiengtam *et al*., 2018; Wang *et al*., 2021; Fuentes-Quesada *et al*., 2020). Estos efectos pueden atribuirse a su capacidad para mejorar la integridad intestinal, la actividad enzimática digestiva, la inmunidad y la producción de SCFA, además de modular el eje intestino-cerebro, ayudando así a mitigar el estrés oxidativo (Nawaz *et al*., 2018; Silva *et al*., 2020).

### 4.2.Análisis de respuesta antioxidante

La tabla 2 muestra la respuesta antioxidante del control negativo (DC0-) al día 80 y día 110, ambos en condiciones de baja densidad (1.73 kg $m^{-3}$). Se observaron diferencias significativas en la concentración de cortisol plasmático entre los dos puntos de muestreo ($P<0.01$), así como también en la actividad de catalasa ($P<0.01$). Sin embargo, no se encontraron diferencias en las concentraciones de malondialdehído ($P$=1.00) y la actividad de la superóxido dismutasa ($P$=0.377).

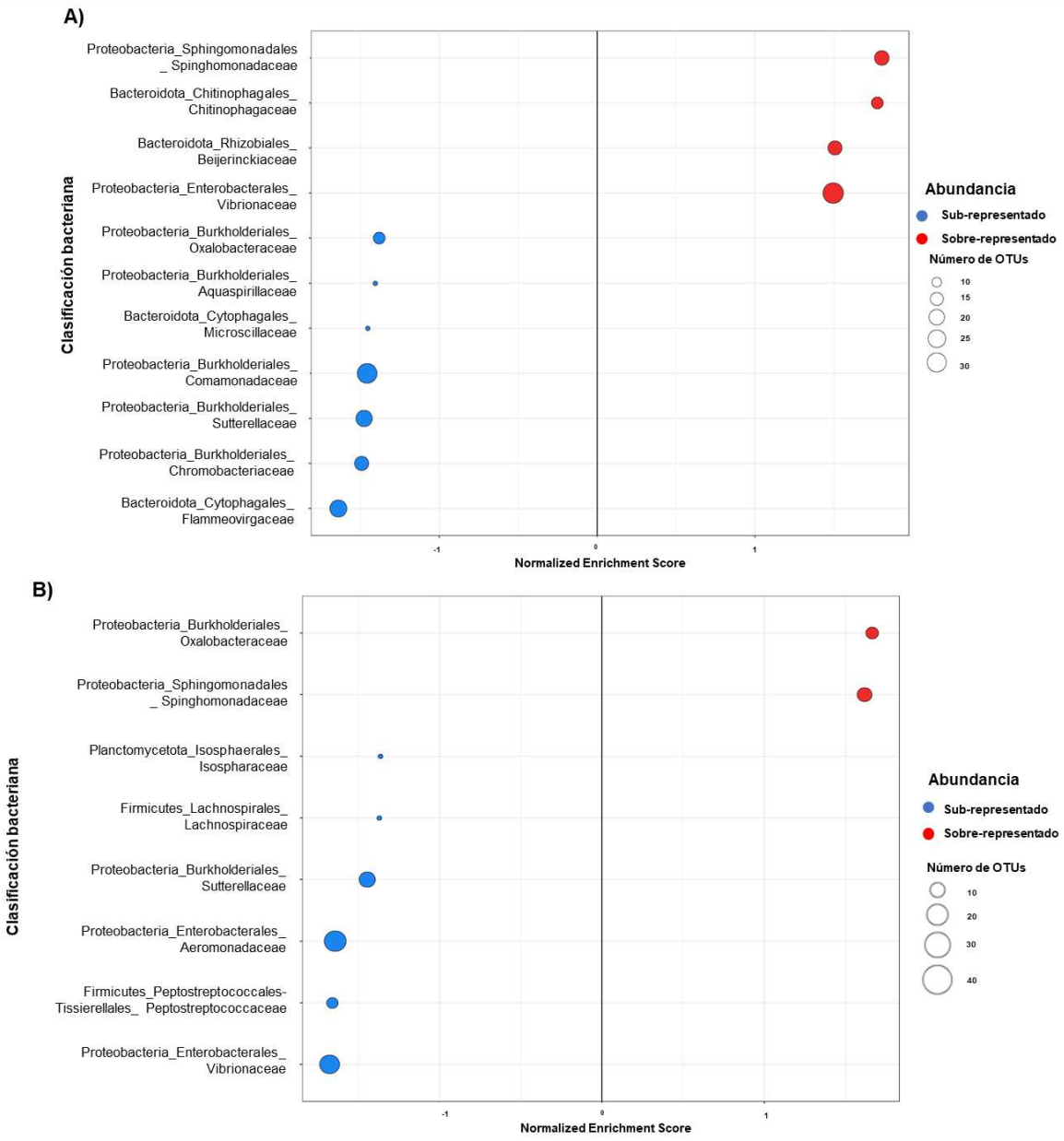



Figura 2. Análisis de enriquecimiento de conjuntos de abundancia (GSEA). (A) Control positivo (sin suplementación con agavina) sometido a estrés de alta densidad (día 110) frente al control positivo antes del estrés de alta densidad (día 80); (B) Dieta suplementada con 20 g $kg^{-1}$ de agavina y sometida a estrés de alta densidad frente al control positivo.

Tabla 2. Respuesta antioxidante del control negativo (DC0-) al día 80 y 110 en condiciones de baja densidad (1.73 kg $m^{-3}$).

| | **Día 80** | **Día 110** |
|---|---|---|
| Cortisol (ng/mL) | $45.5 \pm 4.8^{b}$ | $75.4 \pm 6.4^{a}$ |
| Catalasa (U CAT/mg de prot.) | $31.8 \pm 5.3^{a}$ | $12.1 \pm 10.7^{b}$ |
| Superóxido dismutasa (U SOD/ mg de prot.) | $7.1 \pm 1.4^{a}$ | $8.6 \pm 1.3^{a}$ |
| Malondialdehído (mmol/ g de tejido) | $0.14 \pm 0.06^{a}$ | $0.14 \pm 0.02^{a}$ |

Datos obtenidos de cinco réplicas biológicas se muestran como valores medios ± DE. Las letras diferentes corresponden a diferencias significativas ($p < 0,05$) de acuerdo con una prueba HSD de Tukey (n = 5). DC0-, control sin estrés por alta densidad; DC0+, control bajo estrés por alta densidad; D20, dieta experimental suplementada con 20 g $kg^{-1}$ de agavina bajo estrés por alta densidad; D40, dieta experimental suplementada con 40 g $kg^{-1}$ de agavina bajo estrés por alta densidad. Letras diferentes indican diferencias significativas.

Los cambios observados en la actividad de catalasa y concentración de cortisol plasmático en el control negativo (DC0-) puede atribuirse a factores como el ciclo de vida y/o etapa reproductiva de los peces, ya que, el cortisol funciona como señalador en la movilización de energía y es precursor de moléculas importantes como el colesterol (Sadoul *et al*., 2019). Adicionalmente, el hecho de que no se observaron diferencias estadísticas en la actividad de catalasa y la concentración de MDA sugiere que los organismos se encontraban en condiciones óptimas en términos de salud y bienestar, esto debido a que los parámetros mencionados son considerados biomarcadores importantes del estrés y estado de salud de los peces (Erikson *et al*., 2016; Kumari *et al*., 2021).

En la Figura 3 se observa la respuesta antioxidante de los tratamientos en baja y alta densidad de cultivo. El control positivo (DC0+) y la dieta D20 exhibieron diferencias significativas en los niveles de cortisol plasmático con respecto a la densidad de cultivo, incrementando en condiciones de alta densidad. En condiciones de baja densidad, no se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos, mientras que, en condiciones de alta densidad, el DC0+ exhibió la mayor concentración de cortisol, seguida por las dietas D20 y D40 (Figura 3A). La concentración de malondialdehído se observa en la Figura 3B; la alta densidad incrementa la concentración de MDA en el DC0+ y la D20. En condiciones de

baja densidad, la dieta D40 exhibió la menor concentración de MDA en comparación con el resto de los tratamientos, sin embargo, en condiciones de alta densidad, la dieta DC0+ mostró un mayor incremento en la concentración de MDA comparada con las dietas con agavina (D20 y D40). Respecto a las enzimas antioxidantes, se observaron diferencias entre las densidades evaluadas y la actividad de la catalasa; en condiciones de alta densidad la dieta D20 obtuvo la mayor actividad de catalasa en comparación con el resto de los tratamientos (Figura 3C). La actividad de superóxido dismutasa solo mostró diferencias entre las densidades en la dieta D20, así como también exhibió la mayor actividad de SOD en condiciones de baja y alta densidad (Figura 3D).

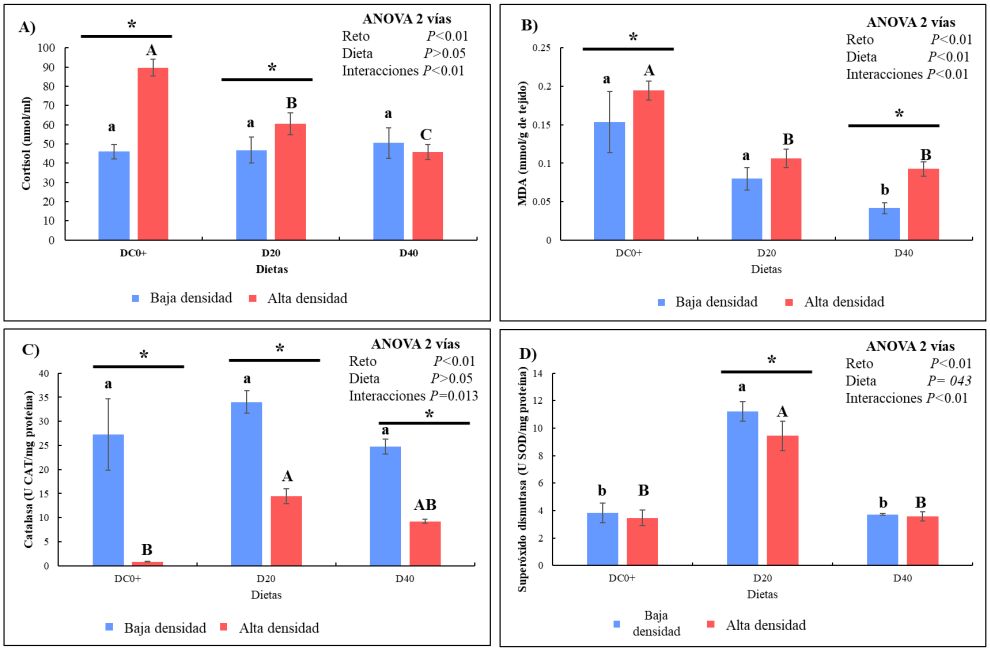



Figura 3. Respuesta antioxidante de la agavina en la dieta (A) Cortisol plasmático, (B) Concentración de malondialdehído (MDA), (C) Actividad de la catalasa (CAT) y (D) Actividad de la superóxido dismutasa (SOD) en la tilapia del Nilo (*O. niloticus*). DC0+, control positivo; D20, dieta con 20 g $kg^{-1}$ de agavina; D40, dieta con 40 g $kg^{-1}$ de agavina. Los datos de cinco réplicas biológicas se muestran como valores medios ± DE. Las barras azules representan dietas en condiciones de baja densidad (1,73 kg $m^{-3}$); las barras rosas corresponden a dietas en condiciones de alta densidad (63 kg $m^{-3}$). Los asteriscos representan diferencias entre las dietas de baja y alta densidad. Las diferentes letras minúsculas corresponden a diferencias significativas entre las dietas en condiciones de baja densidad. Las letras mayúsculas indican diferencias significativas entre las dietas en condiciones de estrés por alta densidad. Se utilizó la prueba HSD de Tukey para evaluar la significación ($p <$ 0,05).

La concentración de cortisol plasmáticos fue alterada por el estrés inducido por alta densidad en el DC0+ (control con estrés). El aumento de los niveles de cortisol estimula la movilización de reservas energéticas como la glucosa (vía gluconeogénesis y glucogénesis), los triglicéridos (vía lipogénesis) y colesterol (precursor de cortisol) (Yaghobi *et al*., 2015), lo que contribuye a cubrir las necesidades energéticas de los organismos durante el estrés agudo (primeros minutos u horas), e incluso durante el estrés crónico (días o semanas). Sin embargo, el estrés crónico puede generar agotamiento de las reservas energéticas, reduciendo el crecimiento, la eficiencia alimentaria e incrementar la mortalidad en peces (Erikson *et al*., 2016).

La exposición de diversas especies de peces al estrés, ya sea agudo o crónico debido a una alta densidad, ha sido asociada con incrementos en los niveles de cortisol, glucosa, triglicéridos y colesterol. Por ejemplo, Naderi (2018) observó un aumento en los niveles de cortisol y glucosa en truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) cultivadas a una densidad elevada (200 $Kgm^{-3}$) durante 45 minutos. Por su parte, Mirghaed (2018) reportó aumentos en los niveles de cortisol, glucosa, triglicéridos y colesterol en la misma especie bajo una densidad de cultivo de 60 $Kgm^{-3}$ durante 14 días. Yaghobi (2015) también señaló un aumento en los niveles de cortisol y glucosa en bagres (*Pangasianodon hypophthalmus*) cultivados a una densidad de 100 $Kgm^{-3}$ durante 3 horas.

La disminución de los niveles de cortisol en las tilapias alimentadas con adición dietética de agavina puede atribuirse a este fructano. Estudios en mamíferos han revelado que los fructanos tienen la capacidad de regular los niveles de cortisol al modular el eje HPA (equivalente al HPI en peces) mediante la estimulación del nervio vago y/o a través de la modulación del eje intestino-cerebro. Esta acción inhibe la expresión del polipéptido adenilato-ciclasa-activador de la hipófisis, incluyendo las proteínas G y PACAP-R1, componentes que regulan el eje HPA y la producción de corticotropina, lo que a su vez suprime la liberación de cortisol en plasma (Chu *et al*., 2021; Dediu *et al.,* 2021).

En este estudio, las tilapias alimentadas con una dieta suplementada con agavina y cultivadas a alta densidad exhibieron un aumento en la actividad de la SOD y la CAT, así como niveles más bajos de MDA. En peces, la suplementación con fructooligosacáridos (10-20 g $kg^{-1}$) e inulina (4 g $kg^{-1}$) ha demostrados aumentar la actividad de enzimas antioxidantes (SOD,

CAT) y reducir la concentración de MDA en carpas y tilapia (Zhang *et al*., 2014; Zhou *et al*., 2020). De manera similar, la agavina e inulina han inducido respuestas antioxidantes en modelos murinos, atribuibles a su efecto prebiótico y la producción de SCFA, los cuales pueden activar enzimas antioxidantes a través del factor eritroide nuclear-2 (Nrf2) o inhibir a NF-κB (Sun *et al*., 2019; Leyva-López *et al*. 2020). Estos resultados sugieren que la agavina podría ser empleado como aditivo funcional en la acuicultura y producir beneficios antioxidantes y prebióticos.

## 5. Conclusión

El estrés por alta densidad afecta negativamente la respuesta antioxidante y la microbiota intestinal de la tilapia del Nilo. Sin embargo, la adición de agavina de 20 g $kg^{-1}$ mejora la actividad de la catalasa y superóxido dismutasa, reduce la concentración de malondialdehído, regula la alteración de los niveles de cortisol plasmático y favorece la presencia de bacterias benéficas, como *Sphingomonadaceae*, *Oxalobatereaceae*, *Flavobacteriaceae,* asociadas a la salud intestinal y antioxidante. Mientras que, la adición de 40 g $kg^{-1}$ de agavina no mostró beneficios adicionales, posiblemente a una menor digestibilidad de la fibra. Estos resultados sugieren que la agavina puede ser una herramienta nutricional efectiva para mitigar los efectos del estrés por alta densidad en tilapia.

## Agradecimientos

Agradecemos a E. Yazmín Sánchez-Gutiérrez, Guadalupe Zambrano-Sandoval y Jazmín Arredondo-Quiñones por la ayuda prestada durante los experimentos de alimentación, a Julissa Enciso-Ibarra por la secuenciación del ADN y a Víctor H. Caña-Bozada por su asesoramiento en el análisis bioinformático. Los autores agradecen a Inulina y Miel de Agave S.A. de C.V., Guadalajara, por la donación de agavina. Cualquier mención de nombres comerciales o productos comerciales en este artículo tiene como único objetivo proporcionar información específica y no implica una recomendación o respaldo por parte del CIAD, A. C.

## Referencias


Abdel-Fattah M. El-sayed. 2020. Tilapia culture. Second edition. Editorial. Academic press-Elsevier Inc. ISBN:978-0-12-816509-6. United Kingdom

Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. Methods Enzymol. 105, 121–126. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3

Arrizon, J.; Morel, S.; Gschaedler, A.; Monsan, P. 2010. Comparison of the water-soluble carbohydrate composition and fructan structures of Agave tequilana plants of different ages. Food Chem. 122, 123–130. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.028

Bereded NK, Curto M, Domig KJ, Abebe GB, Fanta SW, Waidbacher H, Meimberg H. 2020. Metabarcoding analyses of gut microbiota of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from lake Awassa and lake Chamo, Ethiopia. Microorganisms 8(7):1–19. https://doi.org/10.3390/microorganisms8071040

Bernardet J. 2015. Flavobacteriaceae. In: Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria, pp. 1–18

Biller, J. D., and Takahashi, L. S. 2018. Oxidative stress and fish immune system: Phagocytosis and leukocyte respiratory burst activity. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, *90*(4), 3403–3414. https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170730

Birnie-Gauvin, K.; Costantini, D.; Cooke, S.J.; Willmore, W.G. 2017. A comparative and evolutionary approach to oxidative stress in fish: A review. Fish Fish. 18, 928–942. **https://doi.org/10.1111/faf.12215**

Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. **1976**, 72, 248–254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

Chu, B.; Marwaha, K.; Sanvictores, T.; Ayers, D. 2021. Physiology, Stress Reaction. In StatPearls [Internet]; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA.

Dediu, L.; Docan, A.; Cretu, M.; Grecu, I.; Mogodan, A.; Maereanu, M.; Oprea, L. 2021. Effects of Stocking Density on Growth Performance and Stress Responses of Bester and Bester ♀ × Beluga ♂ Juveniles in Recirculating Aquaculture Systems. Animals. 11, 2292. https://doi.org/10.3390/ani11082292

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

El-sayed AFM. 2020. Tilapia culture, 2nd edn. Academic press-Elsevier Inc, United Kingdom.

Erikson, U.; Gansel, L.; Frank, K.; Svendsen, E.; Digre, H. 2016. Crowding of Atlantic salmon in net-pen before slaughter. Aquac. 465, 395–400. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.018

FAO (2022) http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/ *Oreochromis_niloticus*/en.

Accessed 5 Dec 2023

Franco-Robles, E.; López, M.G. 2016. Agavins Increase Neurotrophic Factors and Decrease Oxidative Stress in the Brains of High-Fat Diet-Induced Obese Mice. Molecules. 21, 998. **https://doi.org/10.3390/molecules21080998**

Franco-Robles, E.; López, M.G. 2015. Implication of Fructans in Health: Immunomodulatory and Antioxidant Mechanisms. Sci. World J. 2015, 2015, 289267. **https://doi.org/10.1155/2015/289267**

Fuentes-Quesada JP, Cornejo-Granados F, Mata-Sotres JA, Ochoa-Romo JP, Rombenso AN, Guerrero-Rentería Y, Lazo JP, Pohlenz C, Ochoa-Leyva A, Viana MT 2020. Prebiotic agavin in juvenile totoaba, *Totoaba macdonaldi* diets, to relieve soybean meal-induced enteritis: growth performance, gut histology and microbiota. Aquac Nutr 26:2115–2134. **https://doi.org/10.1111/anu.13151**

Guerreiro, I., Serra, C. R., Oliva-Teles, A., Enes, P. 2018. Short communication: gut microbiota of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) is modulated by short-chain fructooligosaccharides and xylooligosaccharides. *Aquaculture International*, *26*(1), 279–288. https://doi.org/10.1007/s10499-017-0220-4

Haygood AM, Jha R. 2018. Strategies to modulate the intestinal microbiota of tilapia (*Oreochromis* sp.) in aquaculture: a review. Rev Aquac 10(2):320–333. https://doi.org/10.1111/raq.12162

Hoseinifar, S. H., Eshaghzadeh, H., Vahabzadeh, H., & Peykaran Mana, N. (2016). Modulation of growth performances, survival, digestive enzyme activities and intestinal microbiota in common carp (*Cyprinus carpio*) larvae using short chain fructooligosaccharide. *Aquaculture Research*, *47*(10), 3246–3253. https://doi.org/10.1111/are.12777

Ighodaro, O.M.; 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. Alex. J. Med. 2018, 54, 287–293. https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001

Jones J, DiBattista JD, Stat M, Bunce M, Boyce MC, Fairclough DV, Travers MJ, Huggett MJ. 2018. The microbiome of the gastrointestinal tract of a range-shifting marine herbivorous fish. Front Microbiol. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02000

Leyva-López, N.; Lizárraga-Velázquez, C.E.; Hernández, C.; Sánchez-Gutiérrez, E.Y. 2020. Exploitation of Agro-IndustrialWaste as Potential Source of Bioactive Compounds for Aquaculture. Foods 2020, 9, 843. **https://doi.org/10.3390/foods9070843**

Lim C, Webster CD. 2006. Tilapia, biology, culture and nutrition, 1st edn. Food Product Press Inc, New York, pp 51–58

Liu, P.;Wang, Y.; Yang, G.; Zhang, Q.; Meng, L.; Xin, Y.; Jiang, X. 2021. The role of short-chain fatty acids in intestinal barrier function, inflammation, oxidative stress, and colonic carcinogenesis. Pharmacol. Res. 2021, 165, 105420. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105420

Lizárraga-Velázquez, C.E.; Hernández, C.; González-Aguilar, G.A.; Heredia, J.B. 2018. Effect of hydrophilic and lipophilic antioxidants from mango peel (*Mangifera indica* L. cv. Ataulfo) on lipid peroxidation in fish oil. CyTA J. Food 2018, 16, 1095–1101. https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1513425

Lopez, M.G.; Mancilla-Margalli, N.A.; Mendoza-Diaz, G. 2003. Molecular Structures of Fructans from Agave tequilana Weber var. azul. J.Agric. Food Chem. 2003, 51, 7835–7840. https://doi.org/10.1021/jf030383v.

López-Romero, J.C.; Ayala-Zavala, J.F.; González-Aguilar, G.A.; Peña-Ramos, E.A.; González-Ríos, H. 2018. Biological activitiesofAgaveby-products and their possible applications in food and pharmaceuticals. J. Sci. Food Agric. 2018, 98, 2461–2474. https://doi.org/10.1002/jsfa.8738

Ming, S. S., Xin, L.C., Shing, C. K., Shahidee, Z. A., Christian Sonne, Nyuk, L. M. 2025. Aquatic microbiomes under stress: The role of gut microbiota in detoxification and adaptation to environmental exposures. Journal of Hazardous Materials Advances. Volume 17,100612. https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2025.100612

Mirghaed, A.T.; Hoseini, S.M.; Ghelichpour, M. Effects of dietary 1,8-cineole supplementation on physiological, immunological and antioxidant responses to crowding stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2018. Fish Shellfish Immunol. 2018, 81, 182–188. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.07.027

Molinari LM, De Scoaris DO, Pedroso RB, De Bittencourt NLR, Nakamura CV, Ueda-Nakamura T, De Abreu Filho BA, Dias Filho BP. 2003. Bacterial microflora in the gastrointestinal tract of Nile tilapia, Oreochromis niloticus, cultured in a semi-intensive system. Acta Sci Biol Sci 25(2):267–271. https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v25i2.2007

Naderi, M., Keyvanshokooh, S., Ghaedi, A., Salati, A.P. 2018. Effect of acute crowding stress on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): A proteomics study. Aquac. 495, 106–114. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.038

Navarro-Barrón E, Hernández C, Llera-Herrera R, García-Gasca A, Gomez-Gil B 2019. Overfeeding a high-fat diet promotes sexspecific alterations on the gut microbiota of the zebrafish (*Danio rerio*). Zebrafish 16(3):268–279. https://doi.org/10.1089/zeb.2018.1648

Nayak SK. 2010. Role of gastrointestinal microbiota in fish. Aquac Res 41(11):1553–1573. https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02546.x

Puente-Garza, A., Meza-miranda, C., & Ochoa-martínez, D. 2017. Plant Physiology and Biochemistry Effect of in vitro drought stress on phenolic acids, flavonols, saponins, and antioxidant activity in Agave salmiana, *115*, 400–407. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.04.012

Ray, C., Bujan, N., Tarnecki, A., Davis D, A., C, B., & CR, A. 2017. Analysis of the Gut Microbiome of Nile Tilapia Oreochromis Niloticus L. Fed Diets Supplemented with Previda® and Saponin. *Journal of FisheriesSciences.Com*, *11*(2), 36–45. https://doi.org/10.21767/1307-234x.1000116

Romero, J. Ringø, E., Merrifield, D. L. 2014. The Gut Microbiota of Fish. *Aquaculture Nutrition: Gut Health,Probiotics and Prebiotics*, First Edition.Edited by Daniel Merrifield and Einar Ringø. © John Wiley & Sons, Ltd. Published 2014 by John Wiley & Sons, Ltd.

Rosenberg E. 2014. The family *Chitinophagaceae*. In: Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F (eds) The prokaryotes. Springer, Berlin

Rusch, J.A., Layden, B.T., Dugas, L.R. 2023. Signalling cognition: the gut microbiota and hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Front Endocrinol (Lausanne). Jun 19;14:1130689. https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1130689

Sadoul, B.; Geffroy, B. Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes. J. Fish Biol. **2019**, 94, 540–555. **https://doi.org/10.1111/jfb.13904**

Schieber M and Chandel NS. 2014. ROS Function in Redox Signaling and Review. Oxidative Stress. Current Biol 24: 453-462. https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034.

Soto, J. O., Paniagua-Michel, J. D. J., Lopez, L., & Ochoa, L. 2015. Functional feeds in aquaculture. *Springer Handbook of Marine Biotechnology*, 1303–1319. https://doi.org/10.1007/978-3-642-53971-8_59

Sun, B.; Jia, Y.; Yang, S.; Zhao, N.; Hu, Y.; Hong, J.; Gao, S.; Zhao, R. 2019. Sodium butyrate protects against high-fat diet-induced oxidative stress in rat liver by promoting expression of nuclear factor E2-related factor 2. Br. J. Nutr. **2019**, 122, 400–410. https://doi.org/10.1017/S0007114519001399

Tiengtam N, Paengkoum P, Sirivoharn S, Phonsiri K, Boonanuntanasarn S. 2017.The effects of dietary inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) tuber on the growth performance, haematological, blood chemical and immune parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Aquac Res 48:5280–5288. https://doi.org/10.1111/are.13341

Uren-Webster, T.M., Rodriguez-Barreto, D., Consuegra, S., Garcia de Leaniz, C. 2020. Cortisol-Related Signatures of Stress in the Fish Microbiome. Front. Microbiol. 11:1621. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01621

Van den Ende, W.; Peshev, D.; De Gara, L. 2011. Disease prevention by natural antioxidants and prebiotics acting as ROS scavengers in the gastrointestinal tract. Trends Food Sci. Technol. 2011, 22, 689–697. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.07.005

Wang C, Sun G, Li S, Li X, Liu Y. 2018. Intestinal microbiota of healthy and unhealthy Atlantic salmon Salmo salar L. in a recirculating aquaculture system. J Oceanol Limnol 36(2):414–426. https://doi.org/10.1007/s00343-017-6203-5

Wang T, Zhang N, Yu XB, Qiao F, Chen LQ, Du ZY, Zhang ML. 2021. Inulin alleviates adverse metabolic syndrome and regulates intestinal microbiota composition in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with high-carbohydrate diet. Br J Nut 126(2):161–171. https://doi.org/10.1017/S000711452000402X

Wang, A. R., Ran, C., Ringø, E., & Zhou, Z. G. 2018. Progress in fish gastrointestinal microbiota research. *Reviews in Aquaculture*, *10*(3), 626–640. https://doi.org/10.1111/raq.12191

Wang, J., Mingtao, L., Yu, L., Zhi, W., Jieliang, F., Yan, W. 2025. Insights from antibiotic-induced gut microbiota dysbiosis and metabolic changes in the gut and hypothalamus into the microbiota–gut–brain axis in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). Aquaculture. Volume 599,742157. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2025.742157

Williams. C.L., Garcia-Reyero, N., Martyniuk, C. J., Tubbs, C. W., Bisesi, J. H. 2020. Regulation of endocrine systems by the microbiome: Perspectives from comparative animal models. General and Comparative Endocrinology, Volume 292,113437. https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2020.113437

Wong S, Waldrop T, Summerfelt S, Davidson J, Barrows F, Kenney BB, Welch T, Wiens GD, Snekvi K, Rawls JF, Good C. 2013. Aquacultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) possess a large core intestinal microbiota that is resistant to variation in diet and rearing density. App Environ Microbiol 79(16):4974–4984. https://doi.org/10.1128/AEM.00924-13

Yaghobi, M.; Heyrati, F.P.; Dorafshan, S.; Mahmoudi, N. 2015. Serum biochemical changes and acute stress responses of the endangered iridescent catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) supplied with dietary nucleotide. JAST **2015**, 17, 1161–1170. [Online]

Yarza P, Yilmaz P, Pruesse E, Glöckner FO, Ludwig W, Schleifer KH, Whitman WB, Euzéby J, Amann R, Rosselló-Móra R (2014) Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. Nat Rev Microbiol 12(9):635–645. https://doi.org/10.1038/nrmicro3330

Zhang, C.-N.; Tian, H.-Y.; Li, X.-F.; Zhu, J.; Cai, D.-S.; Xu, C.;Wang, F.; Zhang, D.-D.; Liu,W.-B. 2014. The effects of fructooligosaccharide on the immune response, antioxidant capability and HSP70 and HSP90 expressions in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala Yih*) under high heat stress. Aquaculture **2014**, 433, 458–466. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.07.007

Zheng Y, Wu W, Hu G, Qiu L, Meng S, Song C, Fan L, Zhao Z, Bing X, Chen J (2018) Gut microbiota analysis of juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) by dietary supplementation of different resveratrol concentrations. Fish Shellfish Immunol 77:200–207. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018. 03. 040

Zhou C, Yang S, Ka W, Gao P, Li Y, Long R, Wang J. 2022. Association of gut microbiota with metabolism in Rainbow trout under acute heat stress. Front Microbiol. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.846336

Zhou L, Zhang J, Yan M, Tang S, Wang X, Qin JG, Chen L, Li E. 2020. Inulin alleviates hypersaline-stress induced oxidative stress and dysbiosis of gut microbiota in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735681

# La Alimentación Balanceada Funcional como Estrategia Integral para el Control de Enfermedades Bacterianas en *Penaeus vannamei*: Enfoque Microbiológico, Filogenético y Nutricional

Sonnya Patricia Mendoza Lombana[1]

[1] Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE), Ecuador. ORCID: 0000-0002-3283-9199.

Correspondencia: smendoza@upse.edu.ec

## Resumen

Las enfermedades bacterianas son una de las principales limitaciones en la producción intensiva de *Litopenaeus vannamei* (larvas y juveniles) en particular las generadas por *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., y *Vibrio* spp. Este estudio integró un enfoque microbiológico, bioquímico, resistencia, perfil filogenético y nutricional de estudios de bacterias obtenidas en los laboratorios de producción de la costa ecuatoriana, así como bacterias de agua y playa de diferentes sectores de engorde (Santa Elena, El Morro, Yaguachi, Taura y Sábana Grande). Las bacterias se aislaron mediante medios selectivos (TCBS, cetrimida y cromoagar) y se identificadas con API 20E/20NE, además de secuenciación 16S rRNA y toxR. Se emplearon en la investigación dietas funcionales enriquecidas con ácido butírico (0.5%) y aceites esenciales de orégano y eucalipto (0.5%), las cuales presentaron concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de 0.25-1%. La caracterización bioquímica y secuenciación de las bacterias permitió identificar diferentes cepas de *Vibrio* spp. en los muestreos, siendo *V. alginolycticus*, *V. harvey, y V. parahaemolyticus* las más relevantes. Sin embargo, solo las bacterias aisladas de laboratorios mostraron resistencia a fármacos (ampicilina, amoxicilina florfenicol, lincomicyna y oxitetraciclina). Las dietas usadas en camarón mostraron una reducción significativa de la incidencia bacteriana, además de una mejora en la microbiota intestinal y respuesta inmunitaria del camarón. Esto demuestra que la integración de alimentos funcionales constituye una alternativa sostenible al uso de antibióticos en el cultivo de camarón, favoreciendo la producción de estos organismos.

*Palabras clave*: Dieta funcional, *Litopenaeus vannamei*, Resistencia bacteriana

## Introducción

La industria camaronera ecuatoriana representa uno de los pilares de la economía acuícola mundial, consolidándose como el principal exportador mundial de *Litopenaeus vannamei*, con más de 1,900 millones de libras exportadas y más de 6,500 millones de dólares en ingresos anuales (He *et al.,* 2017). Sin embargo, este liderazgo enfrenta un desafío persistente: las enfermedades bacterianas que afectan la salud de larvas y juveniles en sistemas de producción intensiva (Jatobá *et al*., 2018).

En los últimos años, patógenos como *Vibrio alginolyticus*, *V. harveyi*, y *V. parahaemolyticus* han causado pérdidas significativas, especialmente en las zonas de producción de Santa Elena, Taura, Yaguachi, y Sábana Grande, donde se han reportado brotes asociados con el Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS/AHPND) y otras infecciones oportunistas (Tran *et al*., 2023). La presión selectiva generada por el uso histórico de antibióticos (enrofloxacino, florfenicol, oxitetraciclina) ha provocado la aparición de cepas multirresistentes (RAM), lo que amenaza tanto la sostenibilidad ambiental como la seguridad alimentaria del producto final (Li *et al.*, 2024). Ante este escenario, la nutrición funcional emerge como una herramienta biotecnológica con compuestos naturales capaces de modular la microbiota intestinal y estimulan el sistema inmunitario del camarón y que puede reemplazar a los antibióticos (Arwa *et al.*, 2024).

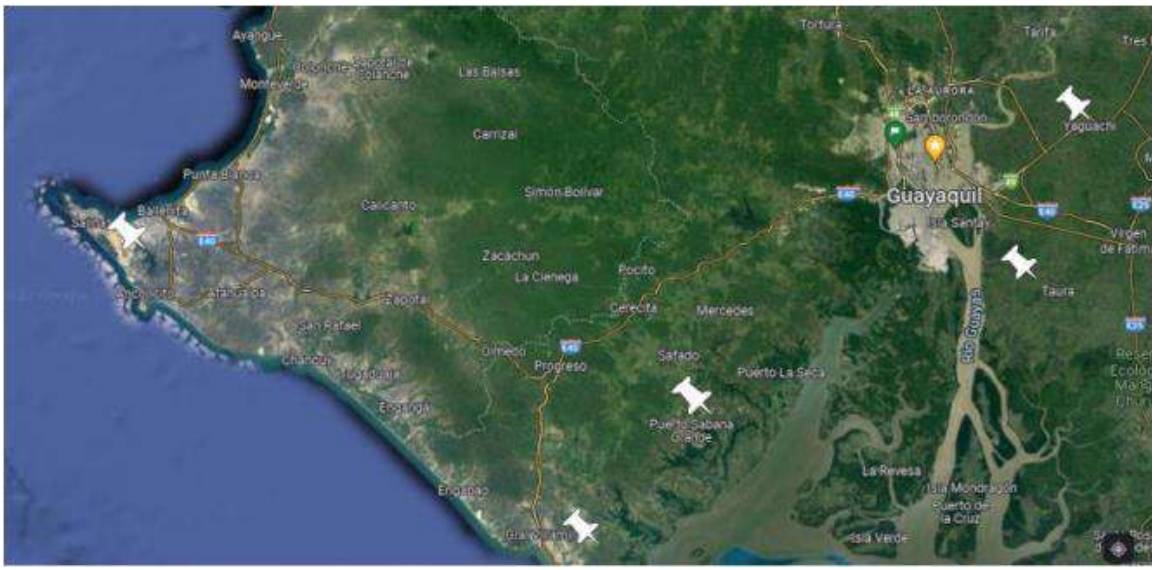
Conocer la resistencia bacteriana ante los antibióticos es una estrategia de vanguardia, que junto a medidas de bioseguridad y manejo preventivo son un gran recurso ante los problemas de enfermedades que sufren los camarones. Los ácidos orgánicos, los aceites esenciales y los probióticos son actualmente alternativas prometedoras debido a sus efectos bacteriostáticos, antioxidantes e inmunoestimulantes (Ritonga *et al.*, 2025). Cabe señalar que Ecuador no usa antibióticos desde hace muchos años atrás, por lo que busca alternativas científicas y de vanguardia que ayuden en contra de los problemas sanitarios que afectan a las granjas camaronícolas, lo cual los ha ayudado con su liderazgo productivo mundial en acuicultura sostenible. Además, la filogenética bacteriana ofrece una perspectiva complementaria, permitiendo el análisis de la relación evolutiva de las cepas patógenas y su distribución geográfica, lo que facilita el establecimiento de estrategias de control específicas según las condiciones ambientales de cada zona. Este trabajo, está basado en los estudios de Muñoz

(2022), Zambrano (2023), y Terán (2024) que proponen un enfoque microbiológico, filogenético y nutricional integral dirigido al control sostenible de patógenos en el cultivo de camarón ecuatoriano.

## Materiales y Métodos

### Área de Estudio

El estudio se realizó en cinco zonas representativas de la costa ecuatoriana: El Morro (2°39'0"S - 80°19'0"W), Sábana Grande (80°21´79” O, -2°47´84”S), Santa Elena, (2°13'0"S - 81°0'0"O), Taura (2°18′41”S - 79°43′54”O) y Yaguachi (2°11′24″S - 79°53′15″O), seleccionadas por su importancia productiva y su historial de brotes bacterianos (Fig. 1).




Nota: Los monitoreos se realizaron en larvas y camarones juveniles del engorde también

**Figura 1.-** Ubicación de las cinco zonas de producción camaronera ( 📌 )

### Toma de muestra

En las áreas de estudio se recolectaron muestras de larvas y juveniles clínicamente afectados, provenientes de laboratorios y estanques de engorde. Las muestras de larvas y organismos juveniles recolectados presentaban características específicas como nado errático, sin alimento en intestino, falta de apetito, reducción del crecimiento, entre otros. La toma de muestras se realizó con una frecuencia de dos recolecciones por semana, dos piscinas por zonas, y dichas muestras se transportaron en fundas con oxígeno hasta el laboratorio para su estudio.

Cultivo bacteriano

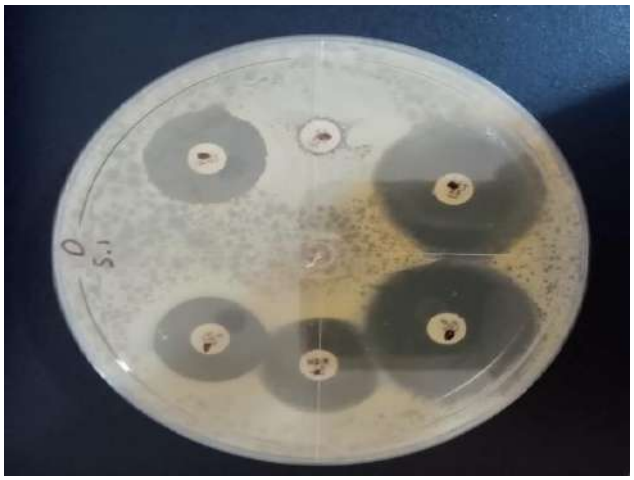
Para la extracción de patógenos en larvas se empleó 1 gr de cada muestra, obteniéndolas con un colador pequeño estéril, lavándolas con agua destilada estéril y colocadas en tubos Eppendorf con la ayuda de una pinza previamente flameada con alcohol en un mechero. Las muestras se trabajaron en una cámara de flujo laminar donde fueron maceradas y diluidas (1:10) en aguas, agua destilada estéril con o sin salinidad de acuerdo con las condiciones de crianza de las muestras recolectadas. Las muestras fueron diluidas seriadamente (1:100:1000) y sembradas con el vertido a profundidad en agar CETRIMIDE, CHROMOAGAR, TCBS y TSA.

Aislamiento e Identificación Bacteriana

Las bacterias se aislaron en medios selectivos TCBS, Cromoagar y Cetrimida e incubadas a 28°C durante 24-48 h. Las colonias con morfología característica se purificaron en agar TSA y se sometieron a pruebas bioquímicas con los sistemas API 20E y API 20NE (Api20NE, 2003).

La identificación molecular se realizó mediante PCR de los genes 16S rRNA y toxR, seguida de una secuenciación por SANGER y una identificación PPR BLAST realizando análisis filogenético con el software MEGA11.

Determinación de la Resistencia a los Antimicrobianos. Se aplicó el método Kirby-Bauer (CLSI, 2023) a antibióticos de uso común en acuicultura: Chloramphenicol 30 ug, Enrofloxacin 5 ug, Gentamicin 10 ug, Lincomycin 15 ug, Nalidixic acid 30 ug, Nitrofurantoin 300 ug, Norfloxacin 10 ug, Streptomycin 300 ug, Sulphamethoxazole/ Trimethoprim 25 ug, Tetracycline 30 ug, Vancomycin 30 ug, para ello en la cámara de flujo laminar se realizó una suspensión bacteriana bajo el estándar de McFarland 0.5 (McFarland, 1966) (Fig. 2).



Nota: La formación de halos en mm indicaron la sensibilidad y resistencia de las bacterias frente a los antibióticos ensayados.
Figura 2.- Resistencia bacteriana a diferentes antibióticos empleando el método de Kirby-Bauer.

## Determinación de la dosis bactericida CML

Se determinaron las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) de ácidos orgánicos (acético, butírico y fórmico) y aceites esenciales (orégano, eucalipto, canela, ajo y clavo) mediante micro dilución en placas de 96 pocillos, para determinar su fase bactericida y bacteriostática, diez concentraciones fueron probadas considerando la dosis de sugerencia por los productos analizados. Este análisis se realizó para 20 productos comerciales buscando la dosis promedio de uso para las bacterias patógenas aisladas (Fig. 3).



Nota: La viabilidad de la concentración bactericida letal, se evidencia mediante viabilidad bacteriana en placa de agar sólido.

Figura 3.- Placa de micro ELISA con las diferentes concentraciones de ácidos orgánicos y aceites esenciales

Evaluación nutricional

Se formularon dietas funcionales (profilácticos) con 0.5% de ácido butírico y 0.5% de aceite de orégano, en comparación con una dieta control sin aditivos. Las dietas se administraron a postlarvas PL12 durante 28 días, evaluándose la ganancia de peso, tasa de crecimiento específico, supervivencia, recuento bacteriano intestinal (UFC/g), y la composición de la microbiota mediante siembra en medios selectivos y análisis de diversidad microbiana.

Resultados y Discusión

Caracterización bacteriana

Se aislaron 132 cepas bacterianas pertenecientes a los géneros *Aeromonas, Pseudomonas* y *Vibrio.* El 65% correspondió a *Vibrio* spp., principalmente *V. parahaemolyticus* y *V. harveyi*, lo que coincide con los registros históricos de brotes en Ecuador, teniendo una

presencia por zona analizada, según se muestra en la figura 1. Las características morfológicas y de color fueron determinadas antes de empezar la investigación para la selección de las cepas en cada agar característico, sin embargo, las identificaciones bioquímicas fueron realizadas de manera porcentual también por zona según se muestra en la figura 4.

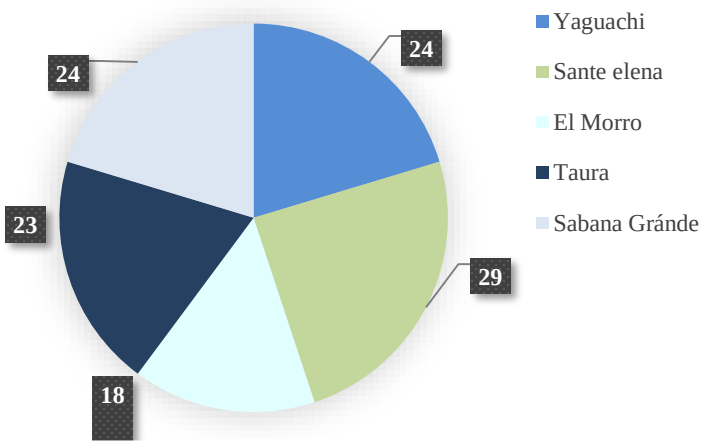
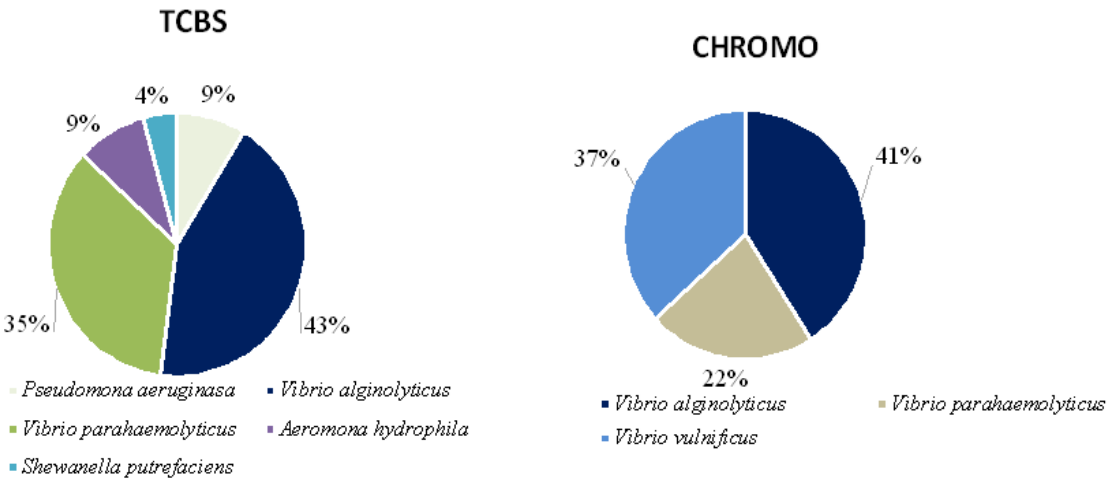



Figura 4.- Porcentaje de bacterias aisladas por zonas analizadas según sus características morfológicas.



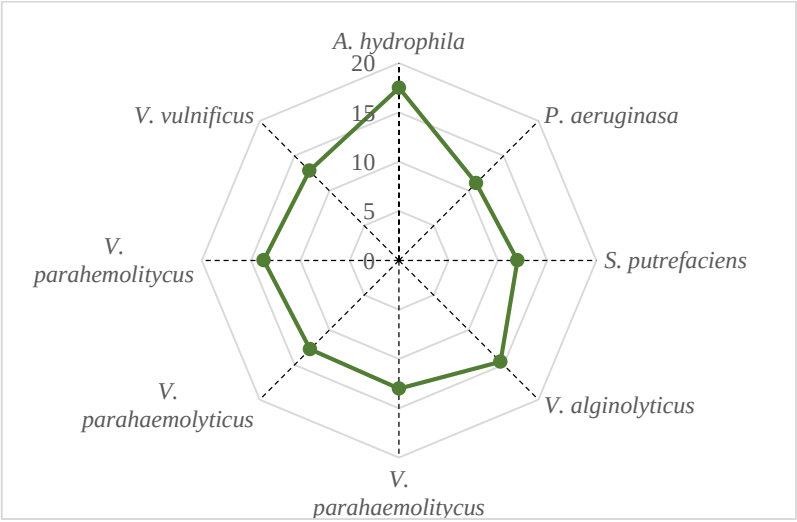

Nota: Identificación bacteriana se bacterias de; género vibrios según aislamiento en agar y por identificación bioquímica API

Figura 5.- Géneros de bacterias identificadas por agar para vibrios TCBS y Chromoagar.

Los análisis filogenéticos mostraron agrupamiento por área geográfica, lo que evidencia divergencia genética local probablemente influenciada por las condiciones ambientales (salinidad, temperatura, materia orgánica). Las cepas provenientes de la zona de Taura y Sábana Grande compartieron un 99% de similitudes con los aislamientos de Asia reportados por He *et al*. (2017), lo que sugiere una posible propagación global de linajes resistentes. Datos no mostrados.

Resistencia a los antimicrobianos

Las pruebas de sensibilidad revelaron resistencia a múltiples fármacos contra los antibióticos convencionales ensayados cuyos resultados mostraron una resistencia fenotípicamente de las bacterias a Amoxicilina, Lincomicyna, Vancomicina en todas las cepas bacterianas de las zonas analizadas con un porcentaje de promedio para un 26% para oxitetraciclina y de un 14% para florfenicol.

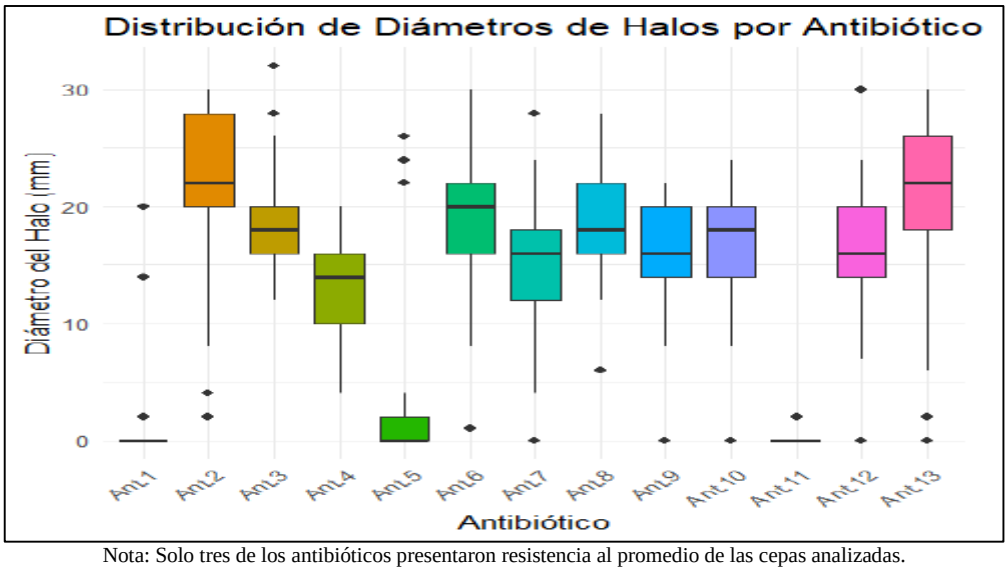



Nota: La respuesta es de sensibilidad sobre los 15 mm de diámetro para las cepas analizadas.

Figura 6. Resultados de respuesta de antibióticos en milímetros (mm).

Es importante indicar que todas las cepas correspondientes a *Pseudomonas* sp. presentaron resistencia para todas las zonas de donde estas fueron aisladas. Lo que hizo determinar mediante la búsqueda de resistencia a 3 genes de solo los dos únicos antibióticos permitidos para acuicultura, se utilizaron tres primers para genes de resistencia a los genes floR, tetM, tetA., representando solo un 5% de resistencia para el gen tetM y 0% de resistencia para el

gen floR de florfenicol, lo que nos indica que no existe un índice de resistencia alta para las cepas relacionadas para el cultivo de larvas y camarones, dándonos una tranquilidad en nuestro manejo. Es importante relacionar las posibles contaminaciones antropogénicas que arrastran contaminación a los afluentes de aguas naturales, convirtiéndose en un verdadero problema de ecología microbiana ambiental. Estos datos reflejan una presión antibiótica histórica en los sistemas larvarios, similar a la reportada por Dawood & Koshio (2018) y consistente con los hallazgos de Muñoz (2022).



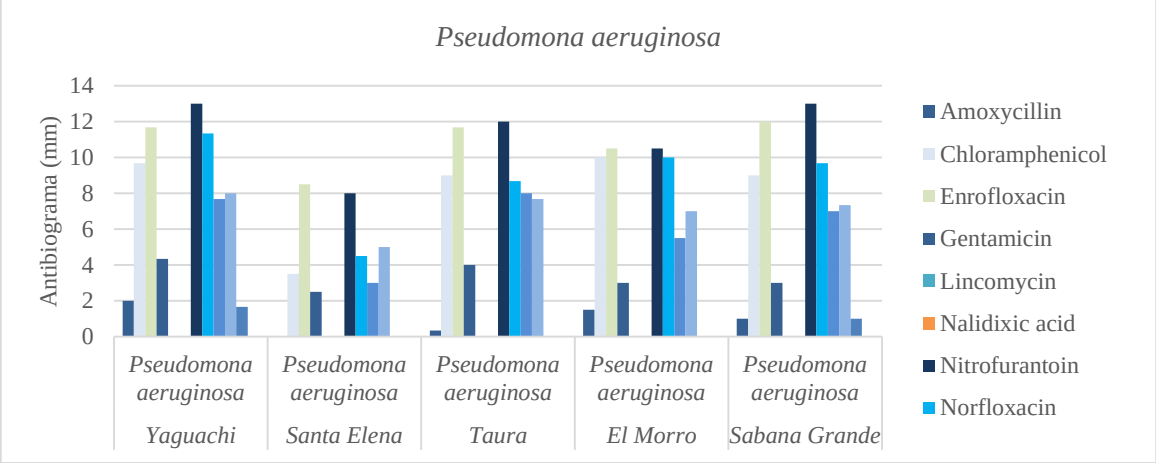

Nota: Solo tres de los antibióticos presentaron resistencia al promedio de las cepas analizadas.

Figura 7. Promedios de todas las cepas analizadas frente a 13 antibióticos

Las cepas más resistentes encontradas en todos los lugares analizados fueron las diferentes *Pseudomonas* y se enfrentaron a los 13 antibióticos, presentando una resistencia con halos inferiores a 10 mm, para todas las cepas de las cinco zonas, esto cambia el panorama de búsqueda de control de productos amigables que controlen a las *Pseudomonas* sp. debido a que todos los productos que se usan son para el control de *Vibrios* sp. Es importante puntualizar que en Ecuador no usamos antibióticos, sin embargo por sanidad ambiental debemos conocer como estas funcionan frente a estos terapéuticos, puntualizando que nuestro éxito en la producción en Ecuador, radica en la utilización productos amigables con el ambiente y con los camarones, profilácticos como ácidos orgánicos, aceites esenciales, Fito bióticos y en la actualidad bacteriófagos para controlar las patologías bacterianas, sin embargo conociendo la capacidad de producir toxinas por parte de las bacterias, se debe

conocer como sus bombas de eflujo se encuentran trabajando, frente a terapéuticos nunca empleados en la producción de camarones (Fig. 8).

Es importante mencionar que las posibles causas de estas resistencias pueden deberse a modificaciones ambientales como posibles cambios de temperaturas relacionadas con el cambio climático, que incrementan los índices RAM, lo que agudiza la resistencia a nivel mundial, por condiciones ambientales (Reverter *et al*., 2020).




Nota. Las *Pseudomonas sp.* presentaron resistencia marcada a los antibióticos analizados en todas las zonas de estudio.

Figura 8. Géneros de bacterias identificadas por agar como *Pseudomonas sp.* en los diferentes lugares analizados.

## Actividad antimicrobiana de compuestos naturales

Las Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) más bajas se obtuvieron con ácido butírico (0.25 – 0.5%) y aceite de orégano (0.5 - 1%), mostrando una inhibición completa del crecimiento *de V. parahaemolyticus y V. harveyi*. El aceite de eucalipto mostró una actividad intermedia (CMI 1 - 2%), mientras que el ácido fórmico fue menos eficaz contra *Pseudomonas* spp. Sin embargo, ácidos orgánicos de cadena corta como Ac. propiónico, Ac. acético, butírico han dado resultados interesantes en dosis que se mantienen entre los 1000 ppm o menos.

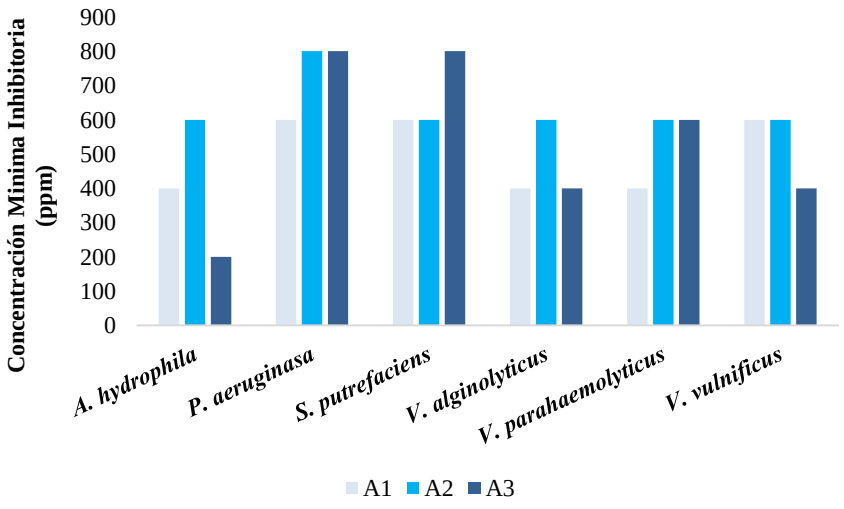
La sinergia entre el ácido butírico y el aceite de orégano resultó más eficaz que su uso individual, probablemente debido a la desestabilización simultánea de la membrana bacteriana y la acidificación del ambiente intestinal, mecanismos descritos por Rossi *et al.* (2021). Estas sinergias son efectivas no solo con estos dos productos, sino que la mezcla de ácidos orgánicos con cualquier Fito biótico u aceite esencial potencializa su acción

bactericida, disminuyendo su dosis de uso y por consecuencia su costo.

Las *Pseudomonas* sp. de las diferentes zonas, al ser probadas contra ácidos orgánicos como ácido fórmico, ácido láctico, ácido acético tuvieron una concentración mínima inhibitoria de 400 y 200 pmm respectivamente. Otros ácidos fueron también probados con una respuesta de cómo entre los 1000 ppm o en algunos casos con una media de 2500 ppm, esto nos da una estrategia de uso de estos productos profilácticos como alternativas importantes para el reemplazo de los antibióticos.

Las *Pseudomonas* sp. fueron controladas de manera efectiva con dosificaciones menores a los 800 ppm., lo que nos asegura un control de estas cepas sin causar ningún inconveniente con resistencia como se evidenció con los antibiogramas ensayados. Asegurándonos que el control profiláctico es más adecuado.

En el caso particular de los aceites esenciales, las concentraciones son más bajas para lograr el control de las cepas patógenas aisladas de brotes de mortalidades en sistemas productivos, dando concentraciones de inclusión en el alimento balanceado con de 150 a 200 ppm para lograr un efecto bactericida y lograr mantener controlado los problemas de mortalidades por bacterias. En otros extractos de canela se han logrados dosis bactericidas a 50 ppm de inclusión extra-pellet.




Ac. Láctico (A1) concentraciones entre 400 y 600 ppm, Ac. Fórmico (A2) Concentraciones entre 400 y 800 ppm, y Ac. Acético (A3) concentraciones entre 200 y 800 ppm

Figura 9. Géneros de bacterias identificadas por agar para vibrios TCBS y Chromoagar

| Código Cliente: Tea Tree | Código NG: SSA-7548-2024 | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cepas Bacteriana | Concentraciones en ppm/Resultados en mm | | | | | | | | | |
| | 500 ppm | 250 ppm | 200 ppm | 150 ppm | 100 ppm | 50 ppm | 25 ppm | 20 ppm | 10 ppm | 5 ppm |
| ***Aeromonas Hydrofila*** | N | N | N | N | P | P | P | P | P | P |
| ***Pseudomona aeroginosa*** | N | N | N | P | P | P | P | P | P | P |
| ***Vibrio parahaemolyticus*** | N | N | N | N | P | P | P | P | P | P |
| ***Pseudomonas putrefaciens*** | N | N | N | P | P | P | P | P | P | P |

| Código Cliente: Ajo | Código NG: SSA-7548-2024 | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cepas Bacteriana | Concentraciones en ppm/Resultados en mm | | | | | | | | | |
| | 500 ppm | 250 ppm | 200 ppm | 150 ppm | 100 ppm | 50 ppm | 25 ppm | 20 ppm | 10 ppm | 5 ppm |
| ***Aeromonas Hydrofila*** | N | N | N | P | P | P | P | P | P | P |
| ***Pseudomona aeroginosa*** | N | N | N | N | P | P | P | P | P | P |
| ***Vibrio parahaemolyticus*** | N | N | N | N | P | P | P | P | P | P |
| ***Pseudomonas putrefaciens*** | N | N | N | N | P | P | P | P | P | P |

**Observación:** Los resultados del ensayo son obtenidos en base a las concentraciones sugeridas por el cliente.

48 HRS MEDIO SÓLIDO
24 HRS MEDIO LÍQUIDO

Figura 10. Concentración mínima letal empelando bacterias patógenas y aceites esenciales.

Efecto de las dietas funcionales

Las dietas funcionales mejoraron significativamente la supervivencia (83 ± 2.4%) en comparación con la dieta control (65 ± 3.1 %). Se observó una reducción del 70% en la carga intestinal de *Vibrio* spp., además de un aumento en la diversidad microbiana beneficiosa emplando cepas probióticas, que utilizan géneros como *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Pedioccocus* sp., y especies de *Bacillus megaterium, B. pomilos, B. polimixa,* entre otras cepas aplicadas en los alimentos balanceados extra pellet con baños de aceite y aglutinante para ser dispersado incluso a través de los alimentadores automáticos, en una relación de 1000 mL por saco de 25 Kg, con toda la mezcla.

La histología intestinal mostró un epitelio intacto y la presencia de microvellosidades bien desarrolladas, lo que indica una mejor absorción de nutrientes. Estos efectos confirman que la nutrición funcional no solo actúa como profilaxis, sino también como inmuno-nutrición, fortaleciendo la barrera intestinal y reduciendo la dependencia de antibióticos.

# Bibliografía


Api20NE. (2003). Système d'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux. E.E.U.U

Arwa E.M., Rashad E.M., Mona A., Alkhateib Y., Awatef H., Aldoushy M. (2024). Effects of dietary supplementation with *Bacillus velezensis* on the growth performance, body composition, antioxidant, immune-related gene expression, and histology of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. BMC Veterinary Research. 20:386. https://doi.org/10.1186/s12917-024-04207-4

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2023). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 33rd Edition. CLSI document M100-S33. Wayne, PA

Dawood M.D.O., Koshio S. (2018). Vitamin C supplementation to optimize growth, health and stress resistance in aquatic animals. Reviews in Aquaculture. 10, 334–350. https://doi.org/10.1111/raq.12163

He W., Rahimnejad S., Wang L., Song K., Lu K., Zhang C. (2017). Effects of organic acids and essential oils blend on growth, gut microbiota, immune response and disease resistance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against *Vibrio parahaemolyticus*. Fish Shellfish Immunol. 70:164-173. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.09.007

Jatoba A., Morales K.N., Rodrigues-Soares J.P., Jesus G.F.A., Vieira F.N. (2018). Effect of protein source and probiotic on the intestinal tract of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Boletim do Instituto de Pesca. 44(4):e371. https://doi.org/10.20950/1678-2305.2018.44.4.371

Li F., Xie S., Wang M., Chen L., Yu H. (2024). Distribution and management of residual antibiotics in the *Litopenaeus vannamei* shrimp farming environment: recommendations for effective control. *Fishes* 2024, *9*(3), 84; https://doi.org/10.3390/fishes9030084

MacFarland J.N. (1966). Standardization of a turbidimeter. American Journal of Clinical Pathology. 45(4): 493-496.

Muñoz D.A. (2022). Validación de estrategias profilácticas en larvicultura del camarón *Penaeus vannamei* en la provincia de Santa Elena, Mar Bravo. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Estatal, Península de Santa Elena, Faculta de Ciencias del Mar. pp 1-

Reverter M., Sarter S., Caruso D., Avarre J.C., Combe M., Pepey E., Pouyaud L., Vega-Heredía S., Verdal H., Gozla R.E. (2020). Aquaculture at the crossroads of global warming and antimicrobial resistance. Nature Communications. 11: 870. https://doi.org/10.1038/s41467-020-15735-6

Ritonga L., Teguh H., Gede R., Asep A., Andina C., Alfian N. (2025). The growth and survival performance of vaname shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in intensif system. Journal of Aquaculture Development and Environment (JADE). 8(2): 24-32. https://journal.untidar.ac.id/index.php/jade/article/view/2691/1131.

Rossi B., Esteban M.A., García-Beltran J.M., Giovagnoni G., Cuesta A., Piva A., Grilli E. (2021). Antimicrobial power of organic acids and nature-identical compounds against two *Vibrio* spp.: an *In vitro* study. Microorganisms. 9(5):966. https://doi.org/10.3390/microorganisms9050966

Teran N.A. (2024). Aislamiento y análisis del código de barras moleculares 16S de bacterias patógenas asociadas a las enfermedades del camarón *Litopenaeus vannamei.* Universidad Estatal, Península de Santa Elena, Faculta de Ciencias del Mar. pp 1-

Tran T., Mahougnon S., Dang T., Thibaut C., Nguyen B., Sylvain K. (2023). Growth performance and disease resistance against *vibrio parahaemolyticus* of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed essential oil blend (Phyto AquaBiotic). Animals. 13(21):3320. https://doi.org/10.3390/ani13213320.

Zambran C.J. (2023). Aislamiento y caracterización de bacterias responsables de enfermedades en el camarón *Penaeus vannamei*, determinando su caracterización bioquímica y su respuesta a la susceptibilidad a diferentes productos comerciales. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Estatal, Península de Santa Elena, Faculta de Ciencias del Mar. pp 1-

# Microbiota Sintética: un Posible Aliado en la Nutrición y Salud de Organismos Cultivados

Marcel Martínez-Porchas[1], Estefanía Garibay-Valdez[1], Francisco Vargas-Albores[1], Luis Rafael Martínez-Córdova[2]*

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora, México. Universidad de Sonora. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México. E-mail: luis.martinez@unison.mx

## Resumen

La acuicultura, clave para la seguridad alimentaria, enfrenta desafíos sanitarios y nutricionales, especialmente por el uso de antimicrobianos y la disbiosis intestinal. La microbiota intestinal es esencial en funciones digestivas, inmunológicas y homeostáticas. Frente a la variabilidad de resultados con probióticos y prebióticos, se propone la microbiota sintética como alternativa racional y funcional para mejorar la salud de organismos cultivados. La microbiota sintética implica el diseño y ensamblaje de comunidades microbianas cultivadas in vitro, con funciones específicas. Su desarrollo se apoya en tecnologías como la secuenciación de alto rendimiento y modelos computacionales (1). Aunque el OMM12 en ratones ha demostrado eficacia, en peces aún se requiere construir modelos similares que consideren su alta plasticidad intestinal.

Estrategia terapéutica. Como alternativa a los antibióticos, la microbiota sintética podría recolonizar el intestino tras disbiosis, utilizando cepas cultivables y funcionales (2). Esto permitiría restaurar funciones perdidas sin introducir comunidades desconocidas, como ocurre en los trasplantes fecales. La ingeniería genética puede potenciar estas bacterias, aunque existen retos regulatorios y de bioseguridad.

Estrategia preventiva. Una microbiota sintética también puede actuar como barrera ante patógenos, mediante exclusión competitiva, producción de metabolitos antimicrobianos y activación inmune. Su diseño puede incluir cepas nativas resistentes a perturbaciones ambientales, que fortalezcan el tejido inmunológico intestinal y reduzcan el uso de fármacos (3).

Funciones digestivas y nutricionales. La optimización de la digestión es otra meta clave. Se podrían incluir cepas productoras de enzimas (amilasas, proteasas, celulasas), bacterias fermentadoras de carbohidratos complejos y generadoras de ácidos grasos benéficos, o incluso diseñar consorcios que produzcan vitaminas o bioestimulantes internos, mejorando la conversión alimenticia y bienestar animal.

Desafíos. Persisten obstáculos técnicos (aislamiento de cepas), regulatorios (falta de marcos normativos) y éticos (riesgos ecológicos y percepción pública). Además, se requiere capacitación del personal y validación bajo condiciones reales de cultivo.

Perspectivas. En fases tempranas, la microbiota sintética podría integrarse en estrategias de nutrición de precisión, bienestar animal y gestión ambiental. La combinación de biotecnología, inteligencia artificial y ecología microbiana augura sistemas acuícolas más resilientes y sostenibles.

Conclusiones. La microbiota sintética representa una vía prometedora y sostenible para mejorar salud, nutrición y resistencia en acuicultura. Su desarrollo requiere un enfoque multidisciplinario, evidencia robusta y marcos regulatorios adecuados para su implementación segura.

*Palabras clave*: Microbiota; Nutrición Acuícola; Sanidad

## Introducción

La acuicultura representa en la actualidad una de las actividades productivas de mayor crecimiento a nivel mundial, aportando alimentos de alto valor nutricional y contribuyendo significativamente a la seguridad alimentaria y el desarrollo económico de numerosas regiones (FAO, 2022). Sin embargo, su avance ha estado acompañado de importantes retos relacionados con la sanidad y la nutrición de los organismos cultivados, entre los que destacan el impacto de enfermedades infecciosas y el uso indiscriminado de antimicrobianos, con las consecuentes afectaciones a la microbiota intestinal, la generación de resistencia bacteriana y alteraciones ambientales (Budiati *et al*., 2013; Fang *et al*., 2021).

La microbiota intestinal, considerada ya como un "órgano" funcional por su participación en procesos digestivos, metabólicos, inmunológicos y neuroendocrinos, cumple un papel esencial en la homeostasis del hospedero (Medina-Félix *et al*., 2023). Su composición diversa y dinámica le permite adaptarse a cambios ambientales y dietéticos, generando un equilibrio que contribuye a la protección contra patógenos mediante mecanismos de competencia por nutrientes y nichos de colonización, así como la modulación de respuestas inmunológicas locales y sistémicas (Yukgehnaish *et al*., 2020; Ohira *et al.* 2017). No obstante, este equilibrio puede verse alterado, dando lugar a la disbiosis, una condición asociada a la pérdida de funciones protectoras de la microbiota y al incremento en la susceptibilidad a infecciones (Medina-Félix *et al*., 2023).

En el contexto de la acuicultura, las estrategias para mantener o restaurar el equilibrio microbiano intestinal han considerado el uso de probióticos, prebióticos, simbióticos y tecnologías como el biofloc, que han demostrado efectos benéficos en parámetros de crecimiento, conversión alimenticia y resistencia a enfermedades en distintas especies de peces (Martinez-Porchas *et al*., 2023). Sin embargo, la evidencia sugiere que estas intervenciones, si bien efectivas, presentan variabilidad en sus resultados, dependientes de múltiples factores como la especie cultivada, el tipo de aditivo, las condiciones de cultivo y la composición inicial de la microbiota (Martinez-Porchas *et al*., 2023).

Ante esta situación, surge la hipótesis de que el diseño racional de microbiotas sintéticas podría constituir una estrategia innovadora para enfrentar los retos sanitarios y nutricionales

de la acuicultura. La microbiota sintética se refiere a comunidades microbianas artificialmente ensambladas *in vitro*, que reproducen no sólo la composición taxonómica deseada, sino también funciones específicas orientadas a mejorar la salud y desempeño del hospedero (Garibay-Valdez *et al*., 2024). Estas comunidades podrían emplearse tanto de forma terapéutica, para recolonizar el intestino tras episodios de disbiosis ocasionados por enfermedades o tratamientos antibióticos, como de manera preventiva, reforzando la resistencia del hospedero frente a patógenos, o incluso para potenciar capacidades digestivas y metabólicas que optimicen el aprovechamiento de los alimentos (Martinez-Porchas *et al*., 2025).

Si bien en modelos animales terrestres, como el ratón de laboratorio, el concepto de microbiota sintética ha avanzado considerablemente, con desarrollos estandarizados como el OMM12 (Brugiroux *et al*., 2016), su aplicación en organismos acuáticos aún se encuentra en etapas hipotéticas y exploratorias (Garibay-Valdez *et al*., 2024). La implementación de microbiotas sintéticas en peces representa un desafío, pero al mismo tiempo una oportunidad de vanguardia para transformar el manejo sanitario y nutricional en la acuicultura, mediante herramientas biotecnológicas cada vez más precisas y sustentables.

En este contexto, la presente ponencia tiene como propósito reflexionar sobre las posibilidades de diseñar microbiotas sintéticas como aliadas en la nutrición y salud de organismos cultivados, abordando tres enfoques complementarios: (i) el uso terapéutico para reversión de disbiosis, (ii) el papel preventivo para resistir la colonización por patógenos, y (iii) la optimización de funciones digestivas y nutricionales. Si bien la propuesta se encuentra en un nivel principalmente hipotético, resulta relevante sentar bases conceptuales y metodológicas que favorezcan futuras investigaciones orientadas a su aplicación en la acuicultura.

## Bases Conceptuales de la Microbiota Sintética

La noción de microbiota sintética surge como una evolución natural de los estudios sobre la estructura y función de las comunidades microbianas intestinales. Bajo este concepto, se plantea el ensamblaje racional de consorcios microbianos definidos, cultivados y combinados *in vitro*, orientados a reproducir no solo la composición taxonómica de las comunidades

originales, sino también las funciones metabólicas, inmunológicas y ecológicas que aportan beneficios al hospedero (Kumar *et al*., 2022). Esta aproximación ha sido posible gracias al avance de técnicas de secuenciación de alto rendimiento, cultivos dirigidos y modelado computacional, que permiten identificar los componentes clave de la microbiota y sus interacciones, generando así plataformas experimentales de alto control (Garibay-Valdez *et al*., 2024).

Los modelos animales terrestres han liderado la incorporación de microbiotas sintéticas, destacando el caso del Oligo-Mouse-Microbiota (OMM12), un consorcio de 12 cepas bacterianas aisladas, cultivables y estandarizadas que representan las funciones centrales de la microbiota murina (Brugiroux *et al*., 2016). Esta comunidad sintética ha permitido estudiar de forma precisa procesos de colonización, interacciones microbio-microbio y microbio-hospedero, así como evaluar respuestas inmunológicas y metabólicas con un nivel de reproducibilidad difícil de lograr en modelos convencionales (Stecher, 2021).

Por otro lado, en acuicultura los avances han sido más limitados, aunque existe un creciente interés en trasladar estos conceptos a especies acuáticas, particularmente peces. La evidencia generada en modelos gnotobióticos de peces, como el pez cebra (*Danio rerio*), resalta la urgencia de contar con consorcios sintéticos estandarizados que permitan estudiar las interacciones funcionales entre microbiota y hospedero con mayor precisión (Garibay-Valdez *et al*., 2024). La propuesta de desarrollar comunidades análogas al OMM12 para peces, por ejemplo, para el pez cebra, se fundamenta en la necesidad de aislar variables y modelar la contribución específica de ciertos taxones a procesos digestivos, inmunológicos o de resistencia a patógenos.

La plasticidad que caracteriza a la microbiota intestinal de peces es otro factor clave para sustentar la viabilidad de estrategias basadas en microbiota sintética. En tilapia, por ejemplo, se ha documentado que la exposición a probióticos, prebióticos o sistemas biofloc puede modificar la composición de la comunidad intestinal, manteniendo a la vez un desempeño fisiológico adecuado y sugiriendo un margen amplio de tolerancia a modificaciones controladas (Martinez-Porchas *et al*., 2023). Esta flexibilidad microbiana es especialmente relevante al considerar el ensamblaje de microbiotas sintéticas que se integren al hospedero sin desencadenar respuestas adversas o incompatibilidades funcionales.

Finalmente, la microbiota sintética se perfila como una herramienta con múltiples aplicaciones potenciales: desde el restablecimiento de comunidades tras eventos disruptivos, hasta el reforzamiento de barreras inmunológicas y la optimización de la eficiencia digestiva mediante la introducción de cepas con capacidades metabólicas específicas (van Leeuwen, *et al*., 2023). Estos elementos hacen de la microbiota sintética un campo emergente que, aunque en fase inicial para la acuicultura, merece ser explorado como un recurso biotecnológico con un alto potencial de innovación (Figura 1).

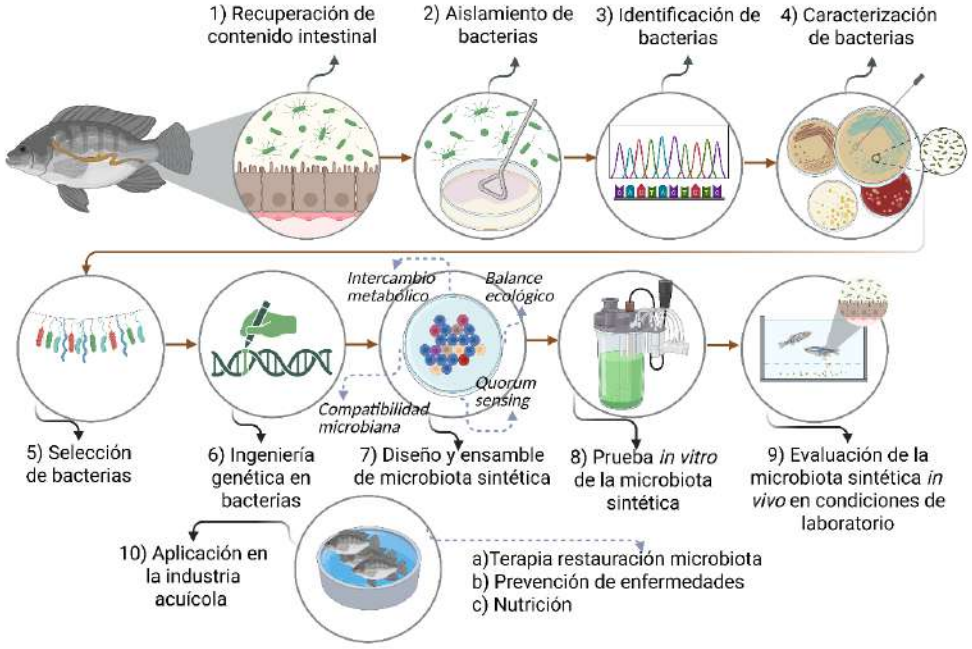



Figura 1. Aplicación de microbiota sintética en la acuacultura. 1) Recuperación de muestras del contenido intestinal de peces; 2) Aislar bacterias utilizando diversos medios de cultivo en condiciones aeróbicas y anaeróbicas; 3) Identificación de las cepas puras mediante secuenciación; 4) Caracterización de bacterias con base en su morfología, capacidad metabólica y enzimática; 5) Selección de bacterias clave para el desarrollo del hospedero, que puedan promover el estado de salud, digestión, prevenir contra patógenos y mejorar el sistema inmune; 6) Es posible utilizar ingeniería genética para una manipulación del ADN de las bacterias seleccionadas y aumentar, aún más, su eficiencia en el hospedero; 7) Diseño y ensamble *in vitro* de consorcio microbiano para la generación de una microbiota sintética, la cual de contar con compatibilidad microbiana, balance ecológico, comunicación bacteriana (Quorum sensing) e intercambio metabólico; 8) Prueba *in vitro* de la comunidad microbiana sintética mediante el uso de biorreactores como simuladores intestinales, ciencias multiómicas y cultivos anaeróbicos; 9) Evaluación de microbiota sintética *in vivo* en condiciones de laboratorio; 10) Implementación de microbiota sintética en poblaciones de organismos cultivados en la industria acuícola y su evaluación como : a) para su uso terapéutico en revertir disbiosis; b) preventivo para resistir enfermedades causadas por patógenos; c) Nutrición mejorando capacidad digestiva y metabólica.

## Diseño de Microbiota Sintética como Estrategia Terapéutica

Una de las aplicaciones más prometedoras de la microbiota sintética en acuicultura consiste en su uso como medida terapéutica para revertir procesos de disbiosis. La disbiosis, entendida como la alteración del equilibrio de la microbiota intestinal, puede ser desencadenada por diversas causas, entre las que destacan el uso prolongado de antibióticos, enfermedades infecciosas, estrés ambiental y dietas de baja calidad (Medina-Félix *et al*., 2023). Estas alteraciones pueden derivar en disminución de la resistencia frente a patógenos, menor eficiencia digestiva y vulnerabilidad inmunológica, lo que en última instancia afecta el desempeño productivo de los animales cultivados (Martinez-Porchas *et al*., 2023).

Tradicionalmente, las estrategias para la recuperación de la microbiota tras episodios de disbiosis han contemplado la administración de probióticos, prebióticos o simbióticos, con resultados positivos pero en ocasiones inconsistentes, dependientes de la capacidad de las cepas administradas para colonizar y establecerse en el tracto intestinal (Infante-Villamil *et al.*, 2021). En este sentido, el diseño de consorcios microbianos sintéticos ofrecería ventajas relevantes al permitir seleccionar taxones cultivables y compatibles, previamente caracterizados en cuanto a su funcionalidad, que podrían reconstituir de forma más efectiva la comunidad intestinal, restableciendo tanto la diversidad como las funciones esenciales (Garibay-Valdez *et al*., 2024).

Los modelos gnotobióticos y las técnicas de aislamiento de cepas nativas proporcionan herramientas para identificar bacterias clave dentro de la microbiota intestinal de peces, aquellas capaces de modular la respuesta inmunológica, producir metabolitos beneficiosos o competir exitosamente contra patógenos (Medina-Félix *et al*., 2023). Estas bacterias pueden conformar la base de microbiotas sintéticas orientadas a la recolonización terapéutica, sustituyendo comunidades alteradas o empobrecidas por conjuntos funcionalmente equivalentes, pero con características de mayor estabilidad y predictibilidad.

Un ejemplo paradigmático fuera del ámbito acuícola es la terapia de trasplante fecal en humanos, la cual se basa en recolonizar la microbiota tras eventos de disbiosis severa como infecciones por *Clostridioides difficile* (Bakken *et al*., 2011). Sin embargo, en peces no se han implementado procedimientos análogos a gran escala, principalmente por la falta de consorcios estandarizados y protocolos regulados para su liberación en sistemas de cultivo.

Esto refuerza la pertinencia de explorar microbiotas sintéticas como alternativa más controlada y específica, evitando la transferencia de comunidades completas potencialmente portadoras de genes de resistencia o elementos no deseados.

De forma complementaria, los avances en ingeniería genética y biología sintética abren la posibilidad de optimizar aún más estos consorcios, introduciendo genes o funciones de interés, como la producción de bacteriocinas, enzimas digestivas o compuestos antiinflamatorios, con el fin de potenciar su eficacia terapéutica (Martinez-Porchas *et al*., 2025). No obstante, tales propuestas requieren superar retos técnicos y regulatorios significativos, así como estudios de bioseguridad rigurosos para garantizar que los organismos modificados no representen un riesgo ambiental o para la salud pública (Wesseler *et al*., 2023).

En síntesis, la aplicación terapéutica de microbiotas sintéticas representa una línea de investigación con elevado potencial para mejorar la resiliencia de los organismos acuáticos ante episodios de disbiosis, reemplazando prácticas menos sostenibles como el uso intensivo de antibióticos y contribuyendo a sistemas de producción más saludables y ambientalmente responsables.

## Diseño De Microbiotas Sintéticas Como Estrategia Preventiva

Además de su potencial terapéutico, la microbiota sintética podría desempeñar un papel estratégico como medida preventiva frente a la colonización por patógenos en sistemas acuícolas. El concepto de “exclusión competitiva” resulta fundamental en este contexto, y se basa en que una microbiota estable, diversa y funcional ocupa los nichos ecológicos del intestino y limita las posibilidades de implantación de microorganismos patógenos (Medina-Félix *et al*., 2023). A través de competencia por nutrientes, producción de metabolitos antimicrobianos y estimulación de barreras inmunológicas, las bacterias comensales contribuyen a la protección del hospedero, evitando que bacterias oportunistas proliferen y desencadenen procesos infecciosos (Yukgehnaish *et al*., 2020).

Sin embargo, la estabilidad de la microbiota natural puede verse comprometida por factores comunes en acuicultura, como variaciones bruscas de temperatura, densidades de cultivo elevadas, cambios en el régimen alimenticio o el estrés asociado al manejo. Dichas

perturbaciones pueden reducir la diversidad microbiana y crear ventanas de oportunidad para la colonización por patógenos (Medina-Félix *et al*., 2023). En este sentido, el diseño de consorcios sintéticos estandarizados podría garantizar la presencia de taxones clave con funciones preventivas, seleccionados específicamente por su capacidad de exclusión competitiva y resistencia a fluctuaciones ambientales.

Este tipo de consorcios podría diseñarse a partir de bacterias autóctonas previamente caracterizadas y cultivadas, priorizando aquellas con demostrada habilidad para formar biopelículas protectoras, generar señales de comunicación (quorum sensing) que favorezcan la estabilidad comunitaria y modular respuestas inmunitarias del hospedero (Martinez-Porchas *et al*., 2025). Asimismo, podrían incluir cepas con capacidad de producir moléculas antimicrobianas naturales, como bacteriocinas o ácidos grasos de cadena corta, generando un entorno hostil para patógenos sin recurrir a antibióticos (Drider, 2021).

De manera adicional, la microbiota sintética orientada a la prevención puede desempeñar un rol complementario al estimular la maduración y funcionamiento de las mucosas intestinales. La estimulación del tejido linfoide asociado al intestino (GALT), la producción de inmunoglobulinas (IgT) y la liberación de péptidos antimicrobianos forman parte de las interacciones positivas que las bacterias beneficiosas pueden inducir, fortaleciendo así las defensas del hospedero (Medina-Félix *et al*., 2023). Estas características pueden ser priorizadas en el diseño de microbiotas sintéticas con fines preventivos, fomentando animales más resistentes a condiciones adversas y menos dependientes de intervenciones farmacológicas.

Si bien este enfoque aún se encuentra en fase conceptual para la acuicultura, la experiencia documentada en modelos murinos demuestra que consorcios microbianos estandarizados pueden contribuir a la protección frente a patógenos intestinales (Brugiroux *et al*., 2016), reforzando la pertinencia de su adaptación a especies acuáticas. La perspectiva de incorporar microbiotas sintéticas como barrera biológica preventiva representa, por tanto, una alternativa con alto potencial para reducir la incidencia de enfermedades, disminuir el uso de antimicrobianos y consolidar prácticas acuícolas más sostenibles.

## Diseño de Microbiota Sintética Orientada a Funciones Digestivas y Nutricionales

La función digestiva de la microbiota intestinal constituye uno de los pilares para el desarrollo óptimo de los organismos acuáticos cultivados. Numerosos estudios han demostrado que las comunidades microbianas intestinales desempeñan un papel esencial en la hidrólisis de macromoléculas dietarias, la liberación de nutrientes asimilables y la síntesis de compuestos bioactivos que favorecen la absorción de micronutrientes (Medina-Félix *et al*., 2023). Asimismo, la microbiota intestinal puede participar en la producción de vitaminas esenciales, como la vitamina B12, y en la transformación de compuestos no digeribles por el hospedero en metabolitos aprovechables (Ruiz-Rodríguez *et al*., 2022).

La propuesta de diseñar microbiotas sintéticas orientadas a optimizar estas funciones digestivas resulta altamente atractiva en acuicultura, donde la eficiencia de conversión alimenticia es un factor clave para la rentabilidad y sostenibilidad de los sistemas productivos. En este sentido, podrían seleccionarse consorcios microbianos que incluyan cepas productoras de enzimas extracelulares, como amilasas, proteasas, lipasas o celulasas, facilitando la degradación de ingredientes vegetales comúnmente empleados en dietas balanceadas y aumentando así la biodisponibilidad de los nutrientes (Martinez-Porchas *et al*., 2023). Por ejemplo, cepas de *Bacillus* y *Lactobacillus* podrían integrarse por su conocida capacidad de secretar proteasas y contribuir al aprovechamiento eficiente de las proteínas vegetales, mientras que cepas de *Clostridium* no patógenas podrían aportar celulasas para la degradación de polisacáridos complejos.

Otra posible aplicación radica en la selección de microorganismos que promuevan la síntesis de metabolitos funcionales, como ácidos grasos de cadena corta, los cuales no sólo aportan energía a las células epiteliales intestinales, sino que además refuerzan la integridad de la mucosa intestinal y participan en la modulación de la inflamación. El diseño de microbiotas sintéticas ricas en bacterias fermentadoras de carbohidratos complejos, capaces de producir butirato o propionato, podría representar un recurso innovador para fortalecer la salud intestinal y prevenir trastornos entéricos en condiciones de cultivo intensivo.

Aún más, la microbiota sintética podría contemplar funciones análogas a las de un bioestimulante, mediante la liberación controlada de vitaminas hidrosolubles, aminoácidos esenciales o cofactores metabólicos de relevancia para el crecimiento y la inmunidad de los

peces. Por ejemplo, estudios en otros modelos han mostrado que microorganismos genéticamente modificados pueden secretar precursores de vitaminas como β-caroteno o enzimas antioxidantes (Wang *et al*., 2021), abriendo la puerta para diseñar consorcios que, además de participar en la digestión, provean suplementos endógenos a los peces, reduciendo la dependencia de aditivos externos en la dieta.

En términos de aplicaciones potenciales, estos consorcios podrían utilizarse en etapas críticas del ciclo productivo, como en el arranque de los juveniles, periodos de cambio de dieta, fases de ayuno forzado o recuperación tras tratamientos farmacológicos. También podrían emplearse en estrategias de alimentación de precisión, diseñando microbiotas específicas para dietas con alto contenido vegetal o ingredientes alternativos, que suelen ser menos digeribles para los peces y originar problemas de tránsito intestinal o inflamación.

Finalmente, no debe pasarse por alto el potencial de la microbiota sintética para modular señales neuroendocrinas vinculadas al apetito, el metabolismo energético y el comportamiento alimenticio, procesos regulados en parte por el eje intestino–cerebro (Medina-Félix *et al*., 2023). Estas líneas de investigación apenas comienzan a explorarse en especies acuáticas, pero podrían en el futuro conformar un enfoque integral que combine nutrición de precisión, salud intestinal y bienestar animal a partir del manejo de comunidades microbianas diseñadas.

En suma, la aplicación de microbiotas sintéticas orientadas a mejorar la función digestiva y nutricional de los organismos cultivados ofrece perspectivas altamente innovadoras, con impacto tanto en la productividad como en la sustentabilidad de la acuicultura moderna, y anticipa un futuro donde los sistemas de producción serán más eficientes, resilientes y adaptados a las necesidades biológicas reales de las especies cultivadas.

## Desafíos Técnicos, Éticos y Regulatorios

A pesar de su enorme potencial, el diseño y la implementación de microbiotas sintéticas en acuicultura enfrentan múltiples desafíos que no pueden pasarse por alto. En primer lugar, existe un reto técnico considerable relacionado con la selección, aislamiento, cultivo y preservación de los taxones que integrarán los consorcios sintéticos. Aunque muchos miembros de la microbiota intestinal de peces son cultivables, persisten microorganismos

que requieren condiciones específicas aún no reproducibles en laboratorio, lo que limita la reconstrucción completa de una comunidad funcional (Garibay-Valdez *et al*., 2024).

Por otra parte, aunque se han logrado importantes avances en tecnologías de edición genética como CRISPR-Cas9 (Arroyo-Olarte *et al.,* 2021), la capacidad de manipular cepas no modelo (es decir, que no sean *Escherichia coli* u otras bacterias clásicas) sigue siendo restringida, tanto por limitaciones tecnológicas como por el alto costo de los procesos de edición, la baja tasa de transformación y el control de la estabilidad de los rasgos genéticos en condiciones reales de cultivo. Asimismo, la introducción de genes foráneos o modificaciones específicas en microorganismos destinados a ambientes abiertos, como los sistemas acuícolas, implica un riesgo ecológico relevante, ya que se desconoce el impacto de su diseminación en ecosistemas circundantes y en especies no objetivo.

Desde la perspectiva regulatoria, aún no existen marcos normativos sólidos y específicos para evaluar y aprobar la liberación de microbiotas sintéticas en acuicultura. La mayoría de las regulaciones actuales se enfocan en probióticos tradicionales y aditivos alimenticios, pero no contemplan los escenarios complejos que implica liberar comunidades diseñadas con componentes genéticamente modificados o ensambladas de manera artificial (Chieffi *et al*., 2022). En consecuencia, la aplicación de estos consorcios podría requerir protocolos de bioseguridad rigurosos, monitoreo ambiental y evaluación de riesgos, así como nuevas directrices regulatorias que definan claramente su estatus jurídico y su gestión a largo plazo.

A nivel ético, también surgen preocupaciones en torno a la manipulación de microorganismos con potencial de transferencia horizontal de genes de resistencia u otros rasgos no deseables. Incluso las estrategias de "kill-switch" basadas en circuitos genéticos autorregulados, pensadas para impedir la persistencia de microorganismos en condiciones no controladas (Chan *et al*., 2016), se encuentran aún en desarrollo y carecen de validación a gran escala en sistemas acuáticos. Por ello, la aceptación social de estos enfoques podría verse comprometida si no se comunican de forma clara sus beneficios, limitaciones y medidas de seguridad.

Otro aspecto relevante es la capacitación del personal técnico y de los productores para manejar microbiotas sintéticas. La implementación efectiva de estos consorcios exige una comprensión detallada de su funcionamiento, requisitos de almacenamiento, protocolos de

dosificación y monitoreo de su eficacia, factores que aún no forman parte de la formación tradicional en acuicultura.

Finalmente, no puede ignorarse la necesidad de estudios longitudinales que validen el desempeño de las microbiotas sintéticas en condiciones reales de cultivo, considerando variables como salinidad, temperatura, calidad del agua, interacción con el fitoplancton o zooplancton, y la presencia de patógenos endémicos, todos ellos elementos que podrían afectar su persistencia y funcionalidad.

En síntesis, aunque el potencial de la microbiota sintética es innegable, será necesario superar obstáculos técnicos, normativos y éticos, además de generar evidencia científica robusta y sistemas de gobernanza adecuados, antes de que pueda convertirse en una herramienta práctica, segura y socialmente aceptada para el sector acuícola.

## Perspectivas Futuras

El concepto de microbiota sintética en acuicultura aún se encuentra en una fase inicial y principalmente teórica, pero el creciente conocimiento sobre la ecología microbiana intestinal, la plasticidad funcional de los peces y las herramientas de biología sintética abren un panorama alentador para su desarrollo. A mediano plazo, la caracterización detallada de los miembros clave de la microbiota de especies acuícolas de interés, así como la identificación de sus funciones específicas mediante estudios multi-ómicos, permitirán definir con mayor precisión los elementos indispensables para diseñar consorcios sintéticos robustos y funcionales.

La construcción de comunidades sintéticas análogas a modelos estandarizados como el OMM12 en ratones (Brugiroux *et al*., 2016) constituye un referente que podría adaptarse a peces, priorizando bacterias autóctonas y compatibles con los sistemas productivos. Estas comunidades podrían ser ensayadas bajo condiciones controladas, mediante modelos gnotobióticos de peces, para evaluar su integración, estabilidad y desempeño en la mejora de parámetros sanitarios y nutricionales. Posteriormente, estudios de campo y evaluaciones de bioseguridad serían fundamentales para validar su aplicación a gran escala.

Otra perspectiva relevante es la integración de la inteligencia artificial y las ciencias de datos para modelar interacciones microbianas complejas, predecir resultados funcionales y

optimizar diseños de microbiotas sintéticas antes de su validación *in vivo*. Esto permitiría reducir tiempos y costos de experimentación, generando herramientas de apoyo para el diseño racional de consorcios microbianos con objetivos específicos.

Finalmente, la incorporación de estos enfoques en estrategias de nutrición de precisión, bienestar animal y gestión ambiental abre oportunidades para repensar la acuicultura del futuro, haciendo frente a los retos de sostenibilidad, eficiencia y reducción del uso de antibióticos. La convergencia de biotecnología, bioinformática y ecología microbiana podrá sentar las bases de sistemas de cultivo más resilientes, responsables y adaptados a los requerimientos de la demanda global de proteína acuática.

## Conclusiones

La microbiota intestinal de los organismos acuáticos cultivados constituye un elemento esencial para su salud, desempeño productivo y resiliencia frente a enfermedades. Las evidencias acumuladas en los últimos años han permitido reconocerla como un órgano funcional capaz de modular procesos digestivos, inmunológicos y neuroendocrinos de manera profunda. En este contexto, el concepto de microbiota sintética emerge como una estrategia biotecnológica prometedora para diseñar comunidades microbianas racionales, dirigidas a restaurar la homeostasis intestinal tras episodios de disbiosis, reforzar la resistencia a patógenos o mejorar la eficiencia nutricional y metabólica de los peces cultivados.

Aunque este enfoque aún se encuentra en una fase hipotética dentro de la acuicultura, las experiencias en otros modelos animales, junto con el desarrollo de tecnologías de cultivo, secuenciación, edición genética y bioinformática, permiten vislumbrar su viabilidad a mediano plazo. La adaptación de consorcios sintéticos estandarizados, su validación en condiciones controladas y la generación de marcos regulatorios claros serán pasos determinantes para su implementación responsable y segura.

De adoptarse con el rigor científico necesario, la microbiota sintética podría consolidarse en el futuro como una herramienta innovadora y sostenible para la acuicultura moderna, contribuyendo a la reducción del uso de antimicrobianos, al aumento de la eficiencia productiva y a la mejora del bienestar de los organismos cultivados. Sin duda, la construcción

de este conocimiento requerirá de una colaboración multidisciplinaria, donde confluyan la microbiología, la biotecnología, la nutrición y la ecología, para consolidar soluciones que respondan a los retos actuales y futuros de la producción acuícola.

# Referencias


Arroyo-Olarte, R. D., Bravo Rodriguez, R., & Morales-Ríos, E. (2021). Genome editing in bacteria: CRISPR-Cas and beyond. *Microorganisms*, *9*(4), 844.

Bakken, J. S., Borody, T., Brandt, L. J., Brill, J. V., Demarco, D. C., Franzos, M. A., … & Youngster, I. (2011). Treating Clostridium difficile infection with fecal microbiota transplantation. Clinical Gastroenterology and Hepatology, 9(12), 1044–1049.

Brugiroux, S., Beutler, M., Pfann, C., Garzetti, D., Ruscheweyh, H. J., Ring, D., … & Stecher, B. (2016). Genome-guided design of a defined mouse microbiota that confers colonization resistance *against Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Nature Microbiology, 2, 16215.

Chan, C. T. Y., Lee, J. W., Cameron, D. E., Bashor, C. J., & Collins, J. J. (2016). "Deadman" and "Passcode" microbial kill switches for bacterial containment. Nature Chemical Biology, 12(2), 82–86.

Chieffi, D., Fanelli, F., & Fusco, V. (2022). Legislation of probiotic foods and supplements. In *Probiotics for human nutrition in health and disease* (pp. 25-44). Academic Press.

Drider, D. (2021). Gut microbiota is an important source of bacteriocins and their in situ expression can be explored for treatment of bacterial infections. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *13*(6), 1759-1765.

FAO. (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Food and Agriculture Organization of the United Nations. https://www.fao.org/3/cc0461en/cc0461en.pdf

Garibay-Valdez, E., Martínez-Porchas, M., Vargas-Albores, F., Medina-Félix, D., & Martínez-Córdova, L. R. (2024). The zebrafish model requires a standardized synthetic microbial community analogous to the oligo-mouse-microbiota (OMM12). Frontiers in Microbiology, 15, 1407092.

Infante-Villamil, S., Huerlimann, R., & Jerry, D. R. (2021). Microbiome diversity and dysbiosis in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, *13*(2), 1077-1096.

Kumar, P., Sinha, R., & Shukla, P. (2022). Artificial intelligence and synthetic biology approaches for human gut microbiome. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *62*(8), 2103-2121.

Martinez-Porchas, M., Preciado-Álvarez, A., Vargas-Albores, F., Gracia-Valenzuela, M. H., Cicala, F., Martinez-Cordova, L. R., Medina-Félix, D., & Garibay-Valdez, E. (2023). Microbiota plasticity in tilapia gut revealed by meta-analysis evaluating the effect of probiotics, prebiotics, and biofloc. PeerJ, 11, e16213.

Medina-Félix, D., Garibay-Valdez, E., Vargas-Albores, F., & Martínez-Porchas, M. (2023). Fish disease and intestinal microbiota: A close and indivisible relationship. Reviews in Aquaculture, 15(2), 820–839.

Ohira, H., Tsutsui, W., & Fujioka, Y. (2017). Are short chain fatty acids in gut microbiota defensive players for inflammation and atherosclerosis?. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, *24*(7), 660-672.

van Leeuwen, P. T., Brul, S., Zhang, J., & Wortel, M. T. (2023). Synthetic microbial communities (SynComs) of the human gut: design, assembly, and applications. *FEMS Microbiology Reviews*, *47*(2), fuad012.

Vargas-Albores, F., L. R. Martinez Cordova, A. Hernández Mendoa, F. Cicala, A. Lago-Lestón, M. Martínez Porchas. (2021). Therapeutic modulation of fish gut microbiota, a feasible strategy for aquaculture? *Aquaculture*, 544, 737050.

Wang, L., Liu, Z., Jiang, H., & Mao, X. (2021). Biotechnology advances in β-carotene production by microorganisms. *Trends in Food Science & Technology*, *111*, 322-332.

Wesseler, J., Kleter, G., Meulenbroek, M., & Purnhagen, K. P. (2023). EU regulation of genetically modified microorganisms in light of new policy developments: Possible implications for EU bioeconomy investments. *Applied Economic Perspectives and Policy*, *45*(2), 839-859.

Yukgehnaish, K., Kumar, P., Sivachandran, P., Marimuthu, K., Arshad, A., Paray, B. A., & Arockiaraj, J. (2020). Gut microbiota metagenomics in aquaculture: factors influencing gut microbiome and its physiological role in fish. Reviews in Aquaculture, 12(3), 1903-1927.

# Management of *Vibrio Vulnificus* Infections in Aquaculture Using (PHB) Polyhydroxybutyrate

Aswathi Bharathan [1], K Karaila Genevieve[1], Yaser Arafath[1], Joseph Selvin [1*]

[1] Department of Microbiology, School of Life Sciences, Pondicherry University, Puducherry, India-605014

E-mail: josephselvinss@gmail.com

## Abstract

Aquaculture is the fastest growing food production sector globally. It is important for human nutrition and economic development, but rapid growth is confronted by several challenges, particularly bacterial disease, especially with pathogenic species such as *Vibrio vulnificus* which has potential for severe economic losses. Antibiotic resistance is on the rise thereby elevating food safety risks. Therefore, alternative strategies are necessary to combat bacterial infection. One such alternative treatment is Polyhydroxybutyrate (PHB), a biodegradable biopolymer which is considered more sustainable than antibiotics in aquaculture. Studies have shown PHB and its degradation products have the potential against infections. PHB has not only been shown to act as an energy reserve for microbes, but anti-adhesion, anti-biofilm, and anti-virulence, properties that limit the pathogenicity of vibrio species. There is evidence to suggest that Poly-β-hydroxybutyrate has beneficial effects on immune response, increased stress tolerance, and improved survival in cultured aquatic animals. Studies with controlled environments using shrimp and finfish have demonstrated that dietary PHB can enhance growth performance, activities of enzymes that provide immune response, and resistance to pathogenic vibrios. There are few studies investigating the use of PHB against *V. vulnificus* in aquaculture. Future research priorities that may include the molecular modes of action of PHB, in vivo host-microbe interactions, and the low-cost or large-scale production of PHB, may help improve options for successful emerging disease management practices. This review highlights the applicability of PHB as a safe, multifunctional, and environmentally sustainable biocontrol agent. It combines disease suppression and host health benefits into what could be a useful and viable alternative to antibiotics, offers excellent potential to assist with controlling *V. vulnificus* outbreaks, and provides sustainability to aquaculture systems.

*Keywords*: *Vibrio vulnificus*, aquaculture, polyhydroxybutyrate

Review

Aquaculture represents one of the fastest-growing food production segments on the global scale (FAO), and it presents a key opportunity for employment generation, food security, and social development in middle-income countries (Mishra *et al*., 2024). The increasing incidence of microbial infections in aquaculture systems acts as an obstacle to growth in the aquaculture industry (Seethalakshmi *et al*., 2021). The Gram-negative bacteria in the Vibrionaceae family, which cause disease in grow-out ponds and hatcheries, are of particular concern (Kiran *et al*., 2014). Several Vibrio species, including the well-known pathogens *V. anguillarum*, *V. ordalii*, and *V. harveyi*, have been reported to cause vibriosis in marine animals and have been implicated in the major production losses (biological "crashes") affecting aquaculture (Onohuean *et al*., 2022; Hickey *et al*., 2017). Aquaculture species such as shrimp, shellfish, prawns, and finfish are highly vulnerable to Vibrio infections (Thompson *et al*., 2004). These species can also carry strains that are harmful to humans. The most common pathogens transmitted from seafood and other sources are *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and non-O1/non-O139 *V. cholerae* (Vezzulli *et al*., 2016). *Vibrio vulnificus* is a pathogen from the family Vibrionaceae present globally that can cause vibriosis in both humans and aquatic animals (Xiao *et al*., 2021). It is transmitted through contaminated seafood or brackish water and can enter the body by eating infected food or open wounds. This bacterium is resistant to standard treatments and is found in many countries, including India, Brazil, Thailand, and others. Its widespread presence poses major challenges in treatment and control strategy (Bharathan *et al*., 2025).

Disease outbreaks in shrimp aquaculture are mainly caused by poor water quality, overfeeding, poor farm management, and rapid increases in stocking density. Research and development are continuing to advance reactive and proactive treatments, but we still lack effective options to prevent or control disease outbreaks in shrimp farming. Finding alternatives to antibiotics in aquaculture is a top priority (Selvin *et al*., 2015). In fact, antibiotics are prohibited for controlling Vibrio infections in shrimp aquaculture in many countries.it is necessary to explore other ways to manage these shrimp farming pathogens (Kiran *et al*., 2014). Other options include marine natural products, smart biomolecules like biosurfactants and poly-hydroxy butyrates (PHB), nanoparticles, quorum-quenching

compounds, small bioactive peptides, and probiotics (Selvin *et al*., 2015). Natural compounds such as algal extracts, phytobiotics, probiotics, prebiotics and synbiotics are all safe for aquaculture.Nanomaterials are emerging as safer and more effective alternatives to antibiotics, while vaccines targeting bacterial biofilm antigens offer greater protection than those based on free-floating bacteria. Using these alternatives helps lower chemical hazards, encourages organic farming practices, and promotes sustainable aquaculture (Seethalakshmi *et al*., 2021).

Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are biodegradable polymers that are produced naturally and are environmentally friendly alternatives to traditional petrochemical plastics, and PHAs have similar material properties to a variety of thermoplastics. Of the various types of PHAs, poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) is the most well-studied and well-characterized PHA. Bacteria typically accumulate PHB in conditions of high carbon and energy sources and low oxygen, nitrogen, or phosphorus. When the limiting nutrient becomes available to bacteria, it can be used as a carbon and energy source, but it must be broken down by intracellular depolymerases; PHB can also be degraded through hydrolytic mechanisms (Sathiyanarayanan *et al*., 2013) Polyhydroxy butyrate (PHB) are energy storage substances that can be produced by many microorganisms including *Alcaligenes, Pseudomonas, Staphylococcus* and some algae, typically under conditions which are enriched in carbon and nutrient-poor (low nitrogen) (Thapa *et al*., 2019). Certain strains of Vibrio, like *V. natriegens*, are extremely effective at producing large quantities of intracellular PHB, making them an attractive choice for industrial scale-level fermentation (Chien *et al*., 2007). *Brevibacterium casei* MSI04 was isolation from the marine sponge The optimal submerged fermentation conditions for *Dendrilla nigra* for PHB production were determined to be with a maximum PHB yield of 6.74 g/L, 25 g/L of starch, 96 hours of incubation, 35 °C and 3% NaCl concentration. The PHB was also shown to have some good antiadhesive activity against *Vibrio vulnificus* with an activity of 96% (Kiran *et al*., 2014). While there has been progress in large scale PHA production, it is not easy to find a low-cost host for low-cost PHB production with new environments and sources of nutrients (Hong *et al*., 2019). In aquaculture, luminescent Vibrio infections are associated with very high losses, particularly when they are antibiotic resistant.

Biofilms of pathogenic bacteria such as *Vibrio vulnificus* cause a significant risk to aquatic animals such as fish and shrimp in aquaculture settings (Kiran *et al*., 2014; Kiran *et al*., 2020). Biofilms significantly contribute to bacterial pathogenicity, stress resistance, and high antibiotic resistance as a survival mechanism against antibiotics and the host immune system. The formation of biofilm in Vibrio pathogens is a recognized virulence factor. Consequently, eliminating or inhibiting their biofilm biomass is very important and could be a viable alternative treatment for pathogenic Vibrio in aquaculture farms instead of conventional antibiotics (Yildiz *et al*., 2009; Kiran *et al*., 2014). PHB has been found to be a source of intracellular energy when both carbon and nitrogen are limiting or during environmental stress (Sharma *et al*., 2019; Kiran *et al*., 2016). The use of PHB may provide effective control of biofilm-forming pathogens like *V. vulnificus* and *V. fischeri*, as Kiran reported that PHB functions as an anti-biofilm/anti-adhesive biocontrol agent, and can effectively suppress V. harveyi in shrimp aquaculture. In bacterial biofilm, too, PBH inhibited the early stage of biofilm development, including adhesion to the host cell by intermediate degradation (Kiran *et al*., 2014). The use of PHB against bacterial pathogens is well-established. However, there is a limited study documenting the applications of PHB in *V. vulnificus* infections in aquaculture.

The mechanism of PBH for anti-effective activity involves various processes. The PHB is an insoluble biopolymer that gets degraded inside the gastrointestinal tract of the treated aquatic animals, such as shrimps and fish (Kiran *et al*., 2020). In the gut, PHB-degrading microflora help in the metabolic degradation of PHB (Liu *et al*., 2010). The PHB is then fermented through enzymatic degradation by PHB depolymerase (PHBDs) into water-soluble monomers and oligomers of β-hydroxy-butyric acid (Anjulal *et al*., 2025) or by digestive enzymes produced in the gut of the treated animal (Kiran *et al*., 2020). The hydrolyzed form of PHB to short-chain β-hydroxy-butyric acid has been reported to have effective anti-virulent molecules in shrimps against the virulent *Vibrio campbellii* strain. (Defoirdt *et al*., 2007). PHB has been shown to have low cell adhesion due to the surface accumulation of methyl groups (Lee *et al*., 2013). Consequently, the accumulation of PHB in bacteria protected *Artemia franciscana* from virulent *Vibrio campbellii* infection, suggesting that PHB-accumulating/PHB-synthesizing bacteria could be an alternative treatment strategy in aquaculture (Halet *et al*., 2007). Short-chain fatty acids, like PHB intermediates, are known

to inhibit bacterial growth and have been reported in *Artemia franciscana* against *Vibrio campbellii* LMG21363. Furthermore, the survival of *Artemia nauplii* infected with *Vibrio campbellii* increased significantly with the treatment of short-chain fatty acids in the culture water (Defoirdt *et al*., 2006).

PHB acts as an inducer of Heat Shock Protein 70 (HSP70), protecting infected *Artemia* from *V. campbelli* infection (Baruah *et al*., 2015). The phenotypic expression of virulence factors such as motility, pili adhesion, bioluminescence, haemolysis, and quorum sensing was effectively inhibited by PHB degradation intermediates in *Vibrio* strain PUGSK8 (Kiran *et al*., 2016). Studies have reported a pH-regulated treatment of PHB with NaOH, with subsequent digestion of digestive enzymes, resulting in increased degradation and activity of PHB (Roohi *et al*., 2018; Forni *et al*., 1999; Schryver *et al*., 2010). Similarly, another study reported that the degradation of PHB intermediates in the *Artemia* gut may lower the pH, causing cellular acidification, thereby inhibiting the virulence and pathogenicity of *Vibrio* (Defoirdt *et al*., 2009; Kiran *et al*., 2016).

While PHB exhibits anti-effective activity against bacterial pathogens, PHB is beneficial to the treated animals as it provides an energy source, increases the growth rate, and acts as a symbiont of the intestinal bacterial community **fig.1.** (Schryver *et al*., 2010; Kiran *et al*., 2020). Poly–β–hydroxybutyrate–hydroxyvalerate (PHB–HV), when used as a supplement in feed, acts as an immunostimulant in finfish (Suguna *et al*., 2014) and shrimps (Kiran *et al*., 2020). According to Kiran et al., the PHB-treated shrimps showed significant weight gain, with elevated activity of immune enzymes, antioxidant activity, and an increase in digestive enzymes compared to control shrimp. The PHB-treated shrimps were also protected against *V. parahaemolyticus* infection with 100% survival (Kiran *et al*., 2020). Lui *et al*. demonstrated the synergistic effect of PHB-degrading probiotics and PHB biopolymers as a synbioticum while protecting the shrimp against luminescent vibriosis (Lui *et al*., 2010).

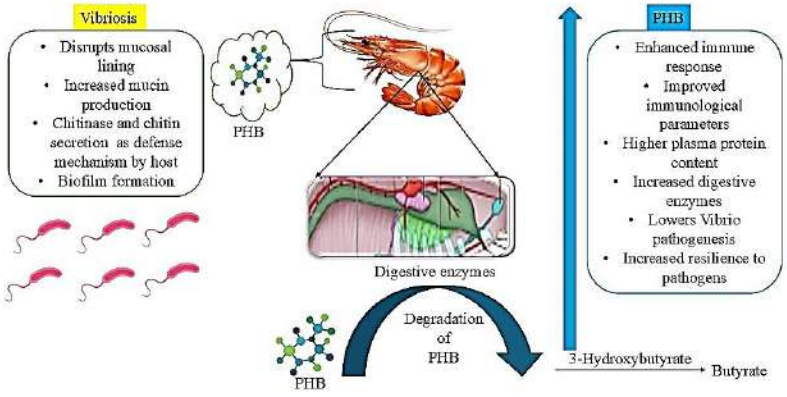



Figure 1. Schematic representation of Vibrio pathogenesis and the mode of action of PHB (Polyhydroxy butyrate) on the shrimp's overall physiology (Asiri, 2024)

PHB is an eco-friendly, non-invasive bioplastic that can be used for various applications, including dietary supplements in feed as additives or coatings. PHB serves as a promising alternative treatment to antimicrobial agents to mitigate the rise of antimicrobial resistance and control *Vibrio* outbreak infections in aquaculture and its environment (Defoirdt *et al*., 2009; Kiran *et al*., 2014; Kiran *et al*., 2020). However, using PHA/PHB is limited by several factors, such as the high cost of PHA production processes, extraction, and purification, high-quality requirements, and competition with conventional petroleum-based plastics. Therefore, PHA/PHB has been regarded as a novel biocontrol agent to manage aquaculture disease outbreaks (Asiri *et al*., 2024).

# References


Anjulal, H., Sowani, H., & Zinjarde, S. (2025). Understanding the role of poly (3-hydroxybutyrate) depolymerases in waste management. *Journal of Environmental Management*, *380*, 124925.

Asiri, F. (2024). Polyhydroxyalkanoates for sustainable aquaculture: a review of recent advancements, challenges, and future directions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *72*(4), 2034-2058.

Asiri, F. (2024). Polyhydroxyalkanoates for sustainable aquaculture: a review of recent advancements, challenges, and future directions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *72*(4), 2034-2058.

Baruah, K., Huy, T. T., Norouzitallab, P., Niu, Y., Gupta, S. K., De Schryver, P., & Bossier, P. (2015). Probing the protective mechanism of poly-ß-hydroxybutyrate against vibriosis by using gnotobiotic *Artemia franciscana* and Vibrio campbellii as host-pathogen model. *Scientific reports*, *5*(1), 9427.

Bharathan, A., Arafath, Y., Fathima, A., Hassan, S., Singh, P., Kiran, G. S., & Selvin, J. (2025). Affection of Environmental Factors on the Pathogenicity of Vibrio vulnificus: Insights into Gene Activation and Disease. *Microbial Pathogenesis*, *204*, 107591.

Chien, C., Chen, C., Choi, M., Kung, S., & Wei, Y. (2007). Production of poly-β-hydroxybutyrate (PHB) by Vibrio spp. Isolated from the marine environment. *Journal of Biotechnology*, *132*(3), 259–263. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2007.03.002

De Schryver, P., Sinha, A. K., Kunwar, P. S., Baruah, K., Verstraete, W., Boon, N., ... & Bossier, P. (2010). Poly-β-hydroxybutyrate (PHB) increases growth performance and intestinal bacterial range-weighted richness in juvenile European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Applied microbiology and biotechnology*, *86*(5), 1535-1541.

Defoirdt, T., Boon, N., Sorgeloos, P., Verstraete, W., & Bossier, P. (2009). Short-chain fatty acids and poly-β-hydroxyalkanoates:(New) Biocontrol agents for a sustainable animal production. *Biotechnology advances*, *27*(6), 680-685.

Defoirdt, T., Halet, D., Sorgeloos, P., Bossier, P., & Verstraete, W. (2006). Short-chain fatty acids protect gnotobiotic *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. *Aquaculture*, *261*(2), 804-808.

Defoirdt, T., Halet, D., Vervaeren, H., Boon, N., Van De Wiele, T., Sorgeloos, P., Bossier, P., & Verstraete, W. (2006). The bacterial storage compound poly-β-hydroxybutyrate protects *Artemia franciscana* from pathogenic Vibrio campbellii. *Environmental Microbiology*, *9*(2), 445–452. https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01161.x

Forni, D., Bee, G., Kreuzer, M., & Wenk, C. (1999). Novel biodegradable plastics in sheep nutrition-Effects of NaOH pretreatment of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) on in vivo digestibility and on in vitro disappearance (Rusitec). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *81*(1), 41-50.

Halet, D., Defoirdt, T., Van Damme, P., Vervaeren, H., Forrez, I., Van de Wiele, T., ... & Verstraete, W. (2007). Poly-β-hydroxybutyrate-accumulating bacteria protect gnotobiotic *Artemia franciscana* from pathogenic Vibrio campbellii. *FEMS Microbiology Ecology*, *60*(3), 363-369.

Hickey, M. E., & Lee, J. (2017). A comprehensive review of Vibrio (Listonella) anguillarum: ecology, pathology, and prevention. *Reviews in Aquaculture*, *10*(3), 585–610. https://doi.org/10.1111/raq.12188

Hong, J., Song, H., Moon, Y., Hong, Y., Bhatia, S. K., Jung, H., Choi, T., Yang, S., Park, H., Choi, Y., & Yang, Y. (2019). Polyhydroxybutyrate production in halophilic marine bacteria *Vibrio proteolyticus* isolated from the Korean peninsula. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, *42*(4), 603–610. https://doi.org/10.1007/s00449-018-02066-6

Kiran, G. S., Lipton, A. N., Priyadharshini, S., Anitha, K., Suárez, L. E. C., Arasu, M. V., Choi, K. C., Selvin, J., & Al-Dhabi, N. A. (2014). Antiadhesive activity of poly-hydroxy butyrate biopolymer from a marine Brevibacterium casei MSI04 against shrimp pathogenic vibrios. *Microbial Cell Factories*, *13*(1). https://doi.org/10.1186/s12934-014-0114-3

Kiran, G. S., Priyadharshini, S., Sajayan, A., Ravindran, A., Priyadharshini, G. B., Ramesh, U., ... & Selvin, J. (2020). Dietary administration of gelatinised polyhydroxybutyrate to *Penaeus vannamei* improved growth performance and enhanced immune response against *Vibrio parahaemolyticus*: A*quaculture*, *517*, 734773.

Lee, C. W., Song, B. K., Jegal, J., & Kimura, Y. (2013). Cell adhesion and surface chemistry of biodegradable aliphatic polyesters: discovery of particularly low cell adhesion behavior on poly (3-[RS]-hydroxybutyrate). *Macromolecular Research*, *21*(12), 1305-1313.

Liu, Y., De Schryver, P., Van Delsen, B., Maignien, L., Boon, N., Sorgeloos, P., ... & Defoirdt, T. (2010). PHB-degrading bacteria isolated from the gastrointestinal tract of aquatic animals as protective actors against luminescent vibriosis. *FEMS microbiology ecology*, *74*(1), 196-204.

Mishra, A., Kim, H., Kumar, R., & Srivastava, V. (2024). Advances in Vibrio-related infection management: an integrated technology approach for aquaculture and human health. *Critical Reviews in Biotechnology*, *44*(8), 1610–1637. https://doi.org/10.1080/07388551.2024.2336526

Onohuean, H., Agwu, E., & Nwodo, U. (2022). A Global Perspective of Vibrio Species and Associated Diseases: Three-Decade Meta-Synthesis of Research Advancement. *Environmental Health Insights*, *16*. https://doi.org/10.1177/11786302221099406

Roohi, Zaheer, M. R., & Kuddus, M. (2018). PHB (poly-β-hydroxybutyrate) and its enzymatic degradation. *Polymers for Advanced Technologies*, *29*(1), 30-40.

Sathiyanarayanan, G., Kiran, G. S., Selvin, J., & Saibaba, G. (2013). Optimization of polyhydroxybutyrate production by marine Bacillus megaterium MSBN04 under solid-state culture. *International Journal of Biological Macromolecules*, *60*, 253–261. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.05.031

Seethalakshmi, P., Rajeev, R., Kiran, G. S., & Selvin, J. (2021). Shrimp disease management for sustainable aquaculture: innovations from nanotechnology and biotechnology. *Aquaculture International*, *29*(4), 1591–1620. https://doi.org/10.1007/s10499-021-00698-2

Seghal Kiran, G., Priyadharshini, S., Dobson, A. D., Gnanamani, E., & Selvin, J. (2016). Degradation intermediates of polyhydroxy butyrate inhibit phenotypic expression of virulence factors and biofilm formation in luminescent Vibrio sp. PUGSK8. *NPJ biofilms and microbiomes*, *2*(1), 1-10.

Selvin, J., Ninawe, A., Meenatchi, R., & Kiran, G. S. (2015, November 30). *Control of Pathogenic Vibrios in Shrimp Aquaculture using Antiinfectives from Marine Natural Products*. https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/37

Sharma, N. (2019). Polyhydroxybutyrate (PHB) production by bacteria and its application as a biodegradable plastic in various industries. *Acad. J. Polym. Sci*, *2*(3).

Suguna, P., Binuramesh, C., Abirami, P., Saranya, V., Poornima, K., Rajeswari, V., & Shenbagarathai, R. (2014). Immunostimulation by poly-β hydroxybutyrate–hydroxyvalerate (PHB–HV) from *Bacillus thuringiensis* in Oreochromis mossambicus. *Fish & shellfish immunology*, *36*(1), 90-97.

Thapa, C., Shakya, P., Shrestha, R., Pal, S., & Manandhar, P. (2019). Isolation of Polyhydroxybutyrate (PHB) Producing Bacteria, Optimization of Culture Conditions for PHB production, Extraction and Characterization of PHB. *Nepal Journal of Biotechnology*, *6*(1), 62–68. https://doi.org/10.3126/njb.v6i1.22339

Thompson, F. L., Iida, T., & Swings, J. (2004). Biodiversity of vibrios. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *68*(3), 403–431. https://doi.org/10.1128/mmbr.68.3.403-431.2004

Vezzulli, L., Grande, C., Reid, P. C., Hélaouët, P., Edwards, M., Höfle, M. G., Brettar, I., Colwell, R. R., & Pruzzo, C. (2016). Climate influence on Vibrio and associated human diseases during the past half-century in the coastal North Atlantic. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *113*(34). https://doi.org/10.1073/pnas.1609157113

Xiao, X., Lin, Z., Huang, X., Lu, J., Zhou, Y., Zheng, L., & Lou, Y. (2021). Rapid and Sensitive Detection of *Vibrio vulnificus* Using CRISPR/Cas12a Combined with a Recombinase-Aided Amplification Assay. *Frontiers in Microbiology*, *12*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.767315

Yildiz, F. H., & Visick, K. L. (2009). Vibrio biofilms are so much the same yet so different. *Trends in microbiology*, *17*(3), 109-118.

# *Daphnia magna as an Alternative Protein Source in Aquaculture: Progress, Challenges and Perspectives*

Alfredo Olivera Gálvez[1]*, Jéssika Lima de Abreu[1], Barbara de Cassia Soares Brandão[1], Marianne Beatriz Barros Lima[1], Sofia Pereira Matos[1], Clarissa Vilela Figueiredo da Silva Campos[2]

[1] Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Dois Irmãos, Recife, Pernambuco 52171-900, Brasil. Laboratório de Maricultura Sustentável- LAMARSU

[2] Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada. Av. Gregório Ferraz Nogueira, S/N - José Tomé de Souza Ramos - CEP: 56909-535 - Serra Talhada/PE Caixa Postal: 063, *E-mail: alfredo_oliv@yahoo.com

## Abstract

*Daphnia magna*, known as the water flea, is emerging as a sustainable alternative in aquaculture to reduce dependence on fishmeal and soybeans. This microcrustacean has a high nutritional value with 6-8% lipids, essential amino acids and concentrations of chitin (2.5-4%) and chitosan (2-3%) that stimulate the immune system and the production of digestive enzymes. Research has shown that *D. magna* enriched with microalgae, such as *Haematococcus pluvialis* and *Chlorella vulgaris*, significantly improves the performance of *Penaeus vannamei* shrimp, resulting in greater biomass, high protein levels (up to 70.9%), and feed efficiency close to 100%. Cultivation is simple and economical, using organic waste such as rice bran and poultry manure. The startup Daphnia Prime® managed to scale production with a yield of 0.5g of wet biomass per liter. The main challenges include standardizing protocols, studying the intestinal microbiome, and commercial regulation. This technology represents an innovative solution to make aquaculture more sustainable, efficient and resilient, offering nutritional and immunological benefits to farmed organisms.

*Keywords*: *Daphnia magna*, Sustainable aquaculture, Bioencapsulation, Immunostimulant, Microalgae

Progress

***Daphnia magna: low-cost food, high nutritional content and immunostimulant potential***

Global aquaculture production faces growing challenges related to sustainability and food security. Pressure on fishing resources for fishmeal production and the impacts of soybean expansion are driving the search for alternative protein sources. In this scenario, the use of microcrustaceans such as *Daphnia magna* have stood out. This freshwater organism, also known as water flea, has 6 to 8% lipids (Herawati *et al*., 2017), in addition to an essential amino acid profile (Torrentera and Tacon, 1989). Furthermore, species of the genus Daphnia have concentrations of 2.5 to 4% chitin and 2 to 3% chitosan, which are polysaccharides that, in addition to accelerating growth, have immunostimulating properties and induce the production of digestive enzymes such as trypsin, lipase and pepsin in the hepatopancreas of the shrimp *P. vannamei* (Tseng *et al*., 2021). Our research team, in a work published by Campos *et al*. (2025), observed immune-stimulating activities from the greater number of total hemocytes in post-larvae of *Penaeus vannamei* shrimp when fed with D. magna enriched with the microalgae *Haematococcus pluvialis* in the cystic phase, a phase in which there is a greater accumulation of astaxanthin (Figure 1, Table 1).




Figure 1. *Daphnia magna* enriched with *Haematococcus pluvialis* on cystic phase (Campos *et al*., 2025). Available in https://doi.org/10.6084/m9.figshare.28599743.v1

Table 1. Mean ± standard deviation of growth variables of the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*, cultivated for 33 days on symbiotic system in the nursery phase, submitted to three treatments: portion supplemented with *Daphnia magna* flour enriched with the microalgae *Haematococcus pluvialis* in the cystic phase (RDH); portion with commercial supplement (RSC); and regular commercial portion without adding supplements, used for monitoring(R). SGR = Specific growth rate; FCR = Feed conversion ratio. (Data source: Campos *et al*., 2025).

| Parameters | R | RDH | RSC |
|---|---|---|---|
| Final biomass(g) | $48.78 \pm 5.01^{b}$ | $63.27 \pm 3.37^{a}$ | $64.02 \pm 3.05^{a}$ |
| Final average weight (g) | $0.435 \pm 0.048^{b}$ | $0.536 \pm 0.020^{a}$ | $0.564 \pm 0.021^{a}$ |
| FCR | $1.11 \pm 0.09^{a}$ | $1.05 \pm 0.05^{a}$ | $0.98 \pm 0.05^{a}$ |
| SGR (% $day^{-1}$) | $13.52 \pm 0.34^{b}$ | $14.16 \pm 0.11^{a}$ | $14.32 \pm 0.14^{a}$ |
| Productivity (kg $m^{-3}$) | $1.22 \pm 0.12^{b}$ | $1.58 \pm 0.08^{a}$ | $1.60 \pm 0.08^{a}$ |

Note: Different letters between columns indicate statistical differences through the Tukey test ($p < 0,05$).

*D. magna* also acts as an efficient nutrient vector when it bioencapsulates microalgae rich in proteins, pigments and antioxidant compounds. Bioencapsulation allows compounds that are difficult to assimilate directly, such as those present in *Chlorella vulgaris* and *Haematococcus pluvialis*, to be incorporated into the diets of cultivated species. In a study conducted by our research group, Abreu *et al*. (2025) found significant improvements in *P. vannamei* post-larvae regarding final weight increase (0.75 g), biomass of 18.05 g, protein levels of 70.9%, lipid levels of 32.4% and feed efficiency of almost 100%, from the weekly supply of *D. magna* enriched with C. vulgaris (5 and 10 individuals per shrimp) (Figure 2). Campos *et al*. (2025) observed that the addition of *D. magna* meal enriched with *H. pluvialis* (15% of the diet) provided biomass close to 63 g, increased protein (66%), chitin (3.3%), chitosan (2.9%), carotenoids (20 μg $g^{-1}$) and astaxanthin levels, in addition to elevated immunological responses.




Figure 2. *Daphnia magna* enriched with *Chlorella vulgaris* in its cystic phase (Campos *et al*., 2025). Available in https://doi.org/10.6084/m9.figshare.28599743.v1

Cultivation is simple and can be carried out in low-cost systems, using organic waste and aquaculture effluents, adding value and reducing environmental impacts. Thus, the production of *D. magna* in controlled environments can use rice bran, yeast and poultry manure, which reduces costs and increases accessibility for producers (Herawati *et al*., 2017). Our research team, represented by the startup Daphnia Prime®, has successfully scaled *D. magna* production, achieving a yield of 0.5 g of *D. magna* $L^{-1}$ wet biomass. Daphnia Prime® focuses on premium animal nutrition by supplying Daphnia magna in dried and frozen form

(Figure 3).


Figure 3. Founding partners of the startup Daphnia Prime®, incubated at IncubaScience, a science-based business incubator located at the Northeast Strategic Technologies Center (CETENE). Left: Dr. Barbara Brandão, center: Prof. Dr. Clarissa Campos, and right: Dr. Jéssika Abreu. And graduate students Marianne Lima(right) and Sofia Matos(left), who helped produce the *Daphnia magna*.

## Challenges

Despite advances, the use of *D. magna* still faces challenges. Studies are needed to standardize enrichment protocols, optimize supply densities, evaluate effects on different species and cultivation stages, and consider the economic impact of large-scale production. Analysis of the intestinal microbiome, the expression of digestive enzymes, and the quality of the final product in aquatic animals that consume them are important research fronts to consolidate this strategy. Furthermore, regulation and commercial acceptance will be determining factors for the adoption of this technology.

## Perspectives

In summary, *Daphnia magna* presents itself as an innovative and promising solution to diversify and strengthen the nutritional base of aquaculture, reducing pressure on traditional resources and offering additional benefits to the health of farmed organisms. With the advancement of multidisciplinary research and technological adjustments, this approach can contribute to more sustainable, efficient, and resilient production systems.

## Acknowledgements

I would like to express my sincere thanks to the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE) and the Department of Fisheries and Aquaculture for all the academic and structural support that made the development of this work possible. I also thank the collaborators who, with dedication and knowledge, contributed significantly to the completion of this research.

# References

Abreu, J. L. d., Da Silva Campos, C. V. F., De Lima, P. C. M., De Cassia Soares Brandão, B., Mota, G. C. P., De Moraes, L. B. S., Oliveira, C. Y. B., De Andrade, T. P., & Gálvez, A. O. (2025). Effect of the *Chlorella vulgaris* Bioencapsulated by *Daphnia magna* on the Growth and Nutritional Value of the *Penaeus vannamei* Cultured in a Symbiotic System. *Sustainability*, *17*(10), 4674. https://doi.org/10.3390/su17104674

Campos, C. V. F.S, Brandão, B. C. S., De Abreu, J.L, Gálvez, A. O., De Andrade, T. P, da Silva, S. M. B. C., *et al.* (2025). *Daphnia* fed with *Chlorella* and *Haematococcus* in cystic phase figshare. Figure. https://doi.org/10.6084/m9.figshare.28599743.v1

Campos, C. V. F.S, Mota, G. C. P., De Lima, P. C. M., De Abreu, J. L., Da Silva, S. M. B. C., Oliveira, C. Y. B., De Cassia Soares Brandão, B., De Macêdo Dantas, D. M., De Andrade, T. P., & Gálvez, A. O. (2025). The use of *Haematococcus pluvialis* bioencapsulated by the water flea Daphnia magna increases growth performance, nutritional content, and immunological response of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* during the nursery phase. *Journal of Applied Phycology*. https://doi.org/10.1007/s10811-025-03501-4

Herawati, V. E., Nugroho, R. A., Pinandoyo, N., & Hutabarat, J. (2017). Nutritional value content, biomass production and growth performance of *Daphnia magna* cultured with different animal wastes resulted from probiotic bacteria fermentation. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*, *55*, 012004. https://doi.org/10.1088/1755-1315/55/1/012004

Torrentera Blanco, L. y Tacon, A.G.J. (1989). La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. FAO – Italia.

Tseng, D., Hsieh, S., Wong, Y., Hu, S., Hsieh, J., Chiu, S., Yeh, S., & Liu, C. (2020). Chitin derived from Daphnia similis and its derivate, chitosan, promote growth performance of *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, *531*, 735919. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735919



*Larva de Lutjanus peru*

UANL
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

VISIÓN UANL 2040

La excelencia por principio la educación como instrumento