



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO



DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

SUPLEMENTACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE SALVIA (*Salvia officinalis*) EN DIETAS BALANCEADAS PARA LARVAS DE PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*) SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA Y ANTIOXIDANTE Y SISTEMA INMUNE

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

YULIANA JIMÉNEZ LEÓN

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DR. CARLOS ALFONSO ÁLVAREZ GONZÁLEZ

EN CODIRECCIÓN DE:

DRA. GLORIA GERTRUDYS ASENCIO ALCUDIA

VILLAHERMOSA, TABASCO, A NOVIEMBRE DE 2025

Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de Villahermosa, Tabasco, el día 13 del mes de octubre del año 2025, el que suscribe **Yuliana Jiménez León** alumna del Programa de **Biología** con número de matrícula **211G22002** adscrito a la **División Académica de Ciencias Biológicas** de la **Universidad Juárez Autónoma de Tabasco**, como autora de la **Tesis** presentada para la obtención del título de **Licenciatura en Biología** y titulada **"SUPLEMENTACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE SALVIA (*Salvia officinalis*) EN DIETAS BALANCEADAS PARA LARVAS DE PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*) SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA Y ANTIOXIDANTE Y SISTEMA INMUNE"** dirigido por el **Dr. Carlos Alfonso Álvarez González** y la **Dra. Gloria Gertrudys Asencio Alcudia**.

DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la **LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR** (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido del Desarrollo Tecnológico presentado de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Villahermosa, Tabasco a 13 de octubre 2025.



Yuliana Jiménez León



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

Villahermosa, Tab., a 13 de Octubre de 2025


ASUNTO: Autorización de Modalidad de Titulación

**C. LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFE DEL DEPTO. DE CERTIFICACIÓN Y TITULACION
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
PRESENTE**

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado, informo a usted, que en base al reglamento de titulación vigente en esta Universidad, ésta Dirección a mi cargo, autoriza a la **C. YULIANA JIMÉNEZ LEÓN** egresada de la Lic. en **BIOLOGIA** de la División Académica de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** la opción de titularse bajo la modalidad de Tesis denominado: **"SUPLEMENTACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE SALVIA (*Salvia officinalis*) EN DIETAS BALANCEADAS PARA LARVAS DE PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*) SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA Y ANTIOXIDANTE Y SISTEMA INMUNE"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarle afectuosamente.

A T E N T A M E N T E


**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente Alumno de la División Académica
C.c.p.- Interesado



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

OCTUBRE 13 DE 2025

**C. YULIANA JIMÉNEZ LEÓN
PAS. DE LA LIC. EN BIOLOGIA
PRESENTE**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 111 al 113 del Cap. IV del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"SUPLEMENTACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE SALVIA (*Salvia officinalis*) EN DIETAS BALANCEADAS PARA LARVAS DE PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*) SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA Y ANTIOXIDANTE Y SISTEMA INMUNE"**, asesorado por el Dr. Carlos Alfonso Álvarez González y Dra. Gloria Gertrudys Asencio Alcudia sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por el Dr. Rafael Martínez García, Dra. Susana del Carmen de la Rosa García, Dr. Carlos Alfonso Álvarez González, Dr. Gabriel Núñez Nogueira y Dr. Luis Daniel Jiménez Martínez.

ATENTAMENTE
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE


**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR**

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



C.c.p.- Expediente del Alumno.
Archivo.



10 de octubre de 2025

C. YULIANA JIMÉNEZ LEÓN
Egresada de la Lic. en Biología

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, se implementó la revisión del trabajo recepcional (Tesis), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación en esta División Académica. Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad y el Código Institucional de Ética para la Investigación.

Por este conducto, hago de su conocimiento las observaciones, el índice de similitud y el reporte de originalidad obtenido a través de la revisión en la plataforma iThenticate de su trabajo recepcional **SUPLEMENTACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE SALVIA (*Salvia officinalis*) EN DIETAS BALANCEADAS PARA LARVAS DE PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*) SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA Y ANTIOXIDANTE Y SISTEMA INMUNE.**

OBSERVACIONES:

Se incluyó citas, se excluyó bibliografía y se estableció el umbral de exclusión de coincidencias pequeñas a 16 palabras.

| | |
|-------------------------------|------------------------------------|
| RESULTADO DE SIMILITUD | 10 % |
| | 60 páginas y 18696 palabras |

Finalmente, se le solicita a la **C. YULIANA JIMÉNEZ LEÓN**, integrar en la versión final del trabajo recepcional, este oficio y el informe de originalidad con el porcentaje de similitud de Turnitin iThenticate.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"ESTUDIO EN LA DUDA / ACCIÓN EN LA FE"

DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

U.J.A.T.
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

C.c.p. Dr. Carlos Alfonso Álvarez González. Director de trabajo recepcional
C.c.p. Dra. Gloria Gertrudys Asencio Alcuía. Codirectora de trabajo recepcional
C.c.p. Archivo



KM. 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA
Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 y 6401, e-mail: direccion.dacbiol@ujat.mx

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de agua y ayuda a conservar los bosques

www.ujat.mx

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México

YULIANA JIMÉNEZ LEÓN

SUPLEMENTACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE SALVIA (*Salvia officinalis*) EN DIETAS BALANCEADAS PARA LARVAS DE PEJE...

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:510942045

Fecha de entrega

10 oct 2025, 5:55 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

10 oct 2025, 1:05 p.m. GMT-6

Nombre del archivo

Yuliana Jiménez León_TR tesis.pdf

Tamaño del archivo

1.1 MB

60 páginas

18.696 palabras

106.382 caracteres




10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Coincidencias menores (menos de 16 palabras)
- ▶ Abstract
- ▶ Trabajos entregados

Fuentes principales

- 10%  Fuentes de Internet
- 2%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad




N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Fuentes principales

- 10%  Fuentes de Internet
- 2%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

| | | | |
|----|----------|------------------------------------|-----|
| 1 | Internet | cibnor.repositorioinstitucional.mx | 5% |
| 2 | Internet | aprenderly.com | 1% |
| 3 | Internet | universidad.uanl.mx | <1% |
| 4 | Internet | es.scribd.com | <1% |
| 5 | Internet | www.mapa.gob.es | <1% |
| 6 | Internet | cienciaspecuarias.inifap.gob.mx | <1% |
| 7 | Internet | archivos.ujat.mx | <1% |
| 8 | Internet | mayanoil.myshopify.com | <1% |
| 9 | Internet | repositorioinstitucional.uabc.mx | <1% |
| 10 | Internet | www.fao.org | <1% |
| 11 | Internet | www.scielo.org.mx | <1% |

| | | | |
|----|----------|-----------------------------|-----|
| 12 | Internet | www.researchgate.net | <1% |
| 13 | Internet | www.ciatej.net.mx | <1% |
| 14 | Internet | www.researchsquare.com | <1% |
| 15 | Internet | iris.unipa.it | <1% |
| 16 | Internet | transparencia.ciatej.net.mx | <1% |
| 17 | Internet | bdelrio.tecnm.mx | <1% |
| 18 | Internet | eprints.uanl.mx | <1% |

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México

Carta de Cesión de Derechos

Villahermosa, Tabasco a 13 de octubre 2025.

Por medio de la presente manifiesto haber colaborado como AUTORA en la producción, creación y/o realización de la obra denominada **"SUPLEMENTACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE SALVIA (*Salvia officinalis*) EN DIETAS BALANCEADAS PARA LARVAS DE PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*) SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA Y ANTIOXIDANTE Y SISTEMA INMUNE"**. Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un periodo de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

COLABORADORES



Yuliana Jiménez León



Dr. Carlos Alfonso Álvarez González



Dra. Gloria Gertrudys Asencio Alcudia

TESTIGOS



Sheila Cristell Ramos Méndez



Yajaira Cabrera Madrigal

Dedicatoria

A Dios, fuente de toda sabiduría y fortaleza, por ser mi refugio en los momentos de incertidumbre y mi guía en cada paso del camino. Gracias por abrir puertas, por darme la serenidad cuando el cansancio pesaba más que la motivación, y por recordarme que todo esfuerzo tiene un propósito. Sin Ti, nada de esto habría sido posible. A Ti encomiendo mis logros, mis sueños y mi futuro.

A mis padres José y Ana, pilares fundamentales de mi vida, quienes con sacrificio y paciencia me enseñaron el valor del trabajo honesto, la humildad y la perseverancia. Gracias por su apoyo, por impulsarme a seguir adelante y por acompañarme en silencio cuando las palabras no eran necesarias. Este logro es tanto mío como suyo, porque cada página de esta tesis lleva impreso el fruto de su esfuerzo.

A mis hermanos Enoc, Vianca, José y Lucero, mis compañeros de vida, por ser una fuente constante de aliento, por las risas compartidas y por estar presentes en la medida de sus posibilidades. Su cariño ha sido una inspiración para seguir creciendo, tanto personal como profesionalmente.

A mis sobrinos Jair y Anelys, pequeños rayos de luz que iluminan mis días con su ternura y alegría. Gracias por recordarme la importancia de soñar, de sonreír a pesar de las dificultades y de mantener la ilusión por un futuro mejor. Cada uno de ustedes ha sido una motivación silenciosa para convertirme en alguien de quien puedan sentirse orgullosos.

A todos ustedes, con profundo amor, gratitud y admiración, dedico este logro que representa no solo el cierre de una etapa, sino el inicio de muchas más que espero recorrer con la misma fe, fuerza y amor que me han inculcado.

Agradecimientos

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol), por la beca de Apadrina un estudiante a la alumna Yuliana Jiménez León y por autorizar las instalaciones del Laboratorio de Fisiología en Recursos Acuáticos (LAFIRA) para la realización de los experimentos y el análisis de los datos.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por el financiamiento de la beca de la Estancia Posdoctoral Académica con el proyecto titulado "Impacto en el sistema inmune y microbiota intestinal de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) a través de la suplementación de fitogénicos en el alimento balanceado".

A la Dra. Mirna Estarrón Espinosa del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ), por su invaluable apoyo en el análisis de los compuestos del aceite de salvia. Asimismo, a Félix Maldonado Desena por su valioso apoyo en la realización de los análisis antimicrobianos.

A la Dra. Gloria Gertrudys Asencio Alcudia y el Dr. Carlos Alfonso Álvarez González, mi más sincero agradecimiento por acompañarme en este camino con paciencia, dedicación y apoyo constante. No solo valoro profundamente todo lo que me han enseñado, sino también la manera en que lo han hecho: con cariño, generosidad y una cercanía que hizo de cada consejo y cada guía un verdadero aprendizaje. Su ejemplo, tanto en lo profesional como en lo personal, ha sido una inspiración constante y un recordatorio de la importancia de valorar y cuidar a quienes nos rodean. A Ponchito, por su alegría contagiosa y el cariño que siempre me demuestra, su presencia, su risa y su cariño han hecho que cada momento compartido sea único, valioso y lleno de significado. Gracias a los tres, por todo lo que representan para mí, por su apoyo, su guía y, sobre todo, por el cariño con el que me han acompañado. Esta tesis refleja no solo un esfuerzo académico, sino también el profundo afecto y el vínculo especial que siento hacia ustedes, y la huella imborrable que han dejado en mi vida.

Agradezco sinceramente a mi comité sinodal, conformado por el Dr. Rafael Martínez García, la Dra. Susana del Carmen de la Rosa García, el Dr. Gabriel Nuñez Nogueira y el Dr. Luis Daniel Jiménez Martínez, por su disposición, apoyo y por compartir generosamente sus conocimientos a lo largo de esta tesis. Sus observaciones, consejos y enseñanzas han enriquecido este trabajo y contribuido de manera invaluable a mi crecimiento académico y profesional.

A mis amigos, quienes son una parte esencial de mi vida:
A Lau, por su amistad inquebrantable, por compartir conmigo risas, confidencias y momentos que siempre guardaré en el corazón.
A Jesús, por escucharme con paciencia infinita, por su apoyo constante y por acompañarme en cada paso, haciéndome sentir comprendida y respaldada en todo

momento.

A Sarita, Natalita, Dani, Mar y Adri, por estar a mi lado en los días más difíciles, por preocuparse genuinamente por mí y por ofrecer siempre su apoyo, su ternura y sus sonrisas que reconfortan y levantan el ánimo, convirtiendo los desafíos en momentos de esperanza y alegría.

A Lalo y Reich, mis compañeros de carrera, por compartir cada reto y cada logro, por estar presentes en todo momento y por aportar su amistad y apoyo, haciendo que incluso los días más complicados se llenaran de confianza, risas y solidaridad.

Gracias a todos ustedes por su cariño sincero, su presencia constante y por cada gesto que ha hecho que mi vida sea más dulce, más alegre y más llena de significado. Cada recuerdo compartido con ustedes es un tesoro que guardo con el corazón lleno de gratitud y amor.

Y, por último, pero no menos importante, a todos mis compañeros de laboratorio, quienes hicieron que cada actividad se convirtiera en algo más llevadero y significativo. Gracias por llenar cada jornada de conocimiento, pero también de risas y momentos inolvidables que hicieron de esta etapa una experiencia más alegre y valiosa.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

VII. Índice de Contenido

| | |
|--|-----------|
| VIII. ÍNDICE DE TABLAS | 16 |
| IX. ÍNDICE DE FIGURAS..... | 17 |
| CAPÍTULO I. PROTOCOLO DE TESIS | 17 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 18 |
| 1.1. Nutrición acuícola..... | 18 |
| 1.2. Aditivos funcionales..... | 18 |
| 1.3. Aceites esenciales..... | 19 |
| 1.4. Propiedades de la salvia (<i>Salvia officinalis</i>)..... | 19 |
| 1.5. Biología y cultivo del pejelagarto (<i>Atractosteus tropicus</i>)..... | 21 |
| 2. MARCO TEÓRICO | 21 |
| 2.1. Aceites esenciales..... | 21 |
| 2.2. Salvia en otras especies..... | 22 |
| 2.3. Utilización de Salvia en peces..... | 22 |
| 2.4. Investigaciones en pejelagarto..... | 24 |
| 3. JUSTIFICACIÓN | 24 |
| 4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN..... | 25 |
| 5. HIPÓTESIS..... | 25 |
| 6. OBJETIVOS | 25 |
| 6.1. Objetivo general..... | 25 |
| 6.2. Objetivos específicos..... | 25 |
| 9. REFERENCIAS | 26 |
| CAPÍTULO II. ARTÍCULO CIENTÍFICO | 37 |
| RESUMEN..... | 37 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 38 |
| 2. MATERIALES Y MÉTODOS | 42 |
| 2.1. Caracterización cromatográfica..... | 42 |
| 2.2. Actividad antimicrobiana..... | 42 |
| 2.3. Muestreo y larvicultura..... | 43 |
| 2.4. Diseño experimental..... | 44 |
| 2.5. Preparación de los alimentos microparticulados | 44 |
| 2.6. Muestreo de los peces..... | 45 |
| 2.7. Análisis de enzimas digestivas | 45 |

| | |
|--|-----------|
| 2.8. Análisis de enzimas antioxidantes | 46 |
| 2.9. Análisis de la expresión de genes del sistema inmune..... | 47 |
| 2.10. Análisis estadístico | 48 |
| 3. RESULTADOS | 48 |
| 3.1. Caracterización cromatográfica | 48 |
| 3.2. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de <i>S. officinalis</i> | 50 |
| 3.4. Enzimas digestivas | 53 |
| 3.5. Enzimas oxidativas | 55 |
| 3.6. Expresión de genes del sistema inmune | 55 |
| 4. DISCUSIÓN | 57 |
| 5. CONCLUSIÓN | 61 |
| 6. AGRADECIMIENTOS..... | 62 |
| 7. REFERENCIAS | 62 |

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

VIII. ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Composición de las dietas experimentales con diferentes concentraciones de aceite esencial de <i>Salvia officinalis</i> | 44 |
| Tabla 2. Diseño de oligonucleótidos para la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) de genes del sistema inmune y antioxidante de larvas de <i>A. tropicus</i> | 48 |
| Tabla 3. Principales componentes volátiles cuantificados en el aceite esencial de salvia analizado mediante GC/FID..... | 49 |
| Tabla 4. Zonas de inhibición (mm) del aceite esencial de <i>Salvia officinalis</i> contra bacterias patógenas de peces, evaluadas mediante ensayos de pozo de agar y difusión en disco a tres concentraciones..... | 51 |

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

IX. ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Salvia officinalis* contra patógenos de peces. Se muestran las zonas de inhibición para el ensayo de difusión en pozo de agar (1, 2 y 3 corresponden al 100 %, 50 % y 25 %) y el ensayo de difusión en disco (4, 5 y 6 corresponden al 100 %, 50 % y 25 %).....51
- Figura 2.** Crecimiento en (A) peso (g) y (B) talla (cm) de larvas de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) alimentadas con dietas suplementadas con diferentes concentraciones (0.5, 1, 1.5 y 2 %) de aceite de salvia (*Salvia officinalis*) y una dieta control. Las diferencias significativas entre las dietas se indican con letras diferentes ($p < 0.05$).....52
- Figura 3.** Supervivencia (%) de larvas de pejelagarto (*A.tropicus*) alimentadas con dietas con diferentes concentraciones de aceite de salvia.....52
- Figura 4.** Actividad enzimática digestiva de (A) proteasas ácidas, (B) proteasas alcalinas, (C) tripsina, (D) quimotripsina, (E) leucina aminopeptidasa (LAP) y (F) lipasas en larvas de pejelagarto (*A. tropicus*) alimentadas con dietas suplementadas con aceite de salvia en diferentes concentraciones (0.5, 1, 1.5 y 2 %) y una dieta control. Las diferencias significativas entre las dietas se indican con letras diferentes ($p < 0.05$).....54
- Figura 5.** Actividad enzimática antioxidante de (A) Glutación peroxidasa (Gpx), (B) Catalasa (CAT), (C) superóxido dismutasa (SOD) y (D) peroxidasa (PEROX) en larvas de pejelagarto (*A. tropicus*) alimentadas con diferentes concentraciones de aceite de salvia y una dieta control. Las diferencias significativas entre las dietas se indican con letras diferentes ($p < 0.05$).....55
- Figura 6.** Expresión genética relativa de (A) *muc-2*, (B) *il-10*, (C) *zo-1*, (D) *zo-2*, (E) *occ* y (F) *nod* en larvas de *A.tropicus* alimentadas con dietas suplementadas con aceite de salvia (*S.officinalis*) y una dieta control. Las diferencias significativas entre las dietas se indican con letras diferentes ($p < 0.05$).....56

CAPÍTULO I. PROTOCOLO DE TESIS

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Nutrición acuícola

Actualmente, más de 800 millones de personas padecen hambre y 2,400 millones tienen un acceso muy limitado a una alimentación adecuada, por lo que se han buscado alternativas que permitan abastecer de alimento a la población mundial, consolidando la acuicultura como un sector clave en la producción de estos (FAO, 2022). En este sentido, para que la acuicultura se convierta en una actividad rentable, es necesario desarrollar alimentos balanceados que cubran los requerimientos nutricionales de las especies, lo que permitirá que los peces tengan un óptimo crecimiento y un sistema inmunitario estimulado para lidiar con patógenos oportunistas (Manam, 2023). Este aspecto es fundamental, ya que la intensificación de los sistemas de cultivo y la prohibición en el uso de antibióticos ocasiona la necesidad de investigar alternativas que promuevan una inmuno-estimulación en los peces, que pudieran ser adicionados en el alimento, como en el uso de prebióticos, probióticos, postbióticos, simbióticos, aditivos funcionales, fitogénicos, entre otros, que promuevan una mejor salud en los organismos y resulten una alternativa con amplios beneficios para los sistemas de cultivo (Rohani *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2024).

1.2. Aditivos funcionales

Los aditivos funcionales son ingredientes dietéticos incorporados en las formulaciones para animales que además de cumplir con los requerimientos nutricionales básicos de los organismos, proporcionan otros beneficios como la mejora en el crecimiento, las respuestas inmunitarias y la resistencia a las enfermedades (Onomu & Okuthe, 2024) y han sido clasificados de acuerdo con su uso en prebióticos como la inulina y los fructooligosacáridos que funcionan a nivel del sistema digestivo (De La Cruz-Marín *et al.*, 2023; Pérez-Jiménez *et al.*, 2022); probióticos como *Debaryomyces hansenii*, *Pediococcus acidilactici* y *Rhodobacter sphaeroides*, los cuales son microorganismos que se adhieren a las vellosidades intestinales y evitan la unión por competitividad de patógenos oportunistas, además de liberar metabolitos secundarios que benefician la salud del hospedero (Hernández-López *et al.*, 2021; Wuertz *et al.*, 2021); otros aditivos son los postbióticos que son subproductos bacterianos no viables y componentes celulares de los probióticos los

cuales son capaces de provocar efectos fisiológicos similares a los de los probióticos y actúan en conjunción con el microbioma intestinal (Tao *et al.*, 2024); los simbióticos, son adiciones de pre y probióticos que se mezclan en el alimento o el agua a fin de promover un cambio en el microbioma de los hospederos y mejorar la calidad del agua de los sistemas de cultivo (Yilmaz *et al.*, 2022); otros aditivos funcionales, como el butirato y propionato de sodio, los cuales mejoran la palatabilidad y atractabilidad de los pellets, lo que estimula un mayor consumo de alimento y en consecuencia, un mayor crecimiento (Arellano-Carrasco *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2023); y por último, los fitogénicos, que son compuestos bioactivos obtenidos a partir de plantas, que se clasifican en hidroalcohólicos y aceites esenciales, que son incluidos en los alimentos en bajas concentraciones, teniendo propiedades promotoras del crecimiento, antimicrobianas, inmunoestimulantes, antiinflamatorias, sedantes y antioxidantes en varias especies animales (Firmino *et al.*, 2021).

1.3. Aceites esenciales

Los aceites esenciales (AE), también conocidos como esencias, son mezclas naturales de sustancias volátiles, lipofílicas y odoríferas encontradas comúnmente en las plantas aromáticas, con un peso molecular bajo, solubles en la mayoría de los disolventes orgánicos (éter, alcohol, acetona) e insolubles en agua, con un gran potencial terapéutico en varias patologías, incluyendo actividades antimicrobianas, antiinflamatorias, antitumorales, antioxidantes, entre otras, por lo que han sido utilizados como agentes terapéuticos en diversos organismos, incluidos los humanos (de Sousa *et al.*, 2023).

1.4. Propiedades de la salvia (*Salvia officinalis*)

Salvia officinalis es parte de las 900 especies de *Salvia* que existen en todo el mundo, particularmente, esta especie se distribuye en la región mediterránea, donde es utilizado como aromatizante y en la medicina herbaria tradicional (Hamidpour *et al.*, 2014). La salvia es rica en esteroides, polifenoles, triterpenoides, diterpenoides y sesquiterpenoides, además, tiene potentes propiedades antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes, anticancerígenas, anticolinesterásicas y antiinflamatorias, así como una gran capacidad para mejorar el estado de ánimo y la función cognitiva (Farruggia *et al.*, 2024).

Un aspecto que se debe resaltar, es la obtención del aceite de *Salvia*, el cual se realiza por medio de hidrodestilación, destilación al vapor, ensilado asistido por enzimas, extracción con disolventes orgánicos convencionales o extracción casi crítica (líquida o supercrítica) utilizando CO₂ (Conde-Hernández *et al.*, 2021; Durling *et al.*, 2007), de modo que muchas de sus biomoléculas naturales no se alteran durante el proceso de extracción y al incluirse en los alimentos potencian el sistema inmune por la activación de citoquinas e interleucinas como *mucina 2* la cual tiene un papel importante en la protección del intestino y el mantenimiento de la homeostasis intestinal, por lo tanto, los niveles reducidos de *muc2* pueden estar relacionados con diversas enfermedades intestinales (Liu *et al.*, 2020). Por otra parte, el gen *il10*, que sintetiza una proteína que es clave en la regulación de la respuesta inflamatoria, ya que al interactuar con diversas células inmunitarias, bloquea su activación y capacidad para producir sustancias inflamatorias, que contribuyen a mantener la homeostasis tisular (Sun *et al.*, 2021); los genes *zo-1* y *zo-2* que desempeñan un papel importante en la formación y mantenimiento de las uniones estrechas entre las células epiteliales, que sellan el espacio intercelular, formando una barrera que regula el paso de sustancias entre los tejidos protegiendo la integridad de los órganos (Qiao *et al.*, 2014), mientras que el gen *occ* que sintetiza una proteína que actúa como una barrera entre las células regulando la permeabilidad celular, ejerciendo un papel esencial en el mantenimiento de la homeostasis vascular (Du *et al.*, 2022). Por su parte, y el gen *nod* que sintetiza una proteína la cual ayuda a detectar la presencia de sustancias extrañas o dañinas, desencadenando una respuesta de alarma que activa el sistema inmunitario (Liu *et al.*, 2023).

Otro aspecto altamente importante de los aceites esenciales, es la capacidad de potenciar la capacidad antioxidante de los individuos a través de la liberación de enzimas como glutatión peroxidasa (Gpx) que es una selenoenzima que reduce las especies reactivas de oxígeno (ROS) y limita su toxicidad, catalizando la reducción de peróxido de hidrógeno o hidroperóxidos orgánicos a agua o alcoholes correspondientes (Pei *et al.*, 2023); la catalasa (CAT), la cual es una hemoenzima que actúa como oxidorreductasa, donde la descomposición del peróxido de hidrógeno que a su vez mitiga el estrés oxidativo, resultante del desequilibrio en los niveles de especies reactivas de oxígeno y antioxidantes (Ali *et al.*, 2022); la enzima superóxido dismutasa (SOD) que cataliza la dismutación del anión superóxido en oxígeno y

peróxido de hidrógeno protegiendo así a las células del daño oxidativo causado por las especies reactivas de oxígeno de manera que la inactivación de SOD puede inducir o agravar el estrés oxidativo (Wang *et al.*, 2022); y la enzima peroxidasa (PEROx), la cual cataliza la oxidación de diversos compuestos al interactuar con peróxido de hidrógeno y compuestos afines (de Oliveira *et al.*, 2021).

1.5. Biología y cultivo del pejelagarto (*Atractosteus tropicus*)

El pejelagarto (*Atractosteus tropicus*, Gill 1863) es un pez de la familia Lepisosteidae distribuido desde el sureste de México hasta Centroamérica comprendiendo el litoral de Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua y Costa Rica (Daniels & Maiz-Tome, 2018). El pejelagarto es un pez carnívoro, cuando son juveniles y adultos se alimentan de peces, crustáceos e insectos de mayor talla, llegando a medir 1.5 m de longitud y hasta 18 Kg de peso (Maldonado *et al.*, 2020). Por otra parte, el cultivo del pejelagarto se divide en cuatro fases principales: reproducción, larvicultivo, pre-engorda y engorda; todo esto teniendo en cuenta cuidados y parámetros necesarios para un cultivo óptimo, como es la selección adecuada de machos y hembras, la preparación de los estanques, un desove óptimo, condiciones adecuadas para la incubación de los huevos, crianza de larvas y alevinaje por mencionar algunos (Maldonado *et al.*, 2020; Márquez-Couturier *et al.*, 2015), por lo cual una buena alimentación y una nutrición adecuada es fundamental para un buen estado de salud de los organismos y su capacidad para enfrentar enfermedades en cautiverio (Arellano-Carrasco *et al.*, 2023).

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Aceites esenciales

La suplementación de aceites esenciales mejora la digestión y absorción de nutrientes y por consiguiente hay un efecto positivo en el crecimiento del organismo (Sutili *et al.*, 2018).

Con relación a lo anterior, se han identificado diversos aceites esenciales como el de pimienta, orégano, canela, menta, y *Salvia* sp., los cuales han sido utilizados en humanos y animales con diversos beneficios en la salud (Farouk *et al.*, 2020; Hurtado *et al.*, 2020; Jeena *et al.*, 2014; Metin *et al.*, 2024; Zhao *et al.*, 2022).

2.2. Salvia en otras especies

Debido a los amplios beneficios del aceite de Salvia se han probado sus efectos en muchos organismos, como es el caso de un estudio donde se evaluaron los efectos de la infusión intramamaria de aceite esencial de salvia (*Salvia officinalis*) sobre el recuento de células somáticas de la leche, los parámetros de composición de la leche, hematológicos y bioquímicos séricos seleccionados en ovejas Awassi afectadas con mastitis subclínica, donde las ovejas presentaron una disminución significativa del recuento de células somáticas después del tratamiento, además, la grasa láctea y la lactosa aumentaron en los animales a los que se les adicionó el aceite esencial de salvia (Alekish *et al.*, 2017).

Por otra parte, Luca *et al.* (2020), estudiaron las propiedades antiproliferativas del aceite esencial de *Salvia officinalis* y las de sus componentes principales en tres líneas celulares de cáncer de colon humano y evaluaron los efectos sobre la distribución del ciclo celular, donde se observó que el aceite esencial de *S. officinalis* y sus tres componentes principales tienen un efecto antiproliferativo *in vitro* sobre las células de cáncer de colon.

Asimismo, Alanazi *et al.* (2023) estudiaron el efecto de la combinación del aceite de salvia y la timoquinona sobre la hiperglucemia, el estrés oxidativo, la presión arterial y el perfil lipídico en ratas alimentadas con una dieta rica en grasas, encontrando que la combinación de estos exhibió acciones hipoglucémicas, hipolipidémicas y antioxidantes, por lo que podría ser una valiosa adición al manejo de la diabetes.

En otro estudio, realizado por Akdağ y Bozbay (2024) con pollos de engorde en condiciones ambientales cálidas, se mostró que el aceite de salvia tiene efectos positivos en la supervivencia y obtuvieron niveles de estrés inferiores de los pollos con dietas adicionadas con aceite de salvia en comparación con los pollos alimentados con alimento comercial.

2.3. Utilización de Salvia en peces

Debido a las diversas propiedades de la salvia, también se han dirigido diversas investigaciones para conocer el efecto de esta en algunas especies de peces, como en el caso de la investigación desarrollada por El-Kholy (2012), donde al aplicar Salvia en las dietas para híbridos de tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*)

encontró altos valores productivos de grasa (%) en los niveles más bajos del aditivo y disminuyó al aumentar el nivel de salvia en la dieta.

De igual modo, en un estudio realizado con trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) se notó un rendimiento de crecimiento favorable y una eficiencia alimenticia en juveniles que consumieron dietas que contenían aceites de salvia (*Salvia officinalis*). Por otro lado, Sönmez *et al.* (2015), en este mismo estudio muestran como el aceite esencial de salvia tiene un efecto positivo ante el estrés oxidativo, ya que, las actividades hepáticas de superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa mejoraron.

Por otro lado, se evaluó el crecimiento y la respuesta inmune en juveniles de dorada (*Sparus aurata*) alimentados con una dieta funcional que contenía un extracto de hoja de planta medicinal de salvia (*Salvia officinalis*, Lamiaceae) y hierba luisa (*Lippia citriodora*, Verbenaceae) como aditivo alimenticio, donde los datos obtenidos sugieren que la inclusión de salvia y hierba luisa en dietas con bajos niveles de harina de pescado no solo promovió el crecimiento somático y redujo los valores de relación de conversión alimenticia (FCR) en dorada, sino que también mejoró su respuesta inmune sistémica (Salomón *et al.*, 2020).

Del mismo modo, en un estudio realizado por Metin *et al.* (2024) con carpa común (*Cyprinus carpio*), vieron que el aceite de salvia (*Salvia officinalis*) no afectaba el rendimiento del crecimiento de los peces alimentados con este aceite, pero si recomiendan el uso de aceite de salvia en el cultivo de carpas para mejorar la salud intestinal, proporcionar resistencia a las enfermedades contra la infección por *A. hydrophila* y aumentar la fertilidad.

Asimismo, Hussein *et al.* (2023) encontraron que en la lubina europea (*Dicentrarchus labrax*) la incorporación dietética de salvia (2 – 4 g/kg de dieta) mejoró el crecimiento, la eficacia alimenticia, los índices sanguíneos, las respuestas inmunes no específicas y mantuvo una flora intestinal más saludable.

Por lo anterior, se puede indicar que el uso de los aceites esenciales proporciona enormes efectos beneficiosos en los organismos acuáticos, ya que mejora el apetito, el equilibrio microbiano, la respuesta inmune, la capacidad antioxidante y la resistencia a las enfermedades, y al mismo tiempo, proporcionan efectos de promoción del crecimiento y de utilización del alimento, lo que mejora la actividad acuícola (Dawood *et al.*, 2022).

2.4. Investigaciones en pejelagarto

En este aspecto, se han realizado diversos estudios enfocados en su genética (Arias-Rodríguez *et al.*, 2009; Del Río-Portilla *et al.*, 2016; Jesús-De la Cruz *et al.*, 2020; Palacios Mejía *et al.*, 2023), uso de aditivos, prebióticos y probióticos (Arellano-Carrasco *et al.*, 2023; De La Cruz-Marín *et al.*, 2023; Hernández-López *et al.*, 2021; Maytoarena-Verdugo *et al.*, 2022; Pérez-Jiménez *et al.*, 2022), la fisiología digestiva (Cigarroa-Ruiz *et al.*, 2023; Pérez-Jiménez *et al.*, 2024), nutrición y uso de ingredientes (Frías-Quintana *et al.*, 2010., Frías-Quintana *et al.*, 2015., Guerrero-Zárate *et al.*, 2024; Sepúlveda-Quiroz *et al.*, 2024) . Es así, que *A. tropicus* ha sido estudiado a fin de comprender los procesos metabólicos, bioquímicos y moleculares que permitan potenciar el paquete tecnológico para su cultivo en la región sureste de México.

3. JUSTIFICACIÓN

La acuicultura es un sector vital que contribuye a la seguridad alimentaria global y el desarrollo económico. En este sector es muy común que los peces experimenten estrés, lo cual tiene repercusiones en su salud y bienestar, siendo más susceptibles a enfermedades y tener un crecimiento lento y por consiguiente tener un menor valor en el mercado, de manera que, la suplementación de aceites esenciales puede ser una alternativa para mejorar la digestión y absorción de nutrientes, que promueva un efecto positivo en el crecimiento y fortaleciendo el sistema inmune y la capacidad antioxidante de los organismos, además de disminuir los costos del cultivo de los peces ya que su uso no es de alto costo, como en el caso del uso de antibióticos por ejemplo, que además de tener un alto costo genera efectos colaterales negativos como es la contaminación y aumento de la resistencia a los mismos. La salvia (*Salvia officinalis*) al ser una fuente natural de flavonoides y compuestos polifenólicos que poseen fuertes actividades antioxidantes, eliminadoras de radicales y antibacterianas es una candidata prometedora para desarrollar dietas en peces usándola como suplemento alimenticio con gran potencial en la acuicultura, como es el caso del pejelagarto (*Atractosteus tropicus*), el cual es de gran importancia ecológica, económica y cultural en los lugares donde se distribuye. De modo que, con la suplementación de salvia en las dietas para las larvas de pejelagarto se fortalecerá el sistema inmune y la capacidad antioxidante de los organismos, su cultivo será sustentable y se disminuirán los costos para su cultivo, conservando así esta especie

emblemática de nuestro Estado. Por este motivo, la presente investigación aportará información importante sobre el efecto de la suplementación de extracto de *S. officinalis* en las dietas balanceadas para larvas del pejelagarto (*A. tropicus*) sobre el crecimiento, supervivencia, eficiencia de consumo de alimento, actividad enzimática digestiva y antioxidante y expresión de genes del sistema inmune y antioxidantes.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La suplementación de aceite esencial de salvia en dietas para larvas de pejelagarto (*A. tropicus*) tendrá un efecto positivo sobre su crecimiento, supervivencia, eficiencia de consumo de alimento, actividad enzimática digestiva y antioxidante, y la expresión de genes del sistema inmune?

5. HIPÓTESIS

La suplementación de aceite esencial de salvia (*Salvia officinalis*) mejorará el crecimiento, supervivencia y eficiencia alimenticia de las larvas de pejelagarto, además de potenciar la actividad enzimática digestiva, antioxidante, y la expresión génica del sistema inmune.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la suplementación de aceite de *Salvia officinalis* en las dietas balanceadas para larvas de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) sobre el crecimiento, supervivencia, eficiencia de consumo de alimento, actividad enzimática digestiva y antioxidante, y expresión de genes del sistema inmune y antioxidantes.

6.2. Objetivos específicos

1. Conocer el efecto de la suplementación de aceite de *S. officinalis* (0%, 0.5%, 1%, 1.5% y 2%) en dietas de larvas de pejelagarto (*A. tropicus*) sobre el crecimiento, supervivencia y eficiencia de consumo de alimento.
2. Determinar el efecto de la inclusión de extracto de *S. officinalis* (0%, 0.5%, 1%, 1.5% y 2%) en el alimento de larvas de pejelagarto (*A. tropicus*) sobre la actividad enzimática digestiva (proteasa alcalina, proteasa ácida, tripsina, quimotripsina, leucina aminopeptidasa, lipasa y amilasa) y antioxidante (glutación peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa, peroxidasa).

3. Analizar la expresión de genes del sistema inmune y antioxidantes (*muc 2*, *il-10*, *zo-1*, *zo-2*, *occ* y *nod*) en larvas de pejelagarto (*A. tropicus*) alimentadas con dietas suplementadas con aceite de *S. officinalis* en diferentes concentraciones del aceite (0.5%, 1%, 1.5% y 2%).

9. REFERENCIAS

- Akdağ, A., & Bozbay, C. K. (2024). Response of broilers to supplementation of *Salvia officinalis* L. essential oil in hot ambient conditions. *Tropical animal health and production*, 56, 308. <https://doi.org/10.1007/s11250-024-04111-x>
- Alanazi, S. M., Alsaqer, R. A., Alsaeed, F. I., Almakhaytah, R. M., Buwashl, N. T., Mohamed, M. E., & Younis, N. S. (2023). Studying the actions of sage and thymoquinone combination on metabolic syndrome induced by high-fat diet in rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 27, 2404–2418. https://doi.org/10.26355/eurrev_202303_31775
- Alekish, M. O., Ismail, Z. B., Awawdeh, M. S., & Shatnawi, S. (2017). Effects of intramammary infusion of sage (*Salvia officinalis*) essential oil on milk somatic cell count, milk composition parameters and selected hematology and serum biochemical parameters in Awassi sheep with subclinical mastitis. *Veterinary World*, 10, 895–900. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.895-900>
- Ali, F., Manzoor, U., Khan, F. I., Lai, D., Khan, M. K. A., Chandrashekharaiyah, K. S., Singh, L. R., & Dar, T. A. (2022). Effect of polyol osmolytes on the structure-function integrity and aggregation propensity of catalase: A comprehensive study based on spectroscopic and molecular dynamic simulation measurements. *International Journal of Biological Macromolecules*, 209, 198–210. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.04.013>
- Anson, M. L. (1938). The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin. *Journal of General Physiology*, 22, 79–89. <https://doi.org/10.1085/jgp.22.1.79>
- Arellano-Carrasco, J. G., Martínez-García, R., Asiain-Hoyos, A., Reta-Mendiola, J. L., Díaz-Rivera, P., Frías-Gómez, S. A., Martínez-Burguete, T., Asencio-Alcudia, G. G., Jiménez-Martínez, L. D., Guerrero-Zarate, R., Sepúlveda-Quiroz, C. A.,

- & Álvarez-González, C. A. (2023). Effects of Dietary Sodium Propionate on Growth, Digestive Enzyme Activity, and Expression of Immune System Genes in Juveniles of Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*). *Aquaculture Journal*, 3, 227–237. <https://doi.org/10.3390/aquacj3040018>
- Arias-Rodríguez, L., Páramo-Delgadillo, S., Contreras-Sánchez, W. M., & Álvarez-González, C. A. (2009). Cariotipo del pejelagarto tropical *Atractosteus tropicus* (Lepisosteiformes: Lepisosteidae) y variación cromosómica en sus larvas y adultos. *Revista de Biología Tropical*, 57(3), 529–539.
- Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC). (2000). *Métodos Oficiales de Análisis*, 17.ª ed.; Asociación de Químicos Analíticos Oficiales: Arlington, VA, EE. UU.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Chen, W., Gao, S., Chang, K., Zhao, X., & Niu, B. (2023). Dietary sodium butyrate supplementation improves fish growth, intestinal microbiota composition, and liver health in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed high-fat diets. *Aquaculture*, 564. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.739040>
- Cigarroa-Ruiz, L. A., Toledo-Solís, F. J., Frías-Gómez, S. A., Guerrero-Zárate, R., Camarillo-Coop, S., Alvarez-Villagómez, C. S., Peña-Marín, E. S., Galaviz, M. A., Martínez-García, R., & Álvarez-González, C. A. (2023). Addition of β -glucans in diets for tropical gar (*Atractosteus tropicus*) larvae: effects on growth, digestive enzymes and gene expression of intestinal epithelial integrity and immune system. *Fish Physiology and Biochemistry*, 49, 613–626. <https://doi.org/10.1007/s10695-023-01207-3>
- Conde-Hernández, L. A., Luna-Guevara, M. L., Luna-Guevara, J. J., Pérez-Vázquez, J., & Aranda-García, R. J. (2021). Mexican sage (*Salvia officinalis*) extraction using factorial design and its effect on chemical and antibacterial properties. *Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.1155/2021/5594278>

- Daniels, A., & Maiz-Tome, L. (2018). *Atractosteus tropicus*: IUCN Red List of Threatened Species. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-2.RLTS.T191025A1967012.en>
- Dawood, M. A. O., El Basuini, M. F., Yilmaz, S., Abdel-Latif, H. M. R., Alagawany, M., Kari, Z. A., Razab, M. K. A. A., Hamid, N. K. A., Moonmanee, T., & Doan, H. Van. (2022). Exploring the roles of dietary herbal essential oils in aquaculture: A review. *Animals*, 12(7), 823. <https://doi.org/10.3390/ani12070823>
- De La Cruz-Marín, E., Martínez-García, R., López-Hernández, J. F., Méndez-Marín, O., De la Rosa-García, S. C., Peña-Marín, E. S., Tovar-Ramírez, D., Sepúlveda-Quiroz, C. A., Pérez-Jiménez, G. M., Jiménez-Martínez, L. D., Asencio-Alcudia, G. G., & Álvarez-González, C. A. (2023). Inulin Supplementation in Diets for Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae: Effects on Growth, Survival, and Digestive and Antioxidant Enzyme Activities. *Aquaculture Journal*, 3, 43–55. <https://doi.org/10.3390/aquacj3010006>
- de Oliveira, F. K., Santos, L. O., & Buffon, J. G. (2021). Mechanism of action, sources, and application of peroxidases. *Food Research International*, 143, 110266. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110266>
- de Sousa, D. P., Damasceno, R. O. S., Amorati, R., Elshabrawy, H. A., de Castro, R. D., Bezerra, D. P., Nunes, V. R. V., Gomes, R. C., & Lima, T. C. (2023). Essential oils: Chemistry and pharmacological activities. *Biomolecules*, 13(7), 1144. <https://doi.org/10.3390/biom130711444>
- Del Rió-Portilla, M. A., Vargas-Peralta, C. E., Lafarga-De La Cruz, F., Arias-Rodriguez, L., Delgado-Vega, R., Galván-Tirado, C., & García-De-León, F. J. (2016). The complete mitochondrial DNA of the tropical gar (*Atractosteus tropicus*). *Mitochondrial DNA*, 27, 557–558. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.905856>
- DelMar, E. G., Largman, C., Brodrick, J. W., & Geokas, M. C. (1979). A sensitive new substrate for chymotrypsin. *Analytical Biochemistry*, 99, 316–320. [https://doi.org/10.1016/S0003-2697\(79\)80013-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2697(79)80013-5)
- Du, Y., Duan, Y., & Zhang, S. (2022). The role of occludin in vascular endothelial protection. En A. Abukabda & C. Fonner (Eds.), *Endothelial Dysfunction - A*

Novel Paradigm (cap. 8). IntechOpen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.107479>

- Durling, N. E., Catchpole, O. J., Grey, J. B., Webby, R. F., Mitchell, K. A., Foo, L. Y., & Perry, N. B. (2007). Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures. *Food Chemistry*, 101, 1417–1424. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.050>
- El-Kholy, K. (2012). Effect of marjoram (*marjorana hortensis*) or sage (*Salvia officinalis*) additives on growth performance and feed utilization of tilapia hybrid (*oreochromis niloticus* x *oreochromis aureus*) monosex fingerlings. *Journal of Animal and Poultry Production*, 3, 115–126. <https://doi.org/10.21608/jappmu.2012.82781>
- Erlanger, B. F., Kokowsky, N., & Cohen, W. (1961). The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 95, 271–278. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(61\)90145-X](https://doi.org/10.1016/0003-9861(61)90145-X)
- FAO. (2022). Transformación Azul. Contribución de la Pesca y la Acuicultura al Nuevo Marco Estratégico de la FAO - COPPESAALC-XVIII-7. <https://openknowledge.fao.org/items/b14f7614-8dbf-42c8-82af-fc71e68bc4ad>
- Farouk, S. M., Yusuf, M. S., El Nabtiti, A. A. S., & Abdelrazek, H. M. A. (2020). Effect of oregano essential oil supplementation on performance, biochemical, hematological parameters and intestinal histomorphometry of Japanese quail (*Coturnix coturnix Japonica*). *Veterinary Research Forum*, 11, 219–227. <https://doi.org/10.30466/vrf.2019.97574.2325>
- Farruggia, D., Di Miceli, G., Licata, M., Leto, C., Salamone, F., & Novak, J. (2024). Foliar application of various biostimulants produces contrasting response on yield, essential oil and chemical properties of organically grown sage (*Salvia officinalis* L.). *Frontiers in Plant Science*, 15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1397489>
- Firmino, J. P., Galindo-Villegas, J., Reyes-López, F. E., & Gisbert, E. (2021). Phytogetic bioactive compounds shape fish mucosal immunity. *Frontiers in Immunology*, 12, 695973. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.695973>

- Frías-Quintana, C. A., Márquez-Couturier, G., Álvarez-González, C. A., Tovar-Ramírez, D., Nolasco-Soria, H., Galaviz-Espinosa, M. A., Martínez-García, R., Camarillo-Coop, S., Martínez-Yañez, R., & Gisbert, E. (2015). Development of digestive tract and enzyme activities during the early ontogeny of the tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41, 1075–1091. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0070-9>
- Frías-Quintana, C., Álvarez-González, C., & Márquez-Couturier, G. (2010). Design of microdiets for the larviculture of tropical gar *Atractosteus tropicus*, Gill 1863. *Universidad Y Ciencia*, 26(3), 265–282. <http://www.scielo.org.mx/pdf/uc/v26n3/v26n3a6.pdf>
- Guerrero-Zárate, R., Olvera-Novoa, M. Á., Jesus-Contreras, R., Frías-Quintana, C. A., Martínez-García, R., & Álvarez-González, C. A. (2024). Evaluation of protein and lipid ingredients through in vitro digestibility for tropical gar (*Atractosteus tropicus*) juveniles. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 52, 47–58. <https://doi.org/10.3856/vol52-issue1-fulltext-3037>
- Hamidpour, M., Hamidpour, R., Hamidpour, S., & Shahlari, M. (2014). Chemistry, pharmacology, and medicinal property of sage (*Salvia*) to prevent and cure illnesses such as obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease, and cancer. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 4, 82–88. <https://doi.org/10.4103/2225-4110.130373>
- Hernández-López, I. A., Tovar-Ramírez, D., De la Rosa-García, S., Álvarez-Villagómez, C. S., Asencio-Alcudia, G. G., Martínez-Burguete, T., Galaviz, M. A., Guerrero-Zárate, R., Martínez-García, R., Peña-Marín, E. S., & Álvarez-González, C. A. (2021). Dietary live yeast (*Debaryomyces hansenii*) provides no advantages in tropical gar, *Atractosteus tropicus* (actinopterygii: Lepisosteiformes: Lepisosteidae), juvenile aquaculture. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 51, 311–320. <https://doi.org/10.3897/AIEP.51.67095>
- Hurtado, R., Peltroche, N., Mauricio, F., Gallo, W., Alvítez-Temoche, D., Vilchez, L., & Mayta-Tovalino, F. (2020). Antifungal efficacy of four different concentrations of the essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) against *Candida albicans*: An in vitro study. *Journal of International Society of Preventive and*

https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_251_20

- Hussein, E. E., El Basuini, M. F., Ashry, A. M., Habiba, M. M., Teiba, I. I., El-Rayes, T. K., Khattab, A. A. A., El-Hais, A. M., Shahin, S. A., El-Ratel, I. T., Badr, M. R., & Dawood, M. A. O. (2023). Effect of dietary sage (*Salvia officinalis* L.) on the growth performance, feed efficacy, blood indices, non-specific immunity, and intestinal microbiota of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture Reports*, 28. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101460>
- Jeena, K., Liju, V. B., Umadevi, N. P., & Kuttan, R. (2014). Antioxidant, Anti-inflammatory and Antinociceptive Properties of Black Pepper Essential Oil (*Piper nigrum* Linn). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 17, 1–12. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2013.831562>
- Jesús-De la Cruz, K. de M., Ávila-Fernández, Á., Peña-Marín, E. S., Jiménez-Martínez, L. D., Tovar-Ramírez, D., Martínez-García, R., Guerrero-Zárate, R., Asencio-Alcudia, G. G., & Alvarez-González, C. A. (2020). Trypsin gene expression in adults and larvae of tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46, 145–155. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00704-8>
- Jiménez Martínez, L. D., Morales García, V., Frías Quintana, C. A., Castillo Collado, A. del C., Asencio Alcudia, G. G., Alvarez Villagomez, C. S., Peña Marín, E. S., Concha Frías, B., & Álvarez-González, C. A. (2021). Quality evaluation of reference gene expression on different tissues in adults of tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Pakistan Journal of Zoology*, 53(1), 1–10. <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/20200913180928>
- Jiménez-Martínez, L. D., Álvarez-González, C. A., De la Cruz-Hernández, E., Tovar-Ramírez, D., Galaviz, M. A., Camarillo-Coop, S., Martínez-García, R., Concha-Frías, B., & Peña, E. (2018). Partial sequence characterization and ontogenetic expression of genes involved in lipid metabolism in the tropical gar (*Atractosteus tropicus*). *Aquaculture Research*, 50(1), 162-172. <https://doi.org/10.1111/are.13879>

- Liu, Y., Sheng, X., Tang, X., Xing, J., Chi, H., & Zhan, W. (2023). Genome-wide identification, phylogenetic relationships and expression patterns of the NOD-like receptor (NLR) gene family in flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 141. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.109083>
- Liu, Y., Yu, X., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., & Chen, W. (2020). The role of MUC2 mucin in intestinal homeostasis and the impact of dietary components on MUC2 expression. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 884–891. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.191>
- Luca, T., Napoli, E., Privitera, G., Musso, N., Ruberto, G., & Castorina, S. (2020). Antiproliferative Effect and Cell Cycle Alterations Induced by *Salvia officinalis* Essential Oil and Its Three Main Components in Human Colon Cancer Cell Lines. *Chemistry and Biodiversity*, 17. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000309>
- Maldonado, A., Cruz, J., Gómez, D., López, L., Fernández, A., Peña-Marín, E, S & Álvarez-González, C. A. (2020). Cultivo de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.31098.85444>
- Manam, Dr. V. K. (2023). Fish feed nutrition and its management in aquaculture. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 11, 58–61. <https://doi.org/10.22271/fish.2023.v11.i2a.2791>
- Maroux, S., Louvard, D., & Barath, J. (1973). The aminopeptidase from hog intestinal brush border. *BBA - Enzymology*, 321, 282–295. [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(73\)90083-1](https://doi.org/10.1016/0005-2744(73)90083-1)
- Márquez-Couturier, G., Vázquez-Navarrete, C. J., Contreras Sánchez, W. M & Álvarez-González, C. A. (2015). Acuicultura tropical sustentable Una estrategia para la producción y conservación del pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) en Tabasco, México. 2da. Ed. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Martínez-Burguete, T., Peña-Marín, E. S., Llera-Herrera, R. A., Jiménez-Martínez, L. D., Martínez-García, R., Alvarez-Villagomez, C. S., & Alvarez-González, C. A. (2023). Identification and expression analysis of transcripts involved in taurine biosynthesis during early ontogeny of tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology*, 285, 111501. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2023.111501>

- Maytorena-Verdugo, C. I., Peña-Marín, E. S., Alvarez-Villagómez, C. S., Pérez-Jiménez, G. M., Sepúlveda-Quiroz, C. A., & Alvarez-González, C. A. (2022). Inclusion of Mannan-Oligosaccharides in Diets for Tropical Gar *Atractosteus tropicus* Larvae: Effects on Growth, Digestive Enzymes, and Expression of Intestinal Barrier Genes. *Fishes*, 7. <https://doi.org/10.3390/fishes7030127>
- Metin, S., Yigit, N. O., Didinen, B. I., Koca, S. B., Ozmen, O., Aslankoc, R., & Kara, N. (2024). Effects of sage (*Salvia officinalis*) essential oil on growth, health and antioxidant capacity of common carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Research Communications*, 48, 911–921. <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10267-y>
- 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>
- Palacios Mejia, M., Arias-Rodriguez, L., Arciniega, M., Rodríguez, V., Barraza Sandoval, J. E., Herrera, N., Marroquín Mora, D. C., Ulloa Rojas, J. B., Márquez Couturier, G., Voelker, G., & Tobler, M. (2023). Conservation genetics of the tropical gar (*Atractosteus tropicus*, Lepisosteidae). *Conservation Genetics*, 24, 405–415. <https://doi.org/10.1007/s10592-023-01509-2>
- Pei, J., Pan, X., Wei, G., & Hua, Y. (2023). Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxitation. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1147414. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1147414>
- Pérez-Jiménez, G. M., Alvarez-Villagomez, C. S., Martínez-Porchas, M., Garibay-Valdez, E., Sepúlveda-Quiroz, C. A., Méndez-Marín, O., Martínez-García, R., Jesús-Contreras, R., Alvarez-González, C. A., & De la Rosa-García, S. del C. (2024). The Indigenous Probiotic *Lactococcus lactis* PH3-05 Enhances the Growth, Digestive Physiology, and Gut Microbiota of the Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae. *Animals*, 14. <https://doi.org/10.3390/ani14182663>
- Pérez-Jiménez, G. M., Peña-Marín, E. S., Maytorena-Verdugo, C. I., Sepúlveda-Quiroz, C. A., Jiménez-Martínez, L. D., De la Rosa-García, S., Asencio-Alcudia, G. G., Martínez, R., Tovar-Ramírez, D., Galaviz, M. A., Martínez-Burguete, T., Alvarez-González, C. A., & Alvarez-Villagomez, C. S. (2022). Incorporation of

- Fructooligosaccharides in Diets Influence Growth Performance, Digestive Enzyme Activity, and Expression of Intestinal Barrier Function Genes in Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae. *Fishes*, 7. <https://doi.org/10.3390/fishes7030137>
- Qiao, X., Roth, J., Féraille, E., & Hasler, U. (2014). Different effects of ZO-1, ZO-2 and ZO-3 silencing on kidney collecting duct principal cell proliferation and adhesion. *Cell Cycle*, 13, 3059–3075. <https://doi.org/10.4161/15384101.2014.949091>
- Robyt, J. F., & French, D. (1967). Multiple attack hypothesis of α -amylase action: Action of porcine pancreatic, human salivary, and *Aspergillus oryzae* α -amylases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 122, 8–16. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(67\)90118-X](https://doi.org/10.1016/0003-9861(67)90118-X)
- Rohani, M. F., Islam, S. M., Hossain, M. K., Ferdous, Z., Siddik, M. A., Nuruzzaman, M., Padeniya, U., Brown, C., & Shahjahan, M. (2022). Probiotics, prebiotics and synbiotics improved the functionality of aquafeed: Upgrading growth, reproduction, immunity and disease resistance in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 120, 569–589. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.12.037>
- Salomón, R., Firmino, J. P., Reyes-López, F. E., Andree, K. B., González-Silvera, D., Esteban, M. A., Tort, L., Quintela, J. C., Pinilla-Rosas, J. M., Vallejos-Vidal, E., & Gisbert, E. (2020). The growth promoting and immunomodulatory effects of a medicinal plant leaf extract obtained from *Salvia officinalis* and *Lippia citriodora* in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 524. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735291>
- Sepúlveda-Quiroz, C. A., Pérez-Jiménez, G. M., Asencio-Alcudia, G. G., Mendoza-Porras, O., Jiménez-Martínez, L. D., Galaviz-Espinoza, M. A., Tovar-Ramirez, D., Martinez-Garcia, R., Alvarez-Villagomez, C. S., & Alvarez-Gonzalez, C. A. (2024). Tryptophan Reduces Intracohort Cannibalism Behavior in Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae. *Fishes*, 9. <https://doi.org/10.3390/fishes9010040>
- Sönmez, A. Y., Bilen, S., Alak, G., Hisar, O., Yanık, T., & Biswas, G. (2015). Growth performance and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus*

- mykiss*) juveniles fed diets supplemented with sage, mint and thyme oils. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41, 165–175. <https://doi.org/10.1007/s10695-014-0014-9>
- Sun, H., Wu, Y., Zhang, Y., & Ni, B. (2021). IL-10-Producing ILCs: Molecular Mechanisms and Disease Relevance. *Frontiers In Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.650200>
- Sutili, F. J., Gatlin, D. M., Heinzmann, B. M., & Baldisserotto, B. (2018). Plant essential oils as fish diet additives: benefits on fish health and stability in feed. *Reviews In Aquaculture*, 10(3), 716-726. <https://doi.org/10.1111/raq.12197>
- Tao, L., Lu, H., Xiong, J., Zhang, L., Sun, W. wen, & Shan, X. feng. (2024). The application and potential of postbiotics as sustainable feed additives in aquaculture. *Aquaculture*, 592, 741237. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741237>
- Versaw, W. K., Cuppett, S. L., Winters, D. D., & Williams, L. E. (1989). An Improved Colorimetric Assay for Bacterial Lipase in Nonfat Dry Milk. *Journal of Food Science*, 54, 1557–1558. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1989.tb05159.x>
- Walter He. (1984). Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer HU (Ed.) *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol. V. Verlag Chemic Weinham, pp 270-277.
- Wang, J., Deng, L., Chen, M., Che, Y., Li, L., Zhu, L., Chen, G., & Feng, T. (2024). Phytogetic feed additives as natural antibiotic alternatives in animal health and production: A review of the literature of the last decade. *Animal Nutrition*, 17, 244-264. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2024.01.012>
- Wang, Y., Shi, H., Li, T., Yu, L., Qi, Y., Tian, G., He, F., Li, X., Sun, N., & Liu, R. (2022). Size-dependent effects of nanoplastics on structure and function of superoxide dismutase. *Chemosphere*, 309. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136768>
- Wuertz, S., Schroeder, A., & Wanka, K. M. (2021). Probiotics in Fish Nutrition—Long-Standing Household Remedy or Native Nutraceuticals? *Water*, 13(10), 1348. <https://doi.org/10.3390/w13101348>

- Yilmaz, S., Yilmaz, E., Dawood, M. A. O., Ringø, E., Ahmadifar, E., & Abdel-Latif, H. M. R. (2022). Probiotics, prebiotics, and synbiotics used to control vibriosis in fish: A review. *Aquaculture*, 547, 737514. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737514>
- Zhao, H., Ren, S., Yang, H., Tang, S., Guo, C., Liu, M., Tao, Q., Ming, T., & Xu, H. (2022). Peppermint essential oil: its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 154, 113559. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113559>

CAPÍTULO II. ARTÍCULO CIENTÍFICO

SUPLEMENTACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE SALVIA (*Salvia officinalis*) EN DIETAS BALANCEADAS PARA LARVAS DE PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*) SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA Y ANTIOXIDANTE Y SISTEMA INMUNE

Jiménez-León, Y.¹, Jiménez-Martínez, L.D.², De La Rosa-García, S.¹, Sepúlveda-Quiróz, C.A.³, Martínez-García, R.¹, Álvarez-González, C.A.¹, Asencio-Alcudia G.G.^{1*}

¹Laboratorio de Fisiología en Recursos Acuáticos, División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (DACBiol-UJAT), Villahermosa, México.

²Laboratorio de Biología Molecular. DAMJM-UJAT, Jalpa de Méndez, Tabasco, México.

³Tecnológico Nacional de México Campus Villahermosa, Km. 3.5 Carretera Villahermosa–Frontera, Cd. Industrial, Villahermosa 86010, Tabasco, México.

RESUMEN

El pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) tiene una gran importancia ecológica, económica y cultural en el sureste de México, donde la acuicultura está en auge y los peces se ven expuestos con frecuencia a situaciones de estrés. En este sentido, los aditivos alimentarios como la salvia (*Salvia officinalis*) refuerzan el crecimiento, el sistema inmunológico, las capacidades antioxidantes y digestivas de los organismos. Se llevó a cabo un experimento de 30 días con larvas para determinar el efecto de diferentes concentraciones de aceite esencial de salvia (tratamientos con 0 %, 0,5 %, 1 %, 1,5 % y 2 %) añadido a dietas equilibradas. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos con suplementos de aceite de salvia al 0,5 % y al 2 % en cuanto al peso medio. Las actividades más altas de proteasas ácidas y alcalinas, quimotripsina, leucina aminopeptidasa, amilasa y lipasa se obtuvieron en los tratamientos suplementados con aceite de salvia. Por el contrario, la tripsina mostró la actividad más alta en el tratamiento con 0 %, seguido de las dietas con 0,5 % y 2 % de aceite de salvia. En cuanto a la actividad enzimática antioxidante de GPx, CAT y SOD, la actividad más alta se obtuvo en la dieta con 1 % de aceite de salvia, mientras que en PEROx, la actividad más alta se registró en el tratamiento con suplementos de 0 %, 1,5 % y 2 % de *S. officinalis*. Por otro lado, en cuanto a la

expresión génica relativa, se observó la mayor expresión en los tratamientos suplementados con salvia para los genes *nod*, *zo-1*, *zo-2* y *occ*, mientras que para *il-10* y *muc2*, se observó la menor expresión en los tratamientos suplementados. Estos hallazgos sugieren que la incorporación de aceite esencial de salvia en las dietas de las larvas de pejelagarto, principalmente en los tratamientos con 0.5 % y 1 %, tiene potencial para mejorar las prácticas de acuicultura de esta importante especie; se necesita más investigación para determinar la dosis óptima y los efectos a largo plazo.

Palabras clave: pejelagarto, salvia, aceite esencial, suplementación, aditivos, fisiología, acuicultura, sistema inmunológico.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, debido al crecimiento demográfico en el mundo, se han buscado alternativas que permitan abastecer de alimento de alta calidad a la población humana, por lo que la acuicultura se ha consolidado como un sector clave en la producción de estos (FAO, 2022). En este sentido, se están desarrollando alimentos balanceados utilizando la fisiología digestiva como elemento fundamental para que sean de alta digestión y absorción (Manam, 2023). Adicionalmente, este tipo de alimentos balanceados para la acuicultura puedan ser adicionados con prebióticos, probióticos, postbióticos, simbióticos, aditivos funcionales, y fitogénicos que promuevan la salud de las especies, lo que permitirá que los organismos acuáticos tengan un óptimo crecimiento y un sistema inmunitario estimulado para lidiar con posibles patógenos oportunistas (Rohani *et al.*, 2022; Manam, 2023; Wang *et al.*, 2024).

Los aditivos funcionales son ingredientes dietéticos incorporados en las formulaciones para animales, los cuales además de complementar los requerimientos nutricionales básicos de los organismos, proporcionan otros beneficios como es la mejora en el crecimiento, las respuestas inmunitarias y la resistencia a las enfermedades (Onomu & Okuthe, 2024), por lo que han sido clasificados de acuerdo con su uso en prebióticos, que funcionan a nivel del sistema digestivo (De La Cruz-Marín *et al.*, 2023; Pérez-Jiménez *et al.*, 2022), probióticos, los cuales son microorganismos que se adhieren a las vellosidades intestinales y evitan la unión por competitividad de patógenos oportunistas, además de liberar metabolitos secundarios que benefician la salud del hospedero (Hernández-López *et al.*, 2021; Wuertz *et al.*,

2021), postbióticos, que son subproductos bacterianos no viables y componentes celulares de los probióticos los cuales son capaces de provocar efectos fisiológicos similares a los de los probióticos y actúan en conjunción con el microbioma intestinal (Tao *et al.*, 2024), simbióticos, que son adiciones de pre y probióticos que se mezclan en el alimento o el agua a fin de promover un cambio en el microbioma de los hospederos y mejorar la calidad del agua de los sistemas de cultivo (Yilmaz *et al.*, 2022) y los fitogénicos, que son compuestos bioactivos obtenidos a partir de plantas, los cuales se clasifican en hidroalcohólicos y aceites esenciales, y que recientemente han sido incluidos en los alimentos balanceados en bajas concentraciones, teniendo propiedades promotoras del crecimiento, antimicrobianas, inmunoestimulantes, antiinflamatorias, sedantes y antioxidantes en varias especies animales (Firmino *et al.*, 2021).

Con relación a lo anterior, se han identificado diversos aceites esenciales como el de pimienta, orégano, canela, menta, y *Salvia* sp., los cuales han sido utilizados en humanos y animales con diversos beneficios en la salud (Farouk *et al.*, 2020; Hurtado *et al.*, 2020; Jeena *et al.*, 2014; Metin *et al.*, 2024; Zhao *et al.*, 2022), además de potenciar la capacidad antioxidante en los organismos que los consumen, por lo que promueven la síntesis y liberación de enzimas como la glutatión peroxidasa (Gpx), que es una selenoenzima que reduce las especies reactivas de oxígeno (ROS) y limita su toxicidad, catalizando la reducción de peróxido de hidrógeno o hidroperóxidos orgánicos a agua o alcoholes correspondientes (Pei *et al.*, 2023); la catalasa (CAT), que es una hemoenzima que actúa como oxidorreductasa, donde la descomposición del peróxido de hidrógeno que a su vez mitiga el estrés oxidativo, resultante del desequilibrio en los niveles de especies reactivas de oxígeno y antioxidantes (Ali *et al.*, 2022); el superóxido dismutasa (SOD), que cataliza la dismutación del anión superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno protegiendo así a las células del daño oxidativo causado por las especies reactivas de oxígeno, de manera que la inactivación de SOD puede inducir o agravar el estrés oxidativo (Wang *et al.*, 2022); y la peroxidasa (PEROx), la cual cataliza la oxidación de diversos compuestos al interactuar con peróxido de hidrógeno y compuestos afines (de Oliveira *et al.*, 2021).

Por su parte, el aceite esencial de la salvia (*Salvia officinalis*) es un compuesto rico en esteroides, polifenoles, triterpenoides, diterpenoides y sesquiterpenoides, además, tiene potentes propiedades antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes,

anticancerígenas, anticolinesterásicas y antiinflamatorias, así como una gran capacidad para mejorar el estado de ánimo y la función cognitiva (Farruggia *et al.*, 2024). Su obtención se realiza por medio de hidrodestilación, destilación al vapor, ensilado asistido por enzimas, extracción con disolventes orgánicos convencionales o extracción casi crítica (líquida o supercrítica) utilizando CO₂ (Conde-Hernández *et al.*, 2021). Es así como el aceite esencial contiene biomoléculas naturales que no se alteran durante el proceso de extracción y al incluirse en los alimentos tienen propiedades bioestimulantes que potencian el sistema inmune por la activación de como las mucinas, interleucinas, ocludinas, claudinas y dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (Durling *et al.*, 2007). Dentro de las mucinas se encuentra *muc-2*, la cual tiene un papel importante en la protección y el mantenimiento de la homeostasis intestinal; por lo tanto, los niveles reducidos de *muc2* pueden estar relacionados con diversas enfermedades intestinales (Liu *et al.*, 2020). Del grupo de las interleucinas se tiene a *il-10*, que sintetiza una proteína clave en la regulación de la respuesta inflamatoria, donde al interactuar con diversas células inmunitarias, bloquea su activación y capacidad para producir sustancias inflamatorias, por lo que contribuyen a mantener la homeostasis tisular (Sun *et al.*, 2021). Del grupo de las ocludinas se encuentran *zo-1* y *zo-2*, las cuales desempeñan un papel importante en la formación y mantenimiento de las uniones estrechas entre las células epiteliales, que sellan el espacio intercelular, formando una barrera que regula el paso de sustancias entre los tejidos protegiendo la integridad de los órganos (Qiao *et al.*, 2014). Por su parte, las claudinas como la *occ* que sintetiza una proteína que actúa como una barrera entre las células regulando la permeabilidad celular, ejerciendo un papel esencial en el mantenimiento de la homeostasis vascular (Du *et al.*, 2022); finalmente, del grupo de moléculas del dominio de oligomerización de unión a nucleótidos se tiene a *nod 2*, la cual sintetiza una proteína la cual ayuda a detectar la presencia de sustancias extrañas o dañinas, desencadenando una respuesta de alarma que activa el sistema inmunitario (Liu *et al.*, 2023).

Con base en lo anterior, se ha estudiado los beneficios que el aceite de *Salvia* en diversas especies, como es el caso de un estudio realizado por Alanazi *et al.* (2023) donde estudiaron el efecto de la combinación del aceite de salvia y la timoquinona sobre la hiperglucemia, el estrés oxidativo, la presión arterial y el perfil lipídico en ratas alimentadas con una dieta rica en grasas, donde resaltan que la combinación de estos

compuestos exhibió acciones hipoglucémicas, hipolipidémicas y antioxidantes, por lo que podría ser una valiosa adición al manejo de la diabetes. Asimismo, se han realizado investigaciones para conocer el efecto del aceite de *Salvia* en algunas especies de peces, tales como híbridos de tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*), trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), dorada (*Sparus aurata*), lubina europea (*Dicentrarchus labrax*) y carpa común (*Cyprinus carpio*), donde encontraron que la adición del aceite mejora los valores productivos de grasa al disminuirla, aumenta el crecimiento somático y la eficiencia alimenticia, causa un efecto positivo ante el estrés oxidativo, mejora de la respuesta inmune sistémica y los índices sanguíneos, equilibra el microbioma intestinal y aumenta la fertilidad en los reproductores (El-Kholy, 2012; Sönmez *et al.*, 2015; Salomón *et al.*, 2020; Hussein *et al.*, 2023; Metin *et al.*, 2024).

Por otro parte, el pejelagarto (*Atractosteus tropicus*, Gill 1863) es un pez de la familia Lepisosteidae distribuido desde el sureste de México hasta Centroamérica comprendiendo el litoral de Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua y Costa Rica (Daniels & Maiz-Tome, 2018); el cultivo del pejelagarto se divide en cuatro fases principales: reproducción, larvicultivo, pre-engorda y engorda (Maldonado *et al.*, 2020; Márquez-Couturier *et al.*, 2015), donde una adecuada alimentación y nutrición son fundamentales para lograr un buen estado de salud de los organismos y su capacidad para enfrentar enfermedades en cautiverio (Arellano-Carrasco, *et al.*, 2023).

En este contexto, se han realizado diversos estudios en pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) enfocados en su genética (Arias-Rodríguez *et al.*, 2009; Del Río-Portilla *et al.*, 2016; Jiménez-Martínez *et al.*, 2018; Jesús-De la Cruz *et al.*, 2020; Jiménez Martínez *et al.*, 2021; Martínez-Burguete *et al.*, 2021; Palacios Mejía *et al.*, 2023), uso de aditivos, prebióticos y probióticos (Arellano-Carrasco, *et al.*, 2023; De La Cruz-Marín *et al.*, 2023; Hernández-López *et al.*, 2021; Maytorena-Verdugo *et al.*, 2022; Pérez-Jiménez *et al.*, 2022), fisiología digestiva (Cigarroa-Ruiz *et al.*, 2023; Pérez-Jiménez *et al.*, 2024) y nutrición y uso de ingredientes (Frías-Quintana *et al.*, 2010; Frías-Quintana *et al.*, 2015; Guerrero-Zárate *et al.*, 2024; Sepúlveda-Quiroz *et al.*, 2024). De esta manera, *A. tropicus* ha sido estudiado a fin de comprender los procesos metabólicos, bioquímicos y moleculares que permitan potenciar el paquete tecnológico para su cultivo en la región sureste de México. Por lo que resulta relevante, evaluar el efecto de la suplementación de aceite esencial de *Salvia*

officinalis en dietas balanceadas para larvas de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) sobre el crecimiento, supervivencia, actividad enzimática digestiva y antioxidante, y expresión de genes del sistema inmune y antioxidantes.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El aceite esencial de *Salvia officinalis* utilizado en este estudio fue adquirido en la Perfumería Roxana, un establecimiento local ubicado en Avenida José María Pino Suárez 702, Colonia Arboledas, Centro, Villahermosa, Tabasco, México; para lo cual se caracterizó a través de un análisis cromatográfico y por medio de pruebas antimicrobianas.

2.1. Caracterización cromatográfica

Para conocer los principales compuestos volátiles presentes en el aceite esencial de salvia (*Salvia officinalis*) se realizaron los análisis pertinentes en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ), donde los compuestos fueron identificados mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) y posteriormente cuantificados por cromatografía de gases con detección de ionización de flama (GC-FID) bajo condiciones analíticas traducidas. La identificación tentativa de los compuestos de mayor abundancia separados en la muestra se realizó por comparación de los espectros de masa de los picos cromatográficos en el cromatograma de iones totales (TIC), con los de la base espectral NIST14, así como por comparación de IR disponibles en la literatura.

2.2. Actividad antimicrobiana

Se evaluó la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Salvia officinalis* utilizando los métodos de difusión en pozo de agar y difusión en disco contra un panel de microorganismos patógenos para los peces. Las cepas bacterianas analizadas fueron: *Aeromonas hydrophila* (NCIBM 11343), *Aeromonas dhakensis* (CAIM 1873), *Aeromonas ichthiosmia* (CAIM 1876), *Staphylococcus arlettae* (CAIM 658 y UJAT 002), *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 17802), *Vibrio harveyi* (CAIM 1622), *Vibrio campbellii* (CIBGEN 001), *Vibrio diabolicus* (CIBGEN 002) y *Photobacterium damsela* (CAIM 1910). Los organismos de prueba se cultivaron en caldo tripticasa-soja (TSB) a 28 °C durante 24 h. A continuación, las suspensiones bacterianas se ajustaron a 1×10^8 UFC/mL utilizando un estándar de 0.5 McFarland. Para cada

ensayo, se homogeneizaron 3.5 mL de la suspensión bacteriana ajustada en 31.5 mL de agar Mueller-Hinton fundido (enfriado a 45-50 °C) y la mezcla se vertió inmediatamente en placas Petri cuadradas estériles (10 × 10 cm) previamente equipadas con 12 cilindros de acero inoxidable (6 mm de diámetro). Cada pozo se llenó con 100 µL de aceite esencial de *S. officinalis* en tres concentraciones: sin diluir, al 50 % y al 25 % (v/v en DMSO). Se utilizó DMSO estéril:agua (50:50, v/v) como control negativo, y amikacina (100 µg/mL) como control positivo. Las placas se incubaron a 28 °C durante 24 h, tras lo cual se midió el diámetro de las zonas de inhibición en milímetros con un calibrador digital. Para el ensayo de difusión en disco, se impregnaron discos de papel estériles (6 mm de diámetro) con 10 µL de las mismas concentraciones de aceite esencial (sin diluir, al 50 % y al 25 %) y se colocaron sobre la superficie del agar inoculado. Las placas se incubaron en las mismas condiciones y las zonas de inhibición se midieron después de 24 h. Todos los ensayos se realizaron por triplicado para cada cepa y concentración. La actividad antimicrobiana se expresó como el diámetro (mm) de las zonas de inhibición, incluyendo el diámetro del pozo o del disco.

2.3. Muestreo y larvicultura

Los eleuteroembriones de *A. tropicus* (2000 individuos) se obtuvieron de un lote de reproductores del Laboratorio de Fisiología en Recursos Acuáticos (LAFIRA) de la División Académica de Ciencias Biológicas en la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, donde se indujo el desove de una hembra (3.4 kg, 91 cm) mediante la aplicación intramuscular de la hormona LHRHa (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Alemania) (30 µg/Kg pez). Posteriormente, la hembra y los tres machos (1.6 kg, 35 cm, sin inducción hormonal) se colocaron en un tanque circular (2000 L) con hilo de rafia para simular el sitio natural de desove. Los eleuteroembriones de 1 día de nacidos (0.1 ± 0.06 g) se colocaron en un sistema de recirculación que consta de 18 tanques circulares de 70 L, alimentado por una bomba de agua de 0.5 HP (Jacuzzi, JWPA5D-230A, Delavan, WI, EE. UU.) y un reservorio de 1000 L para deposición de sólidos y un filtro biológico. Una vez que se absorbió el vitelo (3 días después de la eclosión, DDE), se inició el bioensayo, el cual tuvo una duración de 30 días (periodo larvario a juvenil), donde se realizaron biometrías cada 15 días para monitorear el crecimiento. El protocolo de alimentación inició a partir del suministro con nauplios de *Artemia* (5 nauplios/mL) desde la absorción de vitelo (3 DDE) y hasta los 30 DDE. A

partir de los 7 DDE se inició el proceso de co-alimentación mezclando los nauplios de Artemia con los alimentos balanceados experimentales y a partir de los 10 DDE se suministraron exclusivamente los alimentos experimentales considerando un 5% en función de la biomasa total y ajustándolo periódicamente a medida que los peces crecieron cinco veces al día (08:00, 10:30, 13:00, 16:00 y 18:00 h).

2.4. Diseño experimental

El bioensayo consistió en cinco tratamientos (dosis de suplementación de aceite de *Salvia officinalis*) en el alimento: 0%, 0.5%, 1%, 1.5% y 2% con tres réplicas por tratamiento, para lo cual se mantuvieron 100 larvas por tanque, con una capacidad de 70 L, bajo un sistema de recirculación. Los parámetros de calidad del agua se controlaron diariamente, con una temperatura de 26 ± 1 °C, con oxígeno disuelto de 4.5 ± 0.1 mg L⁻¹, un pH de 7.3 ± 0.2 y un fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad.

2.5. Preparación de los alimentos microparticulados

Para la preparación de los alimentos experimentales, se tamizaron las harinas y se utilizó el protocolo de acuerdo con el procedimiento de Sepúlveda-Quiróz *et al.* (2024) (Tabla 1). Para verificar los niveles de proteína, lípidos, ceniza y fibra de las dietas, se realizaron los análisis químico-proximales en la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California, México, de acuerdo con la AOAC. (2000).

Tabla 1. Composición de las dietas experimentales con diferentes concentraciones de aceite esencial de *Salvia officinalis*.

| Ingredientes g/kg | Concentración del aceite esencial de <i>Salvia officinalis</i> (%) | | | | |
|-----------------------------|--|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | 0.5 | 1 | 1.5 | 2 |
| Harina de pescado | 431 | 431 | 431 | 431 | 431 |
| Harina de ave | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 |
| Harina de cerdo | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 |
| Almidón de maíz | 159 | 154 | 149 | 144 | 139 |
| Aceite de <i>Salvia</i> sp. | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 |
| Aceite de pescado | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| Lecitina de soya | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| Grenetina | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Vit. Min premix | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Vitamina C | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |

| Composición química (g/100 g materia seca) | | | | | |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|
| Energía (Kj/g) | 17.69 | 17.70 | 17.67 | 17.71 | 17.68 |
| Proteína (%) | 43.69 | 44.57 | 43.33 | 42.99 | 43.14 |
| Extracto de éter (%) | 15.05 | 14.77 | 14.93 | 15.16 | 15.08 |
| Fibra (%) | 1.03 | 1.13 | 1.19 | 0.99 | 1.13 |
| Ceniza (%) | 15.06 | 14.92 | 14.16 | 15.26 | 14.38 |
| NFE (%) | 25.27 | 24.68 | 26.43 | 25.68 | 26.25 |

2.6. Muestreo de los peces

Al finalizar el bioensayo, las larvas (5 individuos por tina, N=15 por tratamiento) fueron sacrificadas por medio de una sobredosis de anestésico (aceite de clavo, 0.1 mL/L de agua). Cada individuo se disectó para extraer el paquete visceral, para después ser homogeneizados en pull por réplica biológica con un disruptor de tejidos Ultraturax en 5 volúmenes (p/v) de agua destilada fría (4 °C) y se centrifugaron a 12,000 rpm durante 15 minutos a 4 °C. Se recuperó el sobrenadante y se almacenó a -80 °C hasta su análisis.

2.7. Análisis de enzimas digestivas

Para la determinación de las actividades enzimáticas digestivas, previamente se calculó la proteína soluble de cada extracto multienzimático con la técnica de Bradford (1976). A partir de estos extractos se determinó la actividad de proteasa alcalina, proteasa ácida, tripsina, quimotripsina, leucina aminopeptidasa, lipasa y amilasa.

La actividad tipo proteasa alcalina se estimó por el método de Walter (1984) con caseína al 0.25% como sustrato el tampón Tris/HCl 50 mM a pH 9. La proteasa ácida (actividad pepsina) se midió con la técnica de Anson (1938), en que la hemoglobina al 0.25% en tampón Glicina/HCl 0.1mM, pH 2 fue el sustrato. Las mezclas se incubaron a 37°C, la reacción se detuvo mediante la adición de 0.5 mL de TCA al 10%; la absorbancia de los productos de reacción se midió a 280 nm en un espectrofotómetro de luz. La unidad de actividad enzimática se definió como 1 µg de tirosina liberada por minuto, esto con base en el coeficiente de extinción molar (0.005 mL µg⁻¹ cm⁻¹). La actividad de tripsina se midió conforme a lo descrito por Erlanger *et al.* (1961), a 37°C y con BAPNA (N-α-benzoyl-DL-arginine p-nitroanilide) como sustrato en el tampón Tris-HCl 50 mM a pH 8.2 (con CaCl₂ 10 mM). La actividad de quimotripsina se identificó con el método de DelMar *et al.* (1979) a 37°C con SAAPNA (N-succinyl-ala-ala-pro-phe p-nitroanilide) como sustrato en DMSO 10 mM y Tris/HCl

100 mM (con CaCl₂ 10 mM) a pH 7.8. La actividad Leucina-aminopeptidasa se determinó en Leucina p-Nitroanilida en DMSO 0.1 mM, usando el tampón fosfato sódico 50 mM, pH 7.2 a 37°C (Maroux *et al.*, 1973). En las técnicas descritas anteriormente las reacciones se detuvieron con ácido acético al 30%; mientras que la actividad enzimática se definió como 1 µg de nitroanilida liberada por minuto, usando el coeficiente de extinción molar de tripsina (8.8), de quimotripsina y de leucina-aminopeptidasa (8.2 mL µg⁻¹ cm⁻¹). La actividad de amilasa se determinó de acuerdo con Robyt y Whelan (1967) usando almidón al 2% como sustrato en tampón citrato-fosfato 100 mM + NaCl 50 mM, pH 7,5; el producto de reacción se midió a 600 nm. La actividad de lipasa se determinó de acuerdo con la técnica de Versaw *et al.* (1989) usando acetato de β-naftilo 100 mM como sustrato en tampón Tris-HCL 50 mM (pH 7,5) con colato de sodio 100 mM; la reacción se midió a 540 nm.

La actividad específica de los extractos se expresó usando las siguientes ecuaciones: 1) Unidades por ml = (Δ_{abs} x volumen final de reacción (mL) / (MEC x tiempo (min) x volumen del extracto (mL)) y 2) Unidades por mg de proteína = Unidades por ml / mg de proteína soluble, donde el Δ_{abs} representa el incremento de absorbancia a una determinada amplitud de onda y MEC representa el coeficiente de extinción molar para el producto de la reacción (mL µg⁻¹ cm⁻¹). Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

2.8. Análisis de enzimas antioxidantes

Para la evaluación de las enzimas antioxidantes, se utilizaron los extractos previamente obtenidos y se realizaron las mediciones de las siguientes enzimas: los niveles de glutatión peroxidasa (GPx) se determinó cinéticamente utilizando el kit de ensayo de la actividad celular del glutatión peroxidasa (Cat. CGP1, Sigma-Aldrich, MI, EE. UU.). La actividad enzimática de catalasa (CAT) se determinó utilizando el kit cinético específico (Cat. 707002, Cayman Chem., Ann Arbor, MI, EE. UU.). Se utilizó el kit de ensayo de superóxido dismutasa (SOD) (Cat. 19160, Sigma-Aldrich Corp., MI, EE. UU.) para examinar las actividades en las larvas. Para determinar la actividad de la peroxidasa (PEROx) se utilizó el kit de ensayo (Cat. T5525, 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine, Sigma-Aldrich, MI, EE. UU.). Las actividades de las enzimas antioxidantes se normalizaron con respecto al contenido de proteínas solubles mediante la técnica de Bradford (1976) antes mencionada. Las actividades SOD,

GPx, PEROx (U/mg de proteína) y CAT (nm/min/mg de proteína) se calcularon de acuerdo con las instrucciones del proveedor.

2.9. Análisis de la expresión de genes del sistema inmune

El ARN total de los tejidos se extrajo utilizando el kit RNeasy Mini (Qiagen, Hilden, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración y pureza del ARN se determinó por espectrofotometría (NanoDrop2000, Thermo Fisher Scientific, Madrid, España), midiendo la absorbancia a $\lambda = 260$ y 280 nm. La integridad del ARN extraído se verificó con la visualización de las bandas de ARN ribosómico 28S y 18S mediante separación electroforética en un gel de agarosa al 1.2%. Para la síntesis de ADNc, el ARN se transcribió inversamente en $20 \mu\text{L}$ por volumen de reacción con $2 \mu\text{g}$ de ARN total utilizando SuperScript™ First Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen, Waltham, EE. UU.) con oligo (dT) ($0.5 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$), cebadores hexámeros aleatorios ($50 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$) y mezcla de dNTP de 10 mmol L^{-1} , $10 \times$ tampón RT [200 mmol L^{-1} Tris-HCl (pH = 8.4), 500 mmol L^{-1} KCl], 25 mmol L^{-1} MgCl₂, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ DTT, RNaseOUT ($40 \text{ U } \mu\text{L}^{-1}$) y SuperScript™ II RT, seguido de tratamiento con RNasa H. El ADNc resultante se diluyó 1:20 en agua tratada con DEPC, y las diluciones preparadas se utilizaron para el análisis de la expresión génica.

Las reacciones qPCR se realizaron por triplicado para los seis individuos por tratamiento en un CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, Madrid, España). Cada reacción ($20 \mu\text{L}$) contenía $10 \mu\text{L}$ de SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix (Life Technologies, Carlsbad, California, EE. UU.), $0.50 \mu\text{L}$ de primer sentido, $0.50 \mu\text{L}$ del primer antisentido, $2 \mu\text{L}$ de muestra de ADNc y $7 \mu\text{L}$ de agua libre de RNasa/DNasa. El protocolo de qPCR en tiempo real comenzó a $95 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 3 min, seguido de 40 ciclos de 15 s a $95 \text{ }^\circ\text{C}$ seguidos de 30 s a la temperatura de recocido específica para cada par de primers, seguidos de 30 s a $72 \text{ }^\circ\text{C}$ con un paso final de curva de fusión para establecer la curva estándar de cada amplicón. La expresión relativa se calculó utilizando el software CFX Manager 3.0 (Bio-Rad, Madrid, España), con el factor de elongación 1 alfa ($EF1\alpha$) como control endógeno, mientras que las muestras basales (control) y los grupos de salvia se utilizaron para normalizar la cuantificación relativa dentro de cada grupo de dieta experimental. Todas las muestras se realizaron por triplicado con un control negativo (sin enzima RT) incluido para confirmar la ausencia de contaminación por ADN genómico y un control negativo adicional en cada placa que no contenía ADNc. Los primers utilizados

en este estudio fueron previamente diseñados a partir del transcriptoma de larvas de *A. tropicus* BioProject PRJNA395289 y publicado por Martínez-Burguete *et al.* (2021).

Tabla 2. Diseño de oligonucleótidos para la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) de genes del sistema inmune y antioxidante de larvas de *A. tropicus*.

| Nombre del gen | Símbolo | Secuencia de cebadores (5'-3') | Tamaño del amplicón (pb) | Referencia |
|--|--------------|---|--------------------------|---|
| Factor de elongación 1 | <i>ef-1</i> | FW: ACGCTGAAGGCCGGCATGGTG RV: GGATGTCCTTCACCGACACGTTTC | - | (Sepúlveda-Quiroz <i>et al.</i> , 2020) |
| Mucina 2 | <i>muc-2</i> | FW:GGCCTCCTCAAGAGCACGGTG RV:TCTGCACGCTGGAGCACTCAATG | 100 | (Nieves-Rodriguez <i>et al.</i> , 2018) |
| Interleucina-10 | <i>il-10</i> | FW: TTATAAAGCCATGGGGGAGCTG RV: CTGCACAGTCTGCCTCTAGT | 91 | (Perez-Jiménez <i>et al.</i> , 2024) |
| Zonula occludens 1 | <i>zo-1</i> | FW: TGTGCCTCAGATCACTCCAC RV: AAAGGCAGAGGGTTGGCTTC | 123 | (Perez-Jiménez <i>et al.</i> , 2022) |
| Zonula occludens 2 | <i>zo-2</i> | FW: TACCCATGGAAAATGTGCCTCA RW: CGGGGTCTCTTCACGGTAAT | 88 | (Perez-Jiménez <i>et al.</i> , 2022) |
| Ocludina | <i>occ</i> | FW: TGACGAATACCACAGACTGAAG RW: CGATCATAGTCGCTGACCATC | 123 | (Sepúlveda-Quiroz <i>et al.</i> , 2020) |
| Oligomerización de unión a nucleótidos | <i>nod-2</i> | FW: GTAGTGAACAAGGAGGCGGAC RV: TGAGCTCATCCAGGCCATCG | 295 | (Sepúlveda-Quiroz <i>et al.</i> , 2020) |

2.10. Análisis estadístico

Para evaluar el crecimiento, se realizaron pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y homocedasticidad (Levene), respectivamente. Posteriormente se realizó un análisis de varianza de una vía para determinar la existencia de diferencias entre tratamientos para cada criterio de calidad y la prueba *post hoc* de Tukey. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Graph Pad Prism 10 (La Jolla, CA, EE. UU.) utilizando un valor de significancia de 0.05.

3. RESULTADOS

3.1. Caracterización cromatográfica

Mediante la caracterización cromatográfica se identificaron los compuestos volátiles predominantes presentes en el aceite de *S. officinalis*, característicos por sus

propiedades bioactivas, entre los que destacan el alcanfor, 1,8-Cineol, α -Pineno, D-Limoneno y el acetato de linalilo.

Tabla 3. Principales componentes volátiles cuantificados en el aceite esencial de salvia analizado mediante GC/FID.

| Nombre del Compuesto | % Area |
|------------------------------|---------------|
| Camphor | 27.368 |
| 1,8-Cineole | 18.514 |
| α -Pinene | 11.547 |
| D-Limonene | 8.582 |
| Linalyl acetate | 5.981 |
| Camphene | 4.641 |
| Borneol | 4.014 |
| Bornyl acetate | 2.978 |
| β -Pinene | 2.886 |
| α -Terpineol | 1.815 |
| Linalool | 1.672 |
| β -Myrcene | 1.368 |
| α -Terpinyl acetate | 1.272 |
| trans-Sabinyl acetate | 1.072 |
| Sabinene | 0.774 |
| β -Caryophyllene | 0.636 |
| p-Cymene | 0.591 |
| cis-p-Mentha-2,8-dien-1-ol | 0.558 |
| 4-Terpineol | 0.412 |
| γ -Terpinene | 0.321 |
| α -Humulene | 0.187 |
| Tricyclene | 0.185 |
| Geranyl propionate | 0.184 |
| α -Terpinolene | 0.165 |
| Spathulenol | 0.142 |
| Geranyl acetate | 0.141 |
| α -Thujene | 0.114 |
| Bicyclogermacrene | 0.089 |
| Viridiflorol | 0.083 |
| β -Caryophyllene oxide | 0.071 |
| trans- β -Ocimene | 0.067 |
| cis-Sabinene hydrate | 0.063 |
| cis- β -Ocimene | 0.053 |
| δ -Cadinene | 0.052 |
| α -Phellandrene | 0.05 |
| Bornyl propionate | 0.046 |
| Myrtenol | 0.045 |
| α -Terpinene | 0.041 |
| Neryl acetate | 0.039 |

| | |
|------------------------------|-------|
| α -Campholenal | 0.038 |
| Isoborneol | 0.033 |
| Pinocarvone | 0.033 |
| cis-Linalool oxide | 0.031 |
| p-Cymen-8-ol | 0.031 |
| α -Gurjunene | 0.03 |
| α -Muurolene | 0.029 |
| δ -Terpinyl acetate | 0.028 |
| trans-p-Mentha-2,8-dien-1-ol | 0.026 |
| γ -Cadinene | 0.024 |
| Longifolene | 0.023 |
| Fenchol | 0.022 |
| β -Elemene | 0.021 |
| Thujone | 0.02 |
| Shyobunol | 0.019 |
| tau.-Cadinol | 0.017 |
| δ -3-carene | 0.015 |
| Carvacrol | 0.015 |
| Alloaromadendrene | 0.013 |
| Aromadendrene | 0.011 |
| α -Cadinol | 0.01 |

3.2. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *S. officinalis*

Se evaluó la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *S. officinalis* contra diez bacterias patógenas para los peces mediante ensayos de difusión en pozo de agar y difusión en disco a tres concentraciones: sin diluir, al 50 % y al 25 %. En ambos ensayos se observó un efecto dependiente de la dosis, con una disminución progresiva del diámetro de la zona de inhibición a medida que disminuía la concentración del aceite esencial (Tabla 4). En el ensayo de difusión en pozo, el aceite mostró una actividad de amplio espectro, inhibiendo el crecimiento de todas las cepas bacterianas analizadas, independientemente de la concentración aplicada. El mayor efecto antimicrobiano se registró contra las bacterias Gram-negativas, en particular las del género *Aeromonas*. A la concentración más alta, se observaron zonas de inhibición de 20.11 mm, 19.95 mm y 19.66 mm para *A. hydrophila*, *A. dhakensis* y *A. ichthiosmia*, respectivamente (Fig. 1). También se observó una inhibición moderada contra *V. harveyi*, *V. parahaemolyticum* y *V. campbellii*, con halos que oscilaban entre 18.71 mm y 13.61 mm, dependiendo de la dilución. La zona de inhibición más grande se registró para *Vibrio diabolicus*, con un diámetro de 22.43 mm. Por el contrario, las cepas Gram-positivas de *Staphylococcus arlettae* (CAIM 658 y UJAT 002) mostraron

la menor sensibilidad, con zonas de inhibición que oscilaron entre 16.68 mm y 12.51 mm.

Tabla 4. Zonas de inhibición (mm) del aceite esencial de *Salvia officinalis* contra bacterias patógenas de peces, evaluadas mediante ensayos de pozo de agar y difusión en disco a tres concentraciones.

| No. Colección | Microorganismo | Aceite esencial de <i>Salvia officinalis</i> (%) | | | | | |
|---------------|--------------------------------|--|-------|-------|------------------------|-------|-------|
| | | Difusión en pozo (mm) | | | Difusión en disco (mm) | | |
| | | 100 | 50 | 25 | 100 | 50 | 25 |
| NCIBM 11343 | <i>Aeromonas hydrophila</i> | 20.11 | 15.95 | 12.76 | 15.04 | 12.48 | 9.92 |
| CAIM 1873 | <i>Aeromonas dhakensis</i> | 19.95 | 16.12 | 13.17 | 12.64 | 10.72 | 7.52 |
| CAIM 1876 | <i>Aeromonas ichthiosmia</i> | 19.66 | 15.11 | 13.61 | 8.16 | 7.36 | 7.52 |
| CAIM 658 | <i>Staphylococcus arlettae</i> | 16.68 | 14.35 | 12.69 | NA | NA | NA |
| UJAT 002 | <i>Staphylococcus arlettae</i> | 15.94 | 13.83 | 12.51 | NA | NA | NA |
| ATCC 17802 | <i>Vibrio parahaemolyticum</i> | 19.80 | 17.50 | 13.91 | 13.60 | 11.41 | 9.14 |
| CAIM 1622 | <i>Vibrio harveyi</i> | 18.71 | 15.90 | 13.61 | NA | NA | NA |
| CIBGEN 001 | <i>Vibrio campbellii</i> | 19.35 | 16.47 | 14.00 | 9.80 | NA | NA |
| CIBGEN 002 | <i>Vibrio diabolicus</i> | 22.43 | 18.98 | 16.05 | 9.74 | 9.43 | 7.52 |
| CAIM 1910 | <i>Photobacterium damsela</i> | 17.97 | 16.12 | 14.42 | 14.45 | 12.60 | 11.17 |

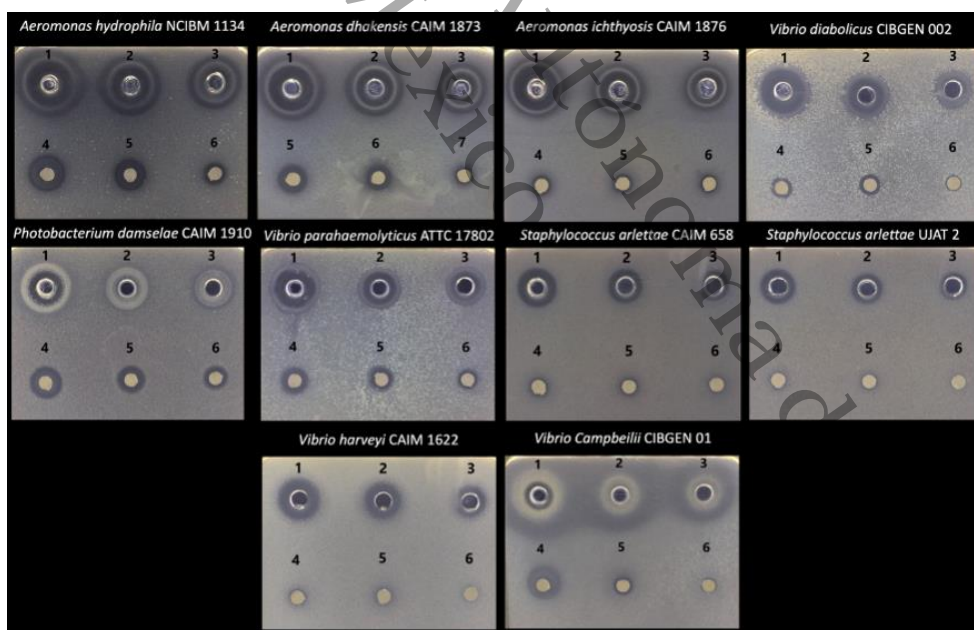


Figura 1. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Salvia officinalis* contra patógenos de peces. Se muestran las zonas de inhibición para el ensayo de difusión en pozo de agar (1, 2 y 3 corresponden al 100 %, 50 % y 25 %) y el ensayo de difusión en disco (4, 5 y 6 corresponden al 100 %, 50 % y 25 %).

3.3. Crecimiento y supervivencia

Con relación al peso promedio (Fig. 2A) de las larvas alimentadas con aceite de salvia (*S. officinalis*) se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$), siendo los mayores estadísticamente las alimentadas con 0.5% y 2%, seguidos de las alimentadas con 1% y 1.5% y finalmente, las alimentadas con la dieta control. Por otro lado, con respecto a la longitud total (Fig. 2B) no se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) entre las larvas alimentadas con aceite de salvia y las alimentadas con la dieta control. En el caso de la supervivencia (Fig. 3) no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) con relación a los tratamientos donde se incluyó el aceite de salvia en las dietas de las larvas.

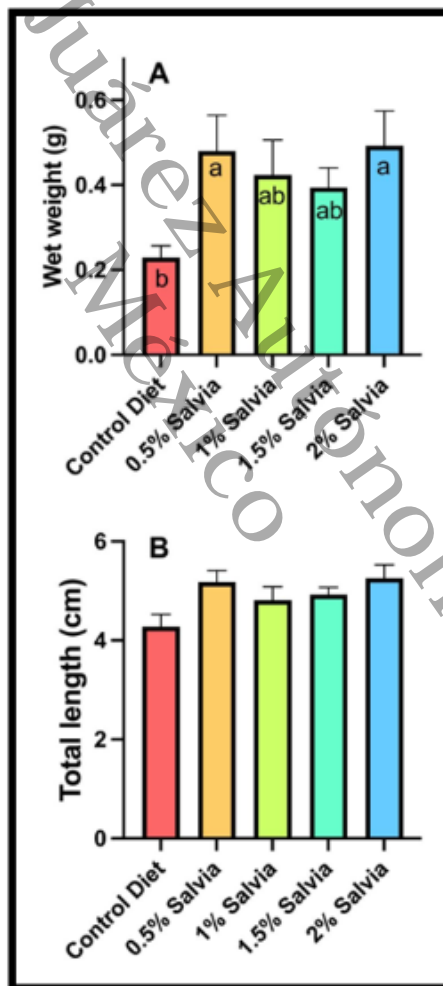


Figura 2. Crecimiento en (A) peso (g) y (B) talla (cm) de larvas de pejelagarto (*A. tropicus*) alimentadas con dietas suplementadas con diferentes concentraciones (0.5, 1, 1.5 y 2 %) de aceite de salvia (*S. officinalis*) y una dieta control. Las diferencias significativas entre las dietas se indican con letras diferentes ($p < 0.05$).

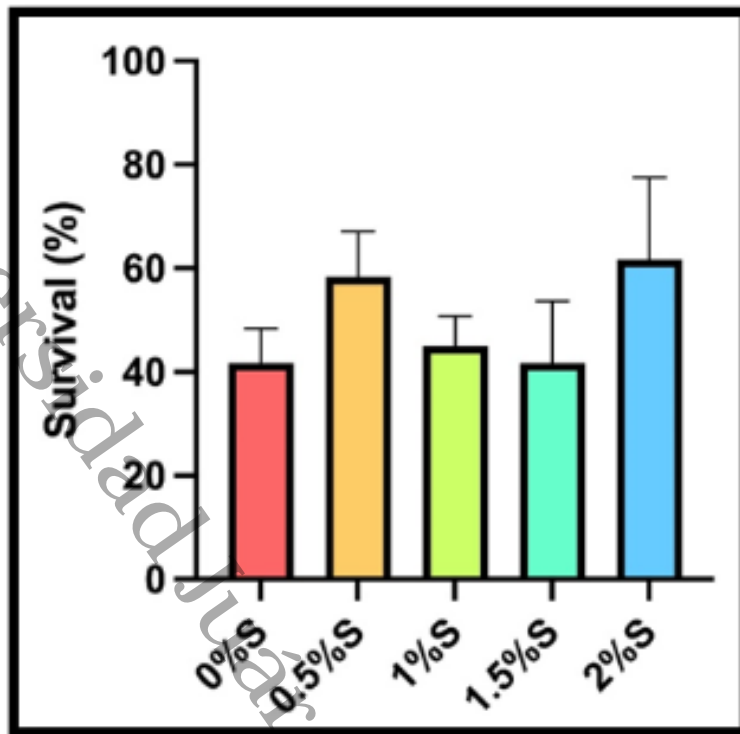


Figura 3. Supervivencia (%) de larvas de pejelagarto (*A. tropicus*) alimentadas con dietas con diferentes concentraciones de aceite de salvia.

3.4. Enzimas digestivas

Con respecto a la actividad enzimática digestiva se encontró que la actividad de proteasas ácidas (Fig. 4A) y proteasas alcalinas (Fig. 4B) de las larvas alimentadas con la dieta de 1.5% de aceite de salvia tienen valores estadísticos significativamente mayores ($p < 0.05$) con respecto a las larvas alimentadas con las otras dietas experimentales. En cuanto a la actividad de quimotripsina (Fig. 4D), leucina aminopeptidasa (Fig. 4E) y amilasa (Fig. 4G) de las larvas alimentadas con la dieta suplementada con 1% de aceite de salvia tiene valores estadísticamente mayores ($p < 0.05$) en comparación con el resto de los tratamientos. En el caso de la actividad lipasa (Fig. 4F), las larvas alimentadas con las dietas que contenían 0.5%, 1 % y 1.5% de aceite de salvia muestran los valores más altos estadísticamente ($p < 0.05$) en comparación con las larvas alimentadas con 2% de aceite de salvia y las de la dieta control. Por otro lado, la actividad enzimática de tripsina (Fig. 4C) es estadísticamente mayor en las larvas alimentadas con la dieta control ($p < 0.05$) en comparación con las larvas alimentadas con las dietas suplementadas con aceite de salvia.

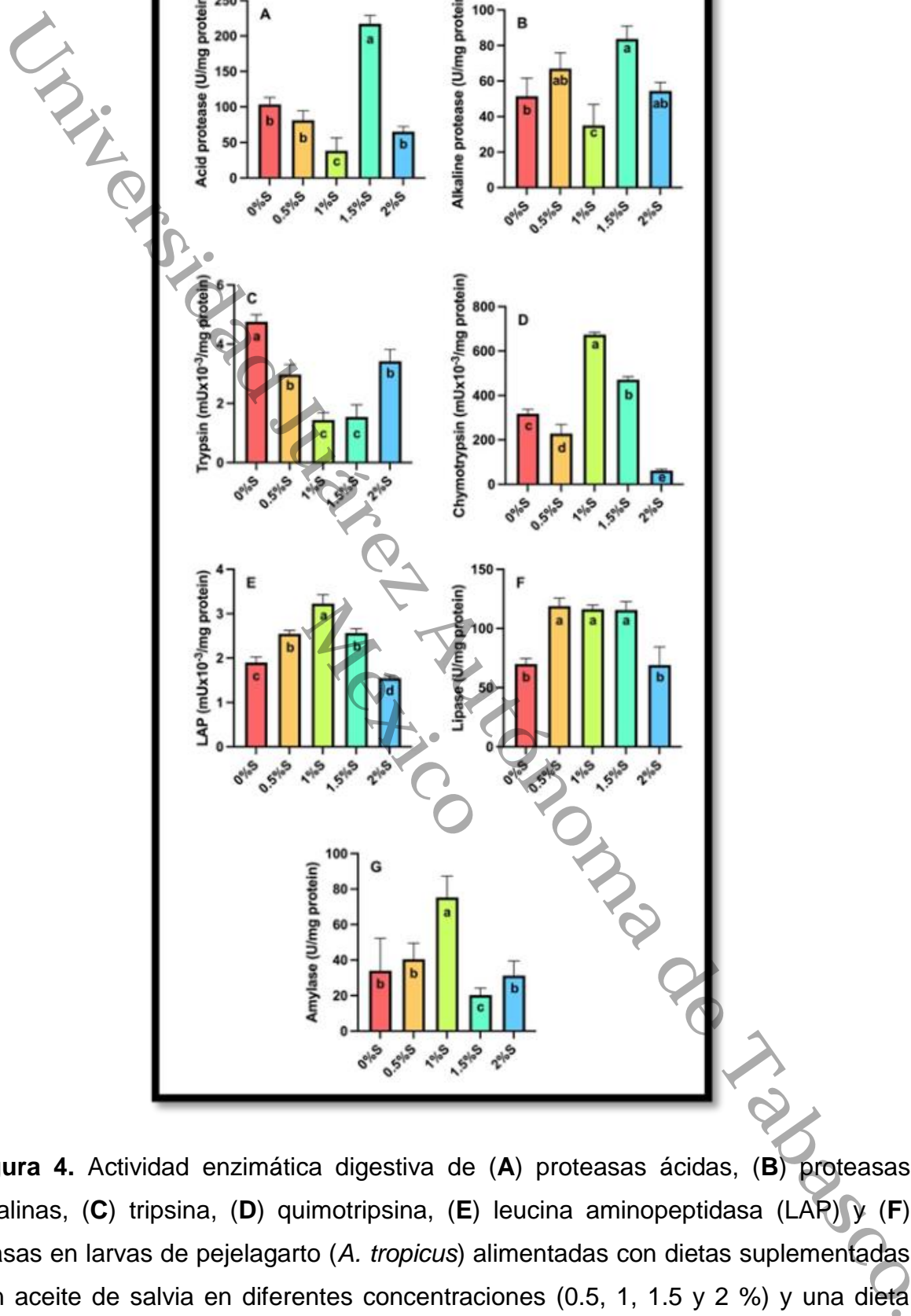


Figura 4. Actividad enzimática digestiva de (A) proteasas ácidas, (B) proteasas alcalinas, (C) tripsina, (D) quimotripsina, (E) leucina aminopeptidasa (LAP) y (F) lipasas en larvas de pejelagarto (*A. tropicus*) alimentadas con dietas suplementadas con aceite de salvia en diferentes concentraciones (0.5, 1, 1.5 y 2 %) y una dieta control. Las diferencias significativas entre las dietas se indican con letras diferentes ($p < 0.05$).

3.5. Enzimas oxidativas

Se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la actividad de Glutathion peroxidasa (Gpx, Fig. 5A), catalasa (CAT, Fig. 5B) y superóxido dismutasa (SOD, Fig. 5C), donde las larvas alimentadas con 1% de aceite de salvia presentaron mayor actividad con respecto al resto de las larvas alimentadas con los otros tratamientos. En el caso de la actividad peroxidasa (PEROX, Fig. 5D), los valores fueron estadísticos más altos ($p < 0.05$) en las larvas suplementadas con 1.5%, 2% de aceite de salvia y las alimentadas con la dieta control.

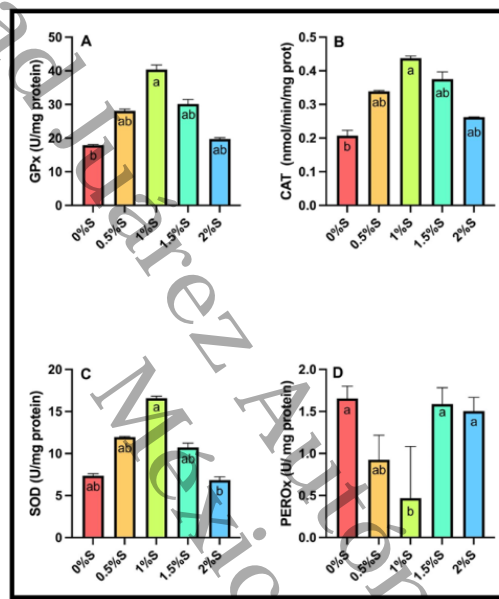


Figura 5. Actividad enzimática antioxidante de (A) Glutathion peroxidasa (Gpx), (B) Catalasa (CAT), (C) superóxido dismutasa (SOD) y (D) peroxidasa (PEROX) en larvas de pejelagarto (*A. tropicus*) alimentadas con diferentes concentraciones de aceite de salvia y una dieta control. Las diferencias significativas entre las dietas se indican con letras diferentes ($p < 0.05$).

3.6. Expresión de genes del sistema inmune

Con relación a la expresión de mucinas-2 (*muc2*, Fig. 6A) se detectó una mayor expresión ($p < 0.05$) en las larvas alimentadas con la dieta control y las larvas alimentadas con 0.5%, 1% y 2% de aceite de salvia en comparación con las larvas alimentadas con la dieta suplementada con 1.5% de aceite de salvia. En el caso de la expresión de interleucina 10 (*il10*, Fig. 6B) se mostró una sobreexpresión en las larvas alimentadas con dieta control y las alimentadas con 0.5% de aceite de salvia, la cual fue estadísticamente diferente ($p < 0.05$) con relación a las larvas alimentadas

con los otros tratamientos. Por otro lado, la expresión de ocludinas 1 (*zo-1*, Fig. 6C) y ocludinas 2 (*zo-2*, Fig. 6D) muestra una sobreexpresión en las larvas alimentadas con la dieta suplementada con 2% aceite de salvia, la cual es estadísticamente diferente ($p < 0.05$) en comparación con las larvas alimentadas con la dieta control y las alimentadas con las otras dietas suplementadas con el aceite de salvia. En el caso de la expresión de *occ* (Fig. 6E), se detectó una mayor expresión en la dieta con 2% de aceite salvia. Finalmente, la expresión de *nod* (Fig. 6F), presentó una mayor expresión en las larvas alimentadas con dietas que contenían 0.5%, 1% y 1.5% de aceite de salvia, siendo significativamente diferentes a la dieta control y la dieta con 2% de aceite de salvia.

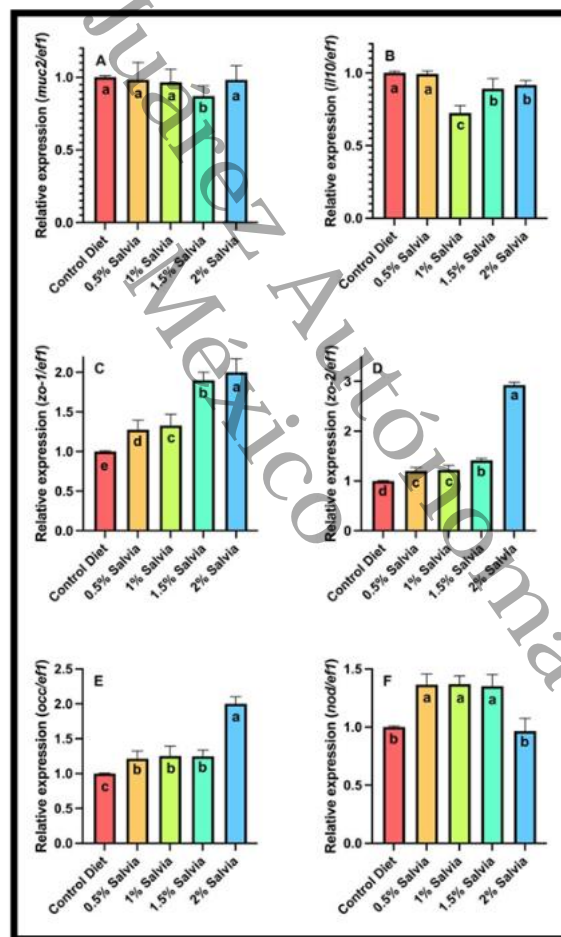


Figura 6. Expresión genética relativa de (A) *muc-2*, (B) *il-10*, (C) *zo-1*, (D) *zo-2*, (E) *occ* y (F) *nod* en larvas de *A. tropicus* alimentadas con dietas suplementadas con aceite de salvia (*S. officinalis*) y una dieta control. Las diferencias significativas entre las dietas se indican con letras diferentes ($p < 0.05$).

4. DISCUSIÓN

Según los resultados obtenidos mediante la caracterización cromatográfica, el aceite esencial de *Salvia officinalis* presentó una composición rica en compuestos bioactivos, entre los que destacan el alcanfor, 1,8-cineol, α -pineno, D-limoneno y acetato de linalilo. Estos compuestos han sido ampliamente reportados en la literatura como constituyentes principales de aceites esenciales de plantas como *Cinnamomum camphora*, *Alpinia uraiensis*, *Rosmarinus officinalis*, *Eucalyptus globulus*, *Pinus sylvestris* y *Citrus aurantifolia* y se les atribuyen propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias (Ilic *et al.*, 2023; Lee *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2025; Tadtong *et al.*, 2015).

Por otro lado, a partir del análisis antimicrobiano, se determinó que el aceite de salvia (*Salvia officinalis*) ejerce un efecto inhibitorio significativo sobre el crecimiento bacteriano, específicamente de *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas dhakensis*, *Aeromonas ichthiosmia*, *Staphylococcus arlettae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio campbellii*, *Vibrio diabolicus* y *Photobacterium damsela*. Esto puede explicarse por la acción en conjunto de sus compuestos bioactivos, principalmente monoterpenos oxigenados como 1,8-cineol, α -tujona, β -tujona y alcanfor, los cuales han demostrado una alta capacidad para alterar la integridad de las membranas celulares bacterianas (Zielińska-Błajet & Feder-Kubis, 2020; Zhumaliyeva *et al.*, 2023). Estos compuestos lipofílicos penetran la bicapa lipídica, provocando fuga de metabolitos esenciales, despolarización de la membrana y colapso metabólico; además, se ha observado que inducen estrés oxidativo mediante la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que daña el ADN, proteínas y lípidos celulares, afectando la viabilidad bacteriana (Assaggaf *et al.*, 2022). En estudios recientes, el aceite de salvia mostró zonas de inhibición significativas frente a bacterias Gram positivas como *Staphylococcus* sp. y Gram negativas como *Yersinia enterocolitica* y *Listeria monocytogenes*, lo que sugiere un amplio espectro de acción antimicrobiana (Zdolec *et al.*, 2024).

Además de sus propiedades antimicrobianas, el aceite de salvia (*S. officinalis*) también mostró beneficios directos en el rendimiento productivo, como el crecimiento y la actividad enzimática, así como en la expresión de genes del sistema inmune y antioxidante, ya que este posee diversos compuestos bioactivos como los esteroides, polifenoles, triterpenoides, diterpenoides y sesquiterpenoides que estimulan una

buena salud de los organismos que la consumen (Farruggia *et al.*, 2024). Particularmente, los peces alimentados con las dietas suplementadas con 0.5% y 2% de aceite de salvia mostraron un mayor crecimiento en peso respecto a la dieta control la cual no contiene aceite de *S. officinalis*, lo que puede estar relacionado a los compuestos polifenólicos del aceite, ya que han sido reportados como promotores del crecimiento en acuicultura (García Beltrán y Esteban., 2022), además, se ha demostrado que el ácido ursólico (triterpenoide) estimula el crecimiento muscular mediante la hipertrofia de las fibras del músculo esquelético (Kunkel *et al.*, 2012).

Por su parte, la actividad enzimática digestiva de las proteasas ácidas, proteasas alcalinas, quimotripsina, leucina aminopeptidasa (LAP), lipasa y amilasa de los organismos alimentados con las dietas suplementadas con 0.5%, 1% y 1.5% fue mayor con respecto a la dieta control (0% de *S. officinalis*), lo cual puede estar influido por la acción de los compuestos del aceite de salvia. En el caso del 1,8 cineol estimula la secreción gástrica y podría estimular la secreción pancreática, creando un entorno favorable para la activación de estas enzimas proteolíticas (Mirghaed *et al.*, 2018; Hoch *et al.*, 2023) influyendo en la actividad de las proteasas ácidas, proteasas alcalinas y quimotripsina; los diterpenos fenólicos como lo es el ácido carnósico y carnosol tienen propiedades antioxidantes que estabilizan las enzimas y protegen sus estructuras frente al estrés oxidativo, prolongando su actividad (Loussouarn *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019) favoreciendo la actividad de LAP y lipasas; el ácido rosmarínico modula la inflamación intestinal y mejora la biodisponibilidad de nutrientes (Li *et al.*, 2023; Gonfa *et al.*, 2023), lo que favorece la acción de enzimas que actúan en el intestino delgado como la amilasa y lipasas; y, en el caso de los terpenos como lo es el α y β pineno, linalol y salveno los cuales tienen efectos coleréticos y la producción de colagogos, por lo que estimula la producción de bilis y facilitando la digestión de grasas y carbohidratos (Salehi *et al.*, 2019; Amenotie *et al.*, 2025), influyendo en la actividad enzimática de las enzimas digestivas antes mencionadas. En contraste, la actividad de tripsina fue mayor en el tratamiento control que en los tratamientos adicionados con el aceite de salvia, lo cual podría deberse a que, durante las primeras etapas del desarrollo larvario, la quimotripsina puede activarse más rápido o alcanzar niveles más altos como parte de un mecanismo compensatorio para asegurar una digestión eficiente de proteínas (Fu *et al.*, 2021), lo cual concuerda con resultados obtenidos en investigaciones anteriores de ontogenia con larvas de *A. tropicus* (Frias-

Quintana *et al.*, 2015) y *Cynoscion nebulosus* (Arenas-Pardo *et al.*, 2024), donde encontraron que la quimotripsina exhibe una mayor actividad que tripsina.

Por otro lado, la actividad de las enzimas antioxidantes como lo es glutatión peroxidasa (GPx), catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD) aumentó en los peces alimentados con la dieta suplementada con 1% de aceite esencial de salvia, mientras que la actividad de peroxidasa (PEROx) fue mayor en la dieta control y con las dietas con 1.5% y 2% del aceite de salvia; por su parte el aceite esencial de *S. officinalis* contiene compuestos bioactivos como terpenoides, flavonoides y fenoles, que tienen propiedades antioxidantes, los cuales pueden inducir la actividad de enzimas antioxidantes endógenas como GPx, CAT y SOD, que forman parte del sistema de defensa celular frente al estrés oxidativo, lo cual concuerda con estudios realizados con *Oncorhynchus mykiss*, *Sparus aurata* y *Cyprinus carpio* (Sönmez *et al.*, 2015; Salomón *et al.*, 2020; Metin *et al.*, 2024). Por otro lado, PEROx al ser una enzima exógena inespecífica está compitiendo directamente con los compuestos fenólicos y terpenoides del aceite de salvia, como el ácido rosmarínico, α -tuyona y 1,8-cineol, por lo que estos pueden interferir directamente con la reacción de oxidación de la PEROx ya que se reduce el intermediario oxidante (como el peróxido de hidrógeno), uniéndose a la enzima peroxidasa e inactivándola (Sharopov *et al.*, 2015; Baccouri & Rajhi., 2021).

Con respecto a la expresión de genes blanco del sistema inmune y antioxidante encontramos una sobre expresión de *zo-1*, *zo-2*, *occ* y *nod* en los peces alimentados con los tratamientos suplementados con *S. officinalis*, lo cual podría deberse principalmente a la activación de la vía antioxidante Keap1/Nrf2 (Proteína 1 asociada a ECH tipo Kelch / Factor nuclear relacionado con el factor eritroide 2) y la inhibición de la inflamación mediada por NF- κ B (Factor nuclear potenciador de la cadena ligera kappa de las células B activadas) y el inflamasoma NLRP3 (dominio pirina 3 del receptor tipo NOD). Un estudio en modelo de colitis inducida por DSS (sulfato de sodio de dextrano) en ratones (Yang *et al.*, 2017), demostró que el ácido carnósico bloquea la interacción Keap1–Cullin3, estabilizando Nrf2, lo que lleva a la inducción de genes antioxidante como lo es hemo oxigenasa-1, glutatión peroxidasa 2 y superóxido dismutasa 2 (HO-1, GPX 2, SOD 2). Estas acciones se acompañaron de una preservación del epitelio, disminución de citocinas proinflamatorias y reducción de la activación de caspasa-1/NLRP3. Como resultado, se observó un aumento en la

expresión de proteínas de uniones estrechas (como *zo-1* y *occ*) que subyace a la mejora de la integridad epitelial. En consecuencia, se plantea que podría observarse un comportamiento similar en *zo-2* y *nod 1/nod 2*, pese a que estos no fueron evaluados directamente en el estudio.

Por otro lado, con respecto a los genes *muc-2* e *il10* no se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento control (0 % salvia) y las dietas suplementadas con aceite de salvia, esta ausencia de efecto puede explicarse por el hecho de que todos los tratamientos se mantuvieron en condiciones fisiológicas normales, sin exposición a factores estresantes, inflamación intestinal ni desafíos inmunológicos, los cuales son estímulos clásicos para la sobreexpresión de estos genes. Estudios previos han demostrado que compuestos como el ácido carnósico y el carnosol no estimulan directamente la expresión de genes antiinflamatorios como *il10*, sino que actúan previniendo la activación de rutas proinflamatorias (como NF-κB y NLRP3), que en condiciones experimentales basales no se encuentran activadas (Habtemariam, 2023; Lin *et al.*, 2023). Por tanto, la función del aceite de salvia puede considerarse más preventiva que estimulante, modulando la respuesta inmune solo en presencia de un estímulo inflamatorio. Esta hipótesis se ve reforzada por investigaciones anteriores que muestran efectos más notorios de compuestos fitogénicos sobre genes inmunes y de mucosa intestinal cuando se aplican junto con desafíos infecciosos o condiciones de estrés oxidativo (Vieira *et al.*, 2020; Firmino *et al.*, 2021). En consecuencia, los niveles similares de *muc 2* e *il10* entre grupos podrían reflejar un estado de homeostasis intestinal compartido, en el cual la mucosa no requiere ajustes adicionales ni del sistema inmune ni de su barrera protectora.

Los resultados obtenidos en esta investigación son consistentes con investigaciones previas realizadas con diversos organismos acuáticos donde encontraron que el aceite de salvia (*S. officinalis*) tiene efectos positivos sobre el crecimiento, el sistema inmunológico y las capacidades antioxidantes de los organismos que la consumen (El-Kholy, 2012; Sönmez *et al.*, 2015; Salomón *et al.*, 2020; Hussein *et al.*, 2023; Metin *et al.*, 2024).

Por otro lado, consideramos que la aplicación de aceites esenciales (AEs) se ha consolidado como una estrategia prometedora y factible en la acuicultura moderna, tanto por su eficiencia productiva como por sus beneficios para la salud animal y la

sostenibilidad del sistema. Múltiples estudios recientes han demostrado que compuestos bioactivos presentes en aceites de plantas como *Origanum vulgare*, *Salvia officinalis*, *Thymus vulgaris* o *Rosmarinus officinalis* promueven el crecimiento, mejoran la conversión alimenticia y reducen la mortalidad en especies comerciales como tilapia, carpa común, trucha arcoíris y bagre africano (Abdel-Latif *et al.*, 2020; Sönmez *et al.*, 2015; Karataş *et al.*, 2020). Estos efectos positivos están relacionados con la estimulación de enzimas digestivas (proteasas, lipasas, amilasas) gracias a componentes como el cineol, timol o ácido carnósico, así como con la modulación de la microbiota intestinal y la integridad de las uniones estrechas (*zo-1*, *occ*), que favorecen una mayor absorción de nutrientes (Karataş *et al.*, 2020; Abdel-Tawwab *et al.*, 2023; Ma *et al.*, 2023). Además, los AEs actúan como inmunoestimulantes naturales, induciendo la expresión de genes relacionados con la respuesta inmune innata (NOD, IL-1 β , TNF- α), y presentan propiedades antimicrobianas contra patógenos acuáticos como *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio spp.* y *Streptococcus iniae*, reduciendo la necesidad de antibióticos (Yildirim & Türker, 2018; Terrazas-Pineda *et al.*, 2025). Estos efectos permiten reducir significativamente el uso de antibióticos, contribuyendo así al control de la resistencia antimicrobiana, un problema crítico en la acuicultura intensiva. Tecnológicamente, la encapsulación y emulsificación de AEs ha permitido mejorar su estabilidad durante el procesamiento del alimento, así como su liberación controlada en el tracto digestivo, aumentando su eficacia sin comprometer la palatabilidad del alimento (Reis *et al.*, 2022). No obstante, su aplicación óptima depende de factores como la especie, la dosis, la duración del tratamiento y la sinergia con otros ingredientes funcionales. Por ello, se recomienda el desarrollo de protocolos específicos por especie y etapa de cultivo. Por lo que consideramos que los aceites esenciales ofrecen una solución integral que no solo mejora el rendimiento productivo, sino que también contribuye a la sostenibilidad y bioseguridad en la acuicultura del siglo XXI.

5. CONCLUSIÓN

En conclusión, este estudio indicó que las dietas suplementadas con 0.5 y 1% del aceite esencial de salvia (*S. officinalis*) para larvas de pejelagarto (*A. tropicus*) tiene efectos multibenéficos en el crecimiento en peso, actividad enzimática digestiva y antioxidante, así como en la expresión de genes del sistema inmune y antioxidante, que se pueden atribuir a la sinergia de los compuestos bioactivos del aceite como los

terpenos y polifenoles, que actúan como promotores del crecimiento así como también agente preventivo y moduladores de la salud intestinal y enzimática, por lo que consideramos que la suplementación podría fortalecer la barrera intestinal y la capacidad de defensa del organismo ante futuros desafíos patogénicos o de estrés, contribuyendo a una acuicultura más sostenible al reducir la dependencia de antibióticos y otros aditivos. Sin embargo, es necesario seguir investigando el impacto en otros mecanismos de acción para determinar la dosis óptima y conocer los efectos a largo plazo.

6. AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol), por la beca de Apadrina un estudiante a la alumna Yuliana Jiménez León y por autorizar las instalaciones del Laboratorio de Fisiología en Recursos Acuáticos (LAFIRA) para la realización de los experimentos y el análisis de los datos. A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por el financiamiento de la beca de la Estancia Posdoctoral Académica con el proyecto titulado “Impacto en el sistema inmune y microbiota intestinal de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) a través de la suplementación de fitogénicos en el alimento balanceado”. A la Dra. Mirna Estarrón Espinosa del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ), por su invaluable apoyo en el análisis de los compuestos del aceite de salvia. Los autores agraden a Félix Maldonado Desena por su valioso apoyo en la realización de los análisis antimicrobianos.

7. REFERENCIAS

- Abdel-Latif, H. M., Abdel-Tawwab, M., Khafaga, A. F., & Dawood, M. A. (2020). Dietary *origanum* essential oil improved antioxidative status, immune-related genes, and resistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 104, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.056>
- Abdel-Tawwab, M., Elabd, H., Mahboub, H. H., Assayed, M. E. M., Hamed, H. S., Elsayyad, A., & Mohamed, E. M. M. (2023). The protective efficacy of dual dietary rosemary plus cinnamon mix against lead nitrate-induced immune suppression, genotoxicity, and oxidant/antioxidant status in Nile tilapia

- fingerlings. *Aquaculture International*, 32(4), 4009-4029. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01362-7>
- Alanazi, S. M., Alsaqer, R. A., Alsaeed, F. I., Almakhaytah, R. M., Buwashl, N. T., Mohamed, M. E., & Younis, N. S. (2023). Studying the actions of sage and thymoquinone combination on metabolic syndrome induced by high-fat diet in rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 27, 2404–2418. https://doi.org/10.26355/eurrev_202303_31775
- Ali, F., Manzoor, U., Khan, F. I., Lai, D., Khan, M. K. A., Chandrashekharaiyah, K. S., Singh, L. R., & Dar, T. A. (2022). Effect of polyol osmolytes on the structure-function integrity and aggregation propensity of catalase: A comprehensive study based on spectroscopic and molecular dynamic simulation measurements. *International Journal of Biological Macromolecules*, 209, 198–210. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.04.013>
- Amenotie, A. J., Ben-Azu, B., Esuku, D. T., Chijioke, B. S., Abo, E., Ozah, E. O., Lawrence, E. O., Efejene, O. I., Onyeukwu, O. B., Alabi, B. A., & Ajayi, A. M. (2025). Sabinene Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Memory Decline by Enhancing Cholinergic Function, Decreasing Molybdenum Enzymes, and Suppressing Oxidative Stress and Neuroinflammation. *Neurotoxicity Research*, 43(3). <https://doi.org/10.1007/s12640-025-00750-6>
- Anson, M. L. (1938). The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin. *Journal of General Physiology*, 22, 79–89. <https://doi.org/10.1085/jgp.22.1.79>
- Arellano-Carrasco, J. G., Martínez-García, R., Asiain-Hoyos, A., Reta-Mendiola, J. L., Díaz-Rivera, P., Frías-Gómez, S. A., Martínez-Burguete, T., Asencio-Alcudia, G. G., Jiménez-Martínez, L. D., Guerrero-Zarate, R., Sepúlveda-Quiroz, C. A., & Álvarez-González, C. A. (2023). Effects of Dietary Sodium Propionate on Growth, Digestive Enzyme Activity, and Expression of Immune System Genes in Juveniles of Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*). *Aquaculture Journal*, 3, 227–237. <https://doi.org/10.3390/aquacj3040018>
- Arenas-Pardo, M. A., Gaxiola-Cortés, M. G., Barreto-Altamirano, A. F., Del Carmen Paredes-Medina, A., Palomino-Albarrán, I. G., Balam-Uc, P. M., Maldonado-

- Flores, J. C., & Álvarez-González, C. A. (2024). Changes in Digestive Enzyme Activities during Larval Development of Spotted Seatrout (*Cynoscion nebulosus*). *Aquaculture Nutrition*, 2024, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2024/1309390>
- Arias-Rodríguez, L., Páramo-Delgadillo, S., Contreras-Sánchez, W. M., & Álvarez-González, C. A. (2009). Cariotipo del pejelagarto tropical *Atractosteus tropicus* (Lepisosteiformes: Lepisosteidae) y variación cromosómica en sus larvas y adultos. *Revista de Biología Tropical*, 57(3), 529–539.
- Assaggaf, H. M., Mrabti, H. N., Rajab, B. S., Attar, A. A., Alyamani, R. A., Hamed, M., Omari, N. E., Menyiy, N. E., Hazzoumi, Z., Benali, T., Al-Mijalli, S. H., Zengin, G., AIDhaheri, Y., Eid, A. H., & Bouyahya, A. (2022). Chemical Analysis and Investigation of Biological Effects of *Salvia officinalis* Essential Oils at Three Phenological Stages. *Molecules*, 27(16), 5157. <https://doi.org/10.3390/molecules27165157>
- Baccouri, B., & Rajhi, I. (2021). Potential Antioxidant Activity of Terpenes. *Biochemistry*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96638>
- Beltrán, J. M. G., & Esteban, M. A. (2022). Nature-identical compounds as feed additives in aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, 123, 409-416. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.03.010>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Chen, Y., Chen, F., Liu, T., Huang, Y., Chen, Y., & Hsu, F. (2025). Analysis of Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils from Different Parts of *Alpinia uraiensis* Hayata. *Molecules*, 30(7), 1515. <https://doi.org/10.3390/molecules30071515>
- Cigarroa-Ruiz, L. A., Toledo-Solís, F. J., Frías-Gómez, S. A., Guerrero-Zárate, R., Camarillo-Coop, S., Alvarez-Villagómez, C. S., Peña-Marín, E. S., Galaviz, M. A., Martínez-García, R., & Álvarez-González, C. A. (2023). Addition of β -glucans in diets for tropical gar (*Atractosteus tropicus*) larvae: effects on growth, digestive enzymes and gene expression of intestinal epithelial integrity and

- immune system. *Fish Physiology and Biochemistry*, 49, 613–626.
<https://doi.org/10.1007/s10695-023-01207-3>
- Conde-Hernández, L. A., Luna-Guevara, M. L., Luna-Guevara, J. J., Pérez-Vázquez, J., & Aranda-García, R. J. (2021). Mexican sage (*Salvia officinalis*) extraction using factorial design and its effect on chemical and antibacterial properties. *Journal of Chemistry*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/5594278>
- Daniels, A., & Maiz-Tome, L. (2018). *Atractosteus tropicus*: IUCN Red List of Threatened Species. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-2.RLTS.T191025A1967012.en>
- De La Cruz-Marín, E., Martínez-García, R., López-Hernández, J. F., Méndez-Marín, O., De la Rosa-García, S. C., Peña-Marín, E. S., Tovar-Ramírez, D., Sepúlveda-Quiroz, C. A., Pérez-Jiménez, G. M., Jiménez-Martínez, L. D., Asencio-Alcudia, G. G., & Álvarez-González, C. A. (2023). Inulin Supplementation in Diets for Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae: Effects on Growth, Survival, and Digestive and Antioxidant Enzyme Activities. *Aquaculture Journal*, 3, 43–55. <https://doi.org/10.3390/aquacj3010006>
- de Oliveira, F. K., Santos, L. O., & Buffon, J. G. (2021). Mechanism of action, sources, and application of peroxidases. *Food Research International*, 143, 110266. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110266>
- Del Rió-Portilla, M. A., Vargas-Peralta, C. E., Lafarga-De La Cruz, F., Arias-Rodriguez, L., Delgado-Vega, R., Galván-Tirado, C., & García-De-León, F. J. (2016). The complete mitochondrial DNA of the tropical gar (*Atractosteus tropicus*). *Mitochondrial DNA*, 27, 557–558. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.905856>
- DelMar, E. G., Largman, C., Brodrick, J. W., & Geokas, M. C. (1979). A sensitive new substrate for chymotrypsin. *Analytical Biochemistry*, 99, 316–320. [https://doi.org/10.1016/S0003-2697\(79\)80013-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2697(79)80013-5)
- Du, Y., Duan, Y., & Zhang, S. (2022). The role of occludin in vascular endothelial protection. En A. Abukabda & C. Fonner (Eds.), *Endothelial Dysfunction - A Novel Paradigm* (cap. 8). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.107479>

- Durling, N. E., Catchpole, O. J., Grey, J. B., Webby, R. F., Mitchell, K. A., Foo, L. Y., & Perry, N. B. (2007). Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures. *Food Chemistry*, *101*, 1417–1424. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.050>
- El-Kholy, K. (2012). Effect of marjoram (*Marjorana hortensis*) or sage (*Salvia officinalis*) additives on growth performance and feed utilization of tilapia hybrid (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) monosex fingerlings. *Journal of Animal and Poultry Production*, *3*, 115–126. <https://doi.org/10.21608/jappmu.2012.82781>
- Erlanger, B. F., Kokowsky, N., & Cohen, W. (1961). The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *95*, 271–278. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(61\)90145-X](https://doi.org/10.1016/0003-9861(61)90145-X)
- FAO. (2022). Transformación Azul. Contribución de la Pesca y la Acuicultura al Nuevo Marco Estratégico de la FAO - COPPESAALC-XVIII-7. <https://openknowledge.fao.org/items/b14f7614-8dbf-42c8-82af-fc71e68bc4ad>
- Farouk, S. M., Yusuf, M. S., El Nabiti, A. A. S., & Abdelrazek, H. M. A. (2020). Effect of oregano essential oil supplementation on performance, biochemical, hematological parameters and intestinal histomorphometry of Japanese quail (*Coturnix coturnix Japonica*). *Veterinary Research Forum*, *11*, 219–227. <https://doi.org/10.30466/vrf.2019.97574.2325>
- Farruggia, D., Di Miceli, G., Licata, M., Leto, C., Salamone, F., & Novak, J. (2024). Foliar application of various biostimulants produces contrasting response on yield, essential oil and chemical properties of organically grown sage (*Salvia officinalis* L.). *Frontiers in Plant Science*, *15*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1397489>
- Firmino, J. P., Galindo-Villegas, J., Reyes-López, F. E., & Gisbert, E. (2021). Phytogetic bioactive compounds shape fish mucosal immunity. *Frontiers in Immunology*, *12*, 695973. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.695973>
- Frías-Quintana, C. A., Márquez-Couturier, G., Alvarez-González, C. A., Tovar-Ramírez, D., Nolasco-Soria, H., Galaviz-Espinosa, M. A., Martínez-García, R., Camarillo-Coop, S., Martínez-Yañez, R., & Gisbert, E. (2015). Development of

- digestive tract and enzyme activities during the early ontogeny of the tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41, 1075–1091. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0070-9>
- Frías-Quintana, C., Álvarez-González, C., & Márquez-Couturier, G. (2010). Design of microdiets for the larviculture of tropical gar *Atractosteus tropicus*, Gill 1863. *Universidad Y Ciencia*, 26(3), 265–282. <http://www.scielo.org.mx/pdf/uc/v26n3/v26n3a6.pdf>
- Fu, Z., Akula, S., Thorpe, M., & Hellman, L. (2021). Marked difference in efficiency of the digestive enzymes pepsin, trypsin, chymotrypsin, and pancreatic elastase to cleave tightly folded proteins. *Biological Chemistry*, 402(7), 861-867. <https://doi.org/10.1515/hsz-2020-0386>
- Gonfa, Y. H., Tessema, F. B., Bachheti, A., Rai, N., Tadesse, M. G., Singab, A. N., Chaubey, K. K., & Bachheti, R. K. (2023). Anti-inflammatory activity of phytochemicals from medicinal plants and their nanoparticles: A review. *Current Research In Biotechnology*, 6, 100152. <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2023.100152>
- Guerrero-Zárate, R., Olvera-Novoa, M. Á., Jesus-Contreras, R., Frías-Quintana, C. A., Martínez-García, R., & Álvarez-González, C. A. (2024). Evaluation of protein and lipid ingredients through in vitro digestibility for tropical gar (*Atractosteus tropicus*) juveniles. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 52, 47–58. <https://doi.org/10.3856/vol52-issue1-fulltext-3037>
- Habtemariam, S. (2023). Anti-Inflammatory Therapeutic Mechanisms of Natural Products: Insight from Rosemary Diterpenes, Carnosic Acid and Carnosol. *Biomedicines*, 11(2), 545. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11020545>
- Hernández-López, I. A., Tovar-Ramírez, D., De la Rosa-García, S., Álvarez-Villagómez, C. S., Asencio-Alcudia, G. G., Martínez-Burguete, T., Galaviz, M. A., Guerrero-Zárate, R., Martínez-García, R., Peña-Marín, E. S., & Álvarez-González, C. A. (2021). Dietary live yeast (*Debaryomyces hansenii*) provides no advantages in tropical gar, *attractosteus tropicus* (actinopterygii: Lepisosteiformes: Lepisosteidae), juvenile aquaculture. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 51, 311–320. <https://doi.org/10.3897/AIEP.51.67095>

- Hoch, C. C., Petry, J., Griesbaum, L., Weiser, T., Werner, K., Ploch, M., Verschoor, A., Multhoff, G., Dezfouli, A. B., & Wollenberg, B. (2023). 1,8-cineole (eucalyptol): A versatile phytochemical with therapeutic applications across multiple diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 167, 115467. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115467>
- Hurtado, R., Peltroche, N., Mauricio, F., Gallo, W., Alvítez-Temoche, D., Vilchez, L., & Mayta-Tovalino, F. (2020). Antifungal efficacy of four different concentrations of the essential oil of *cinnamomum zeylanicum* (Canela) against *Candida albicans*: An in vitro study. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, 10, 724–730. https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_251_20
- Hussein, E. E., El Basuini, M. F., Ashry, A. M., Habiba, M. M., Teiba, I. I., El-Rayes, T. K., Khattab, A. A. A., El-Hais, A. M., Shahin, S. A., El-Ratel, I. T., Badr, M. R., & Dawood, M. A. O. (2023). Effect of dietary sage (*Salvia officinalis* L.) on the growth performance, feed efficacy, blood indices, non-specific immunity, and intestinal microbiota of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture Reports*, 28. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101460>
- Ilić, Z. S., Kevrešan, Ž., Šunić, L., Stanojević, L., Milenković, L., Stanojević, J., Milenković, A., & Cvetković, D. (2023). Chemical Profiling and Antioxidant Activity of Wild and Cultivated Sage (*Salvia officinalis* L.) Essential Oil. *Horticulturae*, 9(6), 624. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9060624>
- Jeena, K., Liju, V. B., Umadevi, N. P., & Kuttan, R. (2014). Antioxidant, Anti-inflammatory and Antinociceptive Properties of Black Pepper Essential Oil (*Piper nigrum* Linn). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 17, 1–12. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2013.831562>
- Jesús-De la Cruz, K. de M., Ávila-Fernández, Á., Peña-Marín, E. S., Jiménez-Martínez, L. D., Tovar-Ramírez, D., Martínez-García, R., Guerrero-Zárate, R., Asencio-Alcudia, G. G., & Alvarez-González, C. A. (2020). Trypsin gene expression in adults and larvae of tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46, 145–155. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00704-8>

- Jiménez Martínez, L. D., Morales García, V., Frías Quintana, C. A., Castillo Collado, A. del C., Asencio Alcudia, G. G., Alvarez Villagomez, C. S., Peña Marín, E. S., Concha Frías, B., & Álvarez-González, C. A. (2021). Quality evaluation of reference gene expression on different tissues in adults of tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Pakistan Journal of Zoology*, 54(1).
<https://doi.org/10.17582/journal.pjz/20200913180928>
- Jiménez-Martínez, L. D., Álvarez-González, C. A., De la Cruz-Hernández, E., Tovar-Ramírez, D., Galaviz, M. A., Camarillo-Coop, S., Martínez-García, R., Concha-Frías, B., & Peña, E. (2018). Partial sequence characterization and ontogenetic expression of genes involved in lipid metabolism in the tropical gar (*Atractosteus tropicus*). *Aquaculture Research*, 50(1), 162-172.
<https://doi.org/10.1111/are.13879>
- Karataş, T., Korkmaz, F., Karataş, A., & Yildirim, S. (2020). Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on growth, blood biochemistry, immunity, antioxidant, digestive enzymes and liver histopathology of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*, 26(5), 1533-1541.
<https://doi.org/10.1111/anu.13100>
- Kunkel, S. D., Elmore, C. J., Bongers, K. S., Ebert, S. M., Fox, D. K., Dyle, M. C., Bullard, S. A., & Adams, C. M. (2012). Ursolic Acid Increases Skeletal Muscle and Brown Fat and Decreases Diet-Induced Obesity, Glucose Intolerance and Fatty Liver Disease. *PLoS ONE*, 7(6), e39332.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039332>
- Lee, S., Kim, D., Park, S., & Park, H. (2022). Phytochemistry and Applications of *Cinnamomum camphora* Essential Oils. *Molecules*, 27(9), 2695.
<https://doi.org/10.3390/molecules27092695>
- Li, K., Wu, J., Xu, S., Li, X., Zhang, Y., & Gao, X. (2023). Rosmarinic acid alleviates intestinal inflammatory damage and inhibits endoplasmic reticulum stress and smooth muscle contraction abnormalities in intestinal tissues by regulating gut microbiota. *Microbiology Spectrum*, 11(5).
<https://doi.org/10.1128/spectrum.01914-23>

- Li, X., Zhang, Q., Hou, N., Li, J., Liu, M., Peng, S., Zhang, Y., Luo, Y., Zhao, B., Wang, S., Zhang, Y., & Qiao, Y. (2019). Carnosol as a Nrf2 Activator Improves Endothelial Barrier Function Through Antioxidative Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 880. <https://doi.org/10.3390/ijms20040880>
- Lin, G., Li, N., Li, D., Chen, L., Deng, H., Wang, S., Tang, J., & Ouyang, W. (2023). Carnosic acid inhibits NLRP3 inflammasome activation by targeting both priming and assembly steps. *International Immunopharmacology*, 116, 109819. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.109819>
- Liu, Y., Sheng, X., Tang, X., Xing, J., Chi, H., & Zhan, W. (2023). Genome-wide identification, phylogenetic relationships and expression patterns of the NOD-like receptor (NLR) gene family in flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 141. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.109083>
- Liu, Y., Yu, X., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., & Chen, W. (2020). The role of MUC2 mucin in intestinal homeostasis and the impact of dietary components on MUC2 expression. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 884–891. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.191>
- Loussouarn, M., Krieger-Liszkay, A., Svilar, L., Bily, A., Birtić, S., & Havaux, M. (2017). Carnosic Acid and Carnosol, Two Major Antioxidants of Rosemary, Act through Different Mechanisms. *Plant Physiology*, 175(3), 1381-1394. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01183>
- Ma, Y., Shi, J., Jia, L., He, P., Wang, Y., Zhang, X., Huang, Y., Cheng, Q., Zhang, Z., Dai, Y., Xu, M., & Lei, Z. (2023). Oregano essential oil modulates colonic homeostasis and intestinal barrier function in fattening bulls. *Frontiers In Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1293160>
- Maldonado, A., Cruz, J., Gómez, D., López, L., Fernández, A., Peña-Marín, E, S & Álvarez-González, C. A. (2020). Cultivo de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.31098.85444>
- Manam, Dr. V. K. (2023). Fish feed nutrition and its management in aquaculture. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 11, 58–61. <https://doi.org/10.22271/fish.2023.v11.i2a.2791>

- Maroux, S., Louvard, D., & Barath, J. (1973). The aminopeptidase from hog intestinal brush border. *BBA - Enzymology*, 321, 282–295. [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(73\)90083-1](https://doi.org/10.1016/0005-2744(73)90083-1)
- Márquez-Couturier, G., Vázquez-Navarrete, C. J., Contreras Sánchez, W. M & Álvarez-González, C. A. (2015). Acuicultura tropical sustentable Una estrategia para la producción y conservación del pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) en Tabasco, México. 2da. Ed. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Martínez-Burguete, T., Peña-Marín, E. S., García-Gasca, A., Alvarez-González, C. A., & Llera-Herrera, R. (2021). Nutrigenomic marker discovery by de novo transcriptomic sequencing during early development of the tropical gar (*Atractosteus tropicus*). *Aquaculture Research*, 52(8), 3829-3842. <https://doi.org/10.1111/are.15228>
- Maytorena-Verdugo, C. I., Peña-Marín, E. S., Alvarez-Villagómez, C. S., Pérez-Jiménez, G. M., Sepúlveda-Quiroz, C. A., & Alvarez-González, C. A. (2022). Inclusion of Mannan-Oligosaccharides in Diets for Tropical Gar *Atractosteus tropicus* Larvae: Effects on Growth, Digestive Enzymes, and Expression of Intestinal Barrier Genes. *Fishes*, 7. <https://doi.org/10.3390/fishes7030127>
- Metin, S., Yigit, N. O., Didinen, B. I., Koca, S. B., Ozmen, O., Aslankoc, R., & Kara, N. (2024). Effects of sage (*Salvia officinalis*) essential oil on growth, health and antioxidant capacity of common carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Research Communications*, 48, 911–921. <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10267-y>
- Mirghaed, A. T., Hoseini, S. M., & Ghelichpour, M. (2018). Effects of dietary 1,8-cineole supplementation on physiological, immunological and antioxidant responses to crowding stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 81, 182-188. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.07.027>
- Nieves-Rodríguez, K. N., Álvarez-González, C. A., Peña-Marín, E. S., Vega-Villasante, F., Martínez-García, R., Camarillo-Coop, S., Tovar-Ramírez, D., Guzmán-Villanueva, L. T., Andree, K. B., & Gisbert, E. (2018). Effect of β -Glucans in Diets on Growth, Survival, Digestive Enzyme Activity, and Immune System and Intestinal Barrier Gene Expression for Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Juveniles. *Fishes*, 3(3), 27. <https://doi.org/10.3390/fishes3030027>

- 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>
- Palacios Mejia, M., Arias-Rodriguez, L., Arciniega, M., Rodríguez, V., Barraza Sandoval, J. E., Herrera, N., Marroquín Mora, D. C., Ulloa Rojas, J. B., Márquez Couturier, G., Voelker, G., & Tobler, M. (2023). Conservation genetics of the tropical gar (*Atractosteus tropicus*, Lepisosteidae). *Conservation Genetics*, 24, 405–415. <https://doi.org/10.1007/s10592-023-01509-2>
- Pei, J., Pan, X., Wei, G., & Hua, Y. (2023). Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxidation. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1147414. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1147414>
- Pérez-Jiménez, G. M., Alvarez-Villagomez, C. S., Martínez-Porchas, M., Garibay-Valdez, E., Sepúlveda-Quiroz, C. A., Méndez-Marín, O., Martínez-García, R., Jesús-Contreras, R., Alvarez-González, C. A., & De la Rosa-García, S. del C. (2024). The Indigenous Probiotic *Lactococcus lactis* PH3-05 Enhances the Growth, Digestive Physiology, and Gut Microbiota of the Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae. *Animals*, 14. <https://doi.org/10.3390/ani14182663>
- Pérez-Jiménez, G. M., Peña-Marín, E. S., Maytorena-Verdugo, C. I., Sepúlveda-Quiroz, C. A., Jiménez-Martínez, L. D., De la Rosa-García, S., Asencio-Alcudia, G. G., Martínez, R., Tovar-Ramírez, D., Galaviz, M. A., Martínez-Burguete, T., Alvarez-González, C. A., & Alvarez-Villagomez, C. S. (2022). Incorporation of Fructooligosaccharides in Diets Influence Growth Performance, Digestive Enzyme Activity, and Expression of Intestinal Barrier Function Genes in Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae. *Fishes*, 7. <https://doi.org/10.3390/fishes7030137>
- Qiao, X., Roth, I., Féraille, E., & Hasler, U. (2014). Different effects of ZO-1, ZO-2 and ZO-3 silencing on kidney collecting duct principal cell proliferation and adhesion. *Cell Cycle*, 13, 3059–3075. <https://doi.org/10.4161/15384101.2014.949091>

- Reis, D. R., Ambrosi, A., & Di Luccio, M. (2022). Encapsulated essential oils: A perspective in food preservation. *Future Foods*, 5, 100126. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100126>
- Robyt, J. F., & French, D. (1967). Multiple attack hypothesis of α -amylase action: Action of porcine pancreatic, human salivary, and *Aspergillus oryzae* α -amylases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 122, 8–16. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(67\)90118-X](https://doi.org/10.1016/0003-9861(67)90118-X)
- Rohani, M. F., Islam, S. M., Hossain, M. K., Ferdous, Z., Siddik, M. A., Nuruzzaman, M., Padeniya, U., Brown, C., & Shahjahan, M. (2022). Probiotics, prebiotics and synbiotics improved the functionality of aquafeed: Upgrading growth, reproduction, immunity and disease resistance in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 120, 569–589. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.12.037>
- Salehi, B., Upadhyay, S., Orhan, I. E., Jugran, A. K., Jayaweera, S. L., Dias, D. A., Sharopov, F., Taheri, Y., Martins, N., Baghalpour, N., Cho, W. C., & Sharifi-Rad, J. (2019). Therapeutic Potential of α - and β -Pinene: A Miracle Gift of Nature. *Biomolecules*, 9(11), 738. <https://doi.org/10.3390/biom9110738>
- Salomón, R., Firmino, J. P., Reyes-López, F. E., Andree, K. B., González-Silvera, D., Esteban, M. A., Tort, L., Quintela, J. C., Pinilla-Rosas, J. M., Vallejos-Vidal, E., & Gisbert, E. (2020). The growth promoting and immunomodulatory effects of a medicinal plant leaf extract obtained from *Salvia officinalis* and *Lippia citriodora* in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 524. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735291>
- Sepúlveda-Quiroz, C. A., Peña-Marín, E. S., Pérez-Morales, A., Martínez-García, R., Alvarez-Villagomez, C. S., Maytorena-Verdugo, C. I., Camarillo-Coop, S., Vissio, P. G., Sirkin, D. P., Tovar-Ramírez, D., Galaviz, M., & Álvarez-González, C. A. (2020). Fructooligosaccharide supplementation in diets for tropical gar (*Atractosteus tropicus*) juvenile: Effects on morphophysiology and intestinal barrier function. *Aquaculture Research*, 52(1), 37–50. <https://doi.org/10.1111/are.14867>
- Sepúlveda-Quiroz, C. A., Pérez-Jiménez, G. M., Asencio-Alcudia, G. G., Mendoza-Porras, O., Jiménez-Martínez, L. D., Galaviz-Espinoza, M. A., Tovar-Ramírez,

- D., Martinez-Garcia, R., Alvarez-Villagomez, C. S., & Alvarez-Gonzalez, C. A. (2024). Tryptophan Reduces Intracohort Cannibalism Behavior in Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae. *Fishes*, 9. <https://doi.org/10.3390/fishes9010040>
- Sharopov, F. S., Wink, M., & Setzer, W. N. (2015). Radical Scavenging and Antioxidant Activities of Essential Oil Components – An Experimental and Computational Investigation. *Natural Product Communications*, 10(1). <https://doi.org/10.1177/1934578x1501000135>
- Sönmez, A. Y., Bilen, S., Alak, G., Hisar, O., Yanık, T., & Biswas, G. (2015). Growth performance and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with sage, mint and thyme oils. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41, 165–175. <https://doi.org/10.1007/s10695-014-0014-9>
- Sun, H., Wu, Y., Zhang, Y., & Ni, B. (2021). Sun, H., Wu, Y., Zhang, Y., & Ni, B. (2021). IL-10-Producing ILCs: Molecular Mechanisms and Disease Relevance. *Frontiers In Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.650200>
- Tadtong, S., Kamkaen, N., Watthanachaiyingcharoen, R., & Ruangrunsi, N. (2015). Chemical Components of Four Essential Oils in Aromatherapy Recipe. *Natural Product Communications*, 10(6), 1091–1092.
- Tao, L., Lu, H., Xiong, J., Zhang, L., Sun, W. wen, & Shan, X. feng. (2024). The application and potential of postbiotics as sustainable feed additives in aquaculture. *Aquaculture*, 592, 741237. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741237>
- Terrazas-Pineda, K. A., Alamilla-Beltrán, L., Acero-Ortega, C. A., Damas-Espinoza, J. A., Calderón-Domínguez, G., Mora-Escobedo, R., Vega-Sánchez, V., & Anda, F. R. G. (2025). Antimicrobial Activity of Cinnamon, Tea Tree, and Thyme Essential Oils Against Pathogenic Bacteria Isolated from Tilapia (*Oreochromis* spp.) in Aquaculture Farms. *Molecules*, 30(13), 2799. <https://doi.org/10.3390/molecules30132799>

- Versaw, W. K., Cuppett, S. L., Winters, D. D., & Williams, L. E. (1989). An Improved Colorimetric Assay for Bacterial Lipase in Nonfat Dry Milk. *Journal of Food Science*, 54, 1557–1558. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1989.tb05159.x>
- Vieira, S. F., Ferreira, H., & Neves, N. M. (2020). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Cytocompatible *Salvia officinalis* Extracts: A Comparison between Traditional and Soxhlet Extraction. *Antioxidants*, 9(11), 1157. <https://doi.org/10.3390/antiox9111157>
- Walter He. (1984). Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer HU (Ed.) *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol. V. Verlag Chemic Weinham, pp 270-277.
- Wang, J., Deng, L., Chen, M., Che, Y., Li, L., Zhu, L., Chen, G., & Feng, T. (2024). Phytogetic feed additives as natural antibiotic alternatives in animal health and production: A review of the literature of the last decade. *Animal Nutrition*, 17, 244-264. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2024.01.012>
- Wang, Y., Shi, H., Li, T., Yu, L., Qi, Y., Tian, G., He, F., Li, X., Sun, N., & Liu, R. (2022). Size-dependent effects of nanoplastics on structure and function of superoxide dismutase. *Chemosphere*, 309. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136768>
- Wuertz, S., Schroeder, A., & Wanka, K. M. (2021). Probiotics in Fish Nutrition—Long-Standing Household Remedy or Native Nutraceuticals? *Water*, 13(10), 1348. <https://doi.org/10.3390/w13101348>
- Yang, N., Xia, Z., Shao, N., Li, B., Xue, L., Peng, Y., Zhi, F., & Yang, Y. (2017). Carnosic acid prevents dextran sulfate sodium-induced acute colitis associated with the regulation of the Keap1/Nrf2 pathway. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11408-5>
- Yildirim, A., & Türker, H. (2018). Bazı aromatik bitki esansiyel yağlarının patojenik balık bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi. *Journal Of Limnology And Freshwater Fisheries Research*, 4(2), 67-74. <https://doi.org/10.17216/limnofish.379784>

- Yilmaz, S., Yilmaz, E., Dawood, M. A. O., Ringø, E., Ahmadifar, E., & Abdel-Latif, H. M. R. (2022). Probiotics, prebiotics, and synbiotics used to control vibriosis in fish: A review. *Aquaculture*, 547, 737514. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737514>
- Zdolec, N., Franičević, M., Klanac, L., Kavain, I., Batinić, J., Zadavec, M., Pleadin, J., Čobanov, D., & Kiš, M. (2024). Antimicrobial Properties of Basil (*Ocimum basilicum* L.), Sage (*Salvia officinalis* L.), Lavender (*Lavandula officinalis* L.), Immortelle (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don), and Savory (*Satureja montana* L.) and Their Application in Hard Cheese Production. *Hygiene*, 4(2), 135-145. <https://doi.org/10.3390/hygiene4020010>
- Zhao, H., Ren, S., Yang, H., Tang, S., Guo, C., Liu, M., Tao, Q., Ming, T., & Xu, H. (2022). Peppermint essential oil: its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 154, 113559. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113559>
- Zhumaliyeva, G., Zhussupova, A., Zhusupova, G. E., Błońska-Sikora, E., Cerreto, A., Omirbekova, N., Zhunusbayeva, Z., Gemejiyeva, N., Ramazanova, M., Wrzosek, M., & Ross, S. A. (2023). Natural Compounds of *Salvia* L. Genus and Molecular Mechanism of Their Biological Activity. *Biomedicines*, 11(12), 3151. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11123151>
- Zielińska-Błajet, M., & Feder-Kubis, J. (2020). Monoterpenes and Their Derivatives—Recent Development in Biological and Medical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 7078. <https://doi.org/10.3390/ijms21197078>

| Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional | |
|--|---|
| Título de Tesis: | SUPLEMENTACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE SALVIA (<i>Salvia officinalis</i>) EN DIETAS BALANCEADAS PARA LARVAS DE PEJELAGARTO (<i>Atractosteus tropicus</i>) SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA |
| Autor(a) o autores(ras) de la Tesis: | Yuliana Jiménez León |
| ORCID: | 0009-0005-3652-1283 |
| Resumen de la Tesis: | <p>El pejelagarto (<i>Atractosteus tropicus</i>) tiene una gran importancia ecológica, económica y cultural en el sureste de México, donde la acuicultura está en auge y los peces se ven expuestos con frecuencia a situaciones de estrés. En este sentido, los aditivos alimentarios como la salvia (<i>Salvia officinalis</i>) refuerzan el crecimiento, el sistema inmunológico, las capacidades antioxidantes y digestivas de los organismos. Se llevó a cabo un experimento de 30 días con larvas para determinar el efecto de diferentes concentraciones de aceite esencial de salvia (tratamientos con 0 %, 0,5 %, 1 %, 1,5 % y 2 %) añadido a dietas equilibradas. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos con suplementos de aceite de salvia al 0,5 % y al 2 % en cuanto al peso medio. Las actividades más altas de proteasas ácidas y alcalinas, quimotripsina, leucina aminopeptidasa, amilasa y lipasa se obtuvieron en los tratamientos suplementados con aceite de salvia. Por el contrario, la tripsina mostró la actividad más alta en el tratamiento con 0 %, seguido de las dietas con</p> |

| | |
|--|--|
| | <p>0,5 % y 2 % de aceite de salvia. En cuanto a la actividad enzimática antioxidante de GPx, CAT y SOD, la actividad más alta se obtuvo en la dieta con 1 % de aceite de salvia, mientras que en PEROx, la actividad más alta se registró en el tratamiento con suplementos de 0 %, 1,5 % y 2 % de <i>S. officinalis</i>. Por otro lado, en cuanto a la expresión génica relativa, se observó la mayor expresión en los tratamientos suplementados con salvia para los genes <i>nod</i>, <i>zo-1</i>, <i>zo-2</i> y <i>occ</i>, mientras que para <i>il-10</i> y <i>muc2</i>, se observó la menor expresión en los tratamientos suplementados. Estos hallazgos sugieren que la incorporación de aceite esencial de salvia en las dietas de las larvas de pejelagarto, principalmente en los tratamientos con 0.5 % y 1 %, tiene potencial para mejorar las prácticas de acuicultura de esta importante especie; se necesita más investigación para determinar la dosis óptima y los efectos a largo plazo.</p> |
| <p>Palabras claves de la Tesis:</p> | <p>pejelagarto, salvia, aceite esencial, suplementación, aditivos, fisiología, acuicultura, sistema inmunológico.</p> |
| <p>Referencias citadas:</p> | <p>Abdel-Latif, H. M., Abdel-Tawwab, M., Khafaga, A. F., & Dawood, M. A. (2020). Dietary organum essential oil improved antioxidative status, immune-related genes, and resistance of common carp (<i>Cyprinus carpio</i> L.) to <i>Aeromonas hydrophila</i> infection. <i>Fish & Shellfish Immunology</i>, <i>104</i>, 1-7. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.056</p> <p>Abdel-Tawwab, M., Elabd, H., Mahboub, H. H., Assayed, M. E. M., Hamed, H. S., Elsayyad, A., & Mohamed, E. M. M. (2023). The protective efficacy of dual dietary</p> |

rosemary plus cinnamon mix against lead nitrate-induced immune suppression, genotoxicity, and oxidant/antioxidant status in Nile tilapia fingerlings. *Aquaculture International*, 32(4), 4009-4029. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01362-7>

Alanazi, S. M., Alsaqer, R. A., Alsaeed, F. I., Almakhaytah, R. M., Buwashl, N. T., Mohamed, M. E., & Younis, N. S. (2023). Studying the actions of sage and thymoquinone combination on metabolic syndrome induced by high-fat diet in rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 27, 2404–2418. https://doi.org/10.26355/eurrev_202303_1775

Ali, F., Manzoor, U., Khan, F. I., Lai, D., Khan, M. K. A., Chandrashekharaiyah, K. S., Singh, L. R., & Dar, T. A. (2022). Effect of polyol osmolytes on the structure-function integrity and aggregation propensity of catalase: A comprehensive study based on spectroscopic and molecular dynamic simulation measurements. *International Journal of Biological Macromolecules*, 209, 198–210. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.04.013>

Amenotie, A. J., Ben-Azu, B., Esuku, D. T., Chijioke, B. S., Abo, E., Ozah, E. O., Lawrence, E. O., Efejene, O. I., Onyeukwu, O. B., Alabi, B. A., & Ajayi, A. M. (2025). Sabinene Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Memory Decline by Enhancing Cholinergic Function, Decreasing

Molybdenum Enzymes, and Suppressing Oxidative Stress and Neuroinflammation. *Neurotoxicity Research*, 43(3). <https://doi.org/10.1007/s12640-025-00750-6>

Anson, M. L. (1938). The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin. *Journal of General Physiology*, 22, 79–89. <https://doi.org/10.1085/jgp.22.1.79>

Arellano-Carrasco, J. G., Martínez-García, R., Asiain-Hoyos, A., Reta-Mendiola, J. L., Díaz-Rivera, P., Frías-Gómez, S. A., Martínez-Burguete, T., Asencio-Alcudia, G. G., Jiménez-Martínez, L. D., Guerrero-Zarate, R., Sepúlveda-Quiroz, C. A., & Álvarez-González, C. A. (2023). Effects of Dietary Sodium Propionate on Growth, Digestive Enzyme Activity, and Expression of Immune System Genes in Juveniles of Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*). *Aquaculture Journal*, 3, 227–237. <https://doi.org/10.3390/aquacj3040018>

Arenas-Pardo, M. A., Gaxiola-Cortés, M. G., Barreto-Altamirano, A. F., Del Carmen Paredes-Medina, A., Palomino-Albarrán, I. G., Balam-Uc, P. M., Maldonado-Flores, J. C., & Álvarez-González, C. A. (2024). Changes in Digestive Enzyme Activities during Larval Development of Spotted Seatrout (*Cynoscion nebulosus*). *Aquaculture Nutrition*, 2024, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2024/1309390>

Arias-Rodríguez, L., Páramo-Delgadillo, S., Contreras-Sánchez, W. M., & Álvarez-González, C. A. (2009). Cariotipo del

pejelagarto tropical *Atractosteus tropicus* (Lepisosteiformes: Lepisosteidae) y variación cromosómica en sus larvas y adultos. *Revista de Biología Tropical*, 57(3), 529–539.

Assaggaf, H. M., Mrabti, H. N., Rajab, B. S., Attar, A. A., Alyamani, R. A., Hamed, M., Omari, N. E., Menyiy, N. E., Hazzoumi, Z., Benali, T., Al-Mijalli, S. H., Zengin, G., AlDhaheri, Y., Eid, A. H., & Bouyahya, A. (2022). Chemical Analysis and Investigation of Biological Effects of *Salvia officinalis* Essential Oils at Three Phenological Stages. *Molecules*, 27(16), 5157. <https://doi.org/10.3390/molecules27165157>

Baccouri, B., & Rajhi, I. (2021). Potential Antioxidant Activity of Terpenes. *Biochemistry*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96638>

Beltrán, J. M. G., & Esteban, M. Á. (2022). Nature-identical compounds as feed additives in aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, 123, 409-416. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.03.010>

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

Chen, Y., Chen, F., Liu, T., Huang, Y., Chen, Y., & Hsu, F. (2025). Analysis of Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils from Different Parts of *Alpinia*

uraiensis Hayata. *Molecules*, 30(7), 1515.

<https://doi.org/10.3390/molecules30071515>

[5](#)

Cigarroa-Ruiz, L. A., Toledo-Solís, F. J., Frías-Gómez, S. A., Guerrero-Zárate, R., Camarillo-Coop, S., Alvarez-Villagómez, C. S., Peña-Marín, E. S., Galaviz, M. A., Martínez-García, R., & Álvarez-González, C. A. (2023). Addition of β -glucans in diets for tropical gar (*Atractosteus tropicus*) larvae: effects on growth, digestive enzymes and gene expression of intestinal epithelial integrity and immune system. *Fish Physiology and Biochemistry*, 49, 613–626. <https://doi.org/10.1007/s10695-023-01207-3>

Conde-Hernández, L. A., Luna-Guevara, M. L., Luna-Guevara, J. J., Pérez-Vázquez, J., & Aranda-García, R. J. (2021). Mexican sage (*Salvia officinalis*) extraction using factorial design and its effect on chemical and antibacterial properties. *Journal of Chemistry*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/5594278>

Daniels, A., & Maiz-Tome, L. (2018). *Atractosteus tropicus*: IUCN Red List of Threatened Species. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-2.RLTS.T191025A1967012.en>

De La Cruz-Marín, E., Martínez-García, R., López-Hernández, J. F., Méndez-Marín, O., De la Rosa-García, S. C., Peña-Marín, E. S., Tovar-Ramírez, D., Sepúlveda-Quiroz, C. A., Pérez-Jiménez, G. M., Jiménez-Martínez, L. D., Asencio-Alcudia, G. G., & Álvarez-González, C. A. (2023). Inulin

Supplementation in Diets for Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae: Effects on Growth, Survival, and Digestive and Antioxidant Enzyme Activities. *Aquaculture Journal*, 3, 43–55.

<https://doi.org/10.3390/aquaci3010006>

de Oliveira, F. K., Santos, L. O., & Buffon, J. G. (2021). Mechanism of action, sources, and application of peroxidases. *Food Research International*, 143, 110266.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110266>

Del Río-Portilla, M. A., Vargas-Peralta, C. E., Lafarga-De La Cruz, F., Arias-Rodriguez, L., Delgado-Vega, R., Galván-Tirado, C., & García-De-León, F. J. (2016). The complete mitochondrial DNA of the tropical gar (*Atractosteus tropicus*). *Mitochondrial DNA*, 27, 557–558.

<https://doi.org/10.3109/19401736.2014.905856>

DelMar, E. G., Largman, C., Brodrick, J. W., & Geokas, M. C. (1979). A sensitive new substrate for chymotrypsin. *Analytical Biochemistry*, 99, 316–320.

[https://doi.org/10.1016/S0003-2697\(79\)80013-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2697(79)80013-5)

Du, Y., Duan, Y., & Zhang, S. (2022). The role of occludin in vascular endothelial protection. En A. Abukabda & C. Fonner (Eds.), *Endothelial Dysfunction - A Novel Paradigm* (cap. 8). IntechOpen.

<https://doi.org/10.5772/intechopen.107479>

Durling, N. E., Catchpole, O. J., Grey, J. B., Webby, R. F., Mitchell, K. A., Foo, L. Y., & Perry, N. B. (2007). Extraction of phenolics and

essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures. *Food Chemistry*, 101, 1417–1424. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.050>

El-Kholy, K. (2012). Effect of marjoram (*Marjorana hortensis*) or sage (*Salvia officinalis*) additives on growth performance and feed utilization of tilapia hybrid (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) monosex fingerlings. *Journal of Animal and Poultry Production*, 3, 115–126. <https://doi.org/10.21608/jappmu.2012.82781>

Erlanger, B. F., Kokowsky, N., & Cohen, W. (1961). The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 95, 271–278. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(61\)90145-X](https://doi.org/10.1016/0003-9861(61)90145-X)

FAO. (2022). Transformación Azul. Contribución de la Pesca y la Acuicultura al Nuevo Marco Estratégico de la FAO - COPPESAALC-XVIII-7. <https://openknowledge.fao.org/items/b14f7614-8dbf-42c8-82af-fc71e68bc4ad>

Farouk, S. M., Yusuf, M. S., El Nabtiti, A. A. S., & Abdelrazek, H. M. A. (2020). Effect of oregano essential oil supplementation on performance, biochemical, hematological parameters and intestinal histomorphometry of Japanese quail (*Coturnix coturnix Japonica*). *Veterinary Research Forum*, 11, 219–227. <https://doi.org/10.30466/vrf.2019.97574.2325>

- Farruggia, D., Di Miceli, G., Licata, M., Leto, C., Salamone, F., & Novak, J. (2024). Foliar application of various biostimulants produces contrasting response on yield, essential oil and chemical properties of organically grown sage (*Salvia officinalis* L.). *Frontiers in Plant Science*, 15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1397489>
- Firmino, J. P., Galindo-Villegas, J., Reyes-López, F. E., & Gisbert, E. (2021). Phytogetic bioactive compounds shape fish mucosal immunity. *Frontiers in Immunology*, 12, 695973. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.695973>
- Frías-Quintana, C. A., Márquez-Couturier, G., Alvarez-González, C. A., Tovar-Ramírez, D., Nolasco-Soria, H., Galaviz-Espinosa, M. A., Martínez-García, R., Camarillo-Coop, S., Martínez-Yañez, R., & Gisbert, E. (2015). Development of digestive tract and enzyme activities during the early ontogeny of the tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41, 1075–1091. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0070-9>
- Frías-Quintana, C., Álvarez-González, C., & Márquez-Couturier, G. (2010). Design of microdiets for the larviculture of tropical gar *Atractosteus tropicus*, Gill 1863. *Universidad Y Ciencia*, 26(3), 265–282. <http://www.scielo.org.mx/pdf/uc/v26n3/v26n3a6.pdf>
- Fu, Z., Akula, S., Thorpe, M., & Hellman, L. (2021). Marked difference in efficiency of the digestive enzymes pepsin, trypsin,

chymotrypsin, and pancreatic elastase to cleave tightly folded proteins. *Biological Chemistry*, 402(7), 861-867.

<https://doi.org/10.1515/hsz-2020-0386>

Gonfa, Y. H., Tessema, F. B., Bachheti, A., Rai, N., Tadesse, M. G., Singab, A. N., Chaubey, K. K., & Bachheti, R. K. (2023). Anti-inflammatory activity of phytochemicals from medicinal plants and their nanoparticles: A review. *Current Research In Biotechnology*, 6, 100152.

<https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2023.100152>

Guerrero-Zárate, R., Olvera-Novoa, M. Á., Jesus-Contreras, R., Frías-Quintana, C. A., Martínez-García, R., & Álvarez-González, C. A. (2024). Evaluation of protein and lipid ingredients through in vitro digestibility for tropical gar (*Atractosteus tropicus*) juveniles. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 52, 47–58.

<https://doi.org/10.3856/vol52-issue1-fulltext-3037>

Habtemariam, S. (2023). Anti-Inflammatory Therapeutic Mechanisms of Natural Products: Insight from Rosemary Diterpenes, Carnosic Acid and Carnosol. *Biomedicines*, 11(2), 545.

<https://doi.org/10.3390/biomedicines11020545>

Hernández-López, I. A., Tovar-Ramírez, D., De la Rosa-García, S., Álvarez-Villagómez, C. S., Asencio-Alcudia, G. G., Martínez-Burguete, T., Galaviz, M. A., Guerrero-Zárate, R., Martínez-García, R., Peña-Marín, E. S., & Álvarez-González, C. A.

(2021). Dietary live yeast (*Debaryomyces hansenii*) provides no advantages in tropical gar, *tractosteus tropicus* (actinopterygii: Lepisosteiformes: Lepisosteidae), juvenile aquaculture. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 51, 311–320. <https://doi.org/10.3897/AIEP.51.67095>

Hoch, C. C., Petry, J., Griesbaum, L., Weiser, T., Werner, K., Ploch, M., Verschoor, A., Multhoff, G., Dezfouli, A. B., & Wollenberg, B. (2023). 1,8-cineole (eucalyptol): A versatile phytochemical with therapeutic applications across multiple diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 167, 115467. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115467>

Hurtado, R., Peltroche, N., Mauricio, F., Gallo, W., Alvítez-Temoche, D., Vilchez, L., & Mayta-Tovalino, F. (2020). Antifungal efficacy of four different concentrations of the essential oil of *cinnamomum zeylanicum* (Canela) against *Candida albicans*: An in vitro study. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, 10, 724–730. https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_251_20

Hussein, E. E., El Basuni, M. F., Ashry, A. M., Habiba, M. M., Teiba, I. I., El-Rayes, T. K., Khattab, A. A. A., El-Hais, A. M., Shahin, S. A., El-Ratel, I. T., Badr, M. R., & Dawood, M. A. O. (2023). Effect of dietary sage (*Salvia officinalis* L.) on the growth performance, feed efficacy, blood indices, non-specific immunity, and intestinal

microbiota of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture Reports*, 28.

<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101460>

Ilić, Z. S., Kevrešan, Ž., Šunić, L., Stanojević, L., Milenković, L., Stanojević, J., Milenković, A., & Cvetković, D. (2023). Chemical Profiling and Antioxidant Activity of Wild and Cultivated Sage (*Salvia officinalis* L.) Essential Oil. *Horticulturae*, 9(6), 624. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9060624>

Jeena, K., Liju, V. B., Umadevi, N. P., & Kuttan, R. (2014). Antioxidant, Anti-inflammatory and Antinociceptive Properties of Black Pepper Essential Oil (*Piper nigrum* Linn). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 17, 1–12. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2013.831562>

Jesús-De la Cruz, K. de M., Ávila-Fernández, Á., Peña-Marín, E. S., Jiménez-Martínez, L. D., Tovar-Ramírez, D., Martínez-García, R., Guerrero-Zárate, R., Asencio-Alcudia, G. G., & Alvarez-González, C. A. (2020). Trypsin gene expression in adults and larvae of tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46, 145–155. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00704-8>

Jiménez Martínez, L. D., Morales García, V., Frías Quintana, C. A., Castillo Collado, A. del C., Asencio Alcudia, G. G., Alvarez Villagomez, C. S., Peña Marín, E. S., Concha Frías, B., & Álvarez-González, C. A. (2021). Quality evaluation of reference

gene expression on different tissues in adults of tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Pakistan Journal of Zoology*, 54(1). <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/20200913180928>

Jiménez-Martínez, L. D., Álvarez-González, C. A., De la Cruz-Hernández, E., Tovar-Ramírez, D., Galaviz, M. A., Camarillo-Coop, S., Martínez-García, R., Concha-Frías, B., & Peña, E. (2018). Partial sequence characterization and ontogenetic expression of genes involved in lipid metabolism in the tropical gar (*Atractosteus tropicus*). *Aquaculture Research*, 50(1), 162-172. <https://doi.org/10.1111/are.13879>

Karataş, T., Korkmaz, F., Karataş, A., & Yildirim, S. (2020). Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on growth, blood biochemistry, immunity, antioxidant, digestive enzymes and liver histopathology of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*, 26(5), 1533-1541. <https://doi.org/10.1111/anu.13100>

Kunkel, S. D., Elmore, C. J., Bongers, K. S., Ebert, S. M., Fox, D. K., Dyle, M. C., Bullard, S. A., & Adams, C. M. (2012). Ursolic Acid Increases Skeletal Muscle and Brown Fat and Decreases Diet-Induced Obesity, Glucose Intolerance and Fatty Liver Disease. *PLoS ONE*, 7(6), e39332. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039332>

Lee, S., Kim, D., Park, S., & Park, H. (2022). Phytochemistry and Applications of *Cinnamomum camphora* Essential Oils. *Molecules*, 27(9), 2695.

<https://doi.org/10.3390/molecules2709269>

5

Li, K., Wu, J., Xu, S., Li, X., Zhang, Y., & Gao, X. (2023). Rosmarinic acid alleviates intestinal inflammatory damage and inhibits endoplasmic reticulum stress and smooth muscle contraction abnormalities in intestinal tissues by regulating gut microbiota. *Microbiology Spectrum*, 11(5).

<https://doi.org/10.1128/spectrum.01914-23>

Li, X., Zhang, Q., Hou, N., Li, J., Liu, M., Peng, S., Zhang, Y., Luo, Y., Zhao, B., Wang, S., Zhang, Y., & Qiao, Y. (2019). Carnosol as a Nrf2 Activator Improves Endothelial Barrier Function Through Antioxidative Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 880.

<https://doi.org/10.3390/ijms20040880>

Lin, G., Li, N., Li, D., Chen, L., Deng, H., Wang, S., Tang, J., & Ouyang, W. (2023). Carnosic acid inhibits NLRP3 inflammasome activation by targeting both priming and assembly steps. *International Immunopharmacology*, 116, 109819.

<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.109819>

9

Liu, Y., Sheng, X., Tang, X., Xing, J., Chi, H., & Zhan, W. (2023). Genome-wide identification, phylogenetic relationships and expression patterns of the NOD-like receptor (NLR) gene family in flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 141.

<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.109083>

Liu, Y., Yu, X., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., & Chen, W. (2020). The role of MUC2 mucin

in intestinal homeostasis and the impact of dietary components on MUC2 expression.

International Journal of Biological Macromolecules, 164, 884–891.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.191>

Loussouarn, M., Krieger-Liszkay, A., Svilar, L., Bily, A., Birtić, S., & Havaux, M. (2017). Carnosic Acid and Carnosol, Two Major Antioxidants of Rosemary, Act through Different Mechanisms. *Plant Physiology*, 175(3), 1381-1394.

<https://doi.org/10.1104/pp.17.01183>

Ma, Y., Shi, J., Jia, L., He, P., Wang, Y., Zhang, X., Huang, Y., Cheng, Q., Zhang, Z., Dai, Y., Xu, M., & Lei, Z. (2023). Oregano essential oil modulates colonic homeostasis and intestinal barrier function in fattening bulls.

Frontiers In Microbiology, 14.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1293160>

Maldonado, A., Cruz, J., Gómez, D., López, L., Fernández, A., Peña-Marín, E, S & Álvarez-González, C. A. (2020). Cultivo de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*).

<http://dx.doi.org/10.18140/RG.2.2.31098.85444>

Manam, Dr. V. K. (2023). Fish feed nutrition and its management in aquaculture. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 11, 58–61.

<https://doi.org/10.22271/fish.2023.v11.i2a.2791>

Maroux, S., Louvard, D., & Barath, J. (1973). The aminopeptidase from hog intestinal brush border. *BBA - Enzymology*, 321, 282–295.

[https://doi.org/10.1016/0005-2744\(73\)90083-1](https://doi.org/10.1016/0005-2744(73)90083-1)

Márquez-Couturier, G., Vázquez-Navarrete, C. J., Contreras Sánchez, W. M & Álvarez-González, C. A. (2015). Acuicultura tropical sustentable Una estrategia para la producción y conservación del pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) en Tabasco, México. 2da. Ed. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Martínez-Burguete, T., Peña-Marin, E. S., García-Gasca, A., Alvarez-González, C. A., & Llera-Herrera, R. (2021). Nutrigenomic marker discovery by de novo transcriptomic sequencing during early development of the tropical gar (*Atractosteus tropicus*). *Aquaculture Research*, 52(8), 3829-3842. <https://doi.org/10.1111/are.15228>

Maytorena-Verdugo, C. I., Peña-Marín, E. S., Alvarez-Villagómez, C. S., Pérez-Jiménez, G. M., Sepúlveda-Quiroz, C. A., & Alvarez-González, C. A. (2022). Inclusion of Mannan-Oligosaccharides in Diets for Tropical Gar *Atractosteus tropicus* Larvae: Effects on Growth, Digestive Enzymes, and Expression of Intestinal Barrier Genes. *Fishes*, 7. <https://doi.org/10.3390/fishes7030127>

Metin, S., Yigit, N. O., Didinen, B. I., Koca, S. B., Ozmen, O., Aslankoc, R., & Kara, N. (2024). Effects of sage (*Salvia officinalis*) essential oil on growth, health and antioxidant capacity of common carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Research Communications*, 48, 911–921. <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10267->

Y

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

Nieves-Rodríguez, K. N., Álvarez-González, C. A., Peña-Marín, E. S., Vega-Villasante, F., Martínez-García, R., Camarillo-Coop, S., Tovar-Ramírez, D., Guzmán-Villanueva, L. T., Andree, K. B., & Gisbert, E. (2018). Effect of β -Glucans in Diets on Growth, Survival, Digestive Enzyme Activity, and Immune System and Intestinal Barrier Gene Expression for Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Juveniles. *Fishes*, 3(3), 27. <https://doi.org/10.3390/fishes3030027>

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>

Palacios Mejia, M., Arias-Rodríguez, L., Arciniega, M., Rodríguez, V., Barraza Sandoval, J. E., Herrera, N., Marroquín Mora, D. C., Ulloa Rojas, J. B., Márquez Couturier, G., Voelker, G., & Tobler, M. (2023). Conservation genetics of the tropical gar (*Atractosteus tropicus*, Lepisosteidae). *Conservation Genetics*, 24, 405–415. [https://doi.org/10.1007/s10592-023-01509-](https://doi.org/10.1007/s10592-023-01509-2)

2

Pei, J., Pan, X., Wei, G., & Hua, Y. (2023).

Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxiation. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1147414. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1147414>

Pérez-Jiménez, G. M., Alvarez-Villagomez, C. S., Martínez-Porchas, M., Garibay-Valdez, E., Sepúlveda-Quiroz, C. A., Méndez-Marín, O., Martínez-García, R., Jesús-Contreras, R., Alvarez-González, C. A., & De la Rosa-García, S. del C. (2024). The Indigenous Probiotic *Lactococcus lactis* PH3-05 Enhances the Growth, Digestive Physiology, and Gut Microbiota of the Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae. *Animals*, 14. <https://doi.org/10.3390/ani14182663>

Pérez-Jiménez, G. M., Peña-Marín, E. S., Maytorena-Verdugo, C. I., Sepúlveda-Quiroz, C. A., Jiménez-Martínez, L. D., De la Rosa-García, S., Asencio-Alcudia, G. G., Martínez, R., Tovar-Ramírez, D., Galaviz, M. A., Martínez-Burguete, T., Alvarez-González, C. A., & Alvarez-Villagomez, C. S. (2022). Incorporation of Fructooligosaccharides in Diets Influence Growth Performance, Digestive Enzyme Activity, and Expression of Intestinal Barrier Function Genes in Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae. *Fishes*, 7. <https://doi.org/10.3390/fishes7030137>

Qiao, X., Roth, I., Féraille, E., & Hasler, U. (2014). Different effects of ZO-1, ZO-2 and ZO-3 silencing on kidney collecting duct principal cell proliferation and adhesion. *Cell Cycle*, 13, 3059–3075.

<https://doi.org/10.4161/15384101.2014.949091>

Reis, D. R., Ambrosi, A., & Di Luccio, M. (2022). Encapsulated essential oils: A perspective in food preservation. *Future Foods*, 5, 100126.

<https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100126>

Robyt, J. F., & French, D. (1967). Multiple attack hypothesis of α -amylase action: Action of porcine pancreatic, human salivary, and *Aspergillus oryzae* α -amylases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 122, 8–16.

[https://doi.org/10.1016/0003-9861\(67\)90118-X](https://doi.org/10.1016/0003-9861(67)90118-X)

Rohani, M. F., Islam, S. M., Hossain, M. K., Ferdous, Z., Siddik, M. A., Nuruzzaman, M., Padeniya, U., Brown, C., & Shahjahan, M. (2022). Probiotics, prebiotics and synbiotics improved the functionality of aquafeed: Upgrading growth, reproduction, immunity and disease resistance in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 120, 569–589.

<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.12.037>

Salehi, B., Upadhyay, S., Orhan, I. E., Jugran, A. K., Jayaweera, S. L., Dias, D. A., Sharopov, F., Taheri, Y., Martins, N., Baghalpour, N., Cho, W. C., & Sharifi-Rad, J. (2019). Therapeutic Potential of α - and β -Pinene: A Miracle Gift of Nature. *Biomolecules*, 9(11), 738. <https://doi.org/10.3390/biom9110738>

Salomón, R., Firmino, J. P., Reyes-López, F. E., Andree, K. B., González-Silvera, D., Esteban, M. A., Tort, L., Quintela, J. C., Pinilla-Rosas, J. M., Vallejos-Vidal, E., & Gisbert, E. (2020). The growth promoting and immunomodulatory effects of a

medicinal plant leaf extract obtained from *Salvia officinalis* and *Lippia citriodora* in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 524. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735291>

Sepúlveda-Quiroz, C. A., Peña-Marín, E. S., Pérez-Morales, A., Martínez-García, R., Alvarez-Villagomez, C. S., Maytorena-Verdugo, C. I., Camarillo-Coop, S., Vissio, P. G., Sirkin, D. P., Tovar-Ramírez, D., Galaviz, M., & Álvarez-González, C. A. (2020). Fructooligosaccharide supplementation in diets for tropical gar (*Atractosteus tropicus*) juvenile: Effects on morphophysiology and intestinal barrier function. *Aquaculture Research*, 52(1), 37-50. <https://doi.org/10.1111/are.14867>

Sepúlveda-Quiroz, C. A., Pérez-Jiménez, G. M., Asencio-Alcudia, G. G., Mendoza-Porras, O., Jiménez-Martínez, L. D., Galaviz-Espinoza, M. A., Tovar-Ramírez, D., Martínez-García, R., Alvarez-Villagomez, C. S., & Alvarez-Gonzalez, C. A. (2024). Tryptophan Reduces Intracohort Cannibalism Behavior in Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae. *Fishes*, 9. <https://doi.org/10.3390/fishes9010040>

Sharopov, F. S., Wink, M., & Setzer, W. N. (2015). Radical Scavenging and Antioxidant Activities of Essential Oil Components – An Experimental and Computational Investigation. *Natural Product Communications*, 10(1). <https://doi.org/10.1177/1934578x1501000135>

- Sönmez, A. Y., Bilen, S., Alak, G., Hisar, O., Yanık, T., & Biswas, G. (2015). Growth performance and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with sage, mint and thyme oils. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41, 165–175. <https://doi.org/10.1007/s10695-014-0014-9>
- Sun, H., Wu, Y., Zhang, Y., & Ni, B. (2021). Sun, H., Wu, Y., Zhang, Y., & Ni, B. (2021). IL-10-Producing ILCs: Molecular Mechanisms and Disease Relevance. *Frontiers In Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.650200>
- Tadtong, S., Kamkaen, N., Watthanachaiyingcharoen, R., & Ruangrunsi, N. (2015). Chemical Components of Four Essential Oils in Aromatherapy Recipe. *Natural Product Communications*, 10(6), 1091–1092.
- Tao, L., Lu, H., Xiong, J., Zhang, L., Sun, W. wen, & Shan, X. feng. (2024). The application and potential of postbiotics as sustainable feed additives in aquaculture. *Aquaculture*, 592, 741237. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741237>
- Terrazas-Pineda, K. A., Alamilla-Beltrán, L., Acero-Ortega, C. A., Damas-Espinoza, J. A., Calderón-Domínguez, G., Mora-Escobedo, R., Vega-Sánchez, V., & Anda, F. R. G. (2025). Antimicrobial Activity of Cinnamon, Tea Tree, and Thyme Essential Oils Against Pathogenic Bacteria Isolated from Tilapia (*Oreochromis* spp.) in Aquaculture Farms. *Molecules*, 30(13), 2799.

<https://doi.org/10.3390/molecules30132799>

Versaw, W. K., Cuppett, S. L., Winters, D. D., & Williams, L. E. (1989). An Improved Colorimetric Assay for Bacterial Lipase in Nonfat Dry Milk. *Journal of Food Science*, 54, 1557–1558.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1989.tb05159.x>

Vieira, S. F., Ferreira, H., & Neves, N. M. (2020). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Cytocompatible *Salvia officinalis* Extracts: A Comparison between Traditional and Soxhlet Extraction. *Antioxidants*, 9(11), 1157.

<https://doi.org/10.3390/antiox9111157>

Walter He. (1984). Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer HU (Ed.) *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol. V. Verlag Chemic Weinham, pp 270-277.

Wang, J., Deng, L., Chen, M., Che, Y., Li, L., Zhu, L., Chen, G., & Feng, T. (2024). Phytogetic feed additives as natural antibiotic alternatives in animal health and production: A review of the literature of the last decade. *Animal Nutrition*, 17, 244-264.

<https://doi.org/10.1016/j.aninu.2024.01.012>

Wang, Y., Shi, H., Li, T., Yu, L., Qi, Y., Tian, G., He, F., Li, X., Sun, N., & Liu, R. (2022). Size-dependent effects of nanoplastics on structure and function of superoxide dismutase. *Chemosphere*, 309.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136768>

Wuertz, S., Schroeder, A., & Wanka, K. M. (2021).

Probiotics in Fish Nutrition—Long-Standing Household Remedy or Native Nutraceuticals? *Water*, 13(10), 1348. <https://doi.org/10.3390/w13101348>

Yang, N., Xia, Z., Shao, N., Li, B., Xue, L., Peng, Y., Zhi, F., & Yang, Y. (2017). Carnosic acid prevents dextran sulfate sodium-induced acute colitis associated with the regulation of the Keap1/Nrf2 pathway. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11408-5>

Yildirim, A., & Türker, H. (2018). Bazı aromatik bitki esansiyel yağlarının patojenik balık bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi. *Journal Of Limnology And Freshwater Fisheries Research*, 4(2), 67-74. <https://doi.org/10.17216/limnofish.379784>

Yilmaz, S., Yilmaz, E., Dawood, M. A. O., Ringø, E., Ahmadifar, E., & Abdel-Latif, H. M. R. (2022). Probiotics, prebiotics, and synbiotics used to control vibriosis in fish: A review. *Aquaculture*, 547, 737514. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737514>

Zdolec, N., Franičević, M., Klanac, L., Kavain, I., Batinić, J., Zadravec, M., Pleadin, J., Čobanov, D., & Kiš, M. (2024). Antimicrobial Properties of Basil (*Ocimum basilicum* L.), Sage (*Salvia officinalis* L.), Lavender (*Lavandula officinalis* L.), Immortelle (*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don), and Savory (*Satureja montana* L.) and Their Application in Hard Cheese Production. *Hygiene*, 4(2), 135-145. <https://doi.org/10.3390/hygiene4020010>

Zhao, H., Ren, S., Yang, H., Tang, S., Guo, C., Liu, M., Tao, Q., Ming, T., & Xu, H. (2022). Peppermint essential oil: its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 154, 113559.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113559>

Zhumaliyeva, G., Zhussupova, A., Zhusupova, G. E., Błońska-Sikora, E., Cerreto, A., Omirbekova, N., Zhunusbayeva, Z., Gemejiyeva, N., Ramazanova, M., Wrzosek, M., & Ross, S. A. (2023). Natural Compounds of *Salvia* L. Genus and Molecular Mechanism of Their Biological Activity. *Biomedicines*, 11(12), 3151.

<https://doi.org/10.3390/biomedicines11123151>

Zielińska-Błajet, M., & Feder-Kubis, J. (2020). Monoterpenes and Their Derivatives—Recent Development in Biological and Medical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 7078.

<https://doi.org/10.3390/ijms21197078>