



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
(BIOLOGÍA MARINA)

**DETERMINACIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DEL FLOC EN EL CAMARÓN
BLANCO DEL PACÍFICO (*Litopenaeus vannamei*) Y EL CAMARÓN ROJO DEL
CARIBE (*Farfantepenaeus brasiliensis*)**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:
EDÉN MAGAÑA GALLEGOS

TUTOR PRINCIPAL
MARTHA GABRIELA GAXIOLA CORTÉS
FACULTAD DE CIENCIAS – UNAM

COMITÉ TUTOR
M. EN C. SANTIAGO CAPELLA VIZCAÍNO
FACULTAD DE QUÍMICA - UNAM
DR. FRANCISCO XAVIER CHIAPPA CARRARA
FACULTAD DE CIENCIAS - UNAM
DRA. RUTH PEDROZA ISLAS
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA - UNAM
DR. MARIO GARDUÑO LUGO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA – UNAM

SISAL, YUCATÁN. OCTUBRE, 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Posgrado de Ciencias del Mar y Limnología.
Universidad Nacional Autónoma de México



**DETERMINACIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DEL
FLOC EN EL CAMARÓN BLANCO DEL PACÍFICO
(*Litopenaeus vannamei*) Y EL CAMARÓN ROJO DEL
CARIBE (*Farfantepenaeus brasiliensis*)**

T E S I S

Que para obtener el grado académico de:

**Maestro en Ciencias
(Biología Marina)**

P r e s e n t a:

EDÉN MAGAÑA GALLEGOS

Director de Tesis: DRA. MARTHA GABRIELA GAXIOLA CORTÉS

Comité Tutorial: M. EN C. SANTIAGO CAPELLA VIZCAÍNO
DR. MARIO GARDUÑO LUGO
DR. FRANCISCO XAVIER CHIAPPA CARRARA
DRA. RUTH PEDROZA ISLAS

Sisal, Yucatán, Octubre de 2014

Este presente trabajo fue realizado en la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la Facultad de Ciencias, UNAM con sede en Sisal, Yucatán con el apoyo financiero del proyecto CONACYT-CIENCIA BÁSICA 167670 bajo la dirección de la Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés, así como al apoyo financiero del proyecto Fortalecimiento y Desarrollo de la Infraestructura Científica y Tecnológica del CONACYT (INFR-2011-03 número 173409), bajo la dirección del Dr. Xavier Chiappa Carrara.

Se agradece a los siguientes por su colaboración en la realización de esta tesis:

- a) Manejo de los reproductores y obtención de los nauplios: Ing. Miguel Arévalo López.
- b) Cría de larvas de camarón: Ing. Adriana del Carmen Paredes Medina.
- c) Producción de alimento vivo para las larvas de camarón: Biol. Gabriela Palomino Albarrán.
- d) Elaboración de los alimentos balanceados para los reproductores y las postlarvas: Dr. Juan Carlos Maldonado Flores.
- e) Capacitación y análisis de carbono y nitrógeno elemental de múltiples muestras: M. en C. Korynthia López Aguiar.
- f) Capacitación y análisis de muestras mediante la técnica de isótopos estables: Dr. Pedro Morales Puente, M. en C. Edith Cienfuegos Alvarado y al M. en C. Francisco J. Otero Trujano.
- g) Capacitación y ayuda técnica en el laboratorio así como sus consejos en el análisis de muestras: M. en C. Karla Susana Escalante Herrera, M. en C. Nancy Herrera Salvatierra, M. en C. Ariadna Berenice Sánchez Arteaga y a la Biol. Mar. Elisa Y. Chan Vivas.
- h) Montaje, seguimiento, alimentación, engorda y cuidado de los camarones cultivados en estanques de agua clara y Floc, así como su invaluable ayuda en las biometrías y sus consejos: M. en C. Manuel Valenzuela Jiménez.
- i) Por brindarme su tiempo, apoyo y paciencia así como sus consejos para la escritura de esta tesis: Dr. Mario Garduño Lugo
- i) Por los análisis de química analítica: Dra. Elsa Noreña Barroso.
- j) A DSM por la donación de la enzima Ronozyme y las premezclas de vitaminas y minerales.
- k) Técnicos académicos del Programa Camarón.

l) Laboratorio Central de la Unidad Ciencias, Sisal, Yucatán.

m) Al doctor Gerard Cuzon por su contribución en la elaboración de los métodos e ideas iniciales de esta tesis, así como en la revisión del manuscrito.

n) Agradezco al Consejo Nacional De Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (281784) durante el periodo 2012-2014.

Agradecimientos

A Dios por darme la fuerza, templanza y paciencia que necesité para culminar los dos años de tesis ¡GRACIAS SEÑOR!

A mis padres Yrene Gallegos Falconi y Edén Magaña Barjau así como a mí abuelita Nery Falconi Vera por su incansable labor de brindarme consejos y amor durante toda mi vida, así como ser una fuente de inspiración inagotable. Dios los bendiga y me brinde la satisfacción de pasar muchos años más a su lado..... ¡GRACIAS!

A mis tíos y primos: Juani y Chuy (por brindarme alojamiento durante mi estadía en la ciudad de México), Tallo y Elvira (Por estar siempre conmigo), Jisus (por enseñarme a usar el metro), Oswaldo y Luigi (por ser un gran ejemplo para la familia), Magdalena (por ser como mi hermana).... por ser mis ejemplos a seguir..... ¡GRACIAS!

A todos mis hermanos: ☺ Eduardo que en paz descanse, te doy las gracias por darme sabiduría en mi camino, ☺ Edgar por alentarme a seguir adelante, ☺ Víctor por tus inagotables llamadas para preguntarme cómo va la Tesis!!! así como a tus invaluable consejos, ☺ Irene María por darme amor y consejos, gracias por dejarme ser tu “bebe de oro”, ☺ Judid Magaña por sus palabras de aliento y su cariño incondicional y a mi sacrosanta hermanita ☺☺ Isis Carolina por estar siempre en las buenas y en las malas, darme tu apoyo, tus consejos, tus puntos de vista y tu invaluable compañía en casa..... ¡GRACIAS!

A mis grandes amigos que conocí durante la prepa con los que todavía sigo teniendo una bonita relación y me han aconsejado para bien en muchas cosas: Abogada Sabrina Alcantar, Química Cindy Gonzales, Agrónomo Jonathan Solache..... ¡GRACIAS!

A mis amigos la M. en C. Sara Ortiz por ayudarme durante toda mi tesis y aguantarme – jeje- así como por tus consejos y retroalimentaciones, así también quiero agradecer a la M. en C. Diana Aguilera, al M. en C. Jose Agüero, al M. en C. Dawrin Pech por darme consejos y brindarme su tiempo..... ¡GRACIAS!

A Karlita, Ariadna, Elisa, Nancy y Marco por ayudarme en el laboratorio cuando lo necesite y por ser pacientes conmigo durante los dos años de mi tesis de maestría, así como por brindarme su auténtica amistad..... ¡GRACIAS!

A Elisa Y. Chan Vivas quien forma una parte importante de mi vida. Gracias por estar siempre ahí y por ser siempre ese pilar fundamental que me ayudó a sostenerme durante estos dos años de mi formación. Gracias por escucharme. Gracias por amarme. Gracias por estar siempre ahí. Gracias por regalarme tus horas de sueño para revisar mi manuscrito. Gracias por criticarme, porque me ayudas a ser una mejor persona. Gracias por todo..... ¡GRACIAS!

Al Dr. Gerard Cuzon, casi casi mi segundo director de tesis ☺ y a la Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés mi tutora de tesis así como al Dr. Juan Carlos Maldonado Flores y al Dr. Mario Garduño Lugo por brindarme su tiempo y conocimiento, por alentarme a seguir adelante, por darme la oportunidad de trabajar con ustedes les digo..... ¡¡¡MUCHAS GRACIAS!!!.

Dedicatorias

A mis padres.....

A mis tíos Elvira y Tallo así como a Juani y Chuy a los cuales amo mucho.

A todos mis hermanos.... ☺

A Elisa por que fuiste, eres y serás siempre un pilar en mi vida.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
• 2.1 Generalidades de <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	3
• 2.2 Generalidades de <i>Litopenaeus vannamei</i>	5
• 2.3 Análisis de contenido estomacal.....	11
• 2.4 Uso de sistemas alternativos para el cultivo de camarones peneidos: BFT	12
• 2.5 Enzimas digestivas.....	13
• 2.6 Señal isotópica.....	15
• 2.7 Dinámica trófica y análisis nutricional en sistemas con BFT.....	17
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	20
5. HIPÓTESIS	20
6. OBJETIVO GENERAL	21
• 6.1 Objetivos específicos	21
7. MATERIAL Y MÉTODOS	21
• 7.1 Origen de las post-larvas	21
• 7.2 Condiciones experimentales	22
• 7.3 Evaluación de parámetros de la calidad del agua	23
• 7.4 Parámetros de producción	24
• 7.5 Supervivencia	24
• 7.6 DGC.....	24
• 7.7 TCA	24
• 7.8 Biomasa final.....	25
• 7.9 Determinación de los componentes taxonómicos del Floc	25
• 7.10 Procesamiento de los camarones	26
• 7.11 Determinación de la actividad enzimática.....	26
• 7.12 Tripsina	27
• 7.13 α -amilasa	27
• 7.14 Análisis proximal del Floc y del músculo de los camarones	28
• 7.15 Análisis de isótopos estables $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$	28
• 7.16 Análisis de datos	30

8. RESULTADOS	32
• 8.1 Parámetros fisicoquímicos y condiciones del agua.....	32
• 8.2 Parámetros de producción	32
• 8.3 Actividad enzimática	33
• 8.4 Composición proximal del Floc y del músculo de los camarones	34
• 8.5 Análisis del zooplancton en los tanques de cultivo.....	35
• 8.6 Análisis elemental e isotópico	38
9. DISCUSIÓN	42
• 9.1 Parámetros fisicoquímicos y condiciones del agua.....	42
• 9.2 Parámetros de producción	43
• 9.3 Actividad enzimática	44
• 9.4 Composición proximal del Floc y músculo de los camarones.....	45
• 9.5 Variación del zooplancton en los tanques de cultivo	46
• 9.6 Contribución relativa del Floc en la nutrición de <i>L. vannamei</i> y <i>F. brasiliensis</i>	47
10. CONCLUSIONES	48
11. LITERATURA CITADA	50

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Copépodo (1), Flóculo microbiano (2). Muestras tomadas a 40x. Corresponde a la Etapa I.	35
Figura 2 Copépodo (1). Corresponde a la Etapa II. 40x.	35
Figura 3 Nematodo (1).40x. Etapa I.	35
Figura 4 <i>Vorticella</i> (1). Etapa I. 40x.	36
Figura 5 Rotífero (1). Etapa I. 40x.	36
Figura 6 Microalga Euglenophita (1). Etapa I. 40x.	36
Figura 7 Rotífero tipo II, encontrado en la segunda etapa del experimento.	36
Figura 8 Larvas de poliqueto encontradas en ambas etapas del experimento. 10x.	36
Figura 9 Variación de la abundancia de nematodos durante la segunda etapa experimental de los tanques de cultivo. n=4 por semana por especie.	37
Figura 10 Variación de la abundancia de copépodos durante la segunda etapa experimental de los tanques de cultivo. n=4 por semana por especie.	37
Figura 11 Variación de la abundancia de rotíferos durante la segunda etapa experimental de los tanques de cultivo. n=4 por semana por especie.	37
Figura 12 Variación de la abundancia de larvas de poliqueto durante la segunda etapa experimental de los tanques de cultivo. n=4 por semana por especie.	37
Figura 13 Señal isotópica de <i>L. vannamei</i> en la primera etapa (♦) y <i>L. vannamei</i> de la segunda etapa (▲). Asimismo se muestran las señales isotópicas de las fuentes alimenticias: Alimento balanceado (□), Floc 50µm (♥), Floc 100µm (♣), Floc 250µm (♠), Floc 500µm (♫) y Floc 10µm (-).	40
Figura 14 Señal isotópica de <i>F. brasiliensis</i> en la primera etapa (■) y <i>F. brasiliensis</i> de la segunda etapa (●). Asimismo se muestran las señales isotópicas de los componentes alimenticios: Alimento comercial (□), Floc 50µm (♥), Floc 100µm (♣), Floc 250µm (♠), Floc 500µm (♫) y Floc 10µm (-).	41

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica del camarón rojo <i>F. brasiliensis</i> según Pérez-Farfante, (1969).....	4
Tabla 2 Clasificación taxonómica del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i>	5
Tabla 3 Estudios sobre determinación de parámetros productivos, digestivos, inmunológicos y composición química de camarones del género <i>Penaeus</i> . Alimento balanceado (AB), Tecnología Floc (BFT), Agua clara (AC).....	7
Tabla 4 Estudios sobre contenido estomacal de camarones peneidos en ambientes naturales y controlados.	12
Tabla 5 Número de organismos empleados durante las dos etapas experimentales.....	26
Tabla 6 Variables de la calidad del agua (promedio \pm D.E) durante ambas etapas del experimento.	32
Tabla 7 Promedio (\pm D.E) de los parámetros zootécnicos de <i>L. vannamei</i> y <i>F. brasiliensis</i> durante las dos etapas del experimento. Las comparaciones estadísticas son entre etapas de la misma especie. Biometrías al inicio y final de cada tanque de cultivo fueron realizadas, tomando una n de 50 camarones.	33
Tabla 8 Promedio (\pm D.E.) de la proteína total soluble y la actividad enzimática digestiva de los camarones cultivados. Asimismo se reporta la relación α -amilasa/tripsina (A/T). 34	
Tabla 9 Composición químico proximal (% base peso seco) de las fuentes alimenticias. n=1 para cada fuente alimenticia. Sin muestra (S.N). Alimento balanceado (AB).....	34
Tabla 10 Composición químico proximal (% base peso seco) del músculo de los camarones peneidos cultivados. n= 12 para cada especie y etapa del experimento.	35
Tabla 11 Contenido y composición isotópica de C y N del músculo de los camarones cultivados en ambas etapas del experimento. Para cada especie por etapa de cultivo n= 12.	38
Tabla 12 Contenido y composición isotópica de C y N de los diferentes componentes de la dieta de los camarones cultivados durante ambas etapas del experimento (Floc y alimento balanceado, AB).....	39
Tabla 13 Contribución de las fuentes alimenticias (%) a la síntesis del músculo de los camarones. I y II denotan la etapa en la que se encontraban los camarones. Alimento balanceado (AB).	42

1. INTRODUCCIÓN

Los productos marinos tales como peces, camarones y bivalvos provienen principalmente de dos fuentes: pesquerías y acuicultura. Alrededor del mundo, el sector de la acuicultura ha incrementado a una tasa promedio anual de 8.9% desde 1970 comparado con el 1.2% de la captura de las pesquerías y 2.8% de los organismos terrestres cultivados. En sí, la acuicultura se ha incrementado 2.5 veces durante la última década alcanzando 31.2 millones de toneladas las cuales provienen principalmente de China, Indonesia y otros países desarrollados, y se espera que la producción global alcance los 72 millones de toneladas para el 2030 (Pandey et al., 2007; Olsen y Hasan, 2012).

Desde 1985, la camaronicultura en México ha sido una de las actividades económicas de más alto crecimiento. La producción de camarones cultivados ha incrementado de 45,853 toneladas en 2002 hasta 133, 282 toneladas en 2011 (CONAPESCA, 2011). Las especies de camarón más cultivadas en México son *L. vannamei* y *L. stylirostris* (Ezquerro-Brauer et al., 2003; Páez-Osuna, 2005) y la especie de más alta importancia pesquera es *F. brasiliensis* junto con otras seis especies (*F. aztecus*, *F. duorarum*, *L. setiferus*, *Sicyonia brevirostris* y *Xiphopenaeus kroyeri*) (SAGARPA, 2002). Con respecto a *F. brasiliensis*, es una especie con alto potencial de cultivo, sin embargo los aspectos biológicos y fisiológicos son virtualmente desconocidos. Por lo tanto, existe la necesidad de generar conocimiento al respecto con el fin de sentar las bases para su cultivo (Brito et al., 2000; Emerenciano et al., 2011).

A pesar del alto crecimiento de la camaronicultura a nivel mundial, existe una alta preocupación por desarrollar una mejor gestión ecológica y nuevos sistemas de producción acuícola ya que la expansión de la acuicultura actualmente está restringida debido a las altas presiones que causa al ambiente tales como: 1) pérdida de manglar así como de bienes y servicios que proveen, 2) descargas de agua de desecho a cuerpos de agua naturales con un consecuente enriquecimiento de nutrientes y eutrofización, 3) la utilización de grandes cantidades de agua para producir un kilogramo de producto (e.g. hasta 20 m³ de agua por kilogramo de camarón producido) y 4) la fuerte dependencia de ingredientes tales como

harina y aceite de pescado para especies de camarones marinos (Primavera, 1997; De Schryver et al., 2008; Tacon y Metian, 2008; Olsen y Hasan, 2012).

Para el año 2006, en México se produjeron entre 170,000 y 210,000 toneladas de alimento para camarón, y las tasas de conversión alimenticia fueron de entre 1.2-2.3, el uso de harina de pescado fue del 16% y del aceite de pescado 3%. El uso de harina y aceite de pescado varían ampliamente dentro y entre países. Por ejemplo, para camarones el uso de harina de pescado fluctúa entre 5 y 40% y el aceite de pescado entre 0.5 y 10%. Estas variaciones son el resultado de: 1) diferentes sistemas de producción acuícola (e.g. disponibilidad de alimento natural), 2) diferencias específicas entre especies de camarón y 3) diferencias con respecto al uso del alimento (e.g. disponibilidad de harina y aceite de pescado, o el costo de los insumos) (Tacon y Metian, 2008). Además, los costos alimenticios representan al menos un 60% de los costos totales en la acuicultura, debido al costo de proteína en dietas comerciales (Cruz-Suárez et al., 1996). Por lo tanto es necesario desarrollar ya sea dietas alternativas o sistemas de cultivo capaces de proveer fuentes nutricias adicionales a los alimentos comerciales, para no degradar el medioambiente y que a su vez sean técnicamente apropiadas, económicamente viables y socialmente aceptables (Borja, 2002; Rabasso Krohnert, 2006).

Como una nueva alternativa a estos problemas surge la Tecnología Biofloc (BFT, por sus siglas en inglés; De Schryver et al., 2008; también conocida como sistemas con Floc, de cero recambio de agua, heterotróficos e incluso de adición de melaza). La BFT es un sistema de limitado recambio de agua, con una fuente de carbono externa, que acumula residuos orgánicos, que al mezclarse de manera correcta con la ayuda de una buena aeración produce condiciones ideales para el crecimiento microbiano. Este crecimiento microbiano, genera agregados microbianos llamados flóculos, los cuales son ingeridos por los organismos cultivados (Avnimelech, 2012; Crab et al., 2012). Los flóculos contienen microalgas, protozoos, nematodos y otros microorganismos, junto con detritos y partículas de materia orgánica (De Schryver et al., 2008; Avnimelech, 2012; Crab et al., 2012). Sin embargo, a pesar de que ya se cuenta con una idea sobre los organismos que componen la comunidad del Floc, es necesario determinar el papel que juegan en la dinámica nutricional que le brinda a los organismos cultivados (Crab et al., 2012).

Además de conocer los componentes del Floc, es necesario conocer las necesidades nutricionales de los organismos de cultivo así como comprender las interrelaciones tróficas y la fisiología digestiva de los camarones. Para esto han surgido varios métodos tales como: a) determinación de enzimas digestivas, b) análisis químico-proximal y c) análisis de isótopos estables. Los análisis de determinación de enzimas, nos indican el tipo de alimentación de las especies de interés, ya sea hacia materiales de origen vegetal o animal (Jones et al., 1997). Los análisis químico-proximal nos ayudan a entender si la dieta suministrada es de buena calidad para los organismos de cultivo así como para entender cuál es el valor nutricional de fuentes nutricias no exploradas. Los análisis de isótopos estables, son métodos más precisos con el potencial de determinar la fracción nutricia que integra el músculo, así como el lugar que ocupan los organismos en la cadena trófica (Post, 2002).

Por ejemplo, *L. vannamei* es una especie que tiende hacia la herbivoría (Shiau, 1998) mientras que *F. brasiliensis* tiende a ser carnívoro (Liao et al., 1986). Sin embargo, los requerimientos nutricionales de los camarones peneidos, cambian de acuerdo al estado de desarrollo, mostrando actividades enzimáticas e isotópicas diferentes a lo largo de sus ciclos de vida, de acuerdo al tipo de material consumido y asimilado. Por lo tanto, el objetivo del trabajo es determinar el efecto del aporte nutricional de los flóculos sobre el camarón blanco del Pacífico (*L. vannamei*) y el camarón rojo del Caribe (*F. brasiliensis*).

2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades de *Farfantepenaeus brasiliensis*

F. brasiliensis es una especie que pertenece al género *Farfantepenaeus* (Tabla 1) (Carpenter, 2002). Sin embargo, es poco lo que se conoce sobre su biología y fisiología (Brito et al., 2000). Esta especie habita desde la línea de costa a profundidades de alrededor de 65 m y raramente se encuentra en aguas más profundas (366 m; Carpenter, 2002); es muy abundante entre 45 y 65 m en fondos moderadamente firmes de lodo mezclado con arena; los juveniles y adultos pueden ser encontrados en fondos de lodo suave. Su distribución se presenta fuera de Cabo Hatteras a los Cayos de Florida (EUA), fuera de

Campeche y Yucatán; Las Bermudas, a través del Mar Caribe y las indias occidentales a Río Grande do Sul (Carpenter, 2002). En lagunas costeras de Yucatán, México, *F. brasiliensis* presenta densidades y tamaños más grandes de zonas internas a zonas externas, relacionado con las características hidrológicas, en las cuales la temperatura y salinidad aumentan conforme aumenta la distancia a la boca de la laguna (May-Kú y Ordóñez-López, 2006). Esta especie es nocturna, y los adultos así como los juveniles son capturados en la noche (Carpenter, 2002). Es muy importante en las costas del Caribe de América del Sur y Central. En México, *F. brasiliensis* tiene gran importancia pesquera junto con otras seis especies (*F. aztecus*, *F. duorarum*, *L. setiferus*, *Sicyonia brevirostris* y *Xiphopenaeus kroyeri*);(SAGARPA, 2002). Con respecto a la acuicultura *F. brasiliensis* tiene tasas de crecimiento relativamente buenas, y el tamaño máximo de los adultos es grande comparado a otras especies de peneidos (Gaxiola et al., 2010). De acuerdo con Brito et al., (2000) los juveniles tempranos de *F. brasiliensis*, tienen menos resistencia a reducciones de salinidad que otros camarones peneidos, además las más altas tasas de crecimiento se presentan cuando la salinidad está sobre su punto isosmótico (794 mOSm Kg⁻¹, 25 ‰).

Tabla 1 Clasificación taxonómica del camarón rojo *F. brasiliensis* según Farfante, (1969).

Clasificación Taxonómica	
Reino	Animal
Phylum	Artropoda
Superclase	Crustacea (Pennant, 1777)
Clase	Malacostraca (Latreille, 1806)
Orden	Decapoda (Latreille, 1803)
Suborden	Dendobranchiata (Bate, 1888)
Superfamilia	Penaeoidea (Rafinesque-Schmaltz, 1815)
Familia	Penaeidae (Rafinesque-Schmaltz, 1815)
Género	<i>Farfantepenaeus</i> (Burukovsky, 1997)
Especie	<i>F. brasiliensis</i> (Latreille, 1817)

En cuanto a su alimentación, de acuerdo con Albertoni et al., (2003) en un estudio realizado en la laguna de Imbossica sobre el contenido estomacal de *F. brasiliensis*, se le describe como una especie omnívora y de carácter oportunista, lo que la haría una especie objetivo para la acuicultura debido a que tiene la capacidad de aprovechar diferentes sustratos alimenticios. Dentro de la acuicultura es necesario producir la semilla, con el fin de no diezmar las poblaciones silvestres, por lo que regímenes alimenticios de larvas de camarón necesitan ser desarrollados, al respecto Gaxiola et al., (2010) encontraron una combinación

óptima de microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chuii*) y *Artemia spp.*, lo cual puede favorecer el aporte de ácidos grasos insaturados y aminoácidos esenciales en el desarrollo acuícola de esta especie.

2.2 Generalidades de *Litopenaeus vannamei*

El camarón blanco *L. vannamei* es un invertebrado marino que se encuentra agrupado dentro del Phylum *Arthropoda*, familia *Penaeidae* y perteneciente al género *Litopenaeus* (Tabla 2). Se caracteriza por poseer un exoesqueleto revestido de quitina y un tronco compuesto por 14 segmentos más el telson.

El ámbito de distribución de esta especie abarca toda la costa del Pacífico central y Sudamérica, desde México hasta Perú. Los adultos se localizan desde los 3.66 m hasta los 36.6 m de profundidad, sin embargo se les encuentra con mayor frecuencia entre 9.15 y 18.3 m. Los juveniles se localizan en aguas interiores y lagunas costeras (Briggs et al., 2004).

Tabla 2 Clasificación taxonómica del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*

Clasificación taxonómica	
Clase	Malacostraca (Latreille, 1806)
Orden	Decapoda (Latreille, 1803)
Suborden	Dendobranchiata (Bate, 1888)
Superfamilia	Penaeoidea (Rafinesque-Schmaltz, 1815)
Familia	Penaeidae (Rafinesque-Schmaltz, 1815)
Género	<i>Litopenaeus</i> (Pérez-Farfante, 1969)
Especie	<i>L. vannamei</i> (Boone, 1931)

Presenta un cuerpo que tiende a ser cilíndrico o comprimido lateralmente, tiene un cefalotórax definido y porta un rostro aserrado con forma de quilla, su anatomía externa se caracteriza por un tronco compuesto de 14 segmentos más el telson de los cuales los ocho primeros forman el tórax y los últimos seis el abdomen; todos los segmentos portan apéndices, los que se encuentran en el abdomen anterior son llamados pleópodos y son usados para nadar y los posteriores son llamados periópodos que son usados para caminar en el fondo (Farfante, 1969).

Posee una boca en posición ventral y el aparato digestivo se ensancha a lo largo del dorso, para formar una glándula digestiva grande llamado hepatopáncreas que excreta enzimas digestivas. El cordón nervioso se extiende a lo largo del vientre. Su órgano excretor es la glándula antenal que lanza sustancias de desecho al exterior. El sistema circulatorio es abierto y compuesto por vasos hemolinficos que transportan la hemolinfa la cual posee cobre y transporta el oxígeno, por la que desarrolla un color azulado. El oxígeno y el dióxido de carbono es intercambiado en las branquias (Farfante, 1969).

Los estudios sobre los hábitos alimenticios han demostrado que los camarones peneidos son omnívoros, y que algunas especies presentan tendencias a ser carnívoros o herbívoros. En el caso de *L. vannamei*, *L. setiferus* y *L. schmitti*, presentan hábitos omnívoro-herbívoro, asociados con diferentes proporciones de materiales de origen animal o vegetal en la dieta, y podrían evidenciar requerimientos nutricionales distintos al de otras especies de camarón (McTigue y Zimmerman, 1991). Estas diferencias están asociadas con habilidades específicas para utilizar diferentes proporciones de proteínas como sustrato metabólico (Rosas et al., 1995), siendo esta plasticidad del organismo usada en los nuevos sistemas de cultivo.

Debido a que la formulación de los alimentos y tipo de cultivo es la base del éxito para los productores (Velasco et al., 2000), la nutrición y alimentación especialmente de *L. vannamei* ha recibido gran atención en los últimos años (Cuzon et al., 2004). Por esta razón, la tendencia ha sido buscar fuentes alternativas de proteínas y técnicas de cultivo que influyan en la velocidad de crecimiento o para alcanzar las tallas máximas de la especie (Carrillo et al., 2000; Galindo et al., 2001).

Tabla 3 Estudios sobre determinación de parámetros productivos, digestivos, inmunológicos y composición química de camarones del género *Penaeus*. Alimento balanceado (AB), Tecnología Floc (BFT), Agua clara (AC).

Especie	Sistema de cultivo	Resultados	Referencia
<i>F. brasiliensis</i>	<p>1) AC + AB (Control) 2) BFT + AB 2) BFT sin AB</p> <p>--Densidad de siembra: 1000 cam m⁻³ --Duración del experimento: 30 días</p>	<p>El sistema control presentó el menor peso final (176±4.7 mg) mientras que el BFT+AB y BFT sin AB obtuvieron los mayores pesos finales (218.9±13.9 y 236.5±13.5 mg respectivamente). La mayor supervivencia (67%) fue obtenida por el BFT sin AB, comparado con 81.5% y 84% en los sistemas BFT+AB y Agua clara +AB. Se determinaron cinco principales grupos de plancton: protozoarios (ciliados y flagelados), rotíferos, cianobacterias y diatomeas penadas. El análisis químico-proximal indica que hay un 30.4% de proteína cruda en los floculos microbianos.</p>	Emerenciano et al., (2012)
<i>F. duorarum</i>	<p>1) Agua clara (Control) 2) BFT</p> <p>--Densidad de siembra: 38 cam m⁻² --Duración del experimento: 210 días</p>	<p>Se determinó que el sistema control y el BFT presentaron el mismo peso final ($p>0.05$) con 13.9g y 13.3g respectivamente. Además la supervivencia determinada fue de 81.4% para AC y 63.2% para BFT. La menor supervivencia determinada se debe al volumen de sólidos suspendidos totales ya que fueron superiores a 15 mL/L. Se propone hallar los parámetros fisicoquímicos adecuados para el cultivo de esta especie en estudios posteriores. Se determinaron cinco principales grupos de plancton: cianobacterias filamentosas, protozoarios, nematodos y copépodos. La composición proximal del Floc varió conforme cambió la comunidad microbiana. El mayor contenido de proteína cruda se detectó en el mes siete con 29.3% y el menor contenido (18.2%) en el mes tres con las menores concentraciones de copépodos, nematodos y cianobacterias filamentosas.</p>	Emerenciano et al., (2013)
<i>F. brasiliensis</i>	<p>1) BFT sin probiótico (Control) 2) BFT + Sanolife Pro-W (Bacteria: mezcla de <i>Bacillus spp.</i>) 3) BFT + Biomin Start-grow (Bacteria: mezcla de <i>Bacillus sp.</i>, <i>Enterococcus sp.</i>, <i>Lactobacillus spp.</i>) 4) BFT + <i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoi</i></p> <p>--Densidad de siembra: 150 cam m⁻² --Duración del experimento: 30 días</p>	<p>La tasa de crecimiento específico (TCE) para el sistema control fue de 0.030±0.003 mientras que los camarones que fueron alimentados con probióticos presentaron mayores TCE siendo de 0.036±0.007 para BFT + Sanolife Pro-W, 0.035±0.009 para BFT + Biomin Start-grow y 0.034±0.004 para BFT + <i>Bacillus toyoi</i>. La mayor supervivencia se determinó en el tratamiento BFT + Sanolife Pro-W. De manera general, los camarones cultivados con probióticos mostraron más altos niveles de proteína total y hemocitos granulares. La concentración de <i>Vibrio spp.</i> fueron más bajas en los tratamientos con probiótico.</p>	de Souza et al., (2012)

<p><i>F. brasiliensis</i> <i>F. paulensis</i></p>	<p>1) Jaulas --Densidad de siembra: 20 cam m⁻² --Duración del experimento: 65 días</p>	<p>El peso final promedio fue de 7.9±0.9 y 6.9±1.1 para <i>F. brasiliensis</i> y <i>F. paulensis</i> respectivamente. La tasa de conversión alimenticia de <i>F. brasiliensis</i> fue de 1.3±0.2. La supervivencia de <i>F. brasiliensis</i> fue de 94.1±9.0 y 98.5±0.71% para <i>F. paulensis</i>.</p>	<p>de Alcantara Lopes et al., (2009)</p>
<p><i>F. brasiliensis</i></p>	<p>1) Biofilm + alimento balanceado (B+AB) 2) Alimento balanceado sin Biofilm (AB) --Densidad de siembra: 100 cam m⁻² --Duración del experimento: 30 días</p>	<p>El peso final fue de 160.6 mg y 157±9.5 mg para el tratamiento B+AB y AB respectivamente. La supervivencia fue en el tratamiento B+F de 53.4% y de 40.3% para el tratamiento AB. Se determinaron seis principales grupos de plancton: diatomeas penadas, cianobacterias filamentosas, flagelados, ciliados, nematodos y rotíferos.</p>	<p>Viau et al., (2013)</p>
<p><i>F. brasiliensis</i></p>	<p>1) Tanques con adición de melaza 2) Tanques sin melaza (control) --Densidad de siembra: 150 cam m⁻² --Duración del experimento: 30 días</p>	<p>La tasa de supervivencia (88.8±6.3), el peso final (1.2±0.3) y la tasa de conversión alimenticia fueron significativamente más altas que los camarones en el tratamiento control (80.5±2.4; 1.0±0.1; 0.02±0.97 respectivamente). En cuanto al análisis bacteriológico, el tratamiento con melaza, mantuvo al género <i>Vibrio spp.</i> en menores concentraciones (20x10² UFC/ml comparado a 80x10² UFC/ml en el control). Además, este estudio demuestra que la adición de melaza puede ser utilizada como una herramienta para prevenir incrementos en el TAN y nitritos durante la fase de criadero de <i>F. brasiliensis</i>.</p>	<p>de Souza et al., (2014)</p>
<p><i>L. vannamei</i></p>	<p>1) Agua clara (control) 2) Sistema heterotrófico (AS) 3) Sistema autotrófico (HS) --Densidad de siembra: 250 cam·m² --Duración del experimento: 63 días</p>	<p>Supervivencias de 39.6±2.8%, 68±3.4% y 68.4±2.3% fueron determinadas para el sistema control, AS y HS respectivamente. Sin embargo, el mayor peso ganado fue registrado en el sistema de agua clara con 1.5±0.3 g (AS y HS con 0.8±0.3 y 1.0±0.3 g respectivamente). AS y HS tuvieron una tasa de conversión alimenticia de 0.5±0.0 y 0.5±0.0 respectivamente, mientras el sistema control obtuvo 0.6±0.0. En cuanto a la actividad enzimática, resultados significativamente mayores de tripsina, amilasa y lipasas fueron encontradas en el sistema heterotrófico en comparación con el sistema autotrófico y control.</p>	<p>Becerra-Dórame et al., (2012)</p>

<p><i>L. vannamei</i></p> <p>1) BFT 24 hrs luz (24WL) 2) BFT 12/12 hrs luz/oscuridad (12WL/12WOL) 3) BFT 24 hrs oscuridad (24WOL)</p> <p>--Densidad de siembra: 300 cam m⁻² --Duración del experimento: 40 días</p>	<p>La temperatura, oxígeno disuelto, pH y salinidad no variaron significativamente durante el experimento. La concentración de nitrito fue significativamente más alta en el tratamiento 24WOL (18.1±8.4 mg L⁻¹) comparado a 24WL (11.9±5.7 mg L⁻¹). La concentración de los sólidos suspendidos totales fue significativamente más alta en 24WL comparado a 24WOL. La Clorofila-a fue significativamente más alta en el tratamiento 24 WL. En cuanto a los parámetros de producción la mejor supervivencia se reporta en el tratamiento 24WL con 97.4±1.9%, mientras 12WL/12WOL y 24WOL tuvieron 86.8±10.5 y 86.8±5.96% respectivamente. El mayor peso final se encontró en el tratamiento 24WL con 10.4±0.3 g y fue significativamente mayor del tratamiento 24WOL con 9.1±0.3g sin embargo no presentó diferencias significativas con el tratamiento 12WL/12WOL. En cuanto a la tasa de conversión alimenticia la mayor fue registrada en el tratamiento 12WL/12WOL (2.6±0.8) y la menor en el tratamiento 24WL (1.9±0.1).</p>	<p>Baloi et al., (2013)</p>
<p><i>L. vannamei</i></p> <p>1) Agua clara (control) 2) Floc C/N 15 (CN15) 3) Floc C/N 20 (CN20)</p> <p>Densidad de siembra: 224 cam·m³ Duración del experimento: 30 días</p>	<p>El peso final del sistema control fue de 9.7±0.1g. Los tratamientos CN15 y CN20 obtuvieron un peso final de 10.9±0.1 y 10.7±0.3 g respectivamente. La tasa de conversión alimenticia en los sistemas Floc (CN15 y CN20 de 1.4±0.0 y 1.4±0.1 respectivamente) fueron significativamente más bajas que en el control (1.9±0.0). La supervivencia en los tres tratamientos fue ≥90%. El análisis proximal determinó valores de proteína, lípidos y cenizas del Floc CN15 de 27.3, 3.7 y 49.4% respectivamente. El contenido de proteína, lípidos y cenizas del CN20 fue de 31.6, 4.2 y 43.7% respectivamente. La composición proximal de los camarones cultivados en el tratamiento control fue de 76.0, 17.9, 1.8 y 2.6% para humedad, proteína, lípidos y cenizas respectivamente. Para el tratamiento Floc CN15 para humedad, proteína, lípidos y cenizas fue de 75.2, 18.7, 1.9 y 2.8% respectivamente. Para el tratamiento CN20 la humedad, proteína y lípidos crudos y cenizas fueron de 75.3, 18.5, 1.9 y 2.8 respectivamente. El análisis de la actividad enzimática del Floc (proteasa y amilasa) demostró que para CN15 fue de 10.7 y 335.5 μmol min⁻¹ g⁻¹ y para CN20 de 14.4 y 239±31.3 μmol min⁻¹ g⁻¹.</p>	<p>Xu y Pan, (2012)</p>

<p><i>L. vannamei</i></p>	<p>1) Agua clara (control) 2) Floc + AB 20% de proteína (BFT-20) 3) Floc + AB 25% de proteína (BFT-25) 4) Floc + AB 30% de proteína (BFT-30) 5) Floc + AB 35% de proteína (BFT-35)</p> <p>Densidad de siembra: 224 cam·m³ Duración del experimento: 49 días</p>	<p>Los camarones del BFT-30 y BFT-35 presentaron los mejores crecimientos y fueron significativamente mayores respecto al control. Sin embargo, el BFT-30 y 35 no fueron significativamente diferentes en cuanto a parámetros de producción respecto al BFT-25. El contenido de proteína varió entre 25.6 y 31.1%. Al final del experimento todos los camarones cultivados en sistemas Floc mostraron más altas actividades de proteasas totales y tripsina en la glándula digestiva comparado con el control. La tasa de conversión alimenticia así como la proporción de eficiencia proteica y el valor productivo de proteína fueron significativamente mejores en sistemas Floc respecto al control.</p>	<p>Xu et al., (2012)</p>
<p><i>P. monodon</i></p>	<p>1) Control (0% de inclusión de Floc) (B0) 2) Inclusión de Floc 4% (B4) 3) Inclusión de Floc 8% (B8) 4) Inclusión de Floc 12% (B12)</p>	<p>Los géneros microbianos mayor representados en el Floc fueron <i>Vibrio</i>, <i>Bacillus</i>, <i>Lactobacillus</i> y hongos. La composición proximal del Floc fue de 24.3±0.3% de proteína cruda, 3.5±0.4 de lípidos crudos y 29.2±0.6% de extracto libre de nitrógeno. El contenido de cenizas fue de 32.0±1.0. El ácido palmítico, ácido cis-vaccénico, ácido linoléico y ácido oleico fueron los ácidos grasos más abundantes. Los ácidos grasos poli-insaturados más representativos fueron ácido linoleico y ácido α-linoleico. El omega 3, EPA y DHA no fueron detectados en el Floc. En cuanto al desempeño de crecimiento, los camarones cultivados con el tratamiento B4 y B8 presentaron las más altas tasas de crecimiento específico en comparación con los tratamientos B0 y B12. La actividad enzimática de la amilasa fue 57.6% mayor en el tratamiento B4 comparado con los otros tratamientos. La actividad de la celulasa fue mayor en el tratamiento B4 la cual fue 45.5% y 112.5% mayor comparada a B0 y B12 respectivamente. Un incremento del 82.6 y 54.4% en la actividad de las proteasas fue observado en B4 y B8 respectivamente comparado con el control. De manera similar, la actividad de las lipasas mostró incrementos del 61.0 y 28.1% en B4 y B8 respectivamente comparada con el control.</p>	<p>Anand et al., (2014)</p>

2.3 Análisis de contenido estomacal

El conocimiento de la dieta de los camarones es importante para el establecimiento de sus necesidades nutricias (Albertoni et al., 2003; Gamboa-delgado et al., 2003). Con el fin de cuantificar e identificar los recursos alimenticios, surgen los métodos de contenido estomacal, los cuales brindan información del espectro alimenticio preferido por los organismos de estudio (Hyslop, 1980; Albertoni et al., 2003).

Con respecto a estudios de contenido estomacal, varios investigadores han determinado el espectro alimenticio de camarones peneidos en ambientes naturales (Chong y Sasekumar, 1981; Schwamborn y Criales, 2000; Albertoni et al., 2003) y unos cuantos lo han determinado en ambientes controlados (Gamboa-Delgado et al., 2003; Emerenciano et al., 2011). Asimismo, se ha establecido que los picos de mayor actividad son durante la noche y pueden variar temporalmente (Tabla 4; Schwamborn y Criales, 2000).

La preferencia alimenticia de los camarones peneidos está relacionada a cambios ontogénicos vinculados principalmente con las enzimas digestivas, variaciones de acuerdo a la especie de estudio, así como una variación en abundancia y composición del alimento (Chong y Sasekumar, 1981; Jones et al., 1997; Schwamborn y Criales, 2000; Gamboa-delgado et al., 2003). Generalmente en condiciones naturales, los camarones peneidos juveniles son considerados omnívoros o detritívoros y se han encontrado de manera general en el análisis de contenido estomacal pequeños crustáceos, poliquetos, algas y detritos (Schwamborn y Criales, 2000; Albertoni et al., 2003; Aragón-Axomulco et al., 2012) .

En cuanto a la preferencia alimenticia, los camarones peneidos pueden presentar tendencias a ser herbívoros o carnívoros. En un estudio realizado en la laguna de Imbossica, se ha encontrado que *F. brasiliensis* y *F. paulensis* reflejan un carácter omnívoro oportunista, siendo sus especies presa los poliquetos, larvas de insectos y crustáceos pequeños (Albertoni et al., 2003). Información adicional de los organismos consumidos para la familia Penaeidae es mostrada en la Tabla 4.

Tabla 4 Estudios sobre contenido estomacal de camarones peneidos en ambientes naturales y controlados.

Especie	Alimento	Tipo de ambiente	Referencia
<i>F. brasiliensis</i>	Poliquetos, larvas de insecto y pequeños crustáceos.	Natural	Albertoni et al., (2003)
<i>F. paulensis</i>	Larvas de insecto, pequeños crustáceos y poliquetos.	Natural	Albertoni et al., (2003)
<i>F. duorarum</i>	Pequeños crustáceos, bivalvos, algas calcáreas, detritus vegetal, copépodos, fragmentos de pastos marinos, nematodos y diatomeas	Natural	Schwamborn y Criales, (2000)
<i>Penaeus merguensis</i>	Restos no identificados, protozoarios, chelicerata, insectos, moluscos, anélidos, nematodos, equinodermos, peces, materia vegetal, algas y diatomeas.	Natural	Chong y Sasekumar, (1981)
<i>L. vannamei</i> y <i>L. stylirostris</i>	Exuvia de camarón, granos de arena, zooplancton, presas del bentos, materia orgánica no identificable, macroalgas y microalgas.	Controlado (monocultivo y policultivo)	Martínez-Córdova y Peña-Messina, (2005)

2.4 Uso de sistemas alternativos para el cultivo de camarones peneidos: BFT

Dentro de la acuicultura, a los organismos se les abastece de alimento balanceado con el fin de proveer los nutrimentos esenciales para su crecimiento (Cruz-Suárez et al., 1996; Tan et al., 2005). Sin embargo, los alimentos artificiales pueden alcanzar hasta un 60% de los costos de producción, por lo que han surgido nuevos métodos con el fin de generar fuentes alimenticias naturales en los tanques de cultivo, tal es el caso de la BFT (De Schryver et al., 2008). El Floc es un conglomerado de microbios y otro tipo de organismos tales como poliquetos, nematodos, protozoarios entre otros, que permiten bajar los costos de producción en cuanto a alimento se refiere, así como alcanzar mejores tasas de crecimiento y supervivencia en los organismos cultivados (Tabla 3) (Emerenciano et al., 2013a). En la Tabla 4 se presenta el espectro alimenticio de varias especies de camarón en ambientes naturales y se compara con la fauna conocida en los tanques con Floc, puede observarse que los organismos presentes son muy similares. Por lo que entender el papel que juegan

los camarones en la dinámica trófica de la BFT es indispensable. Sin embargo, han sido pocos los esfuerzos por caracterizar la fauna presente en el Floc y su contribución a los organismos de cultivo. Al respecto Emerenciano et al., (2012) realizaron un experimento de 30 días cultivando juveniles de *F. brasiliensis* con el objetivo de identificar si los flóculos microbianos son una fuente alimenticia, en el cual determinaron que los tipos de microorganismos dominantes en el sistema de cultivo fueron protozoarios, cianobacterias, rotíferos y diatomeas penadas los cuales proveyeron una continua fuente de alimento natural a los camarones. Asimismo, determinaron que el Floc aumenta la tasa de crecimiento y la producción (Tabla 3).

En tanques de cultivo semi-intensivo se ha detectado que la biota natural contribuye de manera sustancial en la nutrición de los camarones, representando en *L. vannamei* hasta un 91% de su dieta (Gamboa-delgado et al., 2003). Asimismo, el crecimiento y tasa de conversión alimenticia en *L. stylirostris* son favorecidas cuando se promueve la biota natural (Martinez-Cordova et al., 2002). Por lo tanto, el entendimiento de la dinámica nutricional en los tanques con productividad natural nativa es muy importante, ya que puede contribuir al mejoramiento de esquemas de alimentación y formulación de dietas para camarones en estados específicos de crecimiento (Martinez-Cordova et al., 2002; Gamboa-Delgado et al., 2003).

2. 5 Enzimas digestivas

El estado fisiológico de los crustáceos y de muchos organismos acuáticos depende de los factores del medio, entre los cuales el alimento es uno de los principales por aportar a los camarones a través de las proteínas, lípidos y carbohidratos, las moléculas base que son utilizadas como fuente de energía y estructurales. También son importantes las vitaminas y los minerales, los cuales actúan como factores esenciales para el buen funcionamiento de la maquinaria enzimática permitiendo la asimilación adecuada de los nutrientes ingeridos (Pascual et al., 2003).

Nutrientes como proteínas, carbohidratos y lípidos son componentes esenciales de una dieta balanceada e inciden sobre aspectos como la palatabilidad del alimento, la digestibilidad (acceso de enzimas digestivas a sitios de hidrólisis en el alimento) y la absorción. En los

crustáceos la digestión comienza en la cavidad cardiaca del estómago y se continúa en los túbulos del hepatopáncreas. A nivel de ésta glándula la digestión se hace más activa, con la participación de enzimas producidas por células especializadas (Células Fibrillenzellen o tipo F) (Cruz-Suárez et al., 1996; Molina-Poveda et al., 2002; Rosas, 2003; Rosas et al., 2006).

La producción de enzimas digestivas en el hepatopáncreas de los crustáceos se encuentra controlada, en parte, por hormonas del pedúnculo ocular. El hepatopáncreas a diferencia del intestino y estómago presenta una mayor actividad enzimática lo cual sugiere la importancia de éste órgano en la síntesis y secreción de enzimas digestivas (Molina-Poveda et al., 2002).

En *L. vannamei* al igual que en otras especies de peneidos, se ha determinado la presencia de enzimas endógenas tales como, tripsina, quimotripsina, aminopeptidasa, lipasas, carbohidrasas y carboxipeptidasa A y B producidas por el hepatopáncreas (Van Wormhoudt et al., 1995; Cruz-Suárez et al., 1996; Van Wormhoudt y Sellos, 1996; Molina-Poveda et al., 2002). La tripsina es una serin proteasa con especificidad de sustrato basado ya sea en cadenas cargadas positivamente de lisina o arginina y representa ella sola hasta el 60% de la actividad proteolítica y el 6% de la proteína total soluble del hepatopáncreas (Brown y Wold, 1973; Cruz-Suárez et al., 1996); en tanto la α -amilasa actúa a lo largo de polímeros de carbohidratos lineales en los enlaces internos y los productos tienen una configuración alfa 1-4. La actividad de la α -amilasa representa el 1% de la proteína soluble siendo una importante glucosidasa de *L. vannamei* (Van Wormhoudt et al., 1995; Van Wormhoudt y Sellos, 1996; Cadena y Molina, 1999) .

La actividad de estas enzimas (tripsina y α -amilasa) son las que controlan los procesos de digestión. Sin embargo, la expresión de las enzimas digestivas es afectada por una serie de factores limitantes como son: parámetros físico-químicos del agua (pH, oxígeno, salinidad y temperatura; Cruz-Suárez et al., 1996), edad y tamaño del camarón, cambios ontogenéticos, ayuno, ingredientes de la dieta, nivel y fuente proteica del alimento (Le Moullac et al., 1994), nivel y tipo de aglutinantes, estimulantes alimenticios, cantidad y frecuencia de alimentación, ritmos circadianos (Cruz-Suárez et al., 1996), ciclo de muda (Van Wormhoudt et al., 1995; Cruz-Suárez et al., 1996;) e incluso ha sido reportado que el

agua de cultivo ejerce un efecto estimulante sobre la actividad enzimática digestiva (Molina et al., 2000; Moss et al., 2001; Molina-Poveda et al., 2002).

Numerosos estudios se han realizado con el fin de determinar las enzimas digestivas presentes en camarones pero pocos trabajos han evaluado el efecto que tiene el ciclo de muda en la actividad de estas enzimas y su incidencia en la utilización del alimento (Molina et al., 2000; Gaxiola et al., 2005; Aragón-Axomulco et al., 2012). La ración de alimento, y horarios de alimentación en función de la actividad de enzimas digestivas son tópicos de reciente investigación, seguidos con el fin de obtener una adecuada dosificación que permita reducir el costo de la producción y el factor de conversión alimenticia (Cadena y Molina, 1999).

A partir de esta diversidad de variables es importante optimizar la digestión y absorción de nutrientes en las dietas tomando en cuenta todos los factores antes mencionados para aprovechar al máximo la capacidad de las enzimas digestivas (Molina-Poveda et al., 2002). Para alcanzar este objetivo es necesario estudiar los procesos fisiológicos del organismo que afectan la capacidad de consumo y digestión del alimento (factor importante en la supervivencia y crecimiento), en el cual la actividad enzimática cumple una acción de vital importancia así como los procesos fisiológicos por los cuales estos atraviesan (Cadena y Molina, 1999; Molina et al., 2000).

2. 6 Señal isotópica

Los isótopos son las formas de un mismo elemento que difieren en el número de neutrones en el núcleo y que persisten en la misma forma por eones después de que son formados. Neutrones extra en el núcleo de un elemento generalmente imparten pequeñas diferencias que mantienen los isótopos casi idénticos. En las palabras de los químicos, las diferencias reales entre elementos radican en el número de protones y electrones. Un número moderado de neutrones, usualmente igual a o mayor que el número de protones, es la clave para la estabilidad a largo plazo de los isótopos y sus elementos. Los científicos reconocen la existencia de aproximadamente 120 elementos y 3100 nucleídos acompañados de formas isotópicas o nucleídos. Sin embargo, muchos de los 3100 nucleídos son radio-núcleos de vida corta. Entre los nucleídos, hay solamente 283 isótopos estables que no experimentan

decaimiento radioactivo, de manera que los isótopos estables comprenden <10% de todos los isótopos conocidos (Fry, 2006). Información específica de cada isótopo puede ser consultado en la página web <http://wwwrcamnl.wr.usgs.gov/isoig/period/>.

En ecología, los isótopos estables proveen una vía natural para directamente seguir y trazar detalles del ciclado de los elementos (Post, 2002). Según Fry (2006) “los valores de los isótopos tienen su propia notación especial, la notación δ que significa diferencia. El valor δ indica una medida de diferencia hecha relativa a los estándares utilizados durante el análisis. Las composiciones isotópicas de los estándares son utilizadas rutinariamente en los cálculos de valores δ donde aparece como el término $R_{ESTANDAR}$ ”:

$$\delta^H X = \left[\left(\frac{R_{MUESTRA}}{R_{ESTANDAR}} - 1 \right) \right] * 1000$$

En la formula anterior, la notación δ es especificada para un elemento particular (X), el superíndice H indica la masa del isótopo pesado del elemento X y R es la proporción del isótopo pesado al ligero. La definición δ involucra una multiplicación final por 1000, y esta multiplicación amplifica pequeñas diferencias medidas entre muestras y estándares. Por lo tanto, pequeñas diferencias del 1% llegan a ser 10 por mil unidades δ , debido a la multiplicación por 1000. Entonces, la definición δ hace que las pequeñas diferencias isotópicas relacionadas a los neutrones parezcan grandes. Las unidades δ son “‰” o “por mil”. Muchos valores δ varían entre -100‰ y +50‰ para muestras naturales, a esto se le conoce como el rango de “abundancia natural”. Numerosos valores δ son valores negativos, y son usualmente muy confusos sin embargo indican relativamente menos isótopos pesados que aquellos presentes en el estándar”.

Las técnicas de isótopos estables pueden proveer una medida continua de posición trófica que integra la asimilación de la energía o flujo de masa a través de todas las diferentes rutas tróficas (Post, 2002). De esta manera, la proporción de los isótopos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) de un consumidor refleja su fuente de carbono dietario. Mientras que la proporción de los isótopos de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) indican la posición trófica de un organismo. De hecho Post, (2002) menciona que el $\delta^{15}\text{N}$ se puede ver enriquecido entre 3 y 5‰ con respecto a su dieta y el $\delta^{13}\text{C}$ cambia muy poco con respecto al movimiento en la cadena trófica. Por lo tanto, la

medición de los isótopos $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ no se puede hacer sin estimar las proporciones base, es decir las fuentes de las cuales proviene el ^{13}C y ^{15}N , por lo que caracterizar una línea base resulta de suma importancia a la hora de realizar análisis isotópicos (Post, 2002).

Con el incremento de la acuicultura, fuentes de proteínas no provenientes de las harinas y aceites de pescado han sido utilizados con el fin de evaluar la idoneidad de nuevos ingredientes alimenticios. Este tipo de proteínas, provienen principalmente de plantas terrestres (e.g. harina de soya), sin embargo es necesario realizar pruebas para determinar qué tan viable es utilizar estas nuevas fuentes alimenticias. Al respecto, Gamboa-Delgado y Le Vay, (2009) demuestran el potencial de aplicar el análisis de isótopos estables de dietas y tejidos en la evaluación de ingredientes de fuentes vegetales y la optimización de su uso en dietas conteniendo muy bajos niveles de harina de pescado; sus resultados indican que tanto post-larvas y juveniles de *L. vannamei* obtienen una contribución sesgada hacia la harina de pescado del 69% y 32% respectivamente. Asimismo varios autores han determinado que si la productividad natural se mantiene disponible a través del tiempo puede aportar más del 50% a la formación de músculo en cultivos semi-intensivos e intensivos de camarón (Anderson et al., 1987; Cam et al., 1991; Nunes et al., 1997; Zhang et al., 2000). De manera más reciente Sun et al., (2013) determinaron el papel de la productividad natural en el cultivo del pepino de mar *Apostichopus japonicus* mediante la utilización del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de varias fuentes alimenticias con ayuda del programa IsoSource basado en los modelos matemáticos de Phillips y Gregg, (2003), sus resultados indican el aporte continuo del alimento natural a lo largo de diferentes temporadas climáticas.

2.7 Dinámica trófica y análisis nutricional en sistemas con BFT

El esquema tradicional de la dinámica trófica en los sistemas con Floc es muy similar a la de ambientes naturales. No obstante, resulta ser bastante compleja al momento de caracterizarla. Por ejemplo, la BFT ha sido implementada en varios países y el análisis de los microorganismos y potencial nutricional (análisis proximales) varía ampliamente por lo que no conservan las mismas características espacio-temporales (Hargreaves, 2013).

En un estudio realizado por Emerenciano et al., (2013) se describen las principales taxa encontradas en los sistemas con Floc. Como resultados, se reportan que los principales

organismos son cianobacterias filamentosas, protozoarios, nematodos y copépodos los cuales van cambiando a través del tiempo en un periodo experimental de siete meses. En un principio las cianobacterias filamentosas (CF) eran muy abundantes, lo cual está relacionado con la disponibilidad de carbono orgánico. Posteriormente, las CF disminuyen a través del tiempo con un consecuente aumento de los nematodos y copépodos, sugiriendo una depredación o competición por sustrato con pequeñas bacterias y otros microorganismos. Además, cuando había una alta concentración de protozoarios (6000 microorganismos L^{-1}) se encontraron bajas concentraciones de CF (50,000 microorganismos L^{-1}) y nematodos (1000 microorganismos L^{-1}), lo cual sugiere una relación inversa entre estos grupos es decir a mayor densidad de protozoarios una menor densidad de CF y nematodos fue determinada. En cuanto a los copépodos, las mayores abundancias (1500 microorganismos L^{-1}) fueron reportadas cuando las cianobacterias tuvieron su máxima abundancia (~ 300000 microorganismos L^{-1}) y viceversa. A pesar de la gran relación entre cianobacterias y copépodos, el pico mínimo de abundancia se reporta un mes posterior a la menor concentración de las cianobacterias, lo anterior se puede deber a que los protozoarios pueden jugar un papel alternativo como alimento de los copépodos. Finalmente, Emerenciano et al., (2012, 2013a) mencionan que los microorganismos suspendidos en el agua son un aporte continuo de alimento para los camarones de cultivo.

En cuanto a la calidad nutricional de los flóculos microbianos, Emerenciano et al., (2013b) reportan que la calidad nutricional podría estar influenciada por la salinidad, fuente de carbono y cambios en la comunidad microbiana, así como a la fuente e intensidad de luz. En su estudio, Emerenciano et al., (2013b) determinaron contenidos de proteína cruda y lípidos de 24.7 y 0.6% respectivamente. Los valores anteriores son el promedio de los siete meses de su experimento y estos variaron respecto al mes. Los menores valores de proteína y lípidos concordaron con una baja concentración de copépodos, nematodos y CF. Por lo tanto, la dinámica de los microorganismos afecta la calidad del Floc, y consecuentemente puede tener efectos en el crecimiento de los organismos de cultivo.

En otro estudio, desarrollado por Becerra-Dórame et al., (2012) se encontraron niveles de proteína más altos en sistemas con BFT (17.5%) que en aquellos con sistemas autotróficos (11.5%). De manera inversa, el contenido de lípidos en BFT fue 6.5% y en el sistema

autotrófico fue de 13.3%. El alto porcentaje de proteína en los flóculos está relacionado a la composición química de las bacterias heterotróficas y otros organismos asociados a los flóculos. Mientras que el alto porcentaje de lípidos en el sistema autotrófico está relacionado a la alta concentración de microalgas.

Los dos casos de estudio mencionados anteriormente (Becerra-Dórame et al., 2012; Emerenciano et al., 2013b) demuestran como el cambio en la estructura de los microorganismos del Floc tiene una influencia en su calidad y por lo tanto en el aporte nutricional hacia los organismos de cultivo. Asimismo, Ekasari et al., (2014) menciona que el tamaño de los flóculos microbianos puede influir en su calidad nutricional por lo que la evaluación del aporte de diferentes tamaños del Floc en la síntesis del músculo de los camarones debe ser evaluada.

Otro tipo de enfoque en paralelo al sistema Floc ha sido desarrollado, y consiste en disminuir los niveles de proteína de la dieta basal (y con esto disminuir el costo del alimento) y combinarlos con BFT. El supuesto es que el “déficit” en proteína será ahora aportado por la producción natural, llevando así a una disminución de costos y a una práctica ambientalmente más amigable (Browdy et al., 2001; Moss, 2002; Samocha et al., 2004; Ballester et al., 2006). Por ejemplo, Burford et al., (2004) utilizando la herramienta de isótopos estables ($\delta^{15}\text{N}$) reportó que más del 29% del alimento consumido por *L. vannamei* puede provenir de los flóculos microbianos. Wasielesky Jr et al., (2006) evaluaron el efecto de la productividad natural en un medio heterotrófico durante el cultivo de *L. vannamei*. Sus resultados confirman los efectos positivos del medio sobre el crecimiento, tasa de conversión alimenticia y supervivencia. Con una densidad de siembra de 300 org m⁻² las tasas de crecimiento fueron de 0.85 g semana⁻¹ en sistemas de agua clara y de 1.25 g semana⁻¹ en el medio heterotrófico, es decir, 47% superior debido a la contribución de los flóculos.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El interés en la camaronicultura a nivel mundial ha incrementado los estudios de la fisiología de muchos camarones. En la literatura, varios estudios se enfocan en los aspectos biológicos de varias especies de camarón, lo que ha permitido desarrollar condiciones de

cultivo específicas para cada especie. Sin embargo, *F. brasiliensis* a pesar de ser una especie de alta importancia comercial pesquera en México, no cuenta con información clave sobre su biología y acuicultura, aunque su distribución está bien definida (Brito et al., 2000). En cuanto a *L. vannamei*, las bases de su cultivo son bien entendidas. No obstante no hay un entendimiento claro del aporte nutricional del Floc en la dieta de ambos camarones. Por lo tanto, es necesario determinar el papel que juega el Floc como nueva alternativa de cultivo de estas dos especies de camarón, y la manera en la que aprovechan el alimento los camarones proveerá las bases para desarrollar más esfuerzos en la comprensión de mejores sistemas de cultivo y ahorros en el uso de alimento balanceado.

4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1. ¿Cuál es el aporte nutricional del Floc para *L. vannamei* y *F. brasiliensis* en dos etapas de cultivo?
2. ¿Cuál es el efecto que tiene el Floc en la composición químico proximal de *L. vannamei* y *F. brasiliensis* en dos etapa de cultivo?
3. ¿Si los hábitos alimenticios de *L. vannamei* y *F. brasiliensis* varían entre sí y con respecto al desarrollo ontogénico entonces las fuentes alimenticias (Floc y alimento balanceado) contribuirán en diferentes porcentajes a la síntesis del músculo de ambas especies en dos etapas de cultivo?
4. ¿Si *L. vannamei* y *F. brasiliensis* utilizan de manera diferente los recursos del Floc, entonces la actividad enzimática diferirá entre la misma especie de acuerdo a su desarrollo ontogénico?

5. HIPÓTESIS

Las preferencias alimenticias de los organismos cultivados determinarán la manera en la que las fuentes nutricias serán aprovechadas y dado que *L. vannamei* y *F. brasiliensis* presentan preferencias alimenticias disimiles, diferirán tanto en la actividad enzimática como en la señal isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) presente en el músculo.

6. OBJETIVO GENERAL

Determinar el aporte nutricional del Floc en el camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) y el camarón rojo del Caribe (*Farfantepenaeus brasiliensis*) durante dos etapas de cultivo.

6.1 Objetivos específicos

- Determinar los parámetros de producción de *L. vannamei* y *F. brasiliensis* durante dos etapas de cultivo.
- Determinar el contenido de humedad, proteína, lípidos y cenizas de las diferentes fuentes alimenticias (Floc y alimento balanceado) así como del músculo de los camarones.
- Determinar la actividad de tripsina y α -amilasa en *L. vannamei* y *F. brasiliensis* durante dos etapas de cultivo.
- Determinar los componentes taxonómicos del Floc de los tanques de cultivo de *L. vannamei* y *F. brasiliensis* de las dos etapas de cultivo.
- Determinar la contribución relativa de las diferentes fuentes alimenticias (Floc y alimento balanceado) en la síntesis de músculo de *L. vannamei* y *F. brasiliensis* durante dos etapas de cultivo.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Origen de las post-larvas

Las especies utilizadas para este experimento fueron *Litopenaeus vannamei* y *Farfantepenaeus brasiliensis*. Ambas especies fueron producidas en el área de larvicultura de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación Sisal (UMDI/SISAL) de la Facultad de Ciencias de la UNAM. Las características de su origen, tomando en cuenta a los reproductores, condiciones en las que se mantuvieron a los reproductores y el inicio de la siembra de los juveniles utilizados para este experimento son descritos a continuación:

Litopenaeus vannamei: los reproductores son generación F1 y fueron donados a la UMDI/SISAL por la granja camaronícola Lamarca (Ubicación: Sisal, Yucatán, México),

que a su vez los obtuvo de Aqua Pacífico (Mazatlán, Sinaloa, México). Estos organismos fueron mantenidos en sistemas con BFT para su engorda hasta alcanzar la talla de reproducción de 30 gramos. Posteriormente, fueron llevados al área de reproducción en sistemas de agua clara alimentándose con calamar, mejillón, biomasa de *Artemia spp.*, poliqueto y pellet semi-húmedo. La reproducción de estos organismos fue en marzo del 2012 y las crías fueron sembradas en abril de 2012 en sistemas con BFT con un régimen de alimentación de 2% (alimento balanceado Malta Clayton 35% de proteína cruda) de la biomasa total del sistema y una densidad de siembra de 2000 organismos por tanque de cultivo (tanque de cultivo: 5 metros de diámetro por 1 metro de altura). Para este experimento, se realizó un desdoble para obtener un densidad de 1000 organismos por tanque de cultivo.

Farfantepenaeus brasiliensis: Los reproductores de esta especie también fueron generación F1. Los reproductores de estos organismos fueron capturados como juveniles en la ciénaga. Fueron mantenidos en sistemas con BFT hasta alcanzar el peso de 20 gramos; posteriormente estos organismos se llevaron al área de reproducción en sistema de agua clara alimentándose con calamar, mejillón, biomasa de *Artemia spp.*, poliqueto y pellet semi-húmedo. La reproducción se dio en marzo del 2012, al igual que la de *L. vannamei*. Fueron sembrados en mayo del 2012 en los tanques de engorda y fueron mantenidos en sistemas con BFT durante toda la engorda hasta diciembre de 2012, cuando fueron utilizados para el presente experimento.

7.2 Condiciones experimentales

Este experimento fue realizado en el área de estanquería de la UMDI/SISAL. El sistema contó con cuatro tanques (5m de diámetro por 1m de altura) para cada especie, dando un total de ocho tanques con sistemas con BFT. Los ocho tanques fueron aireados con ayuda de un soplador de aire (blower) y mangueras difusoras. Dado que la premisa de la BFT es el bajo consumo de agua, solamente se agregó agua a los tanques para abastecer el agua evaporada y bajar la cantidad de materia orgánica conocida como lodo (sludge).

El sistema con BFT requiere de una fertilización orgánica diaria con el propósito de mantener el control de un ambiente favorable para el crecimiento de microorganismos

benéficos y consecuentemente un mantenimiento de la calidad del agua de cultivo (Emerenciano et al., 2013b). Esa fertilización está basada en la adición periódica de algunos ingredientes en el agua como fuente de carbono, nitrógeno y sustrato para el crecimiento microbiano (Avnimelech, 1999; Emerenciano et al., 2007). El ingrediente seleccionado (de acuerdo con la disponibilidad local) fue la melaza de caña de azúcar (fuente de carbono) y los excedentes de la propia dieta comercial Malta Clayton 35% PC (fuente de nitrógeno). Esos ingredientes deben respetar una relación nominal (estimada en peso) de carbono/nitrógeno (C/N) aproximada de 15-20:1 (Avnimelech, 1999; Emerenciano et al., 2007).

El experimento fue dividido en dos etapas de 45 días cada una con el fin de determinar si el desarrollo ontogénico cambia la respuesta en cuanto a parámetros de producción, actividad enzimática y señal isotópica de *L. vannamei* y *F. brasiliensis*. Para la primera etapa del experimento (Etapa I) fueron abastecidos 3000 camarones por tanque para la especie *F. brasiliensis* con un peso inicial de 1.9 ± 0.7 g y 1000 camarones por tanque para la especie *L. vannamei* con un peso inicial de 11.3 ± 2.9 g. Para la Etapa II, se sembraron un total de 2000 y 800 camarones para *F. brasiliensis* y *L. vannamei* por tanque con pesos iniciales de 4.5 ± 1.7 g y 21.2 ± 4.1 g respectivamente. Los camarones fueron alimentados al 2-5% de la biomasa total de cada tanque con alimento comercial de la marca Malta Cleyton® con 35% de proteína cruda y la ración alimenticia fue ajustada quincenalmente. Para el ajuste de la ración alimenticia (basada en la biomasa en kilogramos de cada tanque de cultivo) se realizaron biometrías de 50 camarones por tanque cada quince días, los cuales fueron secados con papel secante, pesados y devueltos a los tanques de cultivo al finalizar su evaluación. Asimismo, la ración calculada fue dividida en cinco raciones, en horarios de 0:00, 4:00, 9:00, 16:00, 20:00 y hrs.

7.3 Evaluación de parámetros de la calidad del agua

A través del periodo experimental, la temperatura (°C), pH y concentraciones de oxígeno disuelto (mg L^{-1}) fueron evaluados en todos los estanques con un equipo multiparamétrico marca Hach modelo HQ40D en cinco horarios establecidos (4:00, 8:00, 16:00, 20:00, 24:00). La salinidad fue monitoreada en una única ocasión a las 8:00 am utilizando un refractómetro (modelo Masterα- Refractometer OHAUS). El amonio (técnica de azul de

indofenol Rodier, 1981; Técnica modificada para microplaca por Zuñiga, 2014) y nitritos (Técnica de Sulfanilamida, Rodier 1981; Modificado para microplaca por Zuñiga, 2014b) fueron monitoreados una vez por semana. Los sólidos suspendidos totales (SST), fueron medidos una vez por semana con ayuda de un cono Imhoff, en el cual se tomó una muestra de agua y se dejó reposar por 20 min, para posteriormente determinar la cantidad de sólidos asentados en el cono.

7.4 Parámetros de producción

La producción se evaluó a través del cálculo de la: supervivencia y peso final, así como el coeficiente de crecimiento semanal, tasa de conversión alimenticia (TCA) y biomasa final (Guzmán et al., 2007).

7.5 Supervivencia

La supervivencia se calculó con base al número de organismos que sobrevivieron al final de las etapas experimentales en relación con el número inicial de organismos sembrados al inicio de cada etapa. Los resultados son expresados en porcentaje:

$$\text{Supervivencia} = \frac{\text{Número final de organismos}}{\text{Número inicial de organismos}} * 100$$

7.6 DGC

El coeficiente de crecimiento semanal se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$DGC = \left[\frac{(\text{Peso final})^{1/3} - (\text{Peso inicial})^{1/3}}{\text{Semanas}} \right] * 100$$

7.7 TCA

La TCA se calculó a partir del alimento ofrecido a los organismos de cada tanque entre la biomasa ganada. Alimento ofrecido: es la cantidad de alimento acumulado que se ofreció a los camarones al día X. Biomasa ganada: peso promedio final de los camarones de un tanque menos el peso promedio inicial de los camarones del mismo tanque, multiplicado por el número de organismos vivos al día X y dividido entre 1000 para obtener el valor en

kilogramos. Dado que la división implica dividir kilogramos entre kilogramos el número es adimensional y se expresa como la cantidad de alimento que necesito ofrecer a los camarones para obtener un kilogramo de camarón.

$$TCA = \frac{\text{Alimento ofrecido}}{\text{Biomasa ganada}}$$

7.8 Biomasa final

La biomasa final se obtuvo con base al número de organismos que sobrevivieron al final de cada etapa de cultivo en relación con el peso promedio alcanzado en cada tanque de cultivo. Los resultados se expresan en kilogramos.

$$\text{Biomasa Final} = \text{Supervivencia} * \text{Peso promedio final de cada tanque}$$

7.9 Determinación de los componentes taxonómicos del Flocc

El monitoreo de la comunidad biótica en los tanques se determinó de la siguiente manera:

Fitoplancton: La clorofila-a se determinó como una medida de la biomasa del fitoplancton. La determinación fue hecha utilizando la extracción con acetona y espectrofotometría (Aminot and Rey, 2000).

Microorganismos del Flocc (Martinez-Cordova et al., 2002): Para la primera etapa experimental se tomaron muestras de Flocc mediante la filtración de 10 litros agua de cada tanque a través de una malla de 50 μm y se analizaron en el microscopio con el fin de identificar los principales grupos taxonómicos (análisis cualitativo). Para la segunda etapa, se evaluó la abundancia de zooplancton. Para esto, se filtraron 10 litros de agua de cada tanque de cultivo utilizando una malla plástica de 50 micras. Las muestras fueron preservadas en botellas plásticas con formalina al 4% y rosa de bengala para la tinción de la materia vegetal (Rossell Vázquez et al., 1982). El conteo e identificación de los microorganismos se llevó a cabo en una cámara de conteo de Bogorov utilizando un microscopio y las claves propuestas por (Higgins y Thiel, 1988); los resultados obtenidos se expresaron en número de microorganismos por mililitro de agua.

7.10 Procesamiento de los camarones

Al finalizar cada etapa de cultivo (etapas I y II) se tomaron 104 camarones de cada especie con el fin de extraer el hepatopáncreas y el músculo para llevar a cabo las pruebas enzimáticas e isotópicas. Por lo tanto, un total de 416 camarones se tomaron para ambas etapas. Del total de camarones, 208 pertenecieron a la especie *F. brasiliensis* y los 208 restantes a *L. vannamei*. La división de los 208 camarones para la primera y segunda etapa así como su respectiva utilización es resumida en la Tabla 5.

Tabla 5 Número de organismos empleados durante las dos etapas experimentales.

Especie	Etapa I		Etapa II		TOTAL
	Hepatopáncreas	Músculo	Hepatopáncreas	Músculo	
<i>F. brasiliensis</i>	80	24	80	24	208
<i>L. vannamei</i>	80	24	80	24	208
TOTAL	160	48	160	48	416

7.11 Determinación de la actividad enzimática

Al finalizar cada etapa de cultivo se realizó el análisis enzimático. Para el análisis de la actividad enzimática se extrajeron los hepatopáncreas, se pesaron con una balanza analítica de 0.0001g de precisión y se colocaron en tubos Eppendorf de 2 ml debidamente etiquetados, se congelaron en N₂ líquido y posteriormente se refrigeraron a -80°C. Los camarones para el análisis de enzimas fueron elegidos en fase de intermuda (C) o premuda temprana (D0) debido a que la cantidad de alimento consumido y actividad enzimática es mayor (Molina et al., 2000).

A cada hepatopáncreas se le adicionaron 500 µL de agua libre de pirógenos y se homogenizaron con ayuda de un homogenizador de tejidos (Cole-Parmer) por aproximadamente 30 segundos. Mientras la muestra se homogenizaba se utilizó un vaso de precipitado con hielo para mantener la temperatura del tejido a 4°C. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas (Marca: IEC, Modelo: MP4R) a 13200 rpm por 20 minutos a 4°C. El sobrenadante se removió para hacer las diluciones requeridas (ya sean 1/10 o 1/100) para la determinación de proteínas totales solubles, tripsina y α-amilasa. Las

proteínas totales solubles se midieron mediante la técnica de Bradford (1976) y el kit de Bio Rad. El método consiste en determinar la concentración de proteína soluble a través de la acción de una solución ácida de color azul (Azul de Coomassie) el cual se liga a los aminoácidos, primariamente básica y aromática, especialmente a la arginina. La absorbancia máxima para esta solución ácida ocurre de 465-595 nm cuando sucede el enlace con proteínas.

7.12 Tripsina

La actividad de la tripsina fue evaluada de acuerdo a Geiger y Fritz, (1984) utilizando sustrato BAPNA 100 mM (benzoyl-arginina-paranitro-anilidina, Sigma B4875) en buffer TRIS 0.1 M pH 8 a 25°C. El método consiste en añadir 980 µL de buffer TRIS 0.1 M en una cubeta de 1 ml para espectrofotómetro. Adicionar 10 µL de BAPNA 100 mM y mezclar tapando con papel parafilm. La celda se colocó en el espectrofotómetro y se calibró a cero. Una vez calibrado el espectrofotómetro se añadieron 10 µL de extracto 1:10 (homogenizado) y se mezcló tapando con papel parafilm nuevamente. La celda se colocó en el espectrofotómetro y se registraron los valores en los minutos uno y dos. El cambio en absorbancia se midió por dos minutos a 405 nm. Una unidad de actividad de tripsina corresponde a 1 µM de 4-nitroaloinina liberada en 1 minuto, basado en un coeficiente de extinción de $\epsilon_{405} = 1.02 \text{ L mmol}^{-1} \text{ mm}^{-1}$ (Geiger y Fritz, 1984).

7.13 α -amilasa

La actividad de la α -amilasa fue determinada con sustrato Glucógeno (Ostra; Sigma G8751) 1.5% (preparado en buffer sodio fosfato 10 mM pH 7.0; Bernfeld, 1955). El método consistió en lo siguiente: en tubos de ensayo de 10 ml, se añadieron 500 µL de glucógeno 1.5%, se agregaron 250 µL de agua libre de pirógenos y se colocaron a baño termal a 37°C. Posterior a los pasos anteriores, se adicionaron cada 15 segundos, 50 µL de la disolución 1:10 (homogenizado) y los tubos se agitaron en el vórtex. Las muestras fueron incubadas por 5 minutos a 37°C, y se contabilizó el tiempo a partir de la primera muestra. Finalizado el tiempo de incubación se añadió a cada tubo de ensayo 1 mL de Ácido Dinitrosalicílico (DSA) cada 15 segundos y se agitó con un vórtex para detener la reacción. El blanco se hizo para cada muestra (500 µL de glucógeno más 250 µL de agua libre de

pirógenos) y no se colocaron a baño termal. Los siguientes pasos serán a la inversa de las muestras. Debido a que el DSA paraliza la reacción de la enzima con el sustrato, primero se agrega el DSA y luego el extracto en dilución (1 mL de DSA más 50 μ L de dilución 1:10). Finalmente las muestras y blancos se pusieron a 100 °C por cinco minutos exactos, se les agregaron 10 ml de agua destilada debido a que las muestras estuvieron muy concentradas y se colocaron 200 μ L en cada pozo de una microplaca y se leyó a 540 nm con el lector de ELISA (Marca: Thermo Scientific, Modelo: Genesis 10uv).

Se realizó una curva patrón con albumina entre 0.05 y 0.5 mg/ml. La actividad enzimática se expresó como miligramos de maltosa liberada cada 10 minutos por miligramo de proteína (mg maltosa liberada/10minutos/mg de proteína).

7.14 Análisis proximal del Floc y del músculo de los camarones

Al final de cada etapa de cultivo, se realizó el análisis químico-proximal del Floc y del músculo de los camarones. Las muestras de Floc consistían de agua del tanque previamente filtrada en mallas de 10 μ m, 50 μ m, 100 μ m, 250 μ m y 500 μ m con el fin de obtener rangos de partícula $\geq 10 < 50\mu\text{m}$, $\geq 50 < 100\mu\text{m}$, $\geq 100 < 250\mu\text{m}$, $\geq 250 < 500\mu\text{m}$ y $\geq 500\mu\text{m}$. Los lípidos se determinaron de acuerdo a la metodología de la AOAC, 1995. El contenido de nitrógeno fue determinado utilizando un analizador elemental ECS 4010 (Costech Analytical Technologies Inc. USA) y el resultado se multiplicó por 6.25 con el fin de determinar la proteína cruda (CP). Los músculos de los camarones siguieron el mismo procedimiento más la evaluación de humedad y cenizas (AOAC, 1995).

7.15 Análisis de isótopos estables $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$

A partir del músculo de *F. brasiliensis* y *L. vannamei*, comunidad del Floc y alimento balanceado, se realizó el análisis isotópico de acuerdo con el método propuesto por (Coplén et al., 2006a). El proceso consistió en lo siguiente:

1) Músculo de *F. brasiliensis* y *L. vannamei*: Se utilizaron un total de 48 camarones, divididos en 24 camarones para la primera etapa del experimento y 24 camarones para la segunda etapa, y se les identificó el estadio de muda (C). Cada decápodo se liofilizó hasta alcanzar peso constante.

2) Comunidad del Floc: de cada tanque de cultivo la comunidad del Floc representada por el zooplancton fue extraída y preservada en congelación sin químicos (Martínez-Córdova et al., 2002). Posteriormente la muestra filtrada se colocó en bolsas plásticas y se preservaron a -80°C hasta su análisis. Para el análisis de las muestras estas fueron descongeladas, ordenadas por grandes grupos con mallas de 10, 50, 100, 250 y 500 micras con el fin de obtener rangos de Floc $\geq 10-50\mu\text{m}$, Floc $\geq 50-100\mu\text{m}$, Floc $\geq 100-250\mu\text{m}$, Floc $\geq 250-500\mu\text{m}$ y Floc $\geq 500\mu\text{m}$ (Smyntek y Teece, 2007) y posteriormente se deshidrataron por liofilización.

3) Alimento balanceado: una muestra de alimento balanceado (6 g) fue secado con la liofilizadora hasta alcanzar peso constante.

Transcurridas las 24 horas, las muestras se colocaron en un desecador. Por otra parte, los morteros y pistilos de porcelana fueron previamente lavados con agua y fibra gruesa, enjuagados con agua destilada y finalmente con metanol, se dejaron secar por 24 horas a 60°C . Posteriormente, cada muestra se trituró hasta obtener un polvo fino, evitando la contaminación entre muestras y se guardaron en tubos Eppendorf de 2 mL previamente etiquetados, asegurando muestras de 0.1 y 0.5 g. Las muestras se mantuvieron en una bolsa con papel aluminio hasta su posterior análisis elemental e isotópico. El análisis elemental de C y N se llevó a cabo en el laboratorio de Química de la UMDI-SISAL, con ayuda de un analizador elemental COSTECH ECS 4010. Una vez medido el contenido de carbono y nitrógeno prosiguió el análisis isotópico, el cual se llevó a cabo en el laboratorio de espectrometría de masas de isótopos estables en el Instituto de Geología de la UNAM. El método consistió en tomar una alícuota de cada muestra que fue analizada para medir $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ y $\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}}$ conforme al método de combustión dinámica tipo Dumas con un analizador elemental Flash EA 1112, con una temperatura de 1020°C en la columna de combustión y 650°C en la columna de reducción, seguida de una columna de perclorato de magnesio para atrapar el agua producto de la combustión. La separación de los gases de la combustión (N_2 y CO_2) se realizó mediante una columna cromatográfica C/N a 35°C . Este sistema dinámico utiliza Helio como gas acarreador llamado flujo continuo, el cual se acopla mediante la interfase Conflo III al Espectrómetro de Masas (Thermo Finnigan MATA 253). Como patrones de trabajo se utilizó un tanque de CO_2 con una pureza de

99.998% y un tanque de N₂ con una pureza de 99.9999%, los cuales fueron calibrados previamente con tanques Oztech. Los valores de $\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}}$, fueron normalizados con los materiales de referencia IAEAN1, USGS 25, USGS26, USGS40 y USGS 41 que tienen una precisión de 0.2‰. Los resultados de $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ se normalizaron utilizando materiales de referencia del NIST y del IAEA como son: NBS 22, PEF1, IAEA CH6, USGS 40 y USGS 41 de acuerdo con las correcciones descritas por (Coplen et al., 2006a,b). Para esta técnica se tiene una desviación estándar de 0.2‰ para carbono. Además, cada 10 muestras se insertaron dos aminoácidos (Sigma) alternados con diferente composición isotópica para verificar la calidad de la combustión y reducción de las columnas; se tuvo una precisión para Glicina $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = -42.7 \pm 0.03$ $\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}} = 1.38 \pm 0.03$ y para la L-Serina $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = -6.79 \pm 0.03$ $\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}} = -7.91 \pm 0.07$.

7.16 Análisis de datos

Todos los datos fueron probados para distribución normal y homogeneidad de varianzas utilizando la prueba de Shaphiro-Wilk y la prueba de Bartlett respectivamente. Cuando se requirió, los datos fueron transformados (logaritmo base 10) con el fin de alcanzar los supuestos requeridos por el análisis de varianza. Cuando los datos no alcanzaban la normalidad o no había homogeneidad de varianzas se procedió a realizar la prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis. Los datos que son expresados en porcentaje fueron transformados a arcoseno. Todos los datos expresados en la tesis son promedio más menos su desviación estándar. Cuando se encontraban diferencias significativas se utilizaron la prueba post-hoc de Tukey y la prueba de Dunn para el Análisis de Varianza y la prueba de Kruskal-Wallis respectivamente. Las variables a analizar fueron: 1) todos los parámetros fisicoquímicos (Oxígeno disuelto, pH, Temperatura, Salinidad, N-NH₄, N-NO₂, Clorofila-a y sólidos suspendidos totales), 2) los parámetros de producción (Peso final, Supervivencia, Biomasa final y TCA), 3) las actividades enzimáticas y la concentración de proteína (Actividad de Tripsina y α -amilasa así como la Proteína Total Soluble) así como las señales isotópicas de los camarones de cultivo, los contenidos de carbono y nitrógeno elemental y las fuentes alimenticias del Floc [Floc 50 μm (se refiere al Floc $\geq 50\mu\text{m}$ pero $< 100\mu\text{m}$); Floc 100 μm (se refiere al Floc $\geq 100\mu\text{m}$ pero $< 250\mu\text{m}$); Floc 250 μm (Floc

$\geq 250\mu\text{m}$ pero $< 500\mu\text{m}$); Floc $500\mu\text{m}$ (Floc $\geq 500\mu\text{m}$)]. Todas las comparaciones fueron hechas entre etapas dentro de especie (e.g. actividad de tripsina de *L. vannamei* en la Etapa I vs actividad de Tripsina de *L. vannamei* en la Etapa II). El paquete estadístico utilizado fue StatGrapichs Centurion XV.

En cuanto a la evaluación de los microorganismos del Floc se realizó un análisis cualitativo durante la primera etapa del experimento. Durante la segunda etapa se llevó a cabo un perfil de los organismos a través del tiempo mostrando sus abundancias por mililitro. Finalmente, se llevó a cabo un modelo de mezcla con el fin de determinar la contribución relativa de cada fuente alimenticia (cuatro fuentes alimenticias**) a la señal isotópica de los camarones de cultivo. Por lo tanto, para delinear las contribuciones de las cuatro fuentes alimenticias Floc, los modelos fueron computados con ayuda del programa Isosource utilizando la rutina desarrollada por Phillips y Gregg, (2003). Este método examina todas las posibles combinaciones de cada contribución de la fuente (0 a 100%) en incrementos de 1%. Las combinaciones que arrojaron las señales isotópicas de los consumidores dentro de un pequeño rango de tolerancia fueron consideradas soluciones factibles. Como el enriquecimiento en ^{15}N por el consumo de alimento es de alrededor de 2.5‰ en consumidores herbívoros/detrítívoros (e.g. 3 a 4 ‰ son reportados para organismos carnívoros; Abed-Navandi y Dworschak, 2005), este valor (2.5 ‰) fue sustraído de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de los camarones antes de analizar los datos en el IsoSource. Para los valores de $\delta^{13}\text{C}$ no se hicieron correcciones, porque el fraccionamiento es despreciable durante la asimilación del carbono dietético.

***Fuentes alimenticias: Floc mayor o igual a 10 micras pero menor de 50 micras (Floc $\geq 10 < 50\mu\text{m}$), Floc mayor o igual a 50 micras pero menor de 250 micras (Floc $\geq 50 < 250\mu\text{m}$), Floc mayor o igual a 250 micras pero igual o mayor a 500 micras (Floc $\geq 250-500\mu\text{m}$); Alimento comercial (AC). Se formaron los cuatro grupos con ayuda del $\delta^{13}\text{C}$. El primer grupo compuesto por las fracciones Floc 50 y $100\mu\text{m}$ las cuales no presentaron diferencias significativas entre ellas. Asimismo, se formó otro grupo con Floc con las fracciones 250 y $500\mu\text{m}$, las cuales tampoco presentaron diferencias significativas entre ellas (Tabla 12). La fracción de Floc $\geq 10 < 50\mu\text{m}$ se tomó como un grupo aparte debido a que sólo se obtuvo una muestra, por lo que no se presenta la desviación estándar en la Tabla 12. El alimento balanceado, a pesar de estar entre los rangos isotópicos de carbono del Floc se separó como un grupo independiente, debido a que esta fuente alimenticia es alóctona a los tanques de cultivo.*

8. RESULTADOS

8.1 Parámetros fisicoquímicos y condiciones del agua

En la Tabla 6 están resumidos los resultados de los parámetros fisicoquímicos registrados en las dos etapas del experimento. No se encontraron diferencias significativas entre los parámetros de oxígeno, pH, temperatura, salinidad, amonio, nitritos, clorofila-a y SST entre los tanques de cultivo de *L. vannamei* y *F. brasiliensis* en ambas etapas (Tabla 6).

Tabla 6 Variables de la calidad del agua (promedio±D.E) durante ambas etapas del experimento.

Parámetros	ETAPA I		ETAPA II	
	<i>L. vannamei</i>	<i>F. brasiliensis</i>	<i>L. vannamei</i>	<i>F. brasiliensis</i>
O.D (mg L ⁻¹)	7.2 ^a ±2.3	7.8 ^a ±1.5	8.8 ^A ±2.0	9.0 ^A ±2.2
pH	8.6 ^a ±0.5	8.7 ^b ±0.6	8.7 ^A ±0.5	8.7 ^A ±0.6
Temperatura (°C)	24.7 ^a ±1.5	24.6 ^a ±1.7	23.8 ^A ±2.2	24.0 ^A ±2.2
Salinidad (‰)	34.5 ^a ±4.2	35.0 ^a ±4.6	39.3 ^A ±1.7	39.0 ^A ±2.0
N-NH ₄ (mg L ⁻¹)	0.16 ^a ±0.12	0.18 ^a ±0.18	0.21 ^A ±0.21	0.15 ^A ±0.15
N-NO ₂ (mg L ⁻¹)	0.11 ^a ±0.19	0.06 ^a ±0.16	1.17 ^A ±1.51	0.62 ^A ±1.05
Cl-a (mg m ⁻³)	349.5 ^a ±300.8	378.1 ^a ±280.2	271.4 ^A ±183.4	344.5 ^A ±239.5
SST (mL L ⁻¹)	13.1 ^a ±9.8	9.6 ^a ±7.3	5.5 ^A ±3.1	5.4 ^A ±5.2

8.2 Parámetros de producción

En la Tabla 7 se presentan los parámetros de producción obtenidos durante ambas etapas del experimento. El peso final de *L. vannamei* fue diferente significativamente entre las dos etapas del experimento ($p < 0.05$). Por otra parte el DGC no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ambas etapas de cultivo para *L. vannamei*. En cuanto a los parámetros de supervivencia (%), biomasa final y TCA en *L. vannamei* una respuesta similar fue encontrada, por lo que no se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$). Por otro lado, *F. brasiliensis* demostró que obtuvo un crecimiento positivo entre etapas de cultivo obteniendo diferencias significativas entre el peso final de la etapa I y II, sin embargo la supervivencia fue menor ($p < 0.05$) entre la Etapa I (69%) y la Etapa II (38.8%). El DGC no fue significativamente diferente entre ambas etapas de cultivo. La biomasa final fue de 15.6±0.6 kg y 18.0±1.2 kg para *L. vannamei* durante la Etapa I y II respectivamente. Para *F. brasiliensis* la biomasa final fue de 6.8±0.9 kg y de 4.3 ±0.4 kg para la etapa I y II

respectivamente. Finalmente la TCA en *F. brasiliensis* fue más baja en la Etapa I (1.8) con respecto a la etapa II (2.0), no obstante no se detectaron diferencias significativas ($p>0.05$; Tabla 7).

Tabla 7 Promedio (\pm D.E) de los parámetros zootécnicos de *L. vannamei* y *F. brasiliensis* durante las dos etapas del experimento. Las comparaciones estadísticas son entre etapas de la misma especie. Biometrías al inicio y final de cada tanque de cultivo fueron realizadas, tomando una n de 50 camarones.

	ETAPA I vs ETAPA II		ETAPA I vs ETAPA II	
	<i>L. vannamei</i>	<i>L. vannamei</i>	<i>F. brasiliensis</i>	<i>F. brasiliensis</i>
Peso inicial (g)	11.3 \pm 2.9	21.2 \pm 4.1	1.9 \pm 0.7	4.5 \pm 1.7
Peso final (g)	17.8 ^a \pm 3.2	25.2 ^b \pm 3.7	3.3 ^A \pm 1.0	5.6 ^B \pm 2.0
DGC	35.9 ^a \pm 12.8	22.2 ^a \pm 5.4	7.9 ^A \pm 0.7	6.0 ^A \pm 2.8
Supervivencia (%)	87.3 ^a \pm 2.9	89.2 ^a \pm 1.4	69.0 ^A \pm 1.1	38.8 ^B \pm 1.7
Biomasa final (Kg)	15.6 ^a \pm 0.6	18.0 ^a \pm 1.2	6.8 ^A \pm 0.9	4.3 ^B \pm 0.4
TCA	0.93 ^a \pm 0.21	0.88 ^a \pm 0.31	1.82 ^A \pm 0.66	1.98 ^A \pm 0.98

Nota: Los superíndices (minúsculas para *L. vannamei* y mayúsculas para *F. brasiliensis*) denotan diferencias significativas ($p<0.05$). Los contrastes son entre etapas de la misma especie.

8.3 Actividad enzimática

En la Tabla 8 se presentan los resultados de proteína total soluble (mg/mL) y de la actividad específica de tripsina (U/mg de proteína) y α -amilasa (U/mg de proteína) de *L. vannamei* y *F. brasiliensis*. La proteína total soluble no fue significativamente diferente ni para *F. brasiliensis* ni para *L. vannamei* ($p<0.05$) en ambas etapas del experimento entre la misma especie. En cuanto a la actividad de tripsina y α -amilasa en *L. vannamei* en ambas etapas sus actividades presentaron una respuesta similar ($p>0.05$), no obstante en la Etapa II se observan las mayores actividades de tripsina. *F. brasiliensis* presentó la mayor actividad de tripsina en la Etapa II sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre la Etapa I y II del experimento ($p>0.05$). Y respecto a la actividad de α -amilasa en *F. brasiliensis* se reporta una menor actividad significativa ($p<0.05$) en la Etapa I respecto a la Etapa II. La relación A/T en *L. vannamei* no cambia entre etapas de cultivo mientras que *F. brasiliensis* tiene un aumento en la relación debido a que las actividades de α -amilasa y tripsina son muy similares.

Tabla 8 Promedio (\pm D.E.) de la proteína total soluble y la actividad enzimática digestiva de los camarones cultivados. Asimismo se reporta la relación α -amilasa/tripsina (A/T).

	ETAPA I vs ETAPA II		ETAPA I vs ETAPA II	
	<i>L. vannamei</i>	<i>L. vannamei</i>	<i>F. brasiliensis</i>	<i>F. brasiliensis</i>
Proteína total soluble (mg/mL)	31.8 ^a ±9.2	32.1 ^a ±7.4	6.8 ^A ±2.5	6.6 ^A ±3.0
α-amilasa (U/mg de proteína)	1.0 ^a ± 0.3	1.0 ^a ± 0.3	1.6 ^A ±0.8	3.8 ^B ±1.8
Tripsina (U/mg de proteína)	1.9 ^a ±0.5	2.5 ^a ±0.9	3.6 ^A ±1.8	3.8 ^A ±1.7
A/T	0.53±0.13	0.46±0.17	0.47±0.21	1.05±0.31

Nota: Los superíndices denotan diferencias significativas ($p < 0.05$). Los contrastes son entre etapas de la misma especie.

8.4 Composición proximal del Floc y del músculo de los camarones

El análisis químico-proximal de las fuentes alimenticias (Floc y alimento balanceado) y músculo de camarón son resumidas en las Tablas 9 y 10 respectivamente. Se considera que las partículas de Floc tienen casi el mismo nivel de proteína pero menor cantidad de lípidos que el alimento balanceado. Solamente el Floc $\geq 10 < 50 \mu\text{m}$ tiene un contenido mayor de lípidos que el alimento balanceado. En cuanto al músculo de los camarones, tanto *L. vannamei* como *F. brasiliensis* no presentaron diferencias significativas entre etapas para proteínas, lípidos y cenizas.

Tabla 9 Composición químico proximal (% base peso seco) de las fuentes alimenticias. $n=1$ para cada fuente alimenticia. Sin muestra (S.M). Alimento balanceado (AB).

FUENTES ALIMENTICIAS						
ETAPA I	Floc $\geq 10 < 50$	Floc $\geq 50 < 100$	Floc $\geq 100 < 250$	Floc $\geq 250 < 500$	Floc ≥ 500	AB
Lípidos crudos	16.1	7.7	7.6	6.1	S.M	9
Proteína cruda	11.8	32.1	33.0	31.9	29.1	39.1
ETAPA II	Floc $\geq 10 < 50$	Floc $\geq 50 < 100$	Floc $\geq 100 < 250$	Floc $\geq 250 < 500$	Floc ≥ 500	
Lípidos crudos	16.1	10.5	7.7	7.4	8.1	-
Proteína cruda	11.8	34.9	33.0	34.9	35.0	-

Tabla 10 Composición químico proximal (% base peso húmedo) del músculo de los camarones peneidos cultivados. n= 4 para cada especie y etapa del experimento.

	ETAPA I vs ETAPA II		ETAPA I vs ETAPA II	
	<i>L. vannamei</i>	<i>L. vannamei</i>	<i>F. brasiliensis</i>	<i>F. brasiliensis</i>
Humedad	75 ^a ±1.00	73 ^b ±0.58	76 ^A ±0.58	75 ^A ±0.58
Lípidos crudos	0.83 ^a ±0.13	0.84 ^a ±0.04	0.63 ^A ±0.01	0.67 ^A ±0.06
Proteína cruda	21.27 ^a ±0.76	22.25 ^a ±0.78	20.09 ^A ±0.64	20.31 ^A ±0.60
Cenizas	1.54 ^a ±0.07	1.58 ^a ±0.08	1.6 ^A ±0.05	1.6 ^A ±0.07

Nota: Los superíndices denotan diferencias significativas (p<0.05). Los contrastes son entre etapas de la misma especie.

8.5 Análisis del zooplancton en los tanques de cultivo

En el análisis cualitativo de la primera etapa de cultivo se lograron identificar cuatro grupos principales de microorganismos (nematodos, copépodos, rotíferos y protozoarios; Figura 1-8). Durante la segunda etapa de cultivo se añadió un grupo más perteneciente a larvas de poliquetos. Asimismo al final del experimento, en el fondo de los tanques se encontraron anfípodos y poliquetos en estado adulto. Además, se identificaron dos tipos de rotíferos encontrándose de manera diferencial en el tiempo (rotífero tipo I en la primera etapa y rotífero tipo II en la segunda etapa; ver Figura 5 y 7 respectivamente).

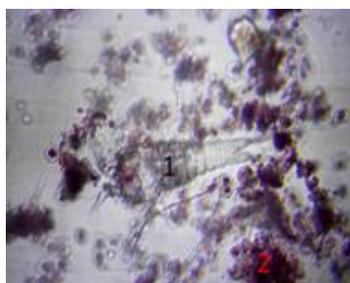


Figura 1 Copépodo (1), Flóculo microbiano (2). Corresponde a la Etapa I. 40x.



Figura 2 Copépodo (1). Corresponde a la Etapa II. 40x.



Figura 3 Nematodo (1).. Etapa I. 40x

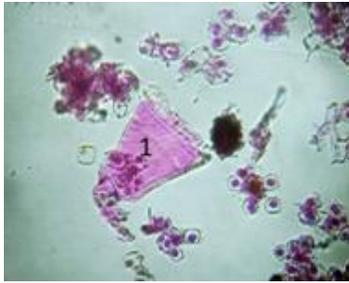


Figura 4 *Vorticella* (1). Etapa I. 40x.

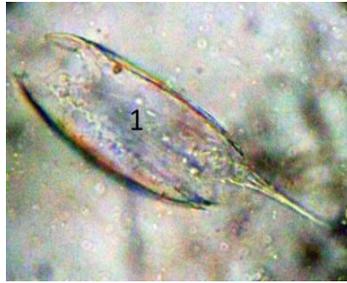


Figura 5 Rotífero (1). Etapa I. 40x

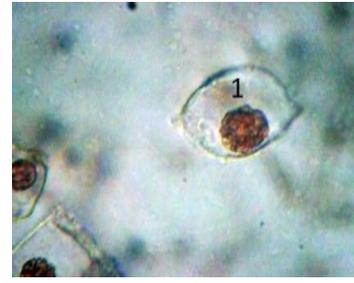


Figura 6 Microalga Euglenophita (1). Etapa I. 40x.

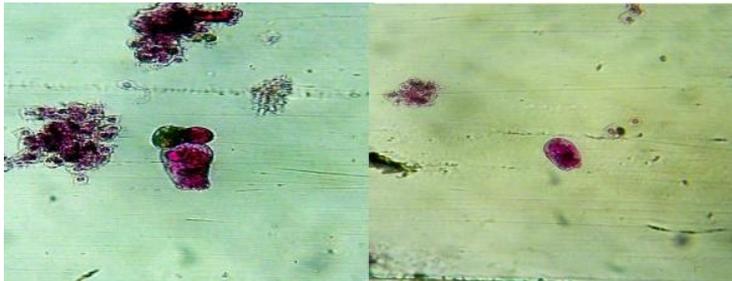


Figura 7 Rotífero tipo II, encontrado en la segunda etapa del experimento. 40x.

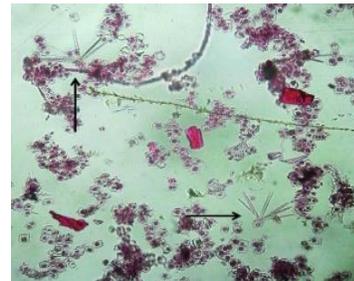


Figura 8 Larvas de poliqueto encontradas en ambas etapas del experimento. 10x.

Durante la segunda etapa del experimento se encontraron cuatro principales grupos de microorganismos pertenecientes a la BFT (nematodos, copépodos, rotíferos y larvas de poliquetos). La densidad de los microorganismos varió con respecto a los tanques de cultivo y al tiempo. La mayor cantidad de nematodos fue encontrada en los tanques de *L. vannamei* con 210 ± 113.9 org mL⁻¹ mientras que en los tanques de *F. brasiliensis* la densidad fue de 77 ± 108.7 org mL⁻¹. En el caso de los copépodos se encontraron densidades de 65 ± 19.2 org mL⁻¹ y 44 ± 11.7 org mL⁻¹ para *L. vannamei* y *F. brasiliensis* respectivamente. Los rotíferos mostraron la mayor densidad en los tanques de *F. brasiliensis* con 113 ± 74.5 org mL⁻¹ mientras que en los tanques de *L. vannamei* se encontraron las menores densidades con 71 ± 21.9 org mL⁻¹. Finalmente las larvas de poliqueto ocuparon las densidades más bajas entre los microorganismos encontrados con 53 ± 29.2 org mL⁻¹ y 43 ± 3.2 org mL⁻¹ para los tanques de *L. vannamei* y *F. brasiliensis* respectivamente (Figura9, 10, 11 y 12). Asimismo, los datos sugieren una alta presencia de nematodos cuando se compara con los otros grupos de microorganismos (en todas las semanas de cultivo), principalmente en la fase final de la etapa experimental (semana 6),

mientras que los copépodos disminuyen su densidad conforme se acerca la fase final de la etapa experimental. Los rotíferos muestran altas densidades desde el inicio del experimento (semana 0; esta semana se refiere al inicio del experimento por lo que la cuenta en tiempo es 0 días), sin embargo su densidad va disminuyendo conforme transcurre el tiempo, no obstante en la penúltima y última semana vuelve a haber un incremento de estos microorganismos posiblemente relacionado con una disminución en la cantidad de copépodos y un aumento en la densidad de nematodos. Las larvas de poliqueto se muestran constantes a través del tiempo y no presentan mucha diferencia en el transcurso de las semanas.

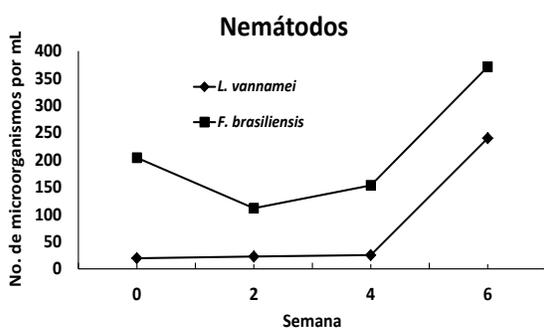


Figura 9 Variación de la abundancia de nematodos durante la segunda etapa experimental de los tanques de cultivo. n=4 por semana por especie.

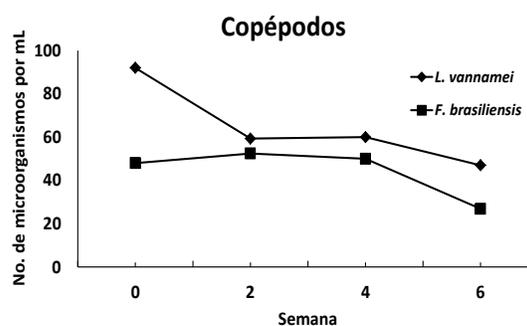


Figura 10 Variación de la abundancia de copépodos durante la segunda etapa experimental de los tanques de cultivo. n=4 por semana por especie.

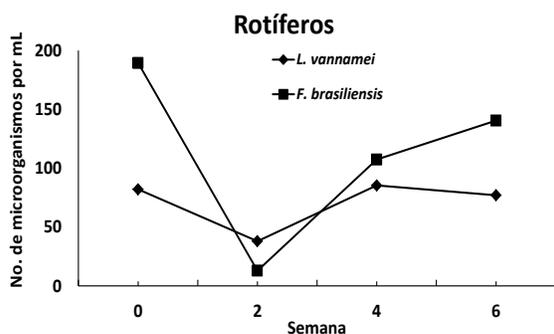


Figura 11 Variación de la abundancia de rotíferos durante la segunda etapa experimental de los tanques de cultivo. n=4 por semana por especie.

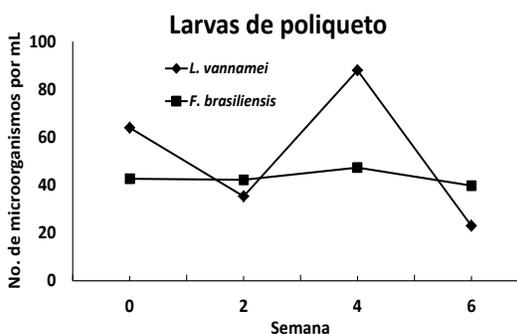


Figura 12 Variación de la abundancia de larvas de poliqueto durante la segunda etapa experimental de los tanques de cultivo. n=4 por semana por especie.

8.6 Análisis elemental e isotópico

El músculo de *L. vannamei* presentó los contenidos más altos en cuanto a carbono elemental se refiere. En cuanto al contenido de nitrógeno en el músculo se observan valores de entre 135.5 ± 2.7 y 136.8 ± 2.3 mg N g⁻¹ para la etapa I y II del experimento respectivamente. Al igual que en el músculo de *F. brasiliensis*, el contenido de carbono disminuye significativamente de la etapa I a la II en *L. vannamei*. Con respecto al nitrógeno elemental, sólo se reporta un ligero aumento sin diferencias significativas entre las dos etapas de cultivo del músculo de *L. vannamei* (Tabla 11).

Los contenidos más altos de nitrógeno elemental en el músculo de camarón se encontraron en *F. brasiliensis* para la etapa I y II del experimento respectivamente. De manera inversa, el músculo de *F. brasiliensis* presentó los contenidos de carbono más bajos en ambas etapas del experimento. El contenido de carbono elemental fue significativamente mayor en la etapa I respecto a la etapa II en *F. brasiliensis*. No obstante no se detectaron diferencias significativas en cuanto al contenido de nitrógeno entre las dos etapas de cultivo de *F. brasiliensis* (Tabla 11).

Tabla 11 Contenido y composición isotópica de C y N del músculo de los camarones cultivados en ambas etapas del experimento. Para cada especie por etapa de cultivo n= 12.

	ETAPA I vs ETAPA II		ETAPA I vs ETAPA II	
	<i>L. vannamei</i>	<i>L.vannamei</i>	<i>F. brasiliensis</i>	<i>F. brasiliensis</i>
mg N g ⁻¹	135.5 ^a ±2.7	136.8 ^a ±2.3	139.8 ^A ±2.0	138.6 ^A ±1.6
mg C g ⁻¹	453.4 ^a ±4.1	449.9 ^b ±4.1	443.6 ^A ±8.3	435.8 ^B ±4.3
%N	13.5 ± 0.3	13.7±0.2	14.0±0.2	13.9±0.2
%C	45.3±0.4	45.0±0.4	44.4±0.8	43.6±0.4
C:N	3.4±0.0	3.3±0.04	3.2±0.04	3.2±0.1
δ ¹⁵ N	6.7 ^a ±0.3	7.0 ^b ± 0.2	6.7 ^a ±0.4	6.2 ^b ±0.2
δ ¹³ C	-20.8 ^a ±0.2	-20.3 ^b ±0.2	-20.2 ^a ±0.3	-19.4 ^b ±0.3

Nota: Los superíndices (minúsculas para *L. vannamei* y mayúsculas para *F. brasiliensis*) denotan diferencias significativas (p<0.05). Los contrastes son entre etapas de la misma especie.

Los componentes de la dieta muestran diferentes contenidos de nitrógeno y carbono elemental (Tabla 12). En cuanto a los componentes del Floc se observa una disminución en la cantidad de N de la fracción de 50µm a la fracción de 500µm. No obstante, el contenido de C varía entre las fracciones del Floc obteniendo el más bajo contenido la fracción de

50µm y el contenido más alto la fracción de 100µm. El Floc que comprende la fracción $\geq 10 < 50 \mu\text{m}$ se comporta de manera diferente a las otras fracciones del Floc (Tabla 12).

Tabla 12 Contenido y composición isotópica de C y N de los diferentes componentes de la dieta de los camarones cultivados durante ambas etapas del experimento (Floc y alimento balanceado, AB). n=3 para cada fuente alimenticia excepto para Floc $\geq 10 < 50 \mu\text{m}$ la cual fue de n=1.

Componente de la dieta	mg N g ⁻¹	mg C g ⁻¹	%N	%C	C:N	$\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$	$\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$
AB	62.6±1.3	431.9±0.8	6.3±0.1	43.2±0.1	6.9±0.2	3.8±0.1	-22.5±0.2
Floc 500µm	49.9±14.0	326.4±34.8	5.0±1.4	32.6±3.5	6.9±1.8	4.2 ^a ±0.5	-20.6 ^A ±2.4
Floc 250µm	56.0±10.6	326.5±34.5	5.6±1.1	32.7±3.5	6.0±1.2	4.0 ^{ab} ±0.4	-20.5 ^A ±0.3
Floc 100µm	57.0±8.6	327.5±23.6	5.7±0.9	32.8±2.4	5.9±1.1	5.1 ^{ab} ±1.6	-24.4 ^B ±0.6
Floc 50µm	53.6±8.0	317.6±19.4	5.4±.8	31.8±1.9	6.1±1.1	3.4 ^b ±0.4	-24.7 ^B ±3.2
Floc $\geq 10 < 50 \mu\text{m}$	18.9	108.7	1.9	10.9	5.7	8.6	-23.0

Nota: Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza de una vía. Los superíndices denotan las diferencias significativas ($p < 0.05$), utilizando minúsculas para indicar las diferencias en la columna $\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$ y mayúsculas en la columna $\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$.

Respecto a la señal isotópica de la especie *L. vannamei* está varió significativamente entre ambas etapas de cultivo tanto para la señal de $\delta^{13}\text{C}$ como de $\delta^{15}\text{N}$. El mismo comportamiento se detectó en la composición isotópica de *F. brasiliensis* para ambas etapas de cultivo (Tabla 11). En cuanto a las fuentes alimenticias se formaron cuatro grupos respecto al $\delta^{13}\text{C}$. El primer grupo compuesto por las fracciones Floc 50µm y 100µm no presentaron diferencias significativas entre ellas. Asimismo, se formó otro grupo con las fracciones del Floc de 250µm y 500µm, las cuales tampoco presentaron diferencias significativas entre ellas (Tabla 12). Es importante destacar, que esta formación de grupos sirvió para llevar a cabo el análisis posteriormente en el software IsoSource. La fracción de Floc $\geq 10 < 50 \mu\text{m}$ se tomó como un grupo aparte debido a que solo se obtuvo una muestra, por lo que no se presenta la desviación estándar en la Tabla 12. El alimento balanceado, a pesar de estar entre los rangos isotópicos de carbono del Floc se separó como un grupo independiente, debido a que esta fuente alimenticia es alóctona a los tanques de cultivo. El $\delta^{15}\text{N}$ para las fuentes alimenticias no discriminó de la misma manera que el $\delta^{13}\text{C}$ las fuentes alimenticias ya que la fracción de 50µm fue significativamente diferente a la fracción de 500µm, pero ambas fracciones (50µm y 500µm) no fueron significativamente diferentes de las fracciones de 100µm y 250µm.

De entre las seis posibles fuentes alimenticias recolectadas durante las dos etapas de cultivo el Floc de 250 μ m y 500 μ m son los más enriquecidos en ^{13}C , mientras que el Floc de 50 μ m es el más reducido en ^{13}C (Tabla 12). Con respecto al $\delta^{15}\text{N}$ la fuente alimenticia más enriquecida fue el Floc de 100 μ m, mientras que la fuente más reducida fue el Floc de 50 μ m seguido por el alimento balanceado (Tabla 12; Figura 13 y 14). La Figura 13 muestra las señales isotópicas de *L. vannamei* durante la primera y segunda etapa del experimento, se encierran en círculos por grupo debido a que existen diferencias significativas (Tabla 11); en esta gráfica se puede apreciar que el Floc de 250 μ m y 500 μ m son más próximas a las señales isotópicas de carbono y nitrógeno de *L. vannamei*. Asimismo, en la Figura 14 se muestran las señales isotópicas de *F. brasiliensis* durante la primera y segunda etapa del experimento; ambas etapas están rodeadas por un círculo que expresa que existen diferencias significativas (Tabla 11). Al igual que con *L. vannamei*, *F. brasiliensis* se muestra más próximo a las partículas de Floc de 250 μ m y 500 μ m. De manera interesante, hay que notar que el alimento balanceado se encuentra más reducido que las señales de *L. vannamei* y *F. brasiliensis* en cuanto al isótopo de carbono por lo que la señal isotópica es menos próxima a los camarones de cultivo.

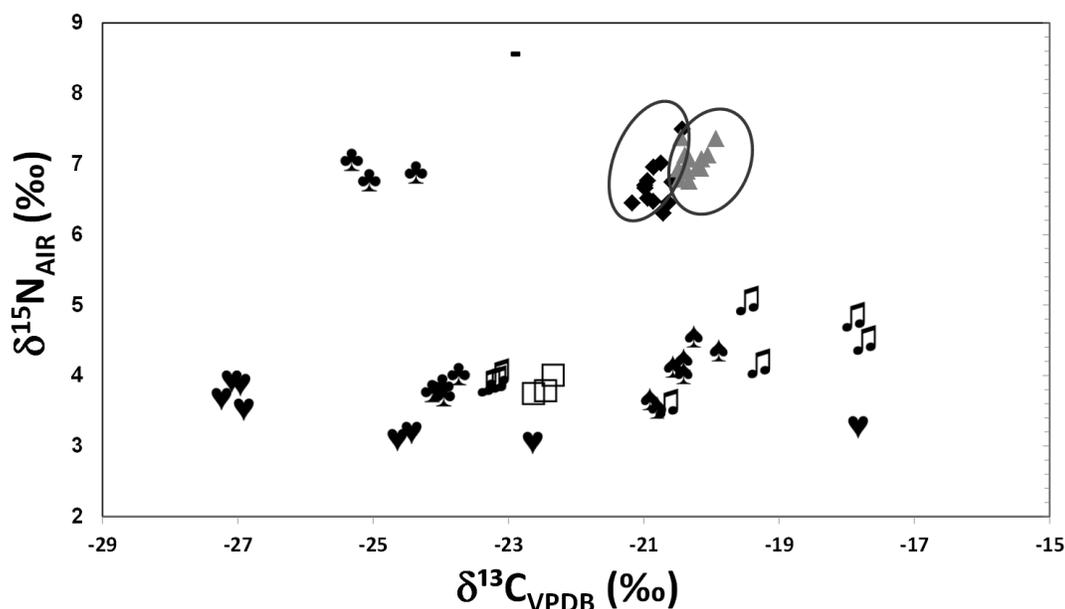


Figura 13 Señal isotópica de *L. vannamei* en la primera etapa (♦) y *L. vannamei* de la segunda etapa (▲). Asimismo se muestran las señales isotópicas de las fuentes alimenticias: Alimento balanceado (□), Floc 50 μ m (♥), Floc 100 μ m (♣), Floc 250 μ m (♠), Floc 500 μ m (♪) y Floc 10 μ m (-).

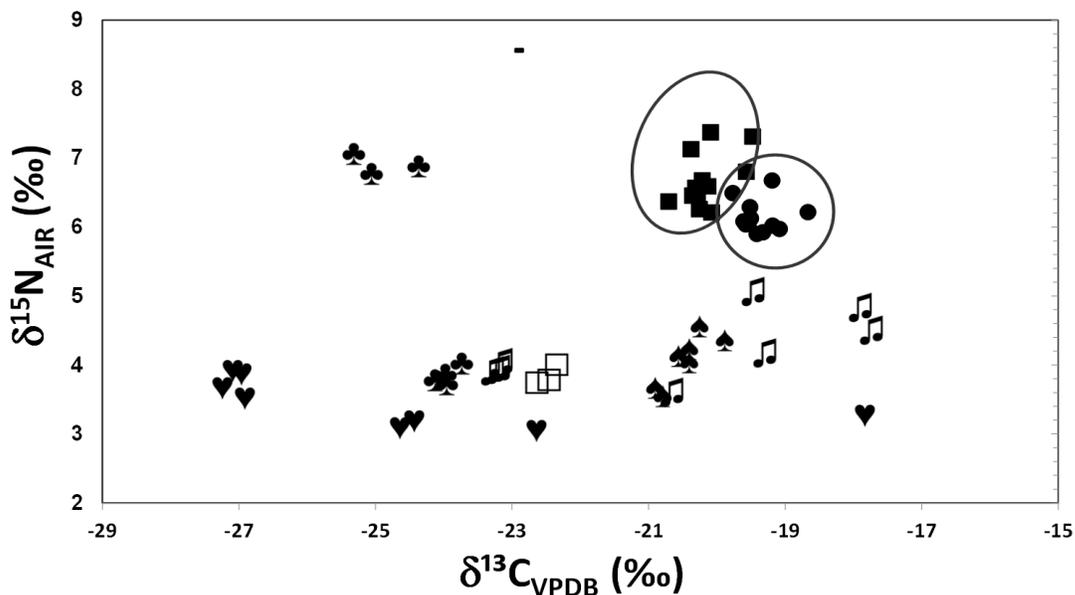


Figura 14 Señal isotópica de *F. brasiliensis* en la primera etapa (■) y *F. brasiliensis* de la segunda etapa (●). Asimismo se muestran las señales isotópicas de los componentes alimenticios: Alimento comercial (□), Floc 50µm (♥), Floc 100µm (♣), Floc 250µm (♠), Floc 500µm (♩) y Floc 10µm (-).

Con el fin de estimar las contribuciones relativas de las diferentes fuentes alimenticias a la señal isotópica de los camarones cultivados se llevó a cabo un modelo de mezcla propuesto por Phillips y Gregg (2003). El modelo calculó los rangos de contribución (mínimos y máximos) de cada fuente alimenticia con respecto al consumidor (camarones cultivados). Para el caso de *L. vannamei* de la primera etapa se obtuvo que las dos fuentes que más contribuyen son el Floc $\geq 250 \geq 500 \mu\text{m}$ y el alimento balanceado, mientras que la fuente alimenticia que menos contribuye a la señal isotópica de *L. vannamei* de la primera etapa es el Floc $\geq 10 < 50 \mu\text{m}$. Para *L. vannamei* de la segunda etapa la fuente que más contribuye es igualmente el Floc $\geq 250 \geq 500 \mu\text{m}$, mientras que el alimento balanceado decae hasta un 0 a 13%. En el caso de *F. brasiliensis* tanto de la primera como de la segunda etapa el Floc $\geq 250 \geq 500 \mu\text{m}$ representa la mayor contribución a la señal isotópica de los camarones. Por lo tanto se puede sugerir que las fuentes alimenticias se ordenan de mayor a menor importancia según su contribución a la señal isotópica de los camarones cultivados en la primera etapa: (Floc $\geq 250 \geq 500 \mu\text{m}$) > (Floc $\geq 50 < 250 \mu\text{m}$) > (AC) > (Floc $\geq 10 < 50 \mu\text{m}$).

Mientras que en la segunda etapa, el alimento balanceado sería la fuente alimenticia que menos contribuye en la señal isotópica de los camarones (Tabla 13).

Tabla 13 Contribución de las fuentes alimenticias (%) a la síntesis del músculo de los camarones. I y II denotan la etapa en la que se encontraban los camarones. Alimento balanceado (AB).

Espece/Fuente alimenticia	Floc $\geq 10 < 50 \mu\text{m}$	Floc $\geq 50 < 250 \mu\text{m}$	Floc $\geq 250 \geq 500 \mu\text{m}$	AB
<i>L. vannamei I</i>	0-14	0-20	59-100	0-41
<i>L. vannamei II</i>	0-11	0-6	87-100	0-13
<i>F. brasiliensis I</i>	0-5	0-3	93-100	0-7
<i>F. brasiliensis II</i>	0-3	0-1	97-100	0-2

9. DISCUSIÓN

9.1 Parámetros fisicoquímicos y condiciones del agua

Según (Vinatea, 2002) es muy importante conocer primero los parámetros fisicoquímicos del agua de los sistemas de cultivo ya que esto nos ayudará a entender mejor el entorno donde vivieron los organismos cultivados. Por lo tanto esta tesis toma en cuenta primero el ambiente en donde los organismos se desarrollaron. Los parámetros fisicoquímicos se mantuvieron dentro del rango aceptado para el cultivo de ambas especies a través de todo el experimento (Valenzuela-Jiménez, 2009; Emerenciano et al., 2012). Los valores de pH para ambas etapas fueron de ~8.5 y son consistentes con lo reportado por (Emerenciano et al., 2013a). Los valores de pH del presente experimento pueden estar relacionados con las altas concentraciones de fitoplancton medidas a través del experimento por medio de la concentración de clorofila-a, porque durante la noche hay una alta liberación de CO₂ y durante el día hay un subsecuente secuestro de este causando incrementos en el pH (Becerra-Dórame et al., 2012). La evaporación es la principal razón de las altas concentraciones de salinidad por lo que se pueden explicar las salinidades $\geq 34.5\%$. Los SST fueron $\leq 13.1 \text{ mL L}^{-1}$ y por lo tanto no se presentaron problemas con el congestionamiento de las branquias en los camarones durante ambas etapas del experimento (Taw, 2010). Además, los SST fueron significativamente más altos en la etapa I respecto a la II y puede estar asociado a la reducción de la intensidad lumínica (50%), ya que en la etapa II se utilizó malla sombra para cubrir los tanques de ambas especies. Este

factor es importante porque de acuerdo a Taw, (2010) y Emerenciano et al., (2013a) concentraciones $\geq 15 \text{ mL L}^{-1}$ pueden estar relacionadas con altas mortalidades.

En este estudio, la concentración de los sub-productos de nitrógeno estuvo dentro del rango establecido para el cultivo de los peneidos sugiriendo que la adición de melaza es una buena alternativa para reducir y/o mantener concentraciones óptimas de nitrógeno inorgánico. De acuerdo a Avnimelech (1999, 2007) en sistemas de cero o bajo intercambio de agua se va acumulando de manera gradual nitrógeno inorgánico debido a la excreción amoniacal de los organismos y del alimento balanceado. No obstante, Avnimelech, (1999) sugiere que este problema puede ser solucionado agregando una fuente de carbono causando la proliferación de bacterias heterotróficas y con esto la subsecuente conversión de nitrógeno en proteínas que son explotables por los organismos de cultivo.

9.2 Parámetros de producción

En cuanto a los parámetros de producción se observa un crecimiento positivo a través del tiempo por parte de *L. vannamei* en ambas etapas del experimento. Sin embargo su crecimiento en la etapa II se ve aminorado debido a su estado de desarrollo ontogénico, ya que el crecimiento en camarones peneidos es más rápido en etapas más tempranas. Las supervivencias de *L. vannamei* se mantuvieron por arriba del 80% para ambas etapas del experimento y concuerdan con las reportadas por Becerra-Dórame et al., (2012), Baloi et al., (2013) y Xu y Pan, (2012). En cuanto a la TCA, se obtuvieron valores de entre 0.93 ± 0.21 y 0.88 ± 0.31 para la etapa I y etapa II de cultivo respectivamente, y son más bajos que los reportados en la literatura para experimentos realizados con BFT. Al respecto Baloi et al., (2013) reportan TCAs de entre 2.6 ± 0.8 y 1.9 ± 0.1 para sistemas con BFT en tratamiento 12 horas luz/12 horas oscuridad y 24 horas de luz respectivamente. Asimismo, Xu y Pan, 2012 reportan TCAs de entre 1.45 y 1.48 en sistemas con BFT con diferentes relaciones nominales de C/N.

F. brasiliensis es una especie relativamente nueva en la acuicultura, por lo que no se cuenta con mucha información sobre los parámetros de producción en sus diferentes etapas de desarrollo. De hecho, los pesos con los que se trabajan en este experimento son reportados por primera vez. Sin embargo, se puede evidenciar que en ambas etapas de cultivo existió

un crecimiento positivo, lo cual sugiere que hay un aporte nutricional por parte de los flóculos microbianos y el alimento comercial. A pesar de esto, las TCAs en el presente estudio fueron altas (entre 1.82 y 1.98 para la Etapa I y Etapa II del experimento) y las supervivencias bajas en comparación con otros estudios tales como el de Lopes et al., (2009) quienes reportan una TCA de 1.39 ± 0.27 y una supervivencia de $94.17 \pm 9.04\%$ en cultivos con una densidad de siembra de 20 cam m^{-2} en agua estuarina.

En general, más altos DGC y supervivencias fueron determinadas en *L. vannamei* en contraste con *F. brasiliensis*, por lo tanto mejores respuestas zootécnicas fueron halladas en el cultivo de *L. vannamei* cultivado en sistemas con BFT lo cual está asociado al contenido de nutrientes presentes en las fuentes alimenticias y la capacidad de los organismos para explotar tanto el alimento balanceado como las partículas de Floc. Algunos organismos requieren hasta un 50% de proteína en su dieta y esto está asociado a la historia de vida de los organismos, por ejemplo, *L. vannamei* es una especie omnívora con tendencia a ser herbívora así que el requerimiento de proteína será más bajo (~30%; Shiau, 1998) que el de *F. brasiliensis* debido a que esta especie tiende a ser omnívora-carnívora (~54% de proteína; Liao et al., 1986). Con esto en mente, no es raro que *F. brasiliensis* muestre baja supervivencia para ambas etapas experimentales y podría también estar relacionado con un alto canibalismo porque necesitan incrementar su abasto de nutrientes (Lopes et al., 2009; Emerenciano et al., 2012).

9.3 Actividad enzimática

El análisis de la actividad enzimática digestiva sugiere que ambas especies tienden a ser omnívoras con tendencias a ser carnívoras dado que tripsina presenta actividades más altas en ambas etapas comparadas a las de α -amilasa (Tabla 8). Sin embargo *F. brasiliensis* podría ser más carnívoro dado que las actividades de tripsina son más altas que las de *L. vannamei*. Desde un punto de vista clásico las actividades α -amilasa deberían de ser mucho más altas que las reportadas en este estudio (Le Moullac et al., 1997) sin embargo este trabajo está tomando al Floc como medio de cultivo y muchas diferencias pueden haber en comparación con sistemas alternos como agua clara, así que las principales reglas pueden cambiar. Por ejemplo, Moss et al., (2001) reporta que el agua autotrófica respecto a la oligotrófica podría incrementar más de dos veces la actividad enzimática de los camarones

y algunos factores tales como proteasas adquiridas podrían contribuir al aumento de la actividad proteolítica. Al respecto, los sistemas con Floc generan enzimas extracelulares que incrementan la actividad de tripsina (Xu y Pan, 2012). Además, la α -amilasa podría tener actividades muy cercanas o iguales a la de tripsina (Becerra-Dórame et al., 2012; Xu et al., 2012), no obstante la explicación por la cual las actividades enzimáticas se comportan de esta manera no son del todo claras (Xu et al., 2012). Por lo anterior, tres principales hipótesis sinérgicas podrían emerger: (i) la actividad enzimática es tan baja pero a la vez tan eficiente que puede hidrolizar abundante sustrato, lo que conllevaría a que las actividades basales son suficientes para participar en los procesos digestivos (Buchholz y Saborowski, 2000); en el caso de tripsina, altas actividades podrían comprometer esta hipótesis, además podría estar relacionada a la regulación genética, calidad de la proteína o enzimas extracelulares; (ii) la calidad de la proteína derivada primariamente del Floc (proteína nativa) puede impactar positivamente en la actividad de tripsina y “apagar” algunas isoformas de la α -amilasa reduciendo su actividad (Le Moullac et al., 1997; Aragón-Axomulco et al., 2012) y (iii) las enzimas extracelulares presentes en las partículas del Floc o algunos microorganismos tales como *Vibrio* del tracto digestivo y *Bacillus* spp. son probióticos (Ziaei-Nejad et al., 2006; Xu y Pan, 2012; Anand et al., 2014; Tuyub Tzuc, 2014) y podrían contribuir con las actividades enzimáticas digestivas e hidrolizar proteínas, lípidos o carbohidratos. En cuanto a la proporción A/T, esta indica que los camarones están utilizando como principal sustrato metabólico la proteína como resultado del aporte de proteína nativa generada en los tanques con Floc (Becerra-Dórame et al., 2012) y concuerda con los resultados de las contribuciones relativas de los flóculos microbianos en la generación del músculo de las dos especies de camarón del presente experimento (Tabla 13). Sin embargo, en sistemas donde los nutrientes son generados vía fertilización, la proporción A/T podría malinterpretar los hábitos alimenticios de los camarones dado que la actividad de α -amilasa es reducida como un resultado de las tres hipótesis presentadas anteriormente.

9.4 Composición proximal del Floc y músculo de los camarones

Además, el Floc puede impactar en la composición del músculo de los camarones como sugiere Xu et al., (2012). En el presente estudio, tanto *L. vannamei* y *F. brasiliensis*

mantienen su composición proximal a través de las etapas de cultivo (Tabla 10) y esto podría estar asociado al valor nutricional del alimento balanceado más el Floc (Tabla 9) incrementando la retención de nutrientes como señala Xu y Pan, (2012). Esto sostiene la hipótesis de que la biota natural puede contribuir en una proporción significativa en la nutrición de los camarones. De hecho, Jory et al., (2001) determinaron que el Floc puede contener hasta un 43% de proteína (en el presente estudio 35%) así como algunos aminoácidos tales como arginina (2%), metionina (0.5%) y lisina (2.1%). Xu y Pan, (2012) demuestran que *L. vannamei* podría incrementar su contenido de lípidos dada la capacidad de asimilar los ácidos grasos del Floc. Asimismo, Ekasari et al., (2014) determinaron que el Floc puede ser nutricionalmente disímil cuando se analiza por tamaños y puede contribuir en menor o mayor medida a la nutrición de los camarones como se determina en el presente estudio. Sin embargo, el presente estudio no detectó un incremento en el contenido de proteína o lípidos respecto al tamaño del Floc pero esto podría estar asociado con cambios en la comunidad microbiana (Emerenciano et al., 2013b; Anand et al., 2014).

9.5 Variación del zooplancton en los tanques de cultivo

En cuanto al análisis del zooplancton se reportan siete grupos de microorganismos (nematodos, copépodos, rotíferos, protozoarios y larvas de poliqueto, así como anfípodos adultos y poliquetos en estado bentónico) y concuerda con otros trabajos que analizan la comunidad del Floc (Emerenciano et al., 2011; Viau et al., 2013). De hecho Emerenciano et al., (2013b) y Anand et al., (2014) determinaron que la variación en la comunidad biótica a través del tiempo provoca cambios en la calidad de los flóculos microbianos, encontrando los mejores porcentajes de proteína ligados al aumento de copépodos y nematodos en los sistemas de cultivo. Asimismo, es importante mencionar que existen recomendaciones ya establecidas en cuanto a la abundancia de los microorganismos para obtener un real beneficio como alimento del camarón cultivado. Por ejemplo, para copépodos y rotíferos se sugieren rangos de entre 2 a 50 org mL⁻¹ y para larvas de poliquetos abundancias de entre 2 a 20 org mL⁻¹ (Jory et al., 2001; Martinez-Cordova et al., 2003; Rosas et al., 2006). Los rangos anteriores son sobrepasados por los del presente experimento para todos los tanques de cultivo (tanques de *L. vannamei*: copépodos= 65±19.2 org mL⁻¹, rotíferos= 71±21.9 org

mL⁻¹ y larvas de poliqueto= 53±29.2 org mL⁻¹; tanques de *F. brasiliensis*: copépodos= 44±11.7 org mL⁻¹, rotíferos= 113±74.5 org mL⁻¹ y larvas de poliqueto= 43±3.2 org mL⁻¹).

9.6 Contribución relativa del Floc en la nutrición de *L. vannamei* y *F. brasiliensis*

Con el objetivo de determinar la contribución relativa de las partículas de Floc $\geq 10 < 50 \mu\text{m}$, $\geq 50 < 250 \mu\text{m}$, $\geq 250 \geq 500 \mu\text{m}$ y el alimento balanceado se utilizó la herramienta de isótopos estables ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) en combinación con el modelo de mezcla propuesto por Phillips y Gregg, (2003). Las diferencias en el $\delta^{13}\text{C}$ fueron lo suficientemente grandes para discriminar entre varias fuentes alimenticias (partículas de Floc de diferentes tamaños y alimento balanceado; Tabla 12). Esto sugiere que los microorganismos muestreados (copépodos, nematodos, rotíferos, larvas de poliqueto, anfípodos y poliquetos bentónicos) y los flóculos microbianos representan la principal fuente de biomoléculas para la nutrición de los camarones. Asimismo, existen otras investigaciones como las de Nunes et al., (1997), Zhang et al., (2000) y Anderson et al., (1987) que determinan que la contribución relativa de la productividad natural en la generación del músculo son de 75.09%, 61.67% y 53-77% respectivamente. En contraste Cam et al., (1991) y más recientemente Yuepeng et al., (2008) reportan contribuciones por parte del alimento balanceado de 86.5% y 93.49% respectivamente, implicando que la aportación remanente a la generación del músculo es explicada por la productividad natural, sin embargo señalan que se puede deber a que había poca productividad natural en los estanques de cultivo como un efecto del manejo de los mismos. Lo anterior es un hecho interesante, porque en sistemas con Floc el agua es fertilizada, entonces una producción constante de microorganismos son favorecidos y si las condiciones son bien establecidas una productividad natural constante es intensificada y con esto es posible abastecer algunos requerimientos nutricionales necesarios para la nutrición de los camarones a lo largo de los periodos de cultivo (Becerra-Dórame et al., 2012; Ekasari et al., 2014). Asimismo, el presente estudio demostró que ambas especies de camarón utilizan las partículas del Floc con tendencia hacia partículas más grandes, sin embargo todas las fuentes alimenticias contribuyeron en mayor o menor grado a la formación de músculo de los camarones, por lo que se sugiere que el Floc es un conjunto de compartimientos alimenticios. Entre estos, un compartimiento olvidado (no evaluado en este trabajo) ha sido invocado previamente (Masson, 1977) en bivalvos –llamado materia

orgánica disuelta-. Este compartimiento rico en aminoácidos de vida libre y otros nutrientes críticos puede estar relacionado a la nutrición de los camarones. Los aminoácidos de vida libre pueden ser tomados directamente del agua por los camarones o podrían ser ingeridos vía bacterias heterotróficas –ya que los aminoácidos de vida libre y el nitrógeno inorgánico son las principales fuentes de N para multiplicación de las bacterias heterotróficas- (Rosenstock y Simon, 2001). Además, en las condiciones de este estudio los resultados evidencian el concepto de dieta multifásica como se muestra previamente para moluscos (Stephens, 1968) y la división de las partículas del Floc claramente enfatiza los beneficios del Floc cuando las partículas más grandes son formadas.

Consecuentemente, el Floc provee fuentes de proteína nativas de alto valor nutricional y puede explicar las buenas tasas de crecimiento para ambas especies. Ahora, la contribución relativa podría ser ligeramente más alta en *F. brasiliensis* considerando las diferencias en hábitat y preferencias alimenticias vinculadas con una adaptación digestiva más pronunciada a la carnivoría comparada a *L. vannamei*.

Por lo tanto, esta parte que podríamos llamar una dieta multifásica para caracterizar el “Floc” tomando en cuenta los conceptos previos de una dieta difásica de Provasoli, (1971), podrían explicar las tremendas mejoras en peneidos condicionados en sistemas con Floc por unas pocas semanas antes de su maduración (Emerenciano et al., 2012), parámetros de producción (Emerenciano et al., 2011), calidad del producto final (Chan-Vivas, 2014) o el estado de salud de los organismos (Aguilera-Rivera et al., 2014).

10. CONCLUSIONES

1. Todos los parámetros fisicoquímicos se mantuvieron dentro del rango aceptado para el cultivo de camarones peneidos y no hubieron diferencias entre tanques de cultivo de ambas especies. Por lo tanto la adición de melaza es un buen fertilizante que ayuda a mantener estos parámetros dentro del rango óptimo del cultivo.
2. Los resultados sugieren que los flóculos microbianos proveen grandes beneficios en cuanto a parámetros de producción se refiere (asociados a la nutrición por el

aporte de biomoléculas). Sin embargo, hay que tomar en cuenta las especies a elegir ya que de ello dependerá el buen aprovechamiento de las fuentes nutricias.

3. La TCA se vio notablemente mejorada con respecto a lo reportado en la literatura, evidenciando que el Floc puede ayudar a reciclar el alimento comercial suministrado a los organismos de cultivo.
4. Ambas especies tienden a ser omnívoras con tendencias a ser carnívoras ya que tripsina presenta actividades más altas en ambas etapas comparadas a las de α -amilasa. Además surge la pregunta si ¿El Floc presenta enzimas extracelulares que ayudan a mejorar la digestión de los camarones?
5. El músculo de ambos camarones se vio positivamente impactado ya que la composición de proteínas y lípidos se mantiene a través del tiempo. Esto puede estar relacionado con la aportación de nutrientes por parte de los flóculos en la alimentación de los camarones.
6. Los organismos de cultivo (*L. vannamei* y *F. brasiliensis*) eligen mayoritariamente el Floc como fuente alimenticia. El análisis del zooplancton demuestra que los sistemas con Floc pueden albergar microorganismos que pueden ser consumidos por los organismos de cultivo objetivo. Estos microorganismos se encontraron en niveles por encima de lo recomendado en la literatura, no obstante este hecho no presentó un problema en el cultivo.
7. El presente trabajo determina desde un punto de vista de alimentación/nutrición que el Floc es una fuente de alimentación multifásica.
8. A pesar de que existió un suministro de alimento balanceado continuo, la preferencia alimenticia es por el zooplancton generado en los sistemas (partículas de Floc) como demuestra el análisis con la contribución relativa de las diferentes fuentes alimenticias.

11. LITERATURA CITADA

- Abed-Navandi, D., Dworschak, P.C., 2005. Food sources of tropical thalassinidean shrimps: a stable-isotope study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 291, 159–168.
- Aguilera-Rivera, D., Prieto-Davó, A., Escalante, K., Chávez, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., 2014. Probiotic effect of floc on vibrios in the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 424–425, 215–219.
- Albertoni, E.F., Palma-Silva, C., Esteves, F. de A., 2003. Natural diet of three species of shrimp in a tropical coastal lagoon. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* 46, 395–403.
- Aminot, A., Rey, F., 2000. Standard procedure for the determination of chlorophyll a by spectrophotometric methods. *ICES Tech. in Mar. Environ. Sci.* 30, 1–18.
- Anand, P.S.S., Kohli, M.P.S., Kumar, S., Sundaray, J.K., Roy, S.D., Venkateshwarlu, G., Sinha, A., Pailan, G.H., 2014. Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 418-419, 108–115.
- Anderson, R.K., Parker, P.L., Lawrence, A.L., 1987. A $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ tracer study of the utilization of presented feed by a commercially important shrimp *Penaeus vannamei* in a pond growout system. *J. World Aquac. Soc.* 18, 148–155.
- AOAC, 1995. Official methods of analysis of AOAC International. AOAC International, Washington, DC, USA.
- Aragón-Axomulco, H., Chiappa-Carrara, X., Soto, L., Cuzon, G., Arena, L., Maldonado, C., Cárdenas, R., Gaxiola, G., 2012. Seasonal variability in trypsin and α -amylase activities caused by the molting cycle and feeding habits of juvenile pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad, 1939). *J. Crustac. Biol.* 32, 89–99.
- Avnimelech, Y., 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*. 176, 227–235.
- Avnimelech, Y., 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*. 264, 140–147.
- Avnimelech, Y., 2012. Biofloc Technology – A practical guide book, 2^{da} edición. The World Aquaculture Society. Bat. Rouge, Louisiana, USA.
- Ballester, E.C., Wasielesky, W., Abreu, P.C., Cavalli, R.O., Emerenciano, M.G.C., Adornes, S., 2006. Efeito de diferentes níveis protéicos no cultivo do camarão-

rosa *Farfantepenaeus paulensis* em meio heterotrófico. Anais do congresso. Aquaciência 2006.

- Baloi, M., Arantes, R., Schweitzer, R., Magnotti, C., Vinatea, L., 2013. Performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* raised in biofloc systems with varying levels of light exposure. *Aquac. Eng.* 52, 39–44.
- Becerra-Dórame, M.J., Martínez-Porchas, M., Martínez-Córdova, L.R., Rivas-Vega, M.E., Lopez-Elias, J.A., Porchas-Cornejo, M.A., 2012. Production response and digestive enzymatic activity of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) intensively pregrown in microbial heterotrophic and autotrophic-based systems. *Sci. World J.* 2012, 1-6.
- Bernfeld, B., 1955. Sur une méthode de dosage des amylases. *Methods Enzymol.* 1, 149-154.
- Borja, A., 2002. Los impactos ambientales de la acuicultura y la sostenibilidad de esta actividad. *Boletín del Inst. Español Oceanogr.* 18, 41–49.
- Briggs, M., Funge-Smith, S., Subasinghe, R., Phillips, M., 2004. Introductions and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the Pacific. FAO Regional Office for Asia and the Pacific. RAP 10,12.
- Brito, R., Chimal, M.-E., Rosas, C., 2000. Effect of salinity in survival, growth, and osmotic capacity of early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* (decapoda: penaeidae). *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 244, 253–263.
- Browdy, C.L., Bratvold, D., Stokes, A.D., McIntosh, R.P., 2001. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. En: Browdy, C.L., Jory, D.E. (Eds.), *The New Wave, Proceedings of the special session on sustainable shrimp culture. Aquaculture 2001.* The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA.
- Brown, W., Wold, F., 1973. Alkyl isocyanates as active-site-specific reagents for serine proteases. *Reaction properties.* *Biochemistry.* 12, 828–834.
- Buchholz, F., Saborowski, R., 2000. Metabolic and enzymatic adaptations in northern krill, *Meganyctiphanes norvegica*, and Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57, 115–129.
- Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson, D.C., 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture* 232, 525–537.

- Cadena, E. 2000. Relación entre el ciclo de muda y actividad de las enzimas digestivas y su efecto en la tasa de alimentación y el crecimiento del juvenil *Penaeus vannamei*. Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador (Doctoral dissertation, Tesis para optar el grado de Ingeniero Acuicultor, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador).
- Cam, D., Rollet, P.-É., Mariotti, A., Guillaume, J., 1991. Contribution relative de la productivité naturelle et de l'aliment composé dans la nutrition de *Penaeus japonicus* élevé en conditions semi-intensives. *Aquat. Living Resour.* 4, 175–180.
- Carpenter, K.E., 2002. The living marine resources of the Western Central Atlantic. FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes and American Society of Ichthyologists and Herpetologists Special Publication No. 5. Vols 1-3. Rome, FAO. 2150.
- Carrillo, O., Vega-Villasante, F., Nolasco, H., Gallardo, N., 2000. Aditivos alimentarios como estimuladores del crecimiento de camarón. Av. en Nutr. Acuícola V. Memorias del V Simp. Int. Nutr. Acuícola. 19-22.
- Chan-Vivas, E., 2014. Comparación en aspectos de zootecnia, fisiológicos y textura del músculo del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado en sistema biofloc y sistema tradicional. Tesis de grado, Universidad Nacional Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán (Tesis para optar el grado Licenciado en Biología Marina, Universidad Nacional Autónoma de Yucatán, Mérida, México).
- Chong, V.C., Sasekumar, A., 1981. Food and feeding habits of the white prawn *Penaeus merguensis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 5, 185–191.
- CONAPESCA, 2011. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca.
- Coplen, T.B., Brand, W.A., Gehre, M., Gröning, M., Meijer, H.A.J., Toman, B., Verkouteren, R.M., 2006a. After two decades a second anchor for the VPDB $\delta^{13}\text{C}$ scale. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20, 3165–3166.
- Coplen, T.B., Brand, W.A., Gehre, M., Gröning, M., Meijer, H.A.J., Toman, B., Verkouteren, R.M., 2006b. New guidelines for $\delta^{13}\text{C}$ measurements. *Anal. Chem.* 78, 2439–2441.
- Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2012. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture* 356-357, 351–356.

- Cruz-Suárez, L., Ricque-Marie, D., Mendoza-Alfaro, R., 1996. Digestión en camarón y su relación con formulación y fabricación de alimentos balanceados. Av. en Nutr. Acuícola III. Memorias del Terc. Simp. Int. Nutr. Acuícola. 207–232.
- Cuzon, G., Lawrence, A., Gaxiola, G., Rosas, C., Guillaume, J., 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture* 235, 513–551.
- De Alcantara Lopes, D.L., Junior, W.W., Ballester, E.C., Peixoto, S.R.M., 2009. Análise comparativa da criação dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Farfantepenaeus paulensis* criados em gaiolas em ambiente estuarino. *Ciência Rural* 39, 1540–1546.
- De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W., 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture* 277, 125–137.
- De Souza, D.M., Suita, S.M., Leite, F.P.L., Romano, L.A., Wasielesky, W., Ballester, E.L.C., 2012. The use of probiotics during the nursery rearing of the pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) in a zero exchange system. *Aquac. Res.* 43, 1828–1837.
- De Souza, D.M., Suita, S.M., Romano, L.A., Wasielesky, W., Ballester, E.L.C., 2014. Use of molasses as a carbon source during the nursery rearing of *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) in a biofloc technology system. *Aquac. Res.* 45, 270–277.
- Ekasari, J., Angela, D., Waluyo, S.H., Bachtiar, T., Surawidjaja, E.H., Bossier, P., De Schryver, P., 2014. The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. *Aquaculture* 426–427, 105–111.
- Emerenciano, M., Ballester, E.C., Cavalli, R., Wasielesky, W., 2011. Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. *Aquac. Int.* 19, 891–901.
- Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O., Wasielesky, W., 2012. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquac. Res.* 43, 447–457.
- Emerenciano, M., Cuzon, G., Paredes, A., Gaxiola, G., 2013a. Evaluation of biofloc technology in pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* culture: growth performance, water quality, microorganisms profile and proximate analysis of biofloc. *Aquac. Int.* 21, 1381–1394.

- Emerenciano, M., Gaxiola, G., Cuzon, G., 2013b. Biofloc technology (BFT): A review for aquaculture application and animal food industry, En: Biomass Now - Cultivation and Utilization. pp. 301–328.
- Emerenciano, M.G.C., Wasielesky, W., Soares, R.B., Ballester, E.C., Cavalli, R.O., Izeppi, E.M., 2007. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico. Acta Sci. Biol. Sci. 29, 1–7.
- Ezquerria-Brauer, J.M., Salazar Leyva, J.A., Bringas Alvarado, L., Rouzaud Sandez, O., 2003. Effect of dietary protein on muscle collagen, collagenase and shear force of farmed white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Eur. Food Res. Technol. 217, 277–280.
- Farfante, I.P., 1969. Western Atlantic shrimps of the genus *Penaeus*. US Fish and Wildlife Service.
- Fry, B., 2006. Isotope Notation and Measurement, En: Stable Isotope Ecology. pp. 21–37.
- Galindo, I., Fraga, M. de A., González, R., Forrellat, A., 2001. Evaluación de diferentes niveles de proteína en el crecimiento de juveniles de camarón rosado *Penaeus notialis*. Rev. Investig. Mar. 1, 39–49.
- Gamboa-Delgado, J., Le Vay, L., 2009. Natural stable isotopes as indicators of the relative contribution of soy protein and fish meal to tissue growth in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed compound diets. Aquaculture 291, 115–123.
- Gamboa-delgado, J., Molina-Poveda, C., Cahu, C., 2003. Digestive enzyme activity and food ingesta in juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) as a function of body weight. Aquac. Res. 34, 1403–1411.
- Gaxiola, G., Cuzon, G., García, T., Taboada, G., Brito, R., Chimal, M.E., Paredes, A., Soto, L., Rosas, C., van Wormhoudt, A., 2005. Factorial effects of salinity, dietary carbohydrate and moult cycle on digestive carbohydrases and hexokinases in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol. 140, 29–39.
- Gaxiola, G., Gallardo, P., Simões, N., Cuzon, G., 2010. A red shrimp, *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817), larvae feeding regime based on live food. J. World Aquac. Soc. 41, 402–410.
- Geiger, R., Fritz, H., 1984. Trypsin. Methods Enzym. Anal. 5, 119–129.

- Guzmán, E., Maldonado, J.C., Gaxiola, G.M., Cuzon, G., 2007. Efecto de alimentos ricos en proteína de origen vegetal en el balance bioenergético de juveniles de *Litopenaeus vannamei*. Congr. Bien. Amena.
- Hargreaves, J.A., 2013. Biofloc Production Systems for Aquaculture. SRAC. 4503, 1–12.
- Higgins, R.P., Thiel, H., 1988. Introduction to the study of meiofauna. Washington, D.C.
- Hyslop, E.J., 1980. Stomach contents analysis—a review of methods and their application. J. Fish Biol. 17, 411–429.
- Jones, D.A., Kumlu, M., Le Vay, L., Fletcher, D.J., 1997. The digestive physiology of herbivorous, omnivorous and carnivorous crustacean larvae: a review. Aquaculture. 155, 285–295.
- Jory, D., Cabrera, T., Dugger, D., Fegan, D., Berger, C., Orrantia, J., Wainberg, A., Perez, H., Castaoda, J., McIntosh, R., 2001. A global review of shrimp feed management: status and perspectives. Aquaculture 2001: Book of Abstracts. 318, 2001.
- Le Moullac, G., Klein, B., Sellos, D., Van Wormhoudt, A., 1997. Adaptation of trypsin, chymotrypsin and α -amylase to casein level and protein source in *Penaeus vannamei* (Crustacea Decapoda). J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 208, 107–125.
- Le Moullac, G., Van Wormhoudt, A., AQUACOP., 1994. Adaptation of digestive enzymes to dietary protein, carbohydrate and fibre levels and influence of protein and carbohydrate quality in *Penaeus vannamei* larvae (Crustacea, Decapoda). Aquat. Living Resour. 7, 203–210.
- Liao, C., Her, B., Lee, D., 1986. Preliminary study on the protein requirement of *Penaeus brasiliensis*. Res. Dev. Aq. An. Feed Taiwan, 1, 59-68.
- Lopes, D.L. de A., Wasielesky Junior, W., Ballester, E.C., Peixoto, S.R.M., 2009. Análise comparativa da criação dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *FarfantePenaeus paulensis* criados em gaiolas em ambiente estuarino. Ciência Rural. 39, 1540–1546.
- Martinez-Cordova, L.R., Campaña Torres, A., Porchas-Cornejo, M.A., 2003. Dietary protein level and natural food management in the culture of blue (*Litopenaeus stylirostris*) and white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in microcosms. Aquac. Nutr. 9, 155–160.
- Martinez-Cordova, L.R., Campaña-Torres, A., Porchas-Cornejo, M.A., 2002. Promotion and contribution of biota in low water exchange ponds farming blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson). Aquac. Res. 33, 27–32.

- Martínez-Córdova, L.R., Peña-Messina, E., 2005. Biotic communities and feeding habits of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) and *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson 1974) in monoculture and polyculture semi-intensive ponds. *Aquac. Res.* 36, 1075–1084.
- Masson, M., 1977. Observations sur la nutrition des larves de *Mytilus galloprovincialis* avec des aliments inertes. *Mar. Biol.* 40, 157–164.
- May-Kú, M.A., Ordóñez-López, U., 2006. Spatial patterns of density and size structure of penaeid shrimps *Farfantepenaeus brasiliensis* and *Farfantepenaeus notialis* in a hypersaline lagoon in the Yucatán Peninsula, Mexico. *Bull. Mar. Sci.* 79, 259–271.
- McTigue, T.A., Zimmerman, R.J., 1991. Carnivory vs. herbivory in juvenile *Penaeus setiferus* (Linnaeus) and *Penaeus aztecus* (Ives). *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 151, 1–16.
- Molina, C., Cadena, E., Orellana, F., 2000. Alimentación de camarones en relación a la actividad enzimática como una respuesta natural al ritmo circadiano y ciclo de muda. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/8784>.
- Molina-Poveda, C., Escobar, V., Gamboa-Delgado, J., Cadena, E., Orellana, F., Piña, P., 2002. Estrategia de alimentación de acuerdo a la demanda fisiológica del juvenil *Litopenaeus vannamei* (Boone). Av. en Nutr. Acuícola 6, 98–113.
- Moss, S.M., 2002. Dietary importance of microbes and detritus in penaeid shrimp aquaculture. En: Lee, C.-S., O'Bryen, P. (Eds.), *Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within J.M. Ebeling et al./Aquaculture 257 (2006) 346–358 Environmentally Sound Aquaculture Production Systems*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.
- Moss, S.M., Divakaran, S., Kim, B.G., 2001. Stimulating effects of pond water on digestive enzyme activity in the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquac. Res.* 32, 125–131.
- Nunes, A.J.P., Gesteira, T.C. V, Goddard, S., 1997. Food ingestion and assimilation by the southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. *Aquaculture*. 149, 121–136.
- Olsen, R. L., & Hasan, M. R. (2012). A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends Food Sci.* 27, 120-128.
- Páez-Osuna, F., 2005. Retos y perspectivas de la camaronicultura en la zona costera. *Rev. Latinoam. Recur. Nat.* 1, 21–31.

- Pandey, B.N., Deshpande, S., Pandey, P.N., 2007. Aquaculture. APH Publishing Corporation.
- Pascual, C., Sánchez, A., Rosas, C., 2003. Manual de métodos para la evaluación de componentes sanguíneos de camarones peneidos. Fac. Ciencias UNAM. Ciudad Del Carmen, México.
- Phillips, D., Gregg, J., 2003. Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia* 136, 261–269.
- Post, D.M., 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology*. 83, 703–718.
- Primavera, J.H., 1997. Socio-economic impacts of shrimp culture. *Aquac. Res.* 28, 815–827.
- Provasoli, L., 1971. Nutritional relationships in marine organisms. Gordon Breach Sci. Publ., New York (USA).
- Rabasso Krohnert, M.S., 2006. Los impactos ambientales de la acuicultura, causas y efectos. *Vector plus miscelánea científico-cultural*. 89–98.
- Rosas, C., 2003. Bioenergética de camarones peneidos: una forma de comprender los mecanismos fisiológicos involucrados en la nutrición. Av. en Nutr. Acuícola III. Memorias del Terc. Simp. Int. Nutr. Acuícola. 81–98.
- Rosas, C., Bolongaro-Crevenna, A., Sanchez, A., Gaxiola, G., Soto, L., Escobar, E., 1995. Role of digestive gland in the energetic metabolism of *Penaeus setiferus*. *Biol. Bull.* 189, 168–174.
- Rosas, C., Carrillo, O., Wilson, R., Andreatta, E., 2006. Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en Iberoamérica. México, DF: Cytel.
- Rosenstock, B., Simon, M., 2001. Sources and sinks of dissolved free amino acids and protein in a large and deep mesotrophic lake. *Limnol. Oceanogr.* 46, 644–654.
- Rosell Vázquez, A., González Hernández, X., Torno Abreu, J.J. del, Galván García, M., 1982. Manual de técnicas de muestreo y análisis de plancton y perifiton. En: Manual de técnicas de muestreo y análisis de plancton y perifiton. SIE.
- SAGARPA, 2002. Propuesta de los periodos de veda para la pesca de camarón en el Golfo de México y Mar Caribe.

- Samocha, T.M., Patnaik, S., Gandy, R.L., 2004. Heterotrophic intensification of pond shrimp production, En: Book of Abstract of Fifth International Conference on Recirculating Aquaculture. 22–25.
- Schwamborn, R., Criales, M.M., 2000. Feeding strategy and daily ration of juvenile pink shrimp (*Farfantepenaeus duorarum*) in a South Florida seagrass bed. *Mar. Biol.* 137, 139–147.
- Shiau, S. Y. 1998. Nutrient requirements of penaeid shrimps. *Aquaculture.* 164, 77-93.
- Stephens, G.C., 1968. Dissolved organic matter as a potential source of nutrition for marine organisms. *Am. Zool.* 8, 95–106.
- Sun, Z., Gao, Q., Dong, S., Shin, P.S., Wang, F., 2013. Seasonal changes in food uptake by the sea cucumber *Apostichopus japonicus* in a farm pond: Evidence from C and N stable isotopes. *J. Ocean Univ. China* 12, 160–168.
- Tacon, A.G.J., Metian, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture.* 285, 146–158.
- Tan, B., Mai, K., Zheng, S., Zhou, Q., Liu, L., Yu, Y., 2005. Replacement of fish meal by meat and bone meal in practical diets for the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquac. Res.* 36, 439–444.
- Taw, N., 2010. Biofloc technology expanding at white shrimp farms. *Glob. Aquac. advocate.*
- Tuyub Tzuc, M.J., 2014. Flora bacteriana funcional en el tracto digestivo del camarón blanco *L. vannamei*. Un estudio enfocado a su participación en la digestión. Tesis de grado, Univ. Nacional Aut. de México, Sisal, Yucatán, México (Tesis para optar por el grado de Maest. En Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.).
- Valenzuela-Jiménez, M.A., 2009. Condição fisiológica e imunológica do Camargo-rosa do Golfo do México *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad, 1939) cultivado em Sistema BFT (Bio-Floc Technology). Tesis de grado, Universidad Federal de Rio Grande, RS-Brasil Dezembro (Tesis para optar por el grado de Máster en Acuic., Universidad Federal de Rio Grande, RS-Brasil Dezembro).
- Van Wormhoudt, A., Bourreau, G., Le Moullac, G., 1995. Amylase polymorphism in crustacea decapoda: electrophoretic and immunological studies. *Biochem. Syst. Ecol.* 23, 139–149.

- Van Wormhoudt, A., Sellos, D., 1996. Cloning and sequencing analysis of three amylase cDNAs in the shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea decapoda): evolutionary aspects. *J. Mol. Evol.* 42, 543–551.
- Velasco, M., Lawrence, A.L., Castille, F.L., Obaldo, L.G., 2000. Dietary protein requirement for *Litopenaeus vannamei*. Av. en Nutr. Acuícola V. Memorias del V Simp. Int. Nutr. Acuícola. 181–192.
- Viau, V.E., de Souza, D.M., Rodríguez, E.M., Wasielesky, W., Abreu, P.C., Ballester, E.L.C., 2013. Biofilm feeding by postlarvae of the pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Decapoda, Penaidae). *Aquac. Res.* 44, 783–794.
- Vinatea, A.L., 2002. Principios químicos de calidad del agua en acuicultura. Una revisión para peces y camarones. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, México DF, México.
- Wasielesky Jr, W., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L., 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture.* 258, 396–403.
- Xu, W.-J., Pan, L.-Q., 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. *Aquaculture.* 356–357, 147–152.
- Xu, W.-J., Pan, L.-Q., Zhao, D.-H., Huang, J., 2012. Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture.* 350–353, 147–153.
- Su, Y., Ma, S., Tian, X., & Dong, S. (2008). A Study on the contribution of different food sources to shrimp growth in an intensive *Fenneropenaeus chinensis* pond. *Journal of Ocean. Univ. of China* 7, 453-456.
- Zhang, S., Dong, S., Wang, F., 2000. Stable isotopic ($\delta^{13}\text{C}$) evaluation of the relative contribution of natural and artificial feed to *Penaeus chinensis*. *J. Fish. Sci. China.* 8, 54–58.
- Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A.-R., Shakouri, M., 2006. The effect of *Bacillus spp.* bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture.* 252, 516–524.

Zuñiga, S., 2014a. Método de cuantificación de amonio. Técnica para la evaluación en microplaca. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. En prensa.

Zuñiga, S., 2014b. Método de cuantificación de nitrito. Técnica para la evaluación en microplaca. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. En prensa.