



Reseña

## Principales factores que modifican el sistema inmune en camarones peneidos estrategias para un cultivo sostenible

### Main Factors that Modify the Immune System of Penaeid Shrimp for Sustainable Culture

Leonardo Davier Martín Ríos <sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9834-6314>

Yulaine Corrales Barrios <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-4757-1911>

Marbelys González Salotén <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-5822-622X>

Olimpia Carrillo Farnés <sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-4650-9123>

Héctor Cabrera Alarcón <sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2048-0801>

Amílcar Arenal Cruz <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-2912-9871>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, Cuba.

<sup>2</sup> Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba.

<sup>3</sup> Empresa cubana del cultivo del camarón (ECCAM, Yaguacam), Cienfuegos, Cuba

\*Autor para la correspondencia(email): [amilcar.arenal@reduc.edu.cu](mailto:amilcar.arenal@reduc.edu.cu)

## RESUMEN

**Introducción:** Con la expansión de enfermedades de camarones a nivel mundial durante las últimas dos décadas incrementó el estudio de factores que modifican el sistema inmune.

**Objetivo.** Revisar los principales factores que modifican la respuesta inmune en camarones peneidos.

### Como citar (APA)

Martín Ríos, L.D., Corrales Barrios, Y., González Salotén, M., Carrillo Farnés, O., Cabrera Alarcón, H., 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). <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/rpa/article/view/e4037>



©El (los) autor (es), Revista de Producción Animal 2020. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Attribution-NonCommercial 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), asumida por las colecciones de revistas científicas de acceso abierto, según lo recomendado por la Declaración de Budapest, la que puede consultarse en: Budapest Open Access Initiative's definition of Open Access.

**Desarrollo:** Los factores que afectan el sistema inmune del camarón se clasifican en bióticos y abióticos. Entre los factores abióticos se encuentran la temperatura, la salinidad, el pH y la presencia de compuestos nitrogenados en el medio de cría. Entre los factores bióticos se destaca la caracterización de las microbiotas externas e internas de los animales, el análisis de compuestos bioactivos propios del hábitat y el desarrollo de nuevas metodologías sostenibles en el cultivo como el uso de probióticos y de la tecnología de los flóculos biológicos (biofloc). El sistema inmune se caracteriza por ser especialmente susceptible a los cambios del ambiente. La microbiota y compuestos bioactivos pueden ser importantes herramientas para potenciar el sistema inmune; sin embargo, aún se conoce poco como podría ser utilizada de manera práctica.

**Conclusiones:** El uso de probióticos y de la tecnología de flóculos biológicos puede ser de gran utilidad para potenciar la respuesta del sistema inmune de manera práctica y hacer los cultivos sostenibles, aun cuando se desconozca el mecanismo por el cual ejercen su efecto.

**Palabras claves:** Factores abióticos, biofloc, probióticos, respuesta inmune, camarón (*Fuente: MESH*)

## ABSTRACT

**Introduction:** The spread of shrimp diseases worldwide during the last two decades increased the study of factors that modify the immune system.

**Aim.** To review the main factors that modify the immune system of penaeid shrimp.

**Development:** The factors that affect the immune system of shrimps are classified into abiotic and biotic. Among the abiotic factors are temperature, salinity, the pH, and the presence of nitrogenated compounds in the culture environment. Among the biotic factors are the characterization of external and internal microbiotas of animals, the analysis of bioactive compounds found in the habitats, and the development of sustainable culture methods, such as the utilization of probiotics and the biofloc technology. The immune system is particularly susceptible to environmental changes. The microbiota and bioactive components can be important tools to enhance the immune system; however, little is known about how this could be used in practice.

**Conclusions:** The utilization of probiotics and the biofloc technology can be very useful to enhance the response of the immune system in practice, and to produce sustainable culture, even when the mechanism activated to produce this effect is unknown.

**Keywords:** Abiotic factors, biofloc, probiotics, immune response, shrimp (*Source: MESH*)

Recibido: 12/9/ 2021

Aceptado: 2/11/2021

## INTRODUCCIÓN

Según reportes de la FAO, el cultivo intensivo del camarón incrementó en los últimos 10 años a un ritmo acelerado, en comparación con el aumento que hoy percibe la captura de especímenes

desde su ambiente natural. El Sudeste asiático es la región con mayor producción de este sector de la acuicultura, con China e Indonesia como primeros productores a nivel mundial de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) (FAO, 2018). El cultivo intensivo se basa en recrear con un entorno artificial las condiciones del ambiente natural; sin embargo, resulta ser un ambiente donde se alcanzan altas densidades de animales que termina en un entorno estresante para los camarones y que proporciona circunstancias ideales para los brotes de enfermedades. Así, el cultivo intensivo viene acompañado con brotes de enfermedades que son un desafío continuo para los productores de acuicultura de camarón, principalmente las pandemias virales (mediados de la década de 1990) y más reciente bacterianas (de 2009 a 2018) que representan la mayoría de las pérdidas por enfermedades para los criadores de camarones (Flegel, 2019) De allí que la comprensión del sistema inmune sea objetivo de las principales compañías productoras de camarón, así como las investigaciones sobre defensas ante los principales patógenos que hoy se reportan, el descubrimiento de inmunoestimulantes y descripción de nuevas tecnologías de cultivo sostenibles.

El sistema inmune de los camarones suele estar descrito por la variación de determinados parámetros inmunológicos como el conteo total de hemocitos (THC), el porcentaje de cada subpoblación de hemocitos respecto al THC (Ekasari *et al.*, 2014; Kaya *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2019; Zhao *et al.* 2016), la actividad enzimática de importantes enzimas vinculadas al sistema inmune como catalasa (Cardona *et al.*, 2016), fenoloxidasa (PO) (Vaillant *et al.*, 2020), peroxidasa, lisozima y superóxido dismutasa (SOD)(Campa-Córdova, Hernández-Saavedra, y Ascencio, 2002). Además, se consideran importantes para describir el estatus inmunológico del camarón, el porcentaje de fagocitosis de los hemocitos totales, el perfil de oxidativo (descrito a través de la capacidad total de antioxidantes (TAOC), y la proporción de glutatión reducido respecto al glutatión oxidado) (Cardona *et al.*, 2016; Xu y Pan 2013; Zhao *et al.*, 2016).

Muchos informes discuten sobre el efecto de factores ambientales en el sistema inmune del camarón, en condiciones de cultivo intensivo. Sin embargo, la mayoría de estos estudios se desarrollaron con tratamientos de corta duración y agudos (Knapp *et al.*, 2019). Es conocido que factores ambientales tales como la temperatura, el oxígeno disuelto, el pH del agua y los niveles de salinidad afectan el sistema inmune de los crustáceos (Rodríguez y Le Moullac, 2000). En general, como resultado del estrés ambiental, la expresión de genes del camarón relacionados con la inmunidad se ve afectada (Aoki *et al.*, 2011). Estos factores ambientales pueden dividirse en factores abióticos y bióticos. Dentro de los factores abióticos destacan la temperatura, la salinidad, el pH y la concentración de compuestos nitrogenados (como amonio, nitritos y nitratos). Por otra parte, dentro de los factores bióticos se encuentra la composición de la población de microalgas y la microbiota propia del exoesqueleto e intestino de los camarones, que también modifican la respuesta del sistema inmune de los camarones (Millard *et al.*, 2020).

En los últimos años varias estrategias, entre ellas el uso de probióticos, permite incrementar la velocidad de crecimiento y la sobrevivencia de los animales y que disminuya la incidencia de enfermedades y de los efectos estresantes de las condiciones de cultivo. Los probióticos,

definidos como "microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped" (Hill *et al.*, 2014). Los probióticos promueven el crecimiento y previenen enfermedades en el cultivo del camarón de forma que se consideran alternativas ante el uso de antibióticos. Si bien el conocimiento sobre el mecanismo de acción de los probióticos es limitado, existe una fuerte evidencia que muestra que pueden conferir efectos probióticos a través de la exclusión competitiva de bacterias patógenas, contribución de nutrientes y enzimas a la digestión del camarón, mejora de la respuesta inmune del camarón y efectos antivirales (Hoseinifar *et al.*, 2018; Knipe *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2018; Ringø 2020).

Entre las tecnologías más empleadas en la actualidad por la acuicultura, se encuentra el cultivo de camarones en sistemas de Biofloc. El mismo se define como una agregación conglomerada de comunidades microbianas (flóculos) integrada por fitoplancton, bacterias y materia orgánica particulada viva y muerta, suspendida en el agua del estanque (Collazos-Lasso y Arias-Castellanos, 2015). Estas partículas engloban material orgánico particulado, sobre el que se desarrollan microalgas, organismos microscópicos diversos (protozoos, rotíferos, hongos, oligoquetos), en particular una gran diversidad de bacterias heterotróficas (Avnimelech, 2009). El objetivo del presente trabajo es revisar los principales factores que modifican la respuesta inmune en camarones peneidos.

## DESARROLLO

### Factores abióticos que modifican la respuesta inmunológica

#### *Temperatura*

La temperatura es un factor ambiental importante que contribuye al éxito de la acuicultura, frente a variaciones de la temperatura ocurren fluctuaciones en los parámetros inmunológicos de los camarones. El camarón peneido más cultivado, *P. vannamei*, es capaz de tolerar amplias variaciones en temperatura, que van de 7.5 a 42.0 °C (Kumlu, Türkmen, y Kumlu, 2010). Sin embargo, a pesar de que la temperatura es un parámetro ampliamente especificado, en casi todos los cultivos experimentales existe poca bibliografía que permita llegar a un consenso sobre el verdadero el rango de temperaturas óptimo; de allí que no esté claro si este amplio rango de temperatura es representativo de los sistemas de acuicultura intensiva y extensiva a una escala mundial más amplia (Millard *et al.*, 2020).

Ante fluctuaciones de la temperatura en los sistemas de cultivos varía la expresión de genes relacionados con la expresión de componentes del sistema inmunológico. Wang y colaboradores (2020) demostraron que con la disminución está por debajo de 13 °C, disminuyó significativamente la expresión de TLR, IMD, proPO y Casp3, mientras que aumentó la expresión de Muc-3A, Muc-5AC, Muc-17, IAP, p53, HSP70, MT y Fer. Con la aclimatización del cultivo de camarones a 28 °C se logró una reposición de los valores de expresión de los genes

estudiados al mismo nivel que antes de someter a los camarones a los cambios de temperatura (Wang *et al.*, 2020). Por otra parte, un estrés térmico a altas temperaturas provoca un aumento de la expresión de proteínas de choque térmico (Hsp70), necesarias en camarón para respuesta contra patógenos virales como el virus WSSV (Yuan *et al.*, 2017). Sin embargo, otros parámetros inmunológicos como el conteo total de hemocitos, la actividad de fenoloxidasa, la actividad de superóxido dismutasa y el estallido respiratorio decrecieron significativamente tras pasar 24h horas a 32 °C en *P. vannamei*. Además, la sensibilidad a *Vibrio alginathus*, aumentó con reducción de la capacidad fagocítica de los hemocitos (Cheng, Wang, y Chen, 2005). Para estos estudios la temperatura que propició el mayor valor de los parámetros inmunológicos fue 28 °C para el cultivo de *P. vannamei*.

### **Salinidad**

Los camarones peneidos son eurihalinos, esto significa que pueden adaptarse y sobrevivir en una amplia gama de condiciones de salinidad (Mudagandur *et al.*, 2016). Las condiciones óptimas de salinidad para los camarones peneidos varían de manera diferente para entre las especies. *Penaeus monodon* puede tolerar una salinidad baja de 5 psu hasta condiciones de salinidad alta de 40 psu, tiene un rango óptimo de salinidad (15-25 psu) para las mejores tasas de crecimiento. Mientras que los juveniles de *P. vannamei* tienen un crecimiento y una supervivencia óptima en un rango de salinidad de 33 a 40 psu (Mudagandur *et al.*, 2016).

Existe una relación entre la salinidad y la presencia de infecciones hipodérmicas y necrosis en los órganos hematopoyéticos en el camarón tigre *P. monodon*. La baja salinidad induce en camarones cambios en la presión osmótica de la hemolinfa, mientras que en *M. japonicus* induce un aumento en el consumo de oxígeno para ajustar la osmolaridad. En *P. schmitti* la reducción de la salinidad no induce alteración en la concentración de proteínas totales y en la actividad peroxidasa pero disminuye la concentración de glucosa y la actividad PO acompañado de edema en las branquias (Lamela *et al.*, 2005). A altos valores de salinidad (mayores a 25 psu), el camarón se encuentra con mayores dificultades de mantener una respuesta inmune regular, por lo que es más susceptible a las infecciones de virus como WSSV (Joseph y Philip, 2007). A bajos valores de salinidad (2.5 – 5 psu), *P. vannamei* mostró una significativa disminución de parámetros inmunológicos como la actividad PO, síntesis de ROS, actividad de superóxido dismutasa SOD y de lisozima (Lin *et al.* 2012). También a bajos niveles de salinidad, en periodos largos de exposición, los parámetros inmunológicos como THC, actividad fagocítica y fenoloxidasa mostraron un decremento significativo, así como la resistencia frente a desafíos con *Vibrio alginolyticus* (Wang y Chen, 2005). Por otra parte, en 2010 se corroboran estos datos al evidenciar una disminución de los parámetros respuesta inmune innata en *P. vannamei* a bajos valores de salinidad en desafío también con *V. alginolyticus* (Li, Yeh, y Chen, 2010)

El cultivo de *P. vannamei* en agua dulce o en condiciones de baja salinidad es una alternativa para el cultivo en tierra. Los que apoyan este cultivo se basan en el mayor tamaño que alcanzan los animales en condiciones de baja salinidad, respecto a agua salada. Estas condiciones de baja salinidad afectan el estado fisiológico e inmunológico de los animales (Lin *et al.*, 2012). Varias

alternativas se emplean para aumentar el estado de respuesta inmune de los animales en condiciones de baja salinidad, entre ellas destaca el uso de probióticos, con representantes de *Bacillus* y *Lactobacillus* spp. (Liu *et al.*, 2010; Zheng *et al.*, 2017). Por otra parte, existe poca información sobre el uso de la tecnología de flóculos biológicos (biofloc) para mejorar el estatus inmunológico de camarones en condiciones de baja salinidad.

### ***Oxígeno disuelto***

Dentro de los sistemas acuáticos, las concentraciones de oxígeno disuelto (OD) son heterogéneas, y fluctúan según los factores físicos, químicos y biológicos del área circundante con variaciones diurnas, con disminución durante la noche debido a la respiración continua de la vida acuática en ausencia de fotosíntesis. El oxígeno se agota cuando la demanda supera la producción autóctona de microorganismos fotosintéticos y puede ser impulsado por factores antropogénicos, incluido el enriquecimiento excesivo del agua con nutrientes (por ejemplo, compuestos de fósforo); generalmente a través de la escorrentía de aguas superficiales de los sitios agrícolas cercanos y la eutrofización posterior (Millard *et al.*, 2020).

Las mediciones *in situ* de la concentración de OD en estanques están limitadas con estudios a escala de estanques que informan niveles de OD que oscilan entre 2,9 y 5,0 mg/L. Sin embargo, la evidencia sugiere que las concentraciones de OD se reducen significativamente después de fuertes lluvias (Zhang *et al.*, 2016). Los camarones peneidos son oxirreguladores, lo que significa que son capaces de mantener activamente su concentración interna de O<sub>2</sub> independientemente de la presión parcial de O<sub>2</sub> ambiental, hasta un umbral crítico (Herreid II, 1980). Por debajo de este umbral, su tensión crítica de oxígeno (PCRIT; que depende de la temperatura y la etapa de vida), el consumo de O<sub>2</sub> se convierte en el factor limitante de la tasa metabólica.

La ausencia prolongada de suficiente OD también conduce a un aumento del metabolismo anaeróbico, para mantener la supervivencia (Kulkarni y Joshi, 1980). Los factores de transcripción sensibles al oxígeno (incluidos los factores inducibles por hipoxia (HIF)) son responsables de inducir una amplia gama de cambios en la expresión génica cuando se reducen las concentraciones celulares de O<sub>2</sub> para mejorar la supervivencia en condiciones hipóxicas. Hasta la fecha, HIF-1 en *P. vannamei* (Soñanez-Organis *et al.*, 2009) está relacionado con el aumento de la carga viral en camarones (Miranda-Cruz *et al.*, 2018) durante la infección por WSSV (Millard *et al.*, 2020).

Camarones expuestos a condiciones de hipoxia mostraron bajos valores de transcritos de *cMnSOD* y una actividad de superóxido dismutasa (SOD) inferior en branquias y hepatopáncreas. Además, la producción del anión superóxido por los hemocitos mostró un decremento en las mismas condiciones (García-Triana *et al.*, 2010). Dantzler y Burnett (2001), también asocian a la disminución de la respuesta inmune en condiciones de hipoxia, por inhibición de la actividad antibacteriana de los hemocitos (Dantzler, Burnett, y Burnett, 2001), y otros parámetros inmunológicos como: el total de hemocitos THC y la actividad antibacteriana (Jiang y Pan, 2005). La susceptibilidad ante patógenos oportunistas también aumenta en condiciones de hipoxia

(Burgents *et al.*, 2005) además de un decremento de la respuesta inmunitaria (Zenteno-Savín *et al.*, 2006).

### ***Hipercapnia y pH***

La hipercapnia hace referencia a la elevación de los niveles de CO<sub>2</sub> (1.4-1.8 kPa) en sistemas acuáticos, producto de la oxidación completa de compuestos carbonatados en sistemas biológicos (Metzger *et al.*, 2007). Los altos niveles de CO<sub>2</sub> en agua puede provocar un decremento del pH en el medio, y causan importantes alteraciones fisiológicas como la disminución del crecimiento; por lo que el cultivo del camarón se mantiene en un rango de pH entre 7.8 y 8.3, gracias a la adición controlada de NaOH, CaO y Ca(OH)<sub>2</sub> (ASEAN, 1978).

Bajos valores de pH, en condiciones continuas, pueden deteriorar el exoesqueleto de los crustáceos, haciéndolos débiles y más susceptibles a la depredación e infecciones. Millard y colaboradores (2020) destacaron que existe discrepancias en cómo los rangos de variación del pH, favorecen o no el proceso de infección. Las contradicciones sobre los rangos de pH y su función ante la sensibilización de patógenos es probable que estén debidas a los diferentes métodos de determinación utilizados (Millard *et al.*, 2020). En condiciones de largos periodos de estrés por bajo pH se reportó una disminución en las expresiones de genes relacionados con el sistema inmunológico, incluido el factor antilipopolisacáridos, lisozima, proteínas *Toll* y proteína hemocítica-glutamina gamma-glutamyltransferasa, y se regularon negativamente y los tejidos del intestino se distorsionaron (Valencia-Castañeda *et al.*, 2018). Además, los parámetros inmunológicos decayeron como resultado de largos periodos de exposición a tantos altos como bajos valores de pH. El intervalo 8-8.5 es el rango óptimo para los mayores valores de la respuesta inmune. Así, con una variación de 0.5, ya sea por incremento o disminución, existe un decremento de parámetros inmunológicos como THC, actividad de fenoloxidasas, actividad bacteriolítica y actividad antibacteriana (Lu-Qing, Ling-Xu y Jing-Jing, 2005). Por otra parte, condiciones de hipercapnia mostraron una mayor distribución de *Vibrio campbellii* en la hemolinfa y órganos internos de *P. vannamei* (Burgents *et al.*, 2005). Sin embargo, existen pocos estudios sobre la incidencia de este factor en parámetros específicos del sistema inmune de camarón.

### ***Compuestos nitrogenados***

Dentro de los ecosistemas de estanques (particularmente aquellos que están completamente encerrados), las concentraciones de amoníaco (NH<sub>3</sub>), nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) y nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) a menudo exceden los niveles naturales. Fundamentalmente, debido a la degradación del exceso de alimento y desechos metabólicos excretados por los animales de cultivo (Nhan *et al.*, 2006). Así los mayores valores de compuestos nitrogenados están relacionados con el tiempo de alimentación, fertilización y acumulación de sedimentos (Millard *et al.*, 2020)

En general, la toxicidad de NH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> y NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en los crustáceos varía según la etapa de desarrollo, con mayor potencia y, a menudo, las mayores diferencias en tolerancia reportadas durante las etapas larvaria y juvenil. Las concentraciones elevadas de estos compuestos tienen impactos

fisiológicos similares en los camarones peneidos, incluida una ingesta reducida de alimento, un desarrollo más lento, tasas de crecimiento significativamente menores a pesar del aumento de la frecuencia de muda y daño a las branquias que incluyen recubrimiento y obstrucción, pérdida de estructura y pérdida de función (Furtado *et al.*, 2015; Millard *et al.*, 2020).

La exposición al estrés nitrogenado da como resultado respuestas inmunológicas en algunos crustáceos, incluida la reducción del THC debido al daño oxidativo y la apoptosis (Xian *et al.*, 2011), y cambios significativos en la expresión de muchos genes que se cree que desempeñan un papel en la apoptosis y la inmunidad (Lu *et al.*, 2016). Estos resultados sugieren que la exposición prolongada a compuestos nitrogenados que pueden ocurrir en estanques de camarones aumenta la susceptibilidad a la infección por WSSV (Kathyayani *et al.*, 2019). En exposiciones de concentraciones subletales de nitrito durante 24 horas las actividades de SOD, catalasa y glutatión peroxidasa, disminuyeron respecto a la concentración estándar de nitrito en el medio. En general estos resultados mostraron que un desequilibrio entre las fuerzas pro oxidantes y las defensas antioxidantes es uno de los mecanismos de toxicidad del nitrito en el camarón (Wang *et al.*, 2004). También se observó una baja resistencia a patógenos, acompañada de una disminución de parámetros inmunológicos como THC y la actividad de fenoloxidasa con altas concentraciones de nitrito (Tseng y Chen, 2004). Otros autores, demostraron que existe una mayor susceptibilidad a la infección bacteriana (Chand y Sahoo, 2006; Cheng, Liu, y Chen, 2002; Tseng y Chen, 2004).

Dentro de los compuestos nitrogenados el amonio es uno de los principales factores limitantes en los sistemas de cultivo de camarón, con rápido incremento de la mortalidad y, por tanto, pérdidas económicas (Sun *et al.*, 2018). Niveles elevados de amonio, alrededor de 13.9 mg/L, potencian un deterioro progresivo de las branquias como edemas, inflamación (infiltración de hemolinfa y hemocitos), melanización y necrosis. (Fregoso-López *et al.*, 2018). Además, se reportan en juveniles, que valores de 20 mg/L, causan un deterioro consistente en la mucosa intestinal, que termina en necrosis (Duan *et al.*, 2018). También, valores por encima de 20 mg/L causan un estrés oxidativo e inducción de la apoptosis en la hepatopáncreas en etapas adultas (Liang *et al.*, 2016). Por otra parte, se reportó que los niveles elevados de amonio en cultivos de camarones, suprimen la respuesta inmune a través de la inhibición de la actividad fenoloxidasa (PO) y de la inhibición de la actividad fagocítica, demostrándose una disminución de más del 60 % de la expresión normal del gen *proPO* (Sun *et al.*, 2018). Además, el estrés sostenido de amonio, involucra la supresión de otros factores inmunológicos como el conteo total de hemocitos (THC), actividad antibacteriana a través de vías basadas en segundos mensajeros como AMPc, Calmodulina y GMPc (Zhang *et al.*, 2018), todo ello condiciona a que el estrés por altas concentraciones de amonio produzca un aumento de la sensibilidad a patógenos (Cui *et al.*, 2017). La gravedad de las infecciones bacterianas aumenta en presencia de concentraciones elevadas de NH<sub>3</sub>. Por ejemplo, la mortalidad de *P. vannamei* aumentó después de la infección por *V. alginolyticus* debido a la disminución de la actividad fagocítica (Liu y Chen, 2004).



## **Factores bióticos que afectan la respuesta inmune**

### ***Microbiota intestinal***

La microbiota intestinal está descrita como el 'nuevo órgano' en el animal con importantes efectos sistémicos (McFall-Ngai *et al.*, 2013), como la digestión, el metabolismo nutricional y en componentes del sistema inmune (Akhter *et al.*, 2015). Debido a la interacción constante entre el sistema digestivo del camarón y su entorno circundante (agua y sedimentos), la microbiota del intestino y el hepatopáncreas deben participar en los mecanismos de resistencia a las enfermedades. Hasta la fecha, existen pocos estudios sobre la microbiota intestinal en peces y camarones en comparación con otras especies (Servin Arce *et al.*, 2021). Un total de 111 cepas, pertenecientes a 13 grupos taxonómicos, se aislaron e identificaron por métodos convencionales solo en *P. vannamei* (Wan *et al.*, 2006). Esta microbiota en camarones varía, en cuanto a composición, en dependencia de los sistemas de cultivo y respecto a la microbiota de especímenes capturados en el medio natural (Cornejo-Granados *et al.*, 2017).

En *P. vannamei*, estudios de progresión de la composición de la microbiota de camarones desafiados con patógenos mostraron que los camarones enfermos albergaban una red bacteriana más compleja, una mayor conectividad y taxones más diversos en comparación con las cohortes sanas. Los taxones del intestino se afiliaron con *Verrucomicrobiales* y *Alteromonadales* en camarones sanos, que cambiaron a *Rhodobacterales*, *Vibrionales* y *Flavobacteriales* en cohortes enfermas. Así, los potenciales de inmunidad como los niveles de SOD se asociaron positivamente con la abundancia relativa de taxones clave (Dai *et al.*, 2020). Sin embargo, varios otros autores sugieren que la patogénesis puede que no esté ligada tanto a cambios de un taxón en específico, o grupo de ellos en la población, sino a cambios en las interacciones entre los propios microorganismos que componen la microbiota (Holt *et al.*, 2020).

Recientemente, varios estudios indican cómo puede ser manipulada ya sea directa o indirectamente la microbiota bacteriana a través de factores endógenos y exógenos para potenciar la resistencia ante patógenos en camarón. Entre los factores más descritos se encuentran la salinidad, la concentración de especies del azufre, los componentes de la dieta, temperatura y el propio estadio de desarrollo de los camarones (Li *et al.*, 2018). Sin embargo, muchas cuestiones importantes sobre cómo desarrollar métodos prácticos para el balance óptimo de la composición de la microbiota y por tanto su potencial uso como herramienta de cultivo no están completamente dilucidadas.

### ***Componentes bioactivos***

Además de ser una fuente de alimento complementario, las microalgas poseen compuestos bioactivos (carotenoides), como la fucoxantina, que ayudan en el desarrollo del animal y contribuyen al sistema inmunológico (Shah *et al.*, 2018). *P. vannamei* alimentado con dietas comerciales enriquecidas con *Dunaliella sp.* incrementaron la respuesta inmune de los animales desafiados con el virus de la mancha blanca (Anaya-Rosas *et al.*, 2019). Los rotíferos son consumidores primarios y por lo tanto absorben pigmentos de microalgas, lo que permite que

estas sustancias estén disponibles para el nivel trófico superior (Cezare-Gomes *et al.*, 2019); y por lo tanto puedan servir como inmunoestimulantes para camarones (Wang *et al.*, 2015). También es conocido que los extractos de *Sargassum horneri* estimulan la inmunidad innata, mejoran el rendimiento del crecimiento y regulan positivamente los genes inmunes en *P. vannamei* (Sudaryono, Chilmawati, y Susilowati, 2018).

### ***Probióticos y Respuesta inmune***

Hasta 2020, existen aproximadamente 20 géneros de bacterias con informes de efecto probiótico en el camarón, aunque la mayoría de las investigaciones incluyen *Bacillus* y bacterias del ácido láctico (LAB), como *Lactobacillus* (Knipe *et al.*, 2021), debido en gran parte a su prevalencia y aplicación exitosa como probióticos en mamíferos y aves de corral. Entre las formas de administración de probióticos se encuentran: vía oral con el alimento (incluida la bioencapsulación con vectores alimentarios vivos como la *Artemia*) (Immanuel, 2016), directamente en el agua como cultivos purificados o esporas (Ringø, 2020), o dentro de un medio de crecimiento fermentado, por ejemplo, *Bacillus subtilis* (Knipe *et al.*, 2021). También, los probióticos se pueden administrar en combinación con un prebiótico complementario, 'un ingrediente alimenticio no digerible (Gibson y Roberfroid, 1995), para formar tratamientos conocidos como 'simbióticos' que actualmente figuran entre los productos óptimos de acción combinada (Li *et al.*, 2018).

Las especies probióticas a menudo se aíslan de los intestinos de los camarones y del agua circundante o de los sedimentos de su entorno (Knipe *et al.*, 2021). Sin embargo, también de filtrados de residuos de frutas (Nurliana *et al.*, 2020), cuajada (Karthik, Hussain, y Muthezhilan, 2014), soja fermentada 'Natto' (Liu *et al.*, 2010), encurtidos fermentados (Zokaeifar, Balcázar y Saad, 2012) y los intestinos de otras especies. Por ejemplo, en el caso de este último, hay informes de especies probióticas de camarón *Lactobacillus* del tracto digestivo de pollos (Phianphak *et al.*, 1999) y peces (Doroteo *et al.*, 2018). Los tratamientos probióticos comerciales, que contienen en gran medida LAB y *Bacillus* spp., con efectos probióticos en camarones (Ringø, 2020).

Entre los efectos que se buscan en los ensayos previos a la utilización de los probióticos se encuentran: la facilidad de cultivo, la bioseguridad (incluida la actividad hemolítica y la susceptibilidad a los antibióticos) y su capacidad para producir enzimas extracelulares y excluir patógenos de forma competitiva. Sin embargo, después del aislamiento, los probióticos potenciales se seleccionan en la mayoría de los casos basándose en el principio de exclusión competitiva (que las especies que compiten por los mismos recursos limitados no pueden coexistir). A través de ensayos de antagonismo bacteriano, en los que los patógenos se exponen directa (co-cultivo) o indirectamente (productos extracelulares) a bacterias candidatas (Knipe *et al.*, 2021).

Es conocido el papel de los probióticos como estimulantes de parámetros zootécnicos, así como la supervivencia en camarones peneidos, reportándose los primeros estudios de metaanálisis al respecto (Toledo *et al.*, 2019). En un meta-análisis reciente, se informó sobre el incremento de la

actividad enzimática de fenoloxidasa con el uso de probióticos pertenecientes a los géneros de *Bacillus* spp. y *Lactobacillus* spp. (Vaillant *et al.*, 2020). También es reconocido que los probióticos pueden afectar la microbiota en todo el tracto digestivo de los camarones peneidos tener un papel importante en la prevención de enfermedades (Imaizumi *et al.*, 2021).

### **Biofloc y sistema inmune**

En los camarones cultivados en sistemas de biofloc, se muestra un incremento en la mayoría de los parámetros inmunológicos evaluados en los ensayos. Estos sistemas se caracterizan por el incremento de la densidad del cultivo, con mayor productividad por unidad de área, disminución del consumo del agua, con lo que se reducen los costos de producción (Leite *et al.*, 2017). Se considera una tecnología innovadora y de vanguardia para la producción acuícola superintensiva, en el marco de las producciones sostenibles (Avnimelech, 2009).

El Biofloc es considerado como una estrategia para el control de enfermedades por su potencial como “Probiótico“ (Emerenciano, Gaxiola, y Cuzon, 2013). Los biofloc presentan compuestos bioactivos como los carotenoides, clorofilas, fitoesteroles, bromofenoles, amino azúcares y compuestos anti bacterianos (Crab, 2010), a los que se les atribuyen los mecanismos de crecimiento de peces y camarones; en la mejora de las tasas de supervivencia, y en el desarrollo y la estimulación de algunos mecanismos de defensa del sistema inmunológico innato de los peces y camarones. Los sistemas de biofloc como una alternativa interesante en el manejo de la sanidad de estas especies, por los efectos potenciadores que se han atribuido a los compuestos bioactivos (Ju *et al.*, 2008).

Existen varios reportes que apuntan a una estimulación conjunta del sistema inmunológico en camarones al ser cultivados en sistemas de biofloc. Entre los parámetros inmunológicos evaluados, el conteo total de hemocitos mostró un considerable aumento en sistemas de tratamiento con fuente de carbono complejas, como almidón de yuca, harina de arroz, salvado de trigo (y arroz) y harina de trigo, para formación de biofloc respecto al control de aguas claras (sin añadir fuentes de carbono) así como en la capacidad fagocítica de estos hemocitos (Ekasari *et al.*, 2014; Kaya *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2016). También, la actividad enzimática de fenoloxidasa aumenta en aquellos cultivos desarrollados en sistemas de biofloc, respecto a control de aguas claras (Panigrahi, Das, *et al.*, 2020); así como la expresión de la fenoloxidasa en camarones (Tepaamorndech *et al.*, 2020).

Otros parámetros inmunológicos evaluados en tratamientos con Biofloc se encuentran: actividad enzimática de superóxido dismutasa (Tepaamorndech *et al.*, 2020), la actividad enzimática de catalasa (Liu *et al.*, 2018) y la actividad enzimática de lisozima (Liu *et al.*, 2018). En los cuales se observó un incremento de la actividad con el uso de la tecnología de biofloc respecto al control de aguas claras. Este mismo comportamiento se observó en parámetros inmunológicos más generales como: la capacidad total antioxidante (Tepaamorndech *et al.*, 2020), actividad bacteriolítica, actividad antibacteriana (Liu *et al.*, 2018) y la proporción glutatión reducido/glutatión oxidado (Zhao *et al.*, 2016). Sin embargo, aún el mecanismo por el cual ocurre la inducción del aumento de la respuesta inmune con el uso de la tecnología de biofloc no se entiende en su

totalidad. El uso del tecnología de biofloc cambia la microbiota que rodea al organismo, y la microbiota intestinal (Cardona *et al.*, 2016).

### ***Altas densidades de cultivo***

Uno de los factores a tener en consideración durante el cultivo intensivo del camarón es la densidad de animales por volumen de agua (Kotiya y Vadher, 2021). Esta variable puede alcanzar altos valores en sitios de cría convencionales, con condiciones adversas y difíciles para los camarones, por aumento de productos de desecho que elevan la concentración de especies tóxicas y además por la disminución de la calidad del agua en nutrientes y en O<sub>2</sub> disuelto (Mena-Herrera *et al.*, 2006). Con incrementos de la densidad de cultivo disminuye el conteo total de hemocitos, la actividad fagocítica, las actividades enzimáticas de fenoloxidasa, lisozima, catalasa y superóxido dismutasa en *Palaemonetes sinensis* (Dong *et al.*, 2018) . Por otra parte, estudios desarrollados en *P. vannamei* demuestran una disminución de la actividad de enzimas como SOD y CAT con altos valores de densidad de cultivo, así como el incremento de la expresión en hepatopáncreas de genes relacionados con el estrés, como HSP70 (Gao *et al.*, 2017). Sin embargo, existe poca información de sobre el empleo de diferentes densidades de cultivo en camarones peneidos (Kotiya y Vadher, 2021) y principalmente en estos de parámetros inmunológicos.

## **CONCLUSIONES**

El estudio de los factores ambientales, bióticos y abióticos, que afectan al sistema inmune del camarón, aumentó con el incremento del cultivo de camarón en varias zonas geográficas y con el uso de grandes densidades de animales para la obtención de mayores rendimientos productivos. Los principales factores incluyen la temperatura, la salinidad, la concentración de compuestos de nitrógeno, pH y oxígeno disuelto. Sin embargo, en los últimos años, se evidenció un aumento en el estudio de los factores bióticos como la composición de la microbiota intestinal, la presencia de compuestos de producción biológica por parte de microorganismos acuáticos, el uso de probióticos, de prebióticos y de tecnologías sostenibles como el biofloc.

Los parámetros del sistema inmune evaluados en la bibliografía consultada, muestran ser especialmente sensibles a pequeños cambios de factores como el pH y temperatura. En cuanto a la salinidad, si bien existe preferencia por el cultivo en condiciones de baja salinidad, por los mayores rendimientos y tamaño que alcanzan los animales, los parámetros inmunológicos disminuyen respecto al cultivo de los animales en agua de mar. La implementación de nuevas tecnologías potencia la respuesta inmune en el cultivo de baja salinidad, como el uso de prebióticos, probióticos, compuestos bioactivos naturales y biofloc en condiciones de baja salinidad.

La mayoría de los reportes revisados se desarrollaron en cortos periodos de experimentación con tratamientos agudos y pocos evaluaron el efecto de los mismos durante largos periodos de

tiempo. Existen muchos trabajos sobre la composición y proporción de las especies que componen la microbiota. Sin embargo, muchas cuestiones importantes sobre cómo desarrollar métodos prácticos para el balance óptimo de la composición de la microbiota y por tanto su potencial uso como herramienta de cultivo necesitan ser completamente dilucidadas.

Si bien muchos probióticos se emplean en la actualidad es importante destacar que el mecanismo exacto por cual ejercen su efecto es multifactorial. Por otra parte, la tecnología de Biofloc muestra ser una prometedora tecnología como potenciador del sistema inmunológico de camarones peneidos.

## REFERENCIAS

- Akhter, N., Wu, B., Memon, A. M., & Mohsin, M. (2015). Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: a review. *Fish & shellfish immunology*, 45(2), 733-741. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.038>
- Anaya-Rosas, R. E., Rivas-Vega, M. E., Miranda-Baeza, A., Piña-Valdez, P., & Nieves-Soto, M. (2019). Effects of a co-culture of marine algae and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on the growth, survival and immune response of shrimp infected with *Vibrio parahaemolyticus* and white spot virus (WSSV). *Fish & shellfish immunology*, 87, 136-143. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.12.071>
- Aoki, T., Wang, H. C., Unajak, S., Santos, M. D., Kondo, H., & Hirono, I. (2011). Microarray analyses of shrimp immune responses. *Marine Biotechnology*, 13(4), 629-638. <https://doi.org/10.1007/s10126-010-9291-1>
- ASEAN. (1978). *Manual on Pond Culture of Penaeid Shrimp*. ASEAN National Coordinating Agency of the Philippines, Ministry of Foreign Affairs.
- Avnimelech, Y. (2009). *Biofloc technology: a practical guide book*. World Aquaculture Society. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20113266301>
- Burgents, J. E., Burnett, K. G., & Burnett, L. E. (2005). Effects of hypoxia and hypercapnic hypoxia on the localization and the elimination of *Vibrio campbellii* in *Litopenaeus vannamei*, the Pacific white shrimp. *The Biological Bulletin*, 208(3), 159-168. <https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.2307/3593148>
- Burnett, K., Iliff, S., & Burnett, L. (2000). Chronic sub-lethal hypoxia increases susceptibility of *Litopenaeus vannamei* to bacterial challenge. In *AMERICAN ZOOLOGIST* 40(6), 961-961. 1041 NEW HAMPSHIRE ST, LAWRENCE, KS 66044 USA: AMER SOC ZOOLOGISTS.
- Camargo, J. A., Alonso, A., & Salamanca, A. (2005). Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. *Chemosphere*, 58(9), 1255-1267. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.044>

- Campa-Córdova, A. I., Hernández-Saavedra, N. Y., & Ascencio, F. (2002). Superoxide dismutase as modulator of immune function in American white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Comparative biochemistry and physiology part C: Toxicology & pharmacology*, 133(4), 557-565. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00125-4](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00125-4)
- Cardona, E., Lorgeoux, B., Chim, L., Goguenheim, J., Le Delliou, H., & Cahu, C. (2016). Biofloc contribution to antioxidant defence status, lipid nutrition and reproductive performance of broodstock of the shrimp *Litopenaeus stylirostris*: Consequences for the quality of eggs and larvae. *Aquaculture*, 452, 252-262. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.08.003>
- Cerenius, L., & Söderhäll, K. (2004). The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunological reviews*, 198(1), 116-126. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.00116.x>
- Cezare-Gomes, E. A., del Carmen Mejia-da-Silva, L., Pérez-Mora, L. S., Matsudo, M. C., Ferreira-Camargo, L. S., Singh, A. K., & de Carvalho, J. C. M. (2019). Potential of microalgae carotenoids for industrial application. *Applied biochemistry and biotechnology*, 188(3), 602-634. <https://doi.org/10.1007/s12010-018-02945-4>
- Chand, R. K., & Sahoo, P. K. (2006). Effect of nitrite on the immune response of freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii* and its susceptibility to *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 258(1-4), 150-156. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.05.001>
- Cheng, W., Liu, C. H., & Chen, J. C. (2002). Effect of nitrite on interaction between the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* and its pathogen *Lactococcus garvieae*. *Diseases of aquatic organisms*, 50(3), 189-197. <https://www.int-res.com/abstracts/dao/v50/n3/p189-197/>
- Cheng, W., Wang, L. U., & Chen, J. C. (2005). Effect of water temperature on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* to *Vibrio alginolyticus*. *Aquaculture*, 250(3-4), 592-601. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.060>
- Collazos-Lasso, L. F., & Arias-Castellanos, J. A. (2015). Fundamentos de la tecnología biofloc (BFT). Una alternativa para la piscicultura en Colombia. Una revisión. *Orinoquia*, 19(1), 77-86. <https://www.redalyc.org/pdf/896/89640816007.pdf>
- Cornejo-Granados, F., Lopez-Zavala, A. A., Gallardo-Becerra, L., Mendoza-Vargas, A., Sánchez, F., Vichido, R., Brieba, L. G., Viana, M. T., & Ochoa-Leyva, A. (2017). Microbiome of Pacific Whiteleg shrimp reveals differential bacterial community composition between Wild, Aquacultured and AHPND/EMS outbreak conditions. *Scientific reports*, 7(1), 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11805-w>
- Crab, R. (2010). *Bioflocs technology: an integrated system for the removal of nutrients and simultaneous production of feed in aquaculture* (Doctoral dissertation, Ghent University). <http://hdl.handle.net/1854/LU-1043318>

- Cui, Y., Ren, X., Li, J., Zhai, Q., Feng, Y., Xu, Y., & Ma, L. (2017). Effects of ammonia-N stress on metabolic and immune function via the neuroendocrine system in *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*, 64, 270-275. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.028>
- Dai, W., Sheng, Z., Chen, J., & Xiong, J. (2020). Shrimp disease progression increases the gut bacterial network complexity and abundances of keystone taxa. *Aquaculture*, 517, 734802. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734802>
- Dantzler, A. S., Burnett, K. G., & Burnett, L. E. (2001). Effects of hypercapnic hypoxia and respiratory burst inhibition on the bactericidal activity of hemocytes from the penaeid shrimp *Litopenaeus vannamei*. In *AMERICAN ZOOLOGIST* 41(6), 1422-1423. 1313 DOLLEY MADISON BLVD, NO 402, MCLEAN, VA 22101 USA: SOC INTEGRATIVE COMPARATIVE BIOLOGY.
- Dong, J., Zhao, Y. Y., Yu, Y. H., Sun, N., Li, Y. D., Wei, H., Yang, Z. Q., Li, X. D., & Li, L. (2018). Effect of stocking density on growth performance, digestive enzyme activities, and nonspecific immune parameters of *Palaemonetes sinensis*. *Fish & shellfish immunology*, 73, 37-41. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.12.006>
- Doroteo, A. M., Pedroso, F. L., Lopez, J. D. M., & Apines-Amar, M. J. S. (2018). Evaluation of potential probiotics isolated from saline tilapia in shrimp aquaculture. *Aquaculture International*, 26(4), 1095-1107. <https://doi.org/10.1007/s10499-018-0270-2>
- Duan, Y., Liu, Q., Wang, Y., Zhang, J., & Xiong, D. (2018). Impairment of the intestine barrier function in *Litopenaeus vannamei* exposed to ammonia and nitrite stress. *Fish & shellfish immunology*, 78, 279-288. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.04.050>
- Ekasari, J., Azhar, M. H., Surawidjaja, E. H., Nuryati, S., De Schryver, P., & Bossier, P. (2014). Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. *Fish & shellfish immunology*, 41(2), 332-339. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.09.004>
- Emerenciano, M., Gaxiola, G., & Cuzon, G. (2013). Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry. *Biomass now-cultivation and utilization*, 301-328. <http://dx.doi.org/10.5772/53902>
- FAO. (2018). The State of World Fisheries and Aquaculture 2018-Meeting the sustainable development goals. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Ferraris, R. P., Parado-Esteba, E. D., de Jesus, E. G., & Ladja, J. M. (1987). Osmotic and chloride regulation in the hemolymph of the tiger prawn *Penaeus monodon* during molting in various salinities. *Marine Biology*, 95(3), 377-385. <https://doi.org/10.1007/BF00409568>
- Ferreira, N. C., Bonetti, C., & Seiffert, W. Q. (2011). Hydrological and water quality indices as management tools in marine shrimp culture. *Aquaculture*, 318(3-4), 425-433.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.05.045>

- Flegel, T. W. (2019). A future vision for disease control in shrimp aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 50(2), 249-266. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jwas.12589>
- Fregoso-López, M. G., Morales-Covarrubias, M. S., Franco-Nava, M. A., Ponce-Palafox, J. T., Fierro-Sañudo, J. F., Ramírez-Rochín, J., & Páez-Osuna, F. (2018). Effect of nitrogen compounds on shrimp *Litopenaeus vannamei*: histological alterations of the antennal gland. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 100(6), 772-777. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2349-x>
- Furtado, P. S., Campos, B. R., Serra, F. P., Klosterhoff, M., Romano, L. A., & Wasielesky, W. (2015). Effects of nitrate toxicity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared with biofloc technology (BFT). *Aquaculture international*, 23(1), 315-327. <https://doi.org/10.1007/s10499-014-9817-z>
- Gao, Y., He, Z., Zhao, B., Li, Z., He, J., Lee, J., & Chu, Z. (2017). Effect of stocking density on growth, oxidative stress and HSP 70 of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 17(5), 877-884. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20173216233>
- García-Triana, A., Zenteno-Savín, T., Peregrino-Uriarte, A. B., & Yepiz-Plascencia, G. (2010). Hypoxia, reoxygenation and cytosolic manganese superoxide dismutase (cMnSOD) silencing in *Litopenaeus vannamei*: effects on cMnSOD transcripts, superoxide dismutase activity and superoxide anion production capacity. *Developmental & Comparative Immunology*, 34(11), 1230-1235. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2010.06.018>
- Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of nutrition*, 125(6), 1401-1412. <https://doi.org/10.1093/jn/125.6.1401>
- Hargreaves, J. A. (1998). Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture*, 166(3-4), 181-212. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00298-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00298-1)
- Herreid II, C. F. (1980). Hypoxia in invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 67(3), 311-320. [https://doi.org/10.1016/S0300-9629\(80\)80002-8](https://doi.org/10.1016/S0300-9629(80)80002-8)
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 11, (506-514). <https://aura.abdn.ac.uk/bitstream/handle/2164/4189/nrgastro.2014.66.pdf?sequence=1>
- Holt, C. C., Bass, D., Stentiford, G. D., & van der Giezen, M. (2020). Understanding the role of the shrimp gut microbiome in health and disease. *Journal of invertebrate pathology*,



107387. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107387>
- Hoseinifar, S. H., Sun, Y. Z., Wang, A., & Zhou, Z. (2018). Probiotics as means of diseases control in aquaculture, a review of current knowledge and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2429. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.02429/full>
- Imaizumi, K., Tinwongger, S., Kondo, H., & Hirono, I. (2021). Analysis of microbiota in the stomach and midgut of two penaeid shrimps during probiotic feeding. *Scientific Reports*, 11(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89415-w>
- Immanuel, G. (2016). Bioencapsulation of brine shrimp *Artemia nauplii* with probionts and their resistance against *Vibrio* pathogens. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 11(4), 323-330.
- Jiang, L. X., & Pan, L. Q. (2005). Effect of dissolved oxygen on immune parameters of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 18(2), 185-188. <https://europepmc.org/article/med/15580684>
- Joseph, A., & Philip, R. (2007). Acute salinity stress alters the haemolymph metabolic profile of *Penaeus monodon* and reduces immunocompetence to white spot syndrome virus infection. *Aquaculture*, 272(1-4), 87-97. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.047>
- Ju, Z. Y., Forster, I., Conquest, L., & Dominy, W. (2008). Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. *Aquaculture Nutrition*, 14(6), 533-543. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00559.x>
- Karthik, R., Hussain, A. J., & Mutheszilan, R. (2014). Effectiveness of *Lactobacillus* sp (AMET1506) as Probiotic against Vibriosis in *Penaeus monodon* and *Litopenaeus vannamei* Shrimp Aquaculture. *Bioscience Biotechnology Research Asia*, 11, 297-305. <http://dx.doi.org/10.13005/bbra/1423>
- Kathyayani, S. A., Poornima, M., Sukumaran, S., Nagavel, A., & Muralidhar, M. (2019). Effect of ammonia stress on immune variables of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* under varying levels of pH and susceptibility to white spot syndrome virus. *Ecotoxicology and environmental safety*, 184, 109626. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109626>
- Kaya, D., Genc, M. A., Aktas, M., Yavuzcan, H., Ozmen, O., & Genc, E. (2019). Effect of biofloc technology on growth of speckled shrimp, *Metapenaeus monoceros* (Fabricus) in different feeding regimes. *Aquaculture Research*, 50(10), 2760-2768. <https://doi.org/10.1111/are.14228>
- Knapp, J. L., Auerswald, L., Hoffman, L. C., & Macey, B. M. (2019). Effects of chronic hypercapnia and elevated temperature on the immune response of the spiny lobster, *Jasus lalandii*. *Fish & shellfish immunology*, 93, 752-762. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.05.063>

- Knipe, H., Temperton, B., Lange, A., Bass, D., & Tyler, C. R. (2021). Probiotics and competitive exclusion of pathogens in shrimp aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 324-352. <https://doi.org/10.1111/raq.12477>
- Kotiya, A. S., & Vadher, K. H. (2021). Effect of different stocking density on growth, survival on *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in summer and monsoon crop in province of Gujarat States in India. *Survey in Fisheries Sciences*, 7(3), 71-99. [http://sifisheriessciences.com/browse.php?a\\_id=246&slc\\_lang=fa&sid=1&printcase=1&hbnr=1&hmb=1](http://sifisheriessciences.com/browse.php?a_id=246&slc_lang=fa&sid=1&printcase=1&hbnr=1&hmb=1)
- Kulkarni, G. K., & Joshi, P. K. (1980). Some aspects of respiratory metabolism of a penaeid prawn, *Penaeus japonicus* (Bate)(Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Hydrobiologia*, 75(1), 27-32. <https://doi.org/10.1007/BF00006558>
- Kumar, S., Shyne Anand, P. S., De, D., Ghoshal, T. K., Alavandi, S. V., & Vijayan, K. K. (2019). Integration of substrate in biofloc based system: Effects on growth performance, water quality and immune responses in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* culture. *Aquaculture Research*, 50(10), 2986-2999. <https://doi.org/10.1111/are.14256>
- Kumar, V., Roy, S., Meena, D. K., & Sarkar, U. K. (2016). Application of probiotics in shrimp aquaculture: importance, mechanisms of action, and methods of administration. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 24(4), 342-368. <https://doi.org/10.1080/23308249.2016.1193841>
- Kumlu, M., Türkmen, S., & Kumlu, M. (2010). Thermal tolerance of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Penaeidae) acclimated to four temperatures. *Journal of Thermal Biology*, 35(6), 305-308. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2010.06.009>
- Lamela, R. E. L., Silveira Coffigny, R., Quintana, Y. C., & Martínez, M. (2005). Phenoloxidase and peroxidase activity in the shrimp *Litopenaeus schmitti*, Pérez-Farfante and Kensley (1997) exposed to low salinity. *Aquaculture Research*, 36(13), 1293-1297. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01344.x>
- Leite, P. H., Barbosa, L., Moura, M. F., Martins, T. X., Povh, J. A., Caetano, R. A., & Correa, F. (2017). Sistema Bioflocos. *Anais da X Mostra Científica Fomez, Fundacao Universidade Federal de Mato Grosso do sul Servico Publico Fedederal, Ministerio da Educacao. Campo Grande*, 201(7), 308-31.
- Li, C. C., Yeh, S. T., & Chen, J. C. (2010). Innate immunity of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* weakened by the combination of a *Vibrio alginolyticus* injection and low-salinity stress. *Fish & shellfish immunology*, 28(1), 121-127. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.10.003>
- Li, E., Xu, C., Wang, X., Wang, S., Zhao, Q., Zhang, M., Qin, J. G., & Chen, L. (2018). Gut microbiota and its modulation for healthy farming of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26(3), 381-399.

<https://doi.org/10.1080/23308249.2018.1440530>

- Li, F., Chang, X., Xu, L., & Yang, F. (2018). Different roles of crayfish hemocytes in the uptake of foreign particles. *Fish & shellfish immunology*, 77, 112-119. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.03.029>
- Liang, Z., Liu, R., Zhao, D., Wang, L., Sun, M., Wang, M., & Song, L. (2016). Ammonia exposure induces oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and apoptosis in hepatopancreas of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Fish & shellfish immunology*, 54, 523-528. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.05.009>
- Lin, Y. C., Chen, J. C., Li, C. C., Morni, W. Z. W., Suhaili, A. S. N., Kuo, Y. H., Chang, Y. H., Chen, L. L., Tsui, W. C., Chen, Y. Y., & Huang, C. L. (2012). Modulation of the innate immune system in white shrimp *Litopenaeus vannamei* following long-term low salinity exposure. *Fish & Shellfish Immunology*, 33(2), 324-331. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.05.006>
- Liu, C. H., & Chen, J. C. (2004). Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 16(3), 321-334. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(03\)00113-X](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(03)00113-X)
- Liu, G., Ye, Z., Liu, D., & Zhu, S. (2018). Inorganic nitrogen control, growth, and immunophysiological response of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in a biofloc system and in clear water with or without commercial probiotic. *Aquaculture International*, 26(4), 981-999. <https://doi.org/10.1007/s10499-018-0263-1>
- Liu, K. F., Chiu, C. H., Shiu, Y. L., Cheng, W., & Liu, C. H. (2010). Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae. *Fish & shellfish immunology*, 28(5-6), 837-844. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.01.012>
- de Lourdes Cobo, M., Sonnenholzner, S., Wille, M., & Sorgeloos, P. (2014). Ammonia tolerance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) larvae. *Aquaculture Research*, 45(3), 470-475. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03248.x>
- Lu-Qing, P., Ling-Xu, J., & Jing-Jing, M. (2005). Effects of salinity and pH on immune parameters of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Shellfish Research*, 24(4), 1223-1227. [https://doi.org/10.2983/0730-8000\(2005\)24\[1223:EOSAPO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2983/0730-8000(2005)24[1223:EOSAPO]2.0.CO;2)
- Lu, X., Kong, J., Luan, S., Dai, P., Meng, X., Cao, B., & Luo, K. (2016). Transcriptome analysis of the hepatopancreas in the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under acute ammonia stress. *PLoS one*, 11(10), e0164396. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164396>
- McFall-Ngai, M., Hadfield, M. G., Bosch, T. C., Carey, H. V., Domazet-Lošo, T., Douglas, A. E., Dubilier, N., Eberl, G., Fukami, T., Gilbert, S. F., Hentschel, U., King, N., Kjelleberg, S., Knoll, A. H., Kremer, N., Mazmanian, S. K., Metcalf, J. L., Neelson, K., Pierce, N. E.,

- Rawls, J. F., Reid, A., Ruby, E. G., Rumpho, M., Sanders, J. G., Tautz, D., & Wernegreen, J. J. (2013). Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(9), 3229-3236. <https://doi.org/10.1073/pnas.1218525110>
- Medina-Félix, D., López-Elías, J. A., Martínez-Córdova, L. R., López-Torres, M. A., Hernández-López, J., Rivas-Vega, M. E., & Mendoza-Cano, F. (2014). Evaluation of the productive and physiological responses of *Litopenaeus vannamei* infected with WSSV and fed diets enriched with *Dunaliella* sp. *Journal of invertebrate pathology*, *117*, 9-12. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2013.12.004>
- Mena-Herrera, A., Gutierrez-Corona, C., Linan-Cabello, M., & Sumano-Lopez, H. (2006). Effects of stocking densities on growth of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in earthen ponds. <https://evols.library.manoa.hawaii.edu/handle/10524/19178>
- Metzger, R., Sartoris, F. J., Langenbuch, M., & Pörtner, H. O. (2007). Influence of elevated CO<sub>2</sub> concentrations on thermal tolerance of the edible crab *Cancer pagurus*. *Journal of thermal biology*, *32*(3), 144-151. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2007.01.010>
- Mikulski, C. M., Burnett, L. E., & Burnett, K. G. (2000). The effects of hypercapnic hypoxia on the survival of shrimp challenged with *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Shellfish Research*, *19*(1), 301-311. [https://www.researchgate.net/profile/Louis-Burnett/publication/279555751\\_The\\_effects\\_of\\_hypercapnic\\_hypoxia\\_on\\_the\\_survival\\_of\\_shrimp\\_challenged\\_with\\_Vibrio\\_parahaemolyticus/links/56b16c2c08aed7ba3feb1f32/The-effects-of-hypercapnic-hypoxia-on-the-survival-of-shrimp-challenged-with-Vibrio-parahaemolyticus.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Louis-Burnett/publication/279555751_The_effects_of_hypercapnic_hypoxia_on_the_survival_of_shrimp_challenged_with_Vibrio_parahaemolyticus/links/56b16c2c08aed7ba3feb1f32/The-effects-of-hypercapnic-hypoxia-on-the-survival-of-shrimp-challenged-with-Vibrio-parahaemolyticus.pdf)
- Millard, R. S., Ellis, R. P., Bateman, K. S., Bickley, L. K., Tyler, C. R., van Aerle, R., & Santos, E. M. (2020). How do abiotic environmental conditions influence shrimp susceptibility to disease? A critical analysis focussed on White Spot Disease. *Journal of invertebrate pathology*, 107369. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107369>
- Miranda-Cruz, M. M., Poom-Llamas, J. J., Godoy-Lugo, J. A., Ortiz, R. M., Gómez-Jiménez, S., Rosas-Rodríguez, J. A., ... & Soñanez-Organis, J. G. (2018). Silencing of HIF-1 in WSSV-infected white shrimp: Effect on viral load and antioxidant enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, *213*, 19-26. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2018.07.004>
- Mudagandur, S. S., Gopalapillay, G., Vijayan, K. K., Shanker, A. K., & Shanker, C. (2016). Effect of salinity stress on gene expression in black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Abiotic and biotic stress in plants-Recent advances and future perspectives*, 101-120. <https://dx.doi.org/10.5772/60477>
- Nhan, D. K., Milstein, A., Verdegem, M. C., & Verreth, J. A. (2006). Food inputs, water quality and nutrient accumulation in integrated pond systems: a multivariate approach. *Aquaculture*, *261*(1), 160-173. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.07.015>

- Nurliana, N., Khairunisa, F., Siregar, B. H., Harahap, D. H., Zamzami, R. S., Ayuti, S. R., ... & Rastina, R. (2020). Effect of yeast and lactic acid bacteria probiotic on the growth of tiger shrimp (*Penaeus monodon*), microbiology and water quality. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 151, p. 01017). EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202015101017>
- Panigrahi, A., Das, R. R., Sivakumar, M. R., Saravanan, A., Saranya, C., Sudheer, N. S., ... & Gopikrishna, G. (2020). Bio-augmentation of heterotrophic bacteria in biofloc system improves growth, survival, and immunity of Indian white shrimp *Penaeus indicus*. *Fish & shellfish immunology*, *98*, 477-487. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.021>
- Phianphak, W., Rengpipat, S., Piyatiratitivorakul, S., & Menasveta, P. (1999). Probiotic use of *Lactobacillus* spp. for black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Journal of Scientific Research, Chulanokorn University*, *24*, 41-51. <https://thaiscience.info/Journals/Article/CJSR/10324219.pdf>
- Ponce-Palafox, J., Martinez-Palacios, C. A., & Ross, L. G. (1997). The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture*, *157*(1-2), 107-115. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00148-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00148-8)
- Racotta, I. S., Palacios, E., & Méndez, L. (2002). Metabolic responses to short and long-term exposure to hypoxia in white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, *35*(4), 269-275.
- Ringø, E. (2020). Probiotics in shellfish aquaculture. *Aquaculture and Fisheries*, *5*(1), 1-27. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.12.001>
- Rodriguez, J., & Le Moullac, G. (2000). State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture*, *191*(1-3), 109-119. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00421-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00421-X)
- Servin Arce, K., de Souza Valente, C., do Vale Pereira, G., Shapira, B., & Davies, S. J. (2021). Modulation of the gut microbiota of Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei* Boone, 1931) by dietary inclusion of a functional yeast cell wall-based additive. *Aquaculture Nutrition*. <https://doi.org/10.1111/anu.13252>
- Sha, Y., Liu, M., Wang, B., Jiang, K., Qi, C., & Wang, L. (2016). Bacterial Population in Intestines of *Litopenaeus vannamei* Fed Different Probiotics or Probiotic Supernatant S. *Journal of microbiology and biotechnology*, *26*(10), 1736-1745. <https://www.koreascience.or.kr/article/JAKO201634864494906.page>
- Shah, M. R., Lutz, G. A., Alam, A., Sarker, P., Chowdhury, M. K., Parsaieimehr, A., Liang, Y., & Daroch, M. (2018). Microalgae in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry. *Journal of Applied Phycology*, *30*(1), 197-213. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1234-Z>
- Soñanez-Organis, J. G., Peregrino-Uriarte, A. B., Gómez-Jiménez, S., López-Zavala, A., Forman,

- H. J., & Yepiz-Plascencia, G. (2009). Molecular characterization of hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) from the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and tissue-specific expression under hypoxia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 150(3), 395-405. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2009.06.005>
- Sudaryono, A., Chilmawati, D., & Susilowati, T. (2018). Oral Administration of Hot-water Extract of Tropical Brown Seaweed, *Sargassum cristaefolium*, to Enhance Immune Response, Stress Tolerance, and Resistance of White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, to *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 49(5), 877-888. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jwas.12527>
- Sun, Z., Hao, S., Gong, Y., Zhang, M., Aweya, J. J., Tran, N. T., Zhang, Y., Ma, H., & Li, S. (2018). Dual oxidases participate in the regulation of hemolymph microbiota homeostasis in mud crab *Scylla paramamosain*. *Developmental & Comparative Immunology*, 89, 111-121. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2018.08.009>
- Tepaamorndech, S., Nookaew, I., Higdon, S. M., Santiyanont, P., Phromson, M., Chantarasakha, K., Mhuantong, W., Plengvidhya, V., & Visessanguan, W. (2020). Metagenomics in bioflocs and their effects on gut microbiome and immune responses in Pacific white shrimp. *Fish & Shellfish Immunology*, 106, 733-741. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.08.042>
- Toledo, A., Frizzo, L., Signorini, M., Bossier, P., & Arenal, A. (2019). Impact of probiotics on growth performance and shrimp survival: A meta-analysis. *Aquaculture*, 500, 196-205. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.018>
- Tseng, I. T., & Chen, J. C. (2004). The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under nitrite stress. *Fish & Shellfish Immunology*, 17(4), 325-333. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.04.010>
- Valdes Vaillant, Y., Mejías Palmero, J., Corrales Barrios, Y., López Rodríguez, M., Hernández Sariago, T., Arenal Cruz, A., & Bossier, P. (2020). Efecto de prebióticos y probióticos en la expresión y actividad de fenoloxidasa en camarones *Penaeus*: Meta-análisis. *Agrisost*, 26(3), 1-16. <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/agrisost/article/view/e3279>
- Valencia-Castañeda, G., Frías-Espericueta, M. G., Vanegas-Pérez, R. C., Pérez-Ramírez, J. A., Chávez-Sánchez, M. C., & Páez-Osuna, F. (2018). Acute toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae in low-salinity water. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 101(2), 229-234. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2355-z>
- Wan, L., Wang, J. Q., Gao, F., Yang, S., & Wang, N. (2006). Bacterial flora in intestines of white leg shrimp (*Penaeus vannamei* Booen). *Fisheries Science*, 25(1), 13-15.
- Wang, L., Chen, Y., Huang, H., Huang, Z., Chen, H., & Shao, Z. (2015). Isolation and identification of *Vibrio campbellii* as a bacterial pathogen for luminous vibriosis of

- Litopenaeus vannamei. *Aquaculture Research*, 46(2), 395-404. <https://doi.org/10.1111/are.12191>
- Wang, L. U., & Chen, J. C. (2005). The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* at different salinity levels. *Fish & Shellfish Immunology*, 18(4), 269-278. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15561558/>
- Wang, W. N., Wang, A. L., Zhang, Y. J., Li, Z. H., Wang, J. X., & Sun, R. Y. (2004). Effects of nitrite on lethal and immune response of *Macrobrachium nipponense*. *Aquaculture*, 232(1-4), 679-686. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.08.018>
- Wang, Z., Zhou, J., Li, J., Zou, J., & Fan, L. (2020). The immune defense response of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to temperature fluctuation. *Fish & shellfish immunology*, 103, 103-110. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.04.053>
- Xian, J. A., Wang, A. L., Chen, X. D., Gou, N. N., Miao, Y. T., Liao, S. A., & Ye, C. X. (2011). Cytotoxicity of nitrite on haemocytes of the tiger shrimp, *Penaeus monodon*, using flow cytometric analysis. *Aquaculture*, 317(1-4), 240-244. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.03.026>
- Xu, W. J., & Pan, L. Q. (2013). Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. *Aquaculture*, 412, 117-124. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.07.017>
- Yuan, K., Yuan, F. H., He, H. H., Bi, H. T., Weng, S. P., He, J. G., & Chen, Y. H. (2017). Heat shock 70 kDa protein cognate 5 involved in WSSV toleration of *Litopenaeus vannamei*. *Developmental & Comparative Immunology*, 72, 9-20. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.02.003>
- Zenteno-Savín, T. (2005). OXIDATIVE STRESS IN RESPONSE TO ENVIRONMENTAL HYPOXIA/REOXYGENATION IN TWO CRUSTACEAN SPECIES, PACIFIC WHITE SHRIMP (*LITOPENAEUS VANNAMEI*) AND RED CLAW CRAYFISH (*CHERAX QUADRICARINATUS*): 485. *Free Radical Biology and Medicine*, 39.
- Zenteno-Savín, T., Saldierna, R., & Ahuejote-Sandoval, M. (2006). Superoxide radical production in response to environmental hypoxia in cultured shrimp. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 142(3-4), 301-308. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2005.11.001>
- Zhang, J. S., Li, Z. J., Wen, G. L., Wang, Y. L., Luo, L., Zhang, H. J., & Dong, H. B. (2016). Relationship between white spot syndrome virus (WSSV) loads and characterizations of water quality in *Litopenaeus vannamei* culture ponds during the tropical storm. *Iranian journal of veterinary research*, 17(3), 210. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5090158/>
- Zhang, L., Pan, L., Xu, L., & Si, L. (2018). Effects of ammonia-N exposure on the concentrations

of neurotransmitters, hemocyte intracellular signaling pathways and immune responses in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*, 75, 48-57. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.01.046>

Zhao, D., Pan, L., Huang, F., Wang, C., & Xu, W. (2016). Effects of different carbon sources on bioactive compound production of biofloc, immune response, antioxidant level, and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange culture tanks. *Journal of the World Aquaculture Society*, 47(4), 566-576. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jwas.12292>

Zheng, X., Duan, Y., Dong, H., & Zhang, J. (2017). Effects of dietary *Lactobacillus plantarum* in different treatments on growth performance and immune gene expression of white shrimp *Litopenaeus vannamei* under normal condition and stress of acute low salinity. *Fish & shellfish immunology*, 62, 195-201. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.01.015>

Zokaeifar, H., Balcázar, J. L., Saad, C. R., Kamarudin, M. S., Sijam, K., Arshad, A., & Nejat, N. (2012). Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*, 33(4), 683-689. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.05.027>

### **CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES**

Concepción y diseño de la investigación: LDMR, YCB, MGS, OCF, HCA, AAC; redacción del artículo: LDMR, YCB, MGS, OCF, HCA, AAC.

### **CONFLICTO DE INTERESES**

Los autores declaran que no existen conflicto de intereses.