



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

**DETERMINACIÓN DEL NIVEL ÓPTIMO DE INCLUSIÓN DE PROTEÍNA EN
POSTLARVAS DE *Farfantepenaeus brasiliensis* (LATREILLE, 1817)
CULTIVADOS EN BIOFLOC Y AGUA CLARA.**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

CRUZ SÁNCHEZ SERGIO DANIEL

TUTORA PRINCIPAL:

DRA. MARTHA GABRIELA GAXIOLA CORTÉS
(FACULTAD DE CIENCIAS UNAM)

COMITÉ TUTORAL:

DR. ROBERTO BRITO PÉREZ
(UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL CARMEN)
DR. MARTÍN FEDERICO SOTO JIMÉNEZ
(INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA-UNAM)
DRA. CRISANTEMA HERNÁNDEZ GONZÁLEZ
(CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ALIMENTO Y DESARROLLO)
DR. JESÚS TRINIDAD PONCE PALAFOX
(ESCUELA NACIONAL DE INGENIERÍA PESQUERA -UAN)

SISAL, YUCATÁN, 2018.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR

Determinación del nivel óptimo de inclusión de proteína
en postlarvas de *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille,
1817) cultivados en biofloc y agua clara.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A:

Biol. Cruz Sánchez Sergio Daniel

**Director de Tesis:
Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés**



**Comité Tutorial:
Dr. Roberto Brito Pérez
Dr. Martín Federico Soto Jiménez
Dra. Crisantema Hernández González
Dr. Jesús Trinidad Ponce Palafox**

El presente trabajo fue realizado en la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la Facultad de Ciencias Campus Sisal, Yucatán. Con apoyo financiero de CONACYT con número de registro 596772, Bajo la supervisión de la Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés.

Agradecimientos:

- Maestro en Ciencias, Miguel Arévalo López por la ayuda y enseñanza en cuanto al manejo de los reproductores y en la obtención de los nauplios de *F. Brasiliensis*.
- Ingeniera, Adriana del Carmen Paredes Medina por la Ayuda y enseñanza en cría larvaria de camarones peneidos.
- Dra. Gabriela Palomino Albarrán por la producción del alimento vivo necesario para alimentar a los organismos del presente estudio.
- Dr. Juan Carlos Maldonado Flores, por la enseñanza en la elaboración de los alimentos balanceados requeridos en el presente estudio, así como por toda la ayuda y consejos dados durante el posgrado.
- M. en C. Karla Susana Escalante Herrera. Por la ayuda en el laboratorio central para realizar las muestras de amonio y nitrito.
- M en C. Rafael Eduardo Pacheco Góngora por la ayuda en la programación y estadística.
- Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés, muchas gracias por todo el apoyo brindado a lo largo de los dos años de maestría, gracias por el tiempo que empleo para transmitirme un poco de su gran conocimiento y sobre todo por mostrarme su gran pasión por los organismos acuáticos y su gran vocación por la docencia.

Dedicatorias:

A mi madre, como siempre eres y serás el motor que impulsa mi vida, mi gran pilar, mi más grande admiración, mi orgullo, gracias por siempre haber estado a mi lado a lo largo de todos mis logros, que por supuesto son tuyos. Gracias

A mi padre por todo el apoyo dado, gracias por estar al pendiente en este ciclo tan importante, en donde por supuesto también es gracias a ti.

A mi hermano que nunca dudo que lo lograría, gracias por el apoyo moral, a mi cuñada Sandra, gracias por estar al pendiente a lo largo de este proceso y sobre todo le dedico este logro a una luz que existe en nuestra familia llamada Amelie, confió en que algún día puedas leer esto, ¡Te amamos!

A mis tíos y mis tías que siempre supieron las palabras correctas para darme un consejo, por apoyarme también y por cuidar a Stark.

A mis hermanos por elección, Xurxo, Martín, Barreto, Esaú, Gabriel. Gracias por llegar a mi vida y gracias por todas las buenas anécdotas que se contaran y se contaran a lo largo de las reuniones que aún nos esperan, hicieron mucho más amena la maestría.

A mis hermanos adoptivos, David Martínez y Nancy Martínez, ustedes siempre han sido una inspiración en mi vida, así como un gran ejemplo. Gracias por ser tan buenos hermanos.

A mis hermanos del Rugby, Psicho, Dida, Roque, Charmin, Cuarex, Marlen, Aurelio, Eugenio, Mich. Gracias por los mensajes, por las risas que a pesar de la distancia la amistad sigue intacta. De verdad muchas gracias por haber llegado a mi vida.

A mis amigos del laboratorio del IMSS, Juanito y Augusto. Gracias por los ánimos y buenas vibras a lo largo de este proceso.

Y, por último, pero no menos importante a todos mis amigos que de un modo u otro fueron parte o han sido parte importante en este logro. Luis Ivan, Lili, Pau, Adriana, Chucho, Ede, Josué, Pedro, Diana, Anna, Robert, Isaac... ¡Gracias!

Índice

Introducción	1
Antecedentes:.....	3
Justificación	9
Preguntas de investigación:	9
Hipótesis:	10
Objetivo General.	10
• Objetivos específicos:.....	10
Material y métodos:.....	11
• Preparación de reproductores:	11
• Maduración y Reproducción	12
• Larvicultura (Origen de las postlarvas).....	13
• Diseño experimental.....	15
• Composición de las dietas experimentales de <i>F. brasiliensis</i>	17
• Alimentación.....	20
• Parámetros zootécnicos: Supervivencia, crecimiento y SGR	21
• Indicadores de la respuesta fisiológica.....	22
Consumo de oxígeno	22
Calorimetría.....	23
Excreción amoniacal	24
Energía destinada a la muda:	25
• Balance bioenergético.....	26
• Determinación de presencia de <i>Vibrio</i>	26
• Análisis estadístico de los resultados	27
Resultados.....	29
• Parámetros fisicoquímicos.....	29
• Parámetros Zootécnicos (producción).....	32
Indicadores de la respuesta fisiológica	37
• Consumo de oxígeno	37
• Excreción de nitrógeno.....	38
• Energía perdida en la muda.	39
• Balance bioenergético.....	40
Composición nutricional del biofloc y análisis de microorganismos asociados.	41
• Presencia de <i>Vibrio</i> spp en el agua experimental.	43

Discusión:.....	44
• Parámetros fisicoquímicos.....	44
• Parámetros de zootécnicos.....	46
• Indicadores fisiológicos:.....	48
• Valor nutricional del biofloc.....	50
• Presencia de <i>Vibrio</i> en el agua experimental.....	52
Conclusiones.....	54
Bibliografía:.....	56

Índice de Tablas

Tabla 1.- Clasificación taxonómica del Camarón Rojo del Caribe <i>F. brasiliensis</i> según Pérez-Farfante (1969).....	2
Tabla 2. Estudios sobre potencial nutricional, temperatura, carbono, nutrición, proteínas, balance energético en un sistema biofloc para cultivo de <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i> y del género <i>Penaeus</i>	4
Tabla 3.- Tipo de alimento, horarios de alimentación y monitoreo de la calidad del agua en tanques con reproductores de <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	11
Tabla 4.- Relación del estadio larvario y el día de cultivo bajo condiciones óptimas para larvas de <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	14
Tabla 5.- Alimentación según los estadios larvarios de <i>F. brasiliensis</i> de acuerdo a Paredes M. A. (2003).....	15
Tabla 6. Composición de la dieta experimental para juveniles de <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	18
Tabla 7a. Parámetros fisicoquímicos de calidad de agua de postlarva 25 de <i>F. brasiliensis</i> durante 50 días de cultivo. Valores Promedio \pm DE.....	29
Tabla 7b. Parámetros fisicoquímicos de calidad de agua de postlarva 25 de <i>F. brasiliensis</i> durante 50 días de cultivo. Valores Promedio \pm DE.....	30
Tabla 8. Resumen estadístico de los parámetros zootécnicos (promedio \pm DE) de <i>F. brasiliensis</i> durante 50 días experimentales.....	35

Índice de Figuras

Figura1.- Distribución espacial de <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i> (FAO, 1980).....	2
Figura2. Ablación de Pedúnculo Ocular de <i>F. Brasiliensis</i>	12

Figura3. Hembra madura de <i>F. brasiliensis</i>	13
Figura4.- Huevos fértiles e infértiles de <i>F. brasiliensis</i>	13
Figura5. Dinámica del amonio durante los 50 días de experimento en el sistema biofloc.....	31
Figura6. Dinámica del Nitrito durante los 50 días de experimento en el sistema Biofloc.....	32
Figura 7. Biomasa final promedio de <i>F. brasiliensis</i> cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.....	34
Figura 8. Biomasa de <i>F. brasiliensis</i> cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.....	34
Figura9. Supervivencia promedio de <i>F. brasiliensis</i> cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.....	36
Figura10. SGR promedio de <i>F. brasiliensis</i> cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.....	36
Figura11. Tasa de eficiencia proteica promedio de <i>F. brasiliensis</i> cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.....	36
Figura12. Consumo de oxígeno basal promedio de <i>F. brasiliensis</i> cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.....	37
Figura13. Incremento de calor aparente (ICA) promedio de <i>F. brasiliensis</i> cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.....	37
Figura14. Excreción amoniaca promedio de <i>F. brasiliensis</i> cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas	

como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar. 38

Figura15. Energía perdida en la muda de *F. brasiliensis* cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar. 39

Figura16. Energía digestible de *F. brasiliensis* cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar. 40

Figura17. 100x..... 41

Figura18. Turbelario 100x. 41

Figura19. Nemátodo 100x..... 41

Figura 20. Protozario 100x..... 41

Figura21. 100x..... 41

Figura22. Protozario100x. 41

Figura23. 100x..... 42

Figura24. copépodo 100x..... 42

Figura 25. Rotífero 100x..... 42

Figura26. copépodo 80x..... 42

Figura27. Ostrácodo 100x..... 42

Figura 28. copépodo 80x..... 42

Figura29. *Vorticella* 100x..... 42

Figura30. Gastrotricos 100x..... 42

Figura 31. Unidades formadoras de colonias (UFC) verdes y amarillas. Promedio \pm D.E..... 43

Introducción

La acuicultura comprende todas las formas de cultivo de organismos acuáticos (animales y plantas) de ambientes dulces, salobres y marinos, esta industria de producción de alimentos es una de las que más crece a nivel mundial (Avnimelech, 2015). Desde 1970 la producción acuícola ha presentado un crecimiento anual promedio del 8.9%, representando un desarrollo superior en comparación al 1.2% de la ganadería y 2.8% de la pesca, este aumento hizo que para el año 2013 la acuicultura superara a las pesquerías en términos de volumen y para el año 2014 la acuicultura proporcionara más alimentos, debido a que la producción mundial de organismos acuáticos cultivados ascendió a 73.8 millones de toneladas (representando un valor estimado de 160 mil millones de dólares), de los cuales 6.9 millones de toneladas corresponden al cultivo de crustáceos. Por ello, el cultivo de organismos acuáticos puede ser una contribución importante para la nutrición en virtud de su gran productividad (FAO, 2011; FAO, 2016).

De acuerdo con la última modificación taxonómica propuesta por Pérez-Farfante y Kensley (1997) las especies utilizadas en el cultivo de camarón pertenecen a la Familia Penaeidae, divididos en seis géneros (*Farfantepenaeus*, *Fenneropenaeus*, *Litopenaeus*, *Marsupenaeus*, *Melicertus* y *Penaeus*) estos géneros agrupan 60 especies, de las cuales 50 son utilizadas en cultivos de acuicultura en diferentes partes del mundo. En el continente de América se han observado la presencia de dos géneros *Farfantepenaeus* y *Litopenaeus* (Arredondo-Figueroa, 2002). En cuanto a México, el cultivo de camarón ha despertado gran interés debido a que puede contribuir con la economía y nutrición del país, por esta razón es necesario antes de pensar en la introducción de especies exóticas, determinar la factibilidad del cultivo de especies endémicas bien adaptadas a las características de cada región como en el caso de *Farfantepenaeus brasiliensis* para la zona del caribe mexicano (Araneda y Ortiz, 1999).

F. brasiliensis es una especie que pertenece al género *Farfantepenaeus* (Tabla 1). Presenta una distribución desde la costa del Atlántico en Carolina del Norte Estados Unidos, hasta Rio Grande do Sul al sur de Brasil (Gaxiola *et al.*, 2010; Souza *et al.*, 2013; Hostins *et al.*, 2015) (Fig. 1). El hábitat de esta especie va de los 3 a los 365 metros de profundidad, siendo más abundante en el intervalo de 45 a 65 metros. Los juveniles se encuentran en estuarios y los adultos son meramente marinos las hembras alcanzan una longitud total de 191 mm y los machos de 150 mm (FAO, 1980).

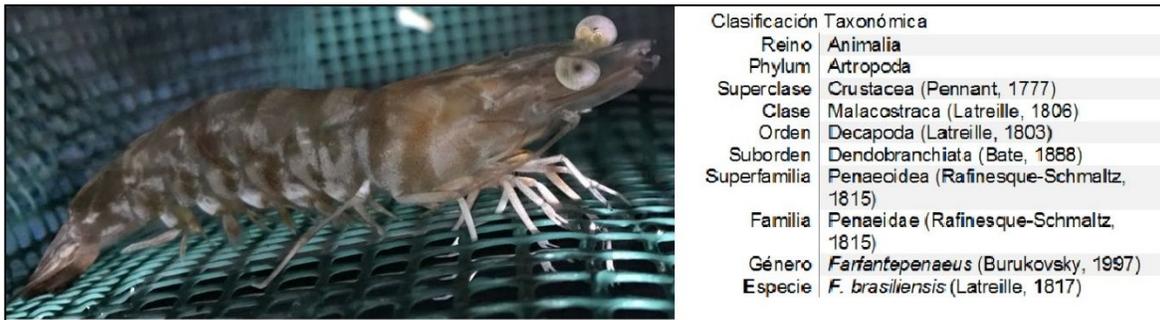


Tabla1.- Clasificación taxonómica del Camarón Rojo del Caribe *F. brasiliensis* según Pérez-Farfante (1969).



Figura 1.- Distribución espacial de *Farfantepenaeus brasiliensis* (FAO, 1980).

Se ha demostrado que los camarones peneidos son omnívoros, y que algunas especies presentan tendencias hacia la carnivoría o a la herbivoría (Mc

Tigue y Zimmerman, 1991), pero en general las especies del género *Farfantepenaeus* (*Farfantepenaeus duorumun*, *F. aztecus*, *F. brasiliensis*) presentan hábitos omnívoro-carnívoros, estas tendencias están asociadas con diferentes proporciones de materia de origen animal o vegetal en la dieta, evidenciando distintos requerimientos nutricionales. Rosas *et al.* (1995) mencionan que estas diferencias están relacionadas con la capacidad de las especies de utilizar en diferentes proporciones a las proteínas como sustrato metabólico, siendo las proteínas el principal componente de las dietas comúnmente suministradas en los cultivos de camarones y por su importancia han sido estudiadas, tanto para los juveniles, como para las postlarvas de los camarones peneidos (García *et al.*, 1998). Tal es el caso de la presente tesis.

Antecedentes:

Con casi siete mil millones de personas en la Tierra la demanda de alimentos de origen acuático continúa aumentando, por lo tanto, la expansión e intensificación de la producción acuícola es muy necesaria. El objetivo principal de la expansión acuícola actual debe ser producir una mayor biomasa, sin aumentar significativamente el uso de recursos naturales básicos como el agua (Avnimelech, 2009). El segundo objetivo es el desarrollo de sistemas de acuicultura sostenibles que no dañen el medio ambiente (Naylor *et al.*, 2000). El tercer objetivo es construir sistemas que proporcionan una relación costo / beneficio equitativo para apoyar la sostenibilidad económica y social (Avnimelech, 2009). Estos tres requisitos previos para el desarrollo sostenible de la acuicultura pueden ser satisfechos por la tecnología biofloc.

La tecnología biofloc (conocido como BFT por sus siglas en inglés) es una alternativa emergente hacia la creación de sistemas de producción acuícola amigables con el medio ambiente. Esta tecnología fue desarrollada para crear beneficios económico-ambientales a través de la reducción del suministro de

alimento artificial y mejorar la bioseguridad (Emerenciano *et al.*, 2012). El biofloc es una forma de producción súper-intensiva que se desarrolla dinámicamente en la actualidad pues es capaz de enfrentar retos propios de la actividad, como el aumento de la biomasa por volumen de agua y la utilización cada vez más reducida de agua (Arias-Castellanos *et al.*, 2015).

El biofloc consiste en el desarrollo de flóculos microbianos formados a partir de una alta relación carbono:nitrógeno, con poco o nulo recambio de agua utilizando una alta oxigenación, este sistema se complementa con dietas de bajo contenido de proteína cruda o fuentes de carbono externo tales como melaza, salvado de arroz, salvado de trigo, entre otros, permitiendo el crecimiento de una comunidad microbiana, sobre todo de bacterias heterótrofas, que metabolizan los carbohidratos y toman nitrógeno inorgánico (principalmente NH_4^+), reduciendo sus niveles y mejorando la calidad de agua (Monroy-Dosta *et al.*, 2013). Esta tecnología no sólo es un enfoque adecuado para mantener la calidad del agua en el sistema de acuicultura, sino que también genera biomasa *in situ* que puede contribuir como fuente de proteína para los organismos cultivados (Avnimelech, 2009; Crab *et al.*, 2010). Por lo tanto, el uso de biofloc como fuente de alimento puede implicar una disminución en el requerimiento de proteína (Xu *et al.*, 2012).

En cuanto a estudios relacionados con el presente trabajo se encuentran resumidos en la Tabla 2.

Tabla 2. Estudios sobre potencial nutricional, temperatura, carbono, nutrición, proteínas, balance energético en un sistema biofloc para cultivo de *Farfantepenaeus brasiliensis* y del género *Penaeus*

Autor	Estudio	Resultado
		Evaluaron tres tratamientos de cultivo (biofloc, biofloc+ alimento comercial y un sistema con agua clara + alimento comercial) por 30 días

Emerenciano <i>et al.</i> (2012)	Potencial nutricional del biofloc sobre cultivos de <i>F. brasiliensis</i> ,	para determinar el potencial del biofloc como una fuente de alimento para postlarvas de <i>F. brasiliensis</i> . Los resultados indicaron que el peso final y la biomasa fueron mejores en los tratamientos con biofloc en comparación con agua clara. Los autores mencionan que el análisis de proteína presente en el biofloc es de un 30.4 % asociada a los organismos presentes en el sistema, creando una fuente de alimento natural y continua, contribuyendo a un mejor desarrollo de los camarones.
Hostins <i>et al.</i> (2015)	Temperaturas en la fase de vivero y el crecimiento compensatorio de <i>F. brasiliensis</i> criados en biofloc.	Se reporta que a 27° C se presentaron mejores resultados de crecimiento, incluyendo una mayor productividad, el crecimiento más rápido y una mayor supervivencia. Sin embargo, en la fase de vivero, el cultivo de <i>F. brasiliensis</i> también puede llevarse a cabo a temperaturas más bajas, lo que garantizaría una alta supervivencia al final de esta fase y una mejor compensación en el crecimiento cuando se aumenta la temperatura.
De Souza <i>et al.</i> (2014)	Carbono necesario para el cultivo de <i>F.</i>	Evaluaron el uso de la melaza como fuente de carbono durante la etapa de vivero de <i>F. brasiliensis</i> en un sistema biofloc durante 30 días, realizaron un análisis bacteriológico y un análisis inmunológico para determinar el estado de salud de los organismos en dos tratamientos (melaza y sin melaza).

	<i>brasiliensis</i> en biofloc	Demostrando que la melaza puede ser utilizada como una herramienta para evitar los aumentos de nitrógeno amoniacal total (NAT) y las concentraciones de nitrito, por otro lado el tratamiento con melaza presentó concentraciones más bajas de <i>Vibrio</i> spp. En cuanto al análisis inmunológico, no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos.
Xu <i>et al.</i> (2012)	Contribución del biofloc con el requerimiento nutricional en camarones peneidos	Investigaron los efectos del biofloc sobre las actividades de las proteinasas en la glándula digestiva, la utilización del alimento, la retención de las proteínas y el crecimiento en <i>Litopenaeus vannamei</i> evaluando diferentes niveles de inclusión de proteína en la dieta y la reducción del nivel de proteínas. Confirmaron que este sistema contribuye en la nutrición de <i>L. vannamei</i> pudiendo desempeñar un papel importante en la provisión <i>in situ</i> de alimento suplementario, ayudando a mejorar la utilización del alimento suministrado, la digestión y la asimilación de proteínas contribuyendo a un mejor rendimiento del cultivo y reflejándose en un mayor crecimiento.
	Efectos de la variación en los	La hemolinfa, el colesterol total y el nivel de triglicéridos incrementan su nivel conforme aumenta la cantidad de proteínas

<p>Yun <i>et al.</i> (2015)</p>	<p>niveles de proteína en las dietas de crecimiento de <i>L. vannamei</i> en un sistema con biofloc</p>	<p>suministradas en la dieta, con base a esto se propone que se presenta una mejor condición fisiológica en el camarón blanco utilizando una inclusión de proteína del 30% en un sistema con biofloc. Mencionan que hay una contribución positiva en el requerimiento de proteína utilizando biofloc, ayudando a bajar la cantidad de proteínas en las dietas, lo que haría más rentable el cultivo de organismos acuáticos y a su vez sería más amigable con el medio ambiente.</p>
<p>Toledo <i>et al.</i> (2016)</p>	<p>Eficiencia de diferentes niveles de lípidos en la dieta y el equilibrio de ácidos grasos en la composición nutricional del biofloc.</p>	<p>Determinaron que el biofloc es una fuente de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga importantes en la síntesis celular, representando un buen estado inmunológico y recomiendan utilizar lípidos en las dietas de 85 g Kg⁻¹ – 95g Kg⁻¹ lo que proporcionará mejores tasas de supervivencia</p>
<p>Maldonado <i>et al.</i> (2009)</p>	<p>balance energético</p>	<p>Evaluaron la energía derivada del proceso digestivo y la energía asimilada para el crecimiento (distribución de la energía), demostraron que en juveniles de <i>L. vannamei</i> se presenta una mejor adaptación a una dieta rica en carbohidratos basada en fuentes de proteínas vegetales, aunque la distribución de energía no difirió de una dieta vegetal y una animal, estos resultados son útiles para</p>

estimar los requerimientos diarios necesarios y con ello saber qué cantidad de alimento se necesita en el cultivo de camarón para optimizar los costes de producción.

Aunque para *F. brasiliensis* se han evaluado algunos parámetros con el fin de conocer más sobre la biología y los requerimientos alimenticios, trabajos como el de Gaxiola *et al.* (2010), quienes determinaron el régimen óptimo en la alimentación para larvas evaluando el impacto de diferentes concentraciones de alimento vivo y el de Brito *et al.* (2000) que evaluaron el efecto de la salinidad en la supervivencia, el crecimiento y la capacidad osmótica de juveniles de *F. brasiliensis*; aún se sigue sabiendo poco sobre los aspectos biológicos y fisiológicos, siendo prácticamente desconocidos (Brito *et al.*, 2000). Por lo que existe la necesidad de hacer nuevas investigaciones que contribuyan a mejorar el proceso de desarrollo para el cultivo de esta especie de importancia comercial, ya que *F. brasiliensis* ha sido reconocida como un excelente candidato para la acuicultura, debido a que las poblaciones permanecen abundantes en el medio natural, la rutas de crecimiento en condiciones de cultivo son relativamente buenas y los adultos llegan a tener un mayor tamaño en comparación con otras especies de camarones peneidos (Gaxiola *et al.*, 2010).

Justificación

En su principal área de distribución *Farfantepenaeus brasiliensis* es una especie de importancia comercial para la pesca artesanal e industrial siendo la principal especie de camarones capturados en las costas de Brasil. En México la captura se sitúa alrededor de la península de Yucatán, hasta la isla Contoy, (representando una especie de importancia económica). Esta especie se ha cultivado en diferentes condiciones en la costa de Brasil. Sin embargo, el requerimiento de proteína dietética en un cultivo con biofloc para postlarvas de camarón rojo del Caribe *F. brasiliensis* no ha sido reportado, lo cual podría contribuir al proceso de desarrollo de biotecnología para el cultivo de esta especie de importancia comercial.

Preguntas de investigación:

¿Habrá diferencia en el nivel óptimo de inclusión de proteína para postlarvas de *Farfantepenaeus brasiliensis* cultivados en sistema biofloc versus los cultivados en agua clara?

¿Se presentará alguna diferencia en los pesos finales en de las postlarvas de *F. brasiliensis* cultivados en sistema biofloc y los cultivados en agua clara?

¿Cuál es el aporte nutricional de biofloc para postlarvas de *F. brasiliensis*?

Hipótesis:

El biofloc puede contener altos niveles de proteína cruda, ácidos grasos esenciales y aminoácidos ayudando a mejorar el crecimiento de los organismos, por lo que se espera que postlarvas de *F. brasiliensis* cultivadas en un sistema de agua clara con una alta dosis de proteína presente la misma tasa de crecimiento, biomasa y supervivencia a la de aquellos cultivados bajo un sistema de biofloc con una mínima inclusión de proteína.

Objetivo General.

Determinar el nivel óptimo de inclusión de proteína dietética en postlarvas de *F. brasiliensis* cultivadas en biofloc y en agua clara.

Objetivos específicos:

1. Evaluar el efecto de proteína dietética sobre el crecimiento y la supervivencia en postlarvas de *F. brasiliensis* cultivados en un sistema biofloc *versus* agua clara.
2. Evaluar el efecto de la proteína dietética sobre el balance energético en postlarvas de *F. brasiliensis* cultivados en un sistema biofloc *versus* agua clara
3. Evaluar el aporte nutricional del biofloc para postlarvas de *F. brasiliensis*.

Material y métodos:

Preparación de reproductores:

Los reproductores de *F. brasiliensis* que se utilizaron para la obtención de postlarvas son generación F2, la generación F1 fue capturada de medio natural en la isla de Contoy. Estos reproductores se mantuvieron en estanques de 20 toneladas con agua clara por 30 días en donde se separaron por tallas, la alimentación se basó en calamar fresco y pellet semi-húmedo el cual es una mezcla de: harina de clamar (250 g), harina de krill (250 g) y alimento balanceado de la marca Api camarón de Malta Clayton® con 35% proteína (4500 g); monitoreando los parámetros fisicoquímicos del agua (Tabla 3). Al alcanzar la talla de 20 gramos promedio los organismos fueron transferidos al área de reproducción en donde se continuo con la preparación de los organismos para su reproducción.

Tabla 3.- Tipo de alimento, horarios de alimentación y monitoreo de la calidad del agua en tanques con reproductores de *Farfantepenaeus brasiliensis*.

ALIMENTO	HORARIO DE ALIMENTO Y MONITOREO DE: (OXIGENO, TEMPERATURA Y PH)
<ul style="list-style-type: none">• PELLET SEMI-HÚMEDO:	<ul style="list-style-type: none">• 20:00 pm• 4:00 am• 12:00 pm• 14:00 pm
<ul style="list-style-type: none">• CALAMAR FRESCO	<ul style="list-style-type: none">• 12:00 am

Maduración y Reproducción

La maduración gonadal de los reproductores se llevó a cabo dentro del invernadero de Reproducción UMDI-Sisal, en un estanque de 12 toneladas con un fotoperiodo de 12 horas luz 12 horas oscuridad, teniendo en cuenta una proporción machos - hembras de 1:1. Con un multiparametro de la marca Hach ® (modelo HQ40d) se monitorearon dos veces al día 8:00 y 20:00 los parámetros fisicoquímicos del agua (Oxígeno, pH, Temperatura) con el fin de mantener las mejores condiciones para minimizar el estrés por manipulación. La alimentación consistió en el 20% de la biomasa (mejillón 8:00 hrs., calamar 14:00 hrs, ostión 20:00 hrs, pellet semi – húmedo 24:00 hrs).

Para acelerar el desarrollo gonadal se realizó la ablación del pedúnculo ocular en la segunda semana posterior a su introducción al área de maduración ya que en la base de este órgano se encuentra el órgano X-glándula del seno que excreta la hormona que inhibe el desarrollo de la gónada (figura 2).



Figura 2. Ablación de Pedúnculo Ocular de *F. Brasiliensis*

Dos semanas posteriores a la ablación, se llevó a cabo una revisión gonadal a contra luz para seleccionar las hembras con mejor desarrollo gonadal (figura 3). Estas hembras fueron transferidas al área de desove y eclosión, a estanques individuales con capacidad de 90 litros con una aireación mínima y temperatura de 27°C. Al término del desove las hembras se regresaron al área de

maduración. Finalmente se realizó una identificación de los huevos para saber el porcentaje de fertilización (figura 4) y los nauplios obtenidos se transfirieron al área de larvicultura.



Figura 3. Hembra madura de *F. brasiliensis*

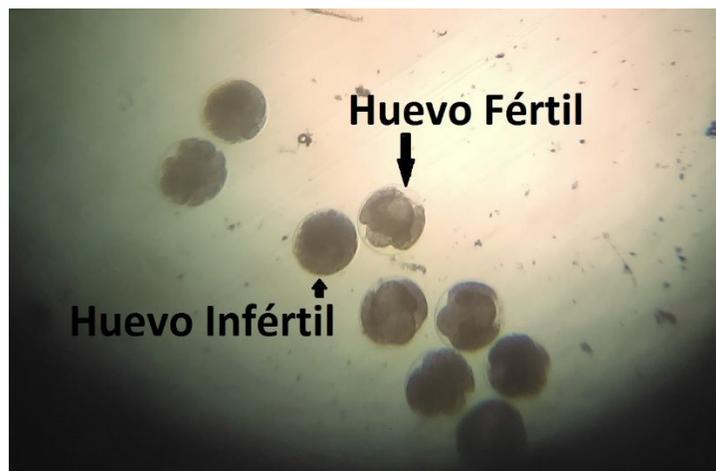


Figura 4.- Huevos fértiles e infértiles de *F. brasiliensis*

Larvicultura (Origen de las postlarvas)

En los camarones peneidos después de la eclosión del huevo, las larvas presentan tres estadios sucesivos de desarrollo conocidos como nauplio, zoea y mysis, caracterizados por importantes cambios morfológicos y fisiológicos, en condiciones óptimas la duración del ciclo larvario en laboratorio es de 12 días. Cada estadio se divide en algunos subestadios (Tabla 4).

Tabla 4.- Relación del estadio larvario y el día de cultivo bajo condiciones óptimas para larvas de *Farfantepenaeus brasiliensis*.

ESTADIO	DÍA DE CULTIVO
NAUPLIO V-VI	1
ZOEA I	2
ZOEA II	3
ZOEA III	4-5
MYSIS I	6-7
MYSIS II	8
MYSIS III	9
POSTLARVA I	10-11

El agua de mar que se utilizó para realizar la cría larvaria fue bombeada con una bomba de 2 HP de reservorios de agua con una capacidad de 10,000 litros, esta agua pasa por filtros de arena, filtros biológicos donde finalmente se agrega EDTA, lo que ayuda a mejorar la calidad del agua utilizada. Los nauplios transferidos del área de reproducción se sembraron en tanques de 400 litros, estos tanques tuvieron un volumen inicial de 200 litros que conforme fueron pasando los días de cultivo se llenaron de agua hasta alcanzar un volumen de 400 litros; esto para reducir los niveles de amonio del agua. La densidad de siembra fue de 100 nauplios por litro, la alimentación consistió en diatomeas (*Chaetoceros ceratosporum* 24.4% de proteína), flagelados (*Tetraselmis chuii* 49.8 % de proteína), artemia (*Artemia franciscana* alimento rico en ácidos grasos con 55% de proteína) y rotíferos (*Brachionus plicatilis*) (Tabla 5). Cuando los animales llegaron a Postlarva 20 se transfirieron al área experimental.

Tabla 5.- Alimentación según los estadios larvarios de *F. brasiliensis* de acuerdo a Paredes M. A. (2003).

Estadio/ Alimento	Nauplio	Protozoa	Protozoa	Protozoa	Mysis	Mysis	Mysis	PL	PL
	III-IV	I	II	III	I	II	III	I	II
<i>Chaetoceros ceratosporum</i>	80,000 cel/ml								
<i>Tetraselmis chunii</i>	2,000 Cel/ml								
<i>Artemia franciscana</i>	-	-	-	4 org/ml	4 org/ml	4 org/ml	4 org/ml	4 org/ml	4 org/ml
<i>Brachionus plicatilis</i>	-	-	-	8 org/ml	8 org/ml	8 org/ml	8 org/ml	8 org/ml	8 org/ml

Diseño experimental

El diseño experimental fue bifactorial de 2 X 5 (dos niveles para el factor sistema de cultivo y cinco para el factor proteína) realizando tres repeticiones por cada tratamiento. Las postlarvas fueron colocadas en los dos tratamientos simultáneamente, Biofloc/agua clara, midiendo las variables: salinidad, temperatura y oxígeno disuelto. El agua evaporada se repuso con el fin de mantener el mismo volumen de agua durante todo el experimento el cual tuvo una duración de 50 días en condiciones controladas.

Los pasos a seguir para generar el biofloc de acuerdo a Avnimelech (2015) modificado por Celdrán (2016) para estanques de 0.091 m³ con una densidad inicial de siembra de 30 camarones consistieron en:

- Día 1: 1.23g de NaNO₂, 0,067g fosfato triple, 2.022g de pellet pulverizado (Api camarón Malta Clayton® 35% proteína)
- Día 4: 2.022 g de pellet pulverizado (Api camarón Malta Clayton® 35% proteína)
- Día 6: 2.022 g de pellet pulverizado (Api camarón Malta Clayton® 35% proteína)

- Día 8: 3.37 g de pellet pulverizado (Api camarón Malta Clayton® 35% proteína) y 0.63g de harina de Trigo
- Día 10: 3.37 g de pellet pulverizado (Api camarón Malta Clayton® 35% proteína)
- Día 12: 3.37 g de salvado de Trigo pulverizado.

Nota: A partir del doceavo día hasta que se colocan los camarones en el sistema experimental se añadió pellets y harina como si estuvieras alimentando 30 camarones de un gramo, así se logró mantener y continuar con la formación de biofloc.

De acuerdo con Avnimelech (2015), en el agua clara de mar, se presentará un "blom algal", posteriormente aparecerá una gran cantidad de espuma en la superficie de los estanques (debido a la acumulación de materia orgánica disuelta en el estanque) por último, habrá un cambio de color del agua en donde desaparecerá la espuma generándose flóculos de masa bacterianas, detritos orgánicos y coloides. Esta transición heterotrófica duró 5 semanas.

Como el biofloc se basa en la asimilación de las especies de nitrógeno inorgánico, por una comunidad microbiana presente en el agua (Avnimelech, 2007); Azim *et al.* (2008) menciona que puede haber un control en el medio de cultivo mediante el ajuste de una alta relación C: N, dicho ajuste se puede lograr con una fertilización orgánica, la cual consiste en la adición periódica de una fuente de carbono y nitrógeno que servirán como sustrato para un crecimiento microbiano benéfico y paralelamente haya un mantenimiento en la calidad del agua en el cultivo, el ingrediente seleccionado como fuente de carbono fue melaza de caña (por la disponibilidad) y para la fuente de nitrógeno fue el alimento excedente suministrado, estos ingredientes mantuvieron la relación Carbono /Nitrógeno (15:1) requerida para una buena calidad de agua (Avnimelech, 1999; Emerenciano *et al.*, 2007; Magaña, 2014).

Los 30 tanques del experimento tienen una capacidad de 100 Litros, la densidad de siembra fue de 100 organismos por tanque, con una biomasa inicial promedio de 0.70 ± 0.04 g (Emerenciano *et al.*, 2012), los cuales se mantuvieron a

una salinidad de 35 ± 3 ups, temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ por medio de calentadores termostáticos y oxigenación a saturación ($6.50 \pm 0.50 \text{ mgO}_2/\text{L}$) monitoreado por medio de un oxímetro de la marca HACH modelo hqd40. El fotoperiodo fue de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Los parámetros fisicoquímicos (temperatura, salinidad y oxígeno disuelto), se midieron dos veces al día (8:00 y 19:00h), el amonio fue medido 2 veces por semana utilizando la técnica de azul de indofenol (Rodier, 1981) (modificada para microplaca por Zúñiga, 2014a), de igual manera los nitritos se evaluaron dos veces por semana con la Técnica de Sulfanilamida (Rodier, 1981) (Modificada para microplaca por Zúñiga, 2014b). Los sólidos suspendidos (SS), fueron medidos dos veces por semana con ayuda de tubos falcon de 50 ml tomando una muestra de agua y se dejando reposar por 20 minutos, para posteriormente determinar la cantidad de sólidos asentados en el tubo y extrapolar a 100 litros. El pH fue medido dos veces por semana. Al inicio y final del experimento se realizó la biometría de todos los organismos de cada tratamiento midiendo el peso total de las postlarvas. Por último, se realizó un análisis de *Vibrio* spp. a lo largo del experimento

Composición de las dietas experimentales de *F. brasiliensis*

Las dietas experimentales se prepararon en el Laboratorio de Nutrición de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI-Sisal, UNAM), siguiendo el protocolo de elaboración de una dieta artificial para camarón, que consistió en una molienda y tamizado de materias primas que fueron llevadas al mismo tamaño de partícula (250 micras) para poder ser homogenizadas en la mezcladora y después añadirle los aceites y el aglutinante, permitiendo que se mezclen hasta formar la pasta que fue peletizada y secada a 60°C durante 12 horas. La formulación definitiva de las dietas se realizó a partir de los resultados de Cesar Ponce (integrante del equipo de trabajo) quien evaluó la digestibilidad de cuatro fuentes de proteína animal y vegetal (Soya, Moringa, Harina de ave y Harina de pescado) para *F. brasiliensis*. Los resultados obtenidos indican que la mejor fuente de proteína en análisis *in vitro* fue harina de pescado, seguida de moringa, harina de ave y por último soya; a partir de estos resultados se decidió elaborar la dieta con harina de ave como el ingrediente principal, como ingredientes

complementarios se utilizaron diferentes fuentes de proteína como harina de trigo, harina de calamar, harina de camarón; para los lípidos se utilizó aceite de hígado de bacalao, por ultimo para complementar la dieta se añadieron vitaminas y minerales , la formulación definitiva de los 5 niveles de proteína utilizadas en el experimento se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Composición de la dieta experimental para juveniles de *Farfantepenaeus brasiliensis*

INCLUSIÓN 30% DE PROTEÍNA					
	%	Proteína	Lípidos	Carbohidratos	KJ g⁻¹
HARINA DE AVE	16	10.400	1.6	3.4	
HARINA DE TRIGO	51	6.12		40.8	
HARINA DE CALAMAR	8	6	0.8		
HARINA DE CAMARÓN	12	6	1	2.0	
ACEITE DE HÍGADO DE BACALAO	6		6		
LECITHIN	1		1		
DSM VIT+MIN	2.9				
STAY-C	0.03				
GRENETINA	3	3			
TOTAL	100	30.880	10	46.2	17.6584

*DSM VIT+MIN.- vitaminas y minerales ; STAY-C. vitamina C

INCLUSIÓN 35% PROTEÍNA					
	%	Proteína	Lípidos	Carbohidratos	KJ g⁻¹
HARINA DE AVE	16	10.400	1.6	3.4	
HARINA DE TRIGO	44	5.28		35.2	
HARINA DE CALAMAR	13	9	1.3		
HARINA DE CAMARÓN	15	7	1	2.6	
ACEITE DE HÍGADO DE BACALAO	5		5		
LECITHIN	1		1		
DSM VIT+MIN	2.9				

STAY-C	0.03				
GRENETINA	3	3			
TOTAL	100	34.980	10	41.1	17.7469

*DSM VIT+MIN.- vitaminas y minerales ; STAY-C. vitamina C

INCLUSIÓN 40% PROTEÍNA	%	Proteína	Lípidos	Carbohidratos	KJ g ⁻¹
HARINA DE AVE	22.5	14.625	2.3	4.7	
HARINA DE TRIGO	34.6	4.15		27.7	
HARINA DE CALAMAR	13	9	1.3		
HARINA DE CAMARÓN	19	9	2	3.2	
ACEITE DE HÍGADO DE BACALAO	4		4		
LECITHIN	1		1		
DSM VIT+MIN	2.9				
STAY-C	0.03				
GRENETINA	3	3			
TOTAL	100	39.997	10	35.6	18.06906

*DSM VIT+MIN.- vitaminas y minerales ; STAY-C. vitamina C

INCLUSIÓN 45% DE PROTEÍNA	%	Proteína	Lípidos	Carbohidratos	KJ g ⁻¹
HARINA DE AVE	32	20.800	3.2	6.7	
HARINA DE TRIGO	24.1	2.89		19.3	
HARINA DE CALAMAR	10	7	1		
HARINA DE CAMARÓN	24	12	2	4.1	
ACEITE DE HÍGADO DE BACALAO	3		3		
LECITHIN	1		1		
DSM VIT+MIN	2.9				
STAY-C	0.03				

GRENETINA	3	3			
TOTAL	100	45.212	10	30.1	18.45276

*DSM VIT+MIN.- vitaminas y minerales ; STAY-C. vitamina C

INCLUSIÓN 50% DE PROTEÍNA	%	Proteína	Lípidos	Carbohidratos	KJ g⁻¹
HARINA DE AVE	38	24.700	3.8	8.0	
HARINA DE TRIGO¹²	13.1	1.57		10.5	
HARINA DE CALAMAR⁷⁰	10	7	1		
HARINA DE CAMARÓN	30	14	2	5.1	
ACEITE DE HÍGADO DE BACALAO	2		2		
LECITHIN	1		1		
DSM VIT+MIN	2.9				
STAY-C	0.03				
GRENETINA	3	3			
TOTAL	100	50.672	10	23.6	18.75856

*DSM VIT+MIN.- vitaminas y minerales ; STAY-C. vitamina C

Alimentación

Los organismos fueron alimentados en dos raciones diarias (9:00 y 20:00 horas). La ración alimenticia fue a razón del 100% de la biomasa (Garcia *et al.*, 1998; Emerenciano *et al.*, 2012).

Parámetros zootécnicos: Supervivencia, crecimiento y SGR

- La supervivencia expresada en porcentaje (%) se obtuvo a partir de la diferencia entre el número de organismos (sembrados) al inicio y al final del experimento.

$$\text{tasa de supervivencia} \left(\frac{\text{numero final de organismo}}{\text{numero inicial de organismos}} \right) * 100$$

- La biomasa final se evaluó comparando los promedios de pesos finales menos los iniciales de cada tratamiento.

$$\text{biomasa promedio final} = \text{biomasa promedio final} - \text{biomasa promedio inicial}$$

- La biomasa final se determinó comparando la sumatoria de los pesos finales de cada tratamiento con base al número de organismos que sobrevivieron, los resultados se expresan en Kg.

$$\text{biomasa final} = \frac{(\text{biomasa promedio final de cada tanque} * \text{supervivencia})}{1000}$$

- La tasa específica de crecimiento (specific growth rate “SGR”) se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{SGR} = \left(\frac{(\ln \text{biomasa promedio final} - \ln \text{biomasa promedio inicial})}{\text{número de días}} \right) * 100$$

- Los promedios de tasa de conversión alimenticia (TCA) y la tasa de eficiencia proteica (TEP) se calcularon de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$\text{TCA} = \frac{\text{alimento consumido (g)}}{\text{ganancia en peso} * (g)}$$

*la ganancia en peso se calculó mediante el peso promedio final menos el peso promedio inicial multiplicado por el número de organismos vivos dividido entre 1000 para obtener el valor en Kilogramos

$$TEP = \frac{\text{ganancia peso (g)}}{\text{proteína consumida * (g)}}$$

*cantidad de alimento entregado*porcentaje de proteína del alimento/100

Indicadores de la respuesta fisiológica

Consumo de oxígeno

El consumo de oxígeno (O₂) se determinó mediante un respirómetro de sistema abierto, utilizando nueve cámaras respirométricas con capacidad de 100 mL, en las que se colocaron 8 camarones individualmente por tratamiento y por nivel de proteína, dejando una cámara sin animal, una con agua clara y otra con biofloc, según el tratamiento, que sirvieron como cámaras control. Los organismos que se utilizaron en la respirometría, (tratamiento agua clara y biofloc) permanecieron en ayuno durante 12 horas dentro de las cámaras respirométricas para lograr una mejor aclimatación y disminuir el efecto de estrés por manipulación. Después de 12 horas de aclimatación se determinó en las primeras dos horas el consumo de oxígeno de ayuno (resmiometría basal), por medio de un oxímetro (OXY-10). Posteriormente, se alimentaron los animales con la dieta correspondiente a su tratamiento y se determinó el consumo de oxígeno a cada hora (Incremento de Calor Aparente), el cual corresponde al consumo de oxígeno post-alimentario.

Al colocar los organismos en las cámaras se procuró no generar burbujas de aire, y se revisó que no existiesen fugas de agua. Posteriormente se procedió a regular el flujo en cada cámara. El consumo de O₂ se determinó por medio de las diferencias en la concentración de O₂ en el agua de entrada y salida de las cámaras (flujo constante promedio de 0.6 mL/ segundo) y temperatura (27± 1 °C) (Rosas *et al.*, 1996). El consumo de oxígeno se calculó con la siguiente fórmula:

$$VO_2 = \{([O_2]_{\text{entrada}} - [O_2]_{\text{salida}}) * \text{Flujo}\} - \{([O_2]_{\text{entrada control}} - [O_2]_{\text{salida control}}) * \text{Flujo control}\}$$

Donde VO_2 es el consumo de oxígeno expresado en miligramo de oxígeno por hora por animal, $[O_2]_{entrada}$, es la concentración en mg por litro de oxígeno en el agua que entra a la cámara respirométrica, $[O_2]_{salida}$ es la concentración en mg por litro de oxígeno en el agua que sale de la cámara respirométrica y el Flujo es la velocidad en el que pasa el agua a través de la cámara respirométrica expresada en litros por hora (Rosas *et al.*, 1996).

La actividad respiratoria es frecuentemente medida como el consumo de oxígeno. La cantidad de oxígeno consumido puede ser expresado en unidades de energía utilizando el coeficiente oxicalórico el cual como menciona Rosas *et al.*, (1999) depende de la naturaleza del sustrato metabólico que utilizan los organismos estudiados, por ello existen diversos equivalentes energéticos publicados en la literatura los cuales han sido calculados tomando en consideración que la cantidad de energía respirada depende de manera directa de la cantidad de proteínas lípidos y carbohidratos que son metabolizados. En el caso de camarones peneidos un coeficiente oxicalórico comúnmente utilizado es el de 14.3 Joules por mg de oxígeno consumido. Al tener los valores de la respirometría basal e ICA de los 5 niveles de inclusión de los dos sistemas experimentales, se multiplicaron por el coeficiente oxicalórico para poder transformar el oxígeno consumido en energía gastada Joules/hora/gramo (J/h/g), a partir de este valor se evaluó la excreción amoniacal, la energía perdida en la muda y finalmente se obtuvo la energía retenida.

Calorimetría.

Para el análisis del valor calórico se utilizaron 8 camarones por tratamiento, mismos a los que previamente se les determino el consumo de O_2 . Posteriormente, los camarones fueron sometidos a un proceso de secado durante 24 horas a $60^\circ C$, macerado y pulverizado, se hicieron pastillas de aproximadamente $0.3 \pm .05$ g (3 réplicas por tratamiento). Se utilizó una bomba calorimétrica de la marca Parr por el método descrito por Rosas *et al.* (2003).

La fórmula para determinar el contenido de energía es la siguiente:

$$Hg = \{(\Delta T^{\circ}C W) - (e_1 + e_2) N\} M$$

Donde:

Hg: Energía bruta de la muestra.

$\Delta T^{\circ}C$: Diferencia de temperatura entre $T^{\circ}C_0$ y $T^{\circ}C_x$.

W: Constante para estandarizar.

e_1 : Consumo de NaOH para titular.

e_2 : Diferencia de peso entre alambre inicial y quemado.

N: Calorías estándar del alambre.

M: Peso de la pastilla.

La energía obtenida por medio de la quema de los organismos de las diferentes inclusiones, de los dos sistemas de tratamiento resulta en valores caloría/gramo; para la transformación a Jolues/gramo se multiplico por la constante 4.186 (ya que una caloría equivale a 4.186 Joules), a partir de estos datos y conociendo el crecimiento promedio por día del animal se puedo obtener la energía retenida por día (Joul/gramo/día) de cada tratamiento.

Excreción amoniacal

Los valores de energía excretada (UE+ZE) se estimaron de acuerdo a la ecuación de Bureau *et al.* (2000) que corresponde al 8% de la sumatoria de la energía retenida (RE) más la energía de respiración basal más la energía de incremento de calor aparente (ICA).

$$UE+ZE = (RE+HeE+HiE)*0.08$$

Donde:

UE+ZE: Excreciones no fecales.

UE: Excreción amoniaca (ayuno)

ZE: Excreción amoniaca (después de ser alimentado)

RE: Energía retenida (crecimiento).

HeE: Energía basal.

HiE: Incremento calórico.

0.08: Constante.

Energía destinada a la muda:

Los valores de energía perdida durante la muda (HxE) representan un 25% de la energía retenida (RE), y se estimaron de acuerdo al método de Bureau *et al.* (2000), utilizando la siguiente fórmula:

$$HxE=0.25*(RE)$$

Donde:

0.25: Constante.

RE: Energía retenida (crecimiento).

La energía perdida en la exuvia (SE) se calculará de la siguiente manera:

$$SE=0.03*(RE+HeE+HiE+HxE)$$

Donde:

0.03: Constante.

RE: Energía retenida (crecimiento).

HeE: Energía basal.

HiE: Incremento calórico.

HxE: Energía perdida durante la muda.

Balance bioenergético.

El modelo de balance bioenergético es un modelo en el que se integran diversas respuestas fisiológicas con el principal fin de conocer los destinos de la energía ingerida, incluyendo tanto los relacionados con el mantenimiento de las funciones básicas, como los dirigidos al mantenimiento de la homeostasis o la producción de biomasa (Rosas *et al.*, 2003). En cuanto a la bioenergética de los crustáceos, se ha presentado poca atención sobre los requerimientos diarios de energía digestible, por ello se han generado modelos de partición de energía donde a partir de la energía digestible resultante se puede inferir la que fue metabolizada y la energía que es retenida (Bureau *et al.*, 2000).

Para determinar la energía digestible y obtener el balance energético se utilizó la siguiente fórmula:

$$DE = RE + HeE + HiE + HxE + (UE + ZE) + SE$$

Donde:

DE: Energía digestible

RE: Energía retenida (crecimiento)

HeE: Energía basal.

HiE: Incremento calórico.

(UE+ZE): Excreciones no fecales.

HxE: Energía perdida durante la muda

SE: Energía perdida en la exuvia.

Determinación de presencia de *Vibrio*.

Con el fin de saber si se encontró un cultivo saludable a lo largo del experimento, se llevó a cabo un seguimiento de la calidad del agua durante todo el

periodo experimental, para determinar presencia o ausencia de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en ambos sistemas experimentales. Para poder determinar las UFC se utilizó agar tcbs (tiosulfato citrato bilis sacarosa) siendo este agar un medio selectivo de diferenciación para el aislamiento y cultivo de las especies de *Vibrio spp.*

El método de preparación del medio de cultivo para evidenciar la presencia de UFC, consiste en diluir 88 gramos de agar tcbs en un litro de agua destilada, calentando a 200°C hasta alcanzar la ebullición, al momento de ebullición se retiró la dilución y se dejó enfriar para posteriormente verter 25 mililitros de la preparación en cajas petri (Una caja por tina experimental). Una vez que la dilución se enfría se añadió 0.1 mililitros de agua de cada estanque experimental distribuyéndola homogéneamente por toda la superficie con la ayuda de un asa de digralsky . Finalmente se incubaron las muestras por 24h a 30°C para realizar el conteo de las UFC y con ello poder determinar si el medio experimental se encontraba dentro de los rangos descritos para considerarse sano.

Análisis estadístico de los resultados.

Para saber si los datos presentaban una distribución normal se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk, para la homocedasticidad se utilizó la prueba Levene y por último para ver si los datos eran independientes se aplicó la prueba Durbin-Watson, si los datos no cumplían con normalidad se optó por realizar un análisis estadístico no paramétrico como Wilcoxon y Kruskal Wallis. Los datos representados en porcentajes fueron convertidos a arcoseno, los datos que se muestran en los resultados son promedios más menos su desviación estándar.

A los datos de los parámetros de calidad de agua (Tabla 7) se les aplicó un análisis de varianza (ANDEVA) para saber si existían diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos, Así mismo a los parámetros zootécnicos (Tabla 8) se realizó un análisis de varianza bifactorial, revisando siempre que los datos cumplieran los supuestos de normalidad y en dado caso que los datos no fueran normales se aplicó la prueba no paramétrica de Wilcoxon.

Por último, cuando se presentaron diferencias en los tratamientos se realizó un análisis Post Hoc con la prueba de Tukey con la finalidad de diferenciar entre qué niveles de proteína existía diferencia significativa. Todo el análisis estadístico fue realizando con el lenguaje R.

Resultados.

Parámetros fisicoquímicos.

En las Tablas 7a y 7b se muestra un resumen de los parámetros de calidad de agua del experimento llevado a cabo del 23/03/2017 al 11/05/2017. En los datos no se encontraron diferencias significativas entre las diferentes inclusiones de proteína en el tratamiento biofloc y tratamiento agua clara (ANOVA $p > 0.05$). Todos los datos de la Tabla 7 son promedios de los tratamientos más menos su desviación estándar.

Tabla 7a. Parámetros fisicoquímicos de calidad de agua de postlarva 25 de *F. brasiliensis* durante 50 días de cultivo. Valores Promedio \pm DE

BIOFLOC						
PARÁMETROS	30%	35%	40%	45%	50%	P
TEMPERATURA (°C)	27.9 \pm 0.15	28 \pm 0.18	27.9 \pm 0.16	28.1 \pm 0.31	27.9 \pm 0.13	>0.05
OXÍGENO (mg L ⁻¹)	4.94 \pm 0.05	4.93 \pm 0.06	4.97 \pm 0.11	4.90 \pm 0.09	4.89 \pm 0.07	>0.05
pH	8.31 \pm 0.03	8.30 \pm 0.05	8.30 \pm 0.07	8.30 \pm 0.07	8.23 \pm 0.06	>0.05
SALINIDAD (ups)	39.87 \pm 2.07	39.83 \pm 0.92	40.20 \pm 1.15	40.6 \pm 1.73	40.27 \pm 1.55	>0.05
AMONIO N-NH ₄ (mg-L ⁻¹)	0.11 \pm 0.05	0.08 \pm 0.02	0.11 \pm 0.04	0.08 \pm 0.03	0.09 \pm 0.01	>0.05
NITRITO N-NH ₂ (mg-L ⁻¹)	0.45 \pm 0.26	0.33 \pm 0.15	0.27 \pm 0.14	0.23 \pm 0.08	0.26 \pm 0.06	>0.05
SS (ml-L ⁻¹)	7.02 \pm 5.06	13.30 \pm 14.06	7.40 \pm 4.13	7.11 \pm 2.11	8.57 \pm 1.28	>0.05

En la tabla 7a se muestran los valores promedio obtenidos de la calidad del agua utilizada durante el experimento correspondientes al sistema biofloc, a todos los factores se les realizó un análisis de varianza para ver si no existían diferencias significativas entre los diferentes niveles de proteína, ($p > 0.05$). Los valores de temperatura oscilaron entre los 27.9°C - 28.1°C no existiendo diferencias significativas ($p > 0.05$) lo que nos indica que no hubo variaciones que pudiesen intervenir en el metabolismo de los organismos. En cuanto al oxígeno este se mantuvo por los niveles de saturación que se necesita dentro del sistema con biofloc, los valores registrados fueron de 4.89 a 4.97 mg L donde no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$), estos valores nos indican que dentro del sistema no se presentaron niveles anóxicos lo cual es importante para que todos los organismos asociados al biofloc y que sirven como alimento *in situ* encontraran un

ambiente con condiciones para desarrollarse adecuadamente y con ello contribuir a la nutrición de los camarones. Por otra parte en el pH y la salinidad no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) aun que se presentó un aumento en la salinidad dentro del sistema con valores máximos de 40.6 ups estos datos, están asociados a al aumento de la temperatura medioambiental registrada en los días experimentales.

Tabla 7b Parámetros fisicoquímicos de calidad de agua de postlarva 25 de *F. brasiliensis* durante 50 días de cultivo. Valores Promedio \pm DE .

AGUA CLARA						
PARAMETROS	30%	35%	40%	45%	50%	p-valor
TEMPERATURA (°C)	28.23 \pm 0.01	28.21 \pm 0.03	28.16 \pm 0.11	28.22 \pm 0.01	28.21 \pm 0.01	>0.05
OXIGENO (mg L ⁻¹)	4.55 \pm 0.02	4.57 \pm 0.05	4.56 \pm 0.04	4.58 \pm 0.04	4.58 \pm 0.01	>0.05
pH	8.21 \pm 0	>0.05				
SALINIDAD (‰)	35.6 \pm 0	>0.05				
AMONIO N-NH ₄ (mg-L ⁻¹)	0.02 \pm 0	>0.05				
NITRITO N-NH ₂ (MG-L ⁻¹)	0.01 \pm 0	>0.05				
SS (ml-L ⁻¹)	0 \pm 0	>0.05				

En la tabla 7b se muestran los valores promedio obtenidos de la calidad del agua utilizada durante el experimento correspondientes al sistema agua-clara, de igual forma que a los datos de la tabla 7a, a los factores se les realizó un análisis de varianza para ver si no existían diferencias significativas entre los diferentes niveles de proteína, ($p>0.05$). Este sistema como consistía en un sistema de recirculación de agua con filtros biológicos y calentadores, no se presentaron variaciones entre los parámetros de los 5 niveles de inclusión de proteína.

La dinámica de los compuestos nitrogenados durante todo el experimento se muestra resumida en las figuras 5 y 6, donde se puede observar que en el sistema Biofloc el máximo valor registrado de amonio fue en el tratamiento con un 40% de proteína teniendo un valor de 0.4mg/L⁻¹; en cuanto a los Nitritos, estos fueron

decreciendo a lo largo del experimento, lo cual nos indica una estabilidad del nitrógeno amoniacal total (TAN) dentro del sistema experimental.

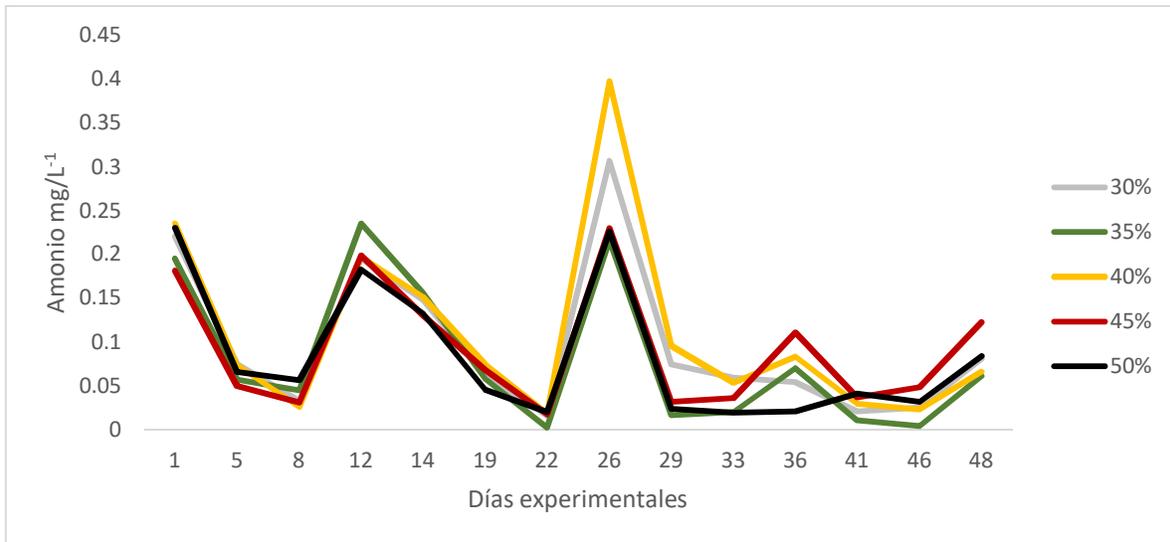


Figura 5. Dinámica del amonio durante los 50 días de experimento en el sistema biofloc.

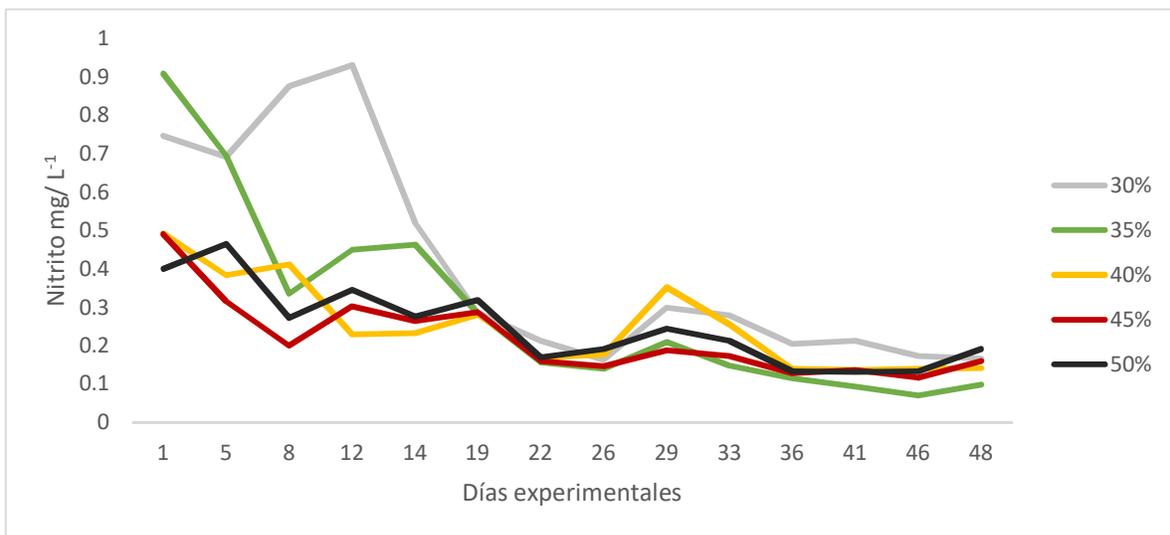


Figura 6. Dinámica del Nitrito durante los 50 días de experimento en el sistema Biofloc.

Los compuestos nitrogenados dentro del sistema de agua-clara se mantuvieron con valores muy por debajo de los registrados en el sistema biofloc; 0.02 mg/L^{-1} para el amonio y para el nitrito los valores registrados durante todo el experimento fueron de 0.01 mg/L^{-1} no encontrándose diferencias significativas en los cinco niveles de proteína (ANOVA $p > 0.05$).

Parámetros Zootécnicos (producción)

En la tabla 8 se muestra un resumen estadístico de los parámetros zootécnicos donde se comparan los tratamientos biofloc y agua clara con las cinco inclusiones de proteína. De acuerdo al análisis estadístico bifactorial, en la biomasa promedio final, biomasa, supervivencia, la tasa específica de crecimiento y en la tasa de eficiencia proteica se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Aunque no existieron diferencias significativas en los 5 niveles de proteína en el sistema biofloc, los mejores resultados de los parámetros de producción siempre se presentaron en el tratamiento biofloc con 35% de proteína; en contraste los resultados más bajos se obtuvieron en el tratamiento agua clara con 30% de proteína.

En la figura 7 se pueden observar los valores de la biomasa final promedio donde se observa que no existe una interacción entre los dos tratamientos, en cuanto a los 5 niveles de proteína en las dietas del sistema biofloc no se encontraron diferencias significativas, la dieta con 50% de proteína en agua clara no se diferencia entre las dietas 30%, 40% y 50% del biofloc, así mismo en la dieta con 45% en agua clara no existe diferencia significativa con la dieta de 30% del sistema biofloc y 50% del sistema agua clara; los niveles de proteína restantes de agua clara 30%, 35% y 40% son significativamente menores al resto del tratamiento. Así mismo en la figura 8 se muestran los valores de la biomasa (esta biomasa toma en cuenta la supervivencia y los días experimentales donde el resultado es expresado en Kg),

se observa que no existieron diferencias significativas entre los cinco niveles de proteína en el sistema biofloc, se observa también que en los niveles de proteína 45% y 50% de agua clara existen semejanzas estadísticas con los niveles 30%, 45% y 50% en biofloc; por último en los niveles de 30%, 35% y 40% en el sistema agua clara los resultados de biomasa resultaron significativamente menores al resto de los tratamientos.

Los datos de supervivencia están representados en la figura 9, donde se observa que no existen diferencias significativas entre los cinco niveles de proteína en el sistema biofloc con los niveles de 40%, 45% y 50% de proteína del sistema de agua clara, así mismo la dieta con 35% de proteína del sistema agua clara es estadísticamente similar con las dietas de 40%, 45% y 50% de proteína del mismo sistema, siendo también similar las dietas con 40%, 45% y 50% de proteína del sistema biofloc. Por último, donde se presentó el valor más bajo dentro del experimento es en el nivel con 30% de proteína el cual es significativamente menor que el resto de los datos.

En cuanto a la tasa específica de crecimiento (SGR) figura 10, se observa que no existieron diferencias significativas entre los cinco niveles de proteína del tratamiento con biofloc con los niveles 45% y 50% del sistema agua clara; dentro de este sistema también se presenta una similitud estadística entre 30% y 40%, siendo el alimento con 35% donde se registraron los menores valores. Por último, en la figura 11 se muestran los valores de la tasa de eficiencia proteica, estos resultados fueron significativamente mayor en las dietas con niveles de proteína del 30%, 35% y 40% en el sistema biofloc, también se observa que existen valores intermedios en 45% y 50% de inclusión de proteínas en ambos tratamientos y valores significativamente más bajos en las dietas de 30%, 35% y 40% de proteína en el sistema agua clara.

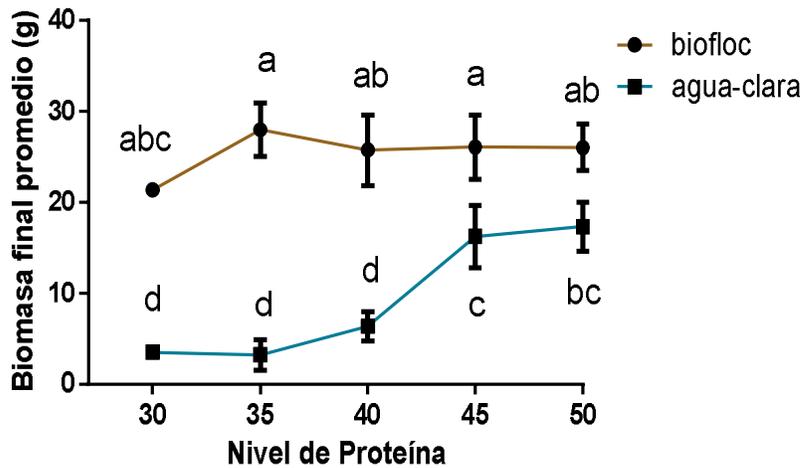


Figura7. Biomasa final promedio de *F. brasiliensis* cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.

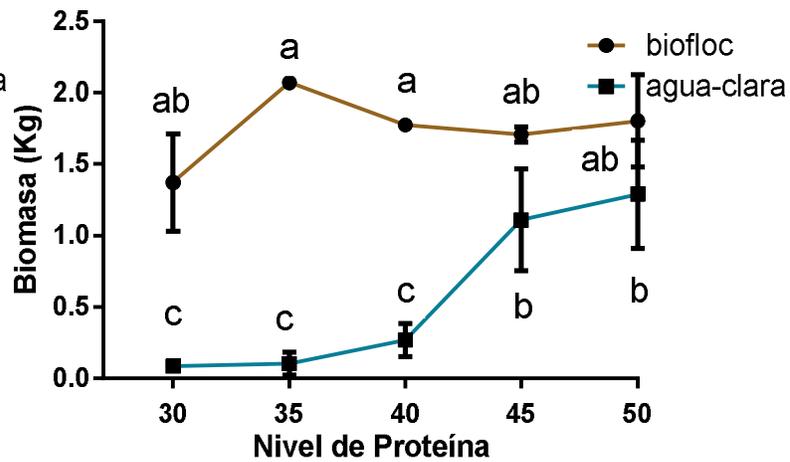


Figura8. Biomasa de *F. brasiliensis* cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.

Tabla 8. Resumen estadístico de los parámetros zootécnicos (promedio ± DE) de *F. brasiliensis* durante 50 días

	<i>biofloc</i>					<i>Agua-clara</i>					<i>P</i>
	30	35	40	45	50	30	35	40	45	50	
Biomasa inicial promedio (g)	0.70±0.04 ^A	0.70±0.04 ^A	0.70±0.04 ^A	0.70±0.04 ^A	0.70±0.04 ^A	0.70±0.04 ^A	0.70±0.04 ^A	0.70±0.04 ^A	0.70±0.04 ^A	0.70±0.04 ^A	>0.05
Biomasa final promedio(g)	17.13±7.30 ^{ABC}	27.98±2.92 ^A	25.73±3.88 ^{AB}	26.08±3.52 ^A	26.03±2.55 ^{AB}	3.50±0.65 ^D	3.21±1.66 ^D	6.35±1.58 ^D	16.24±3.41 ^C	17.31±2.70 ^{BC}	<0.05
Biomasa(kg)	1.37±0.34 ^{AB}	2.07±0.04 ^A	1.76±0.87 ^A	1.70±0.05 ^{AB}	1.80±0.32 ^{AB}	0.08±0.02 ^C	0.10±0.07 ^C	0.26±0.11 ^C	1.10±0.35 ^B	1.29±0.37 ^B	<0.05
supervivencia%	64.5±17.67 ^{ABC}	74.6±8.50 ^A	66±25 ^{AB}	66.33±10.06 ^{AB}	69±5.65 ^{AB}	24.33±3.05 ^C	30±8 ^{BC}	41±8.544 ^{ABC}	67.6±10.06 ^{AB}	73.33±11.5 ^A	<0.05
Tasa específica de crecimiento (SGR)	6.21±1.16 ^A	7.34±0.30 ^A	7.17±0.29 ^A	7.20±0.35 ^A	7.27±0.26 ^A	3.17±0.33 ^{BC}	2.86±0.82 ^C	4.34±0.65 ^B	6.23±0.48 ^A	6.37±0.45 ^A	<0.05
Tasa de conversión alimenticia (TCA)	0.05±0.01 ^A	0.03±0.38 ^A	0.04±0.02 ^A	0.04±0.001 ^A	0.03±0.007 ^A	1.06±0.38 ^{BC}	1.27±0.77 ^C	0.33±0.17 ^B	0.06±0.01 ^A	0.05±0.02 ^A	<0.05
Tasa de eficiencia proteica (TEP)	38.40±9.49 ^{AB}	50.08±0.84 ^A	46.57±12.27 ^A	27.28±0.84 ^{BC}	25.98±4.75 ^{BC}	1.99±0.61 ^F	2.62±2.10 ^{EF}	6.46±1.71 ^{DEF}	19.24±6.94 ^{CDE}	21.52±0.46 ^{BCD}	<0.05

experimentales

Nota: Superíndices diferentes denotan diferencias significativas (p<0.05)

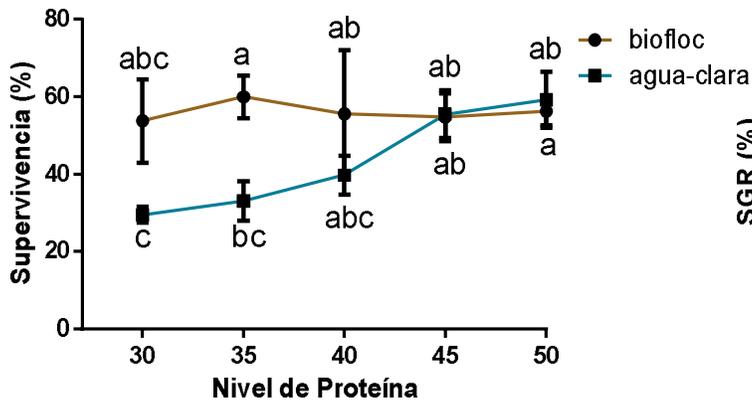


Figura9. Supervivencia promedio de *F. brasiliensis* cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.

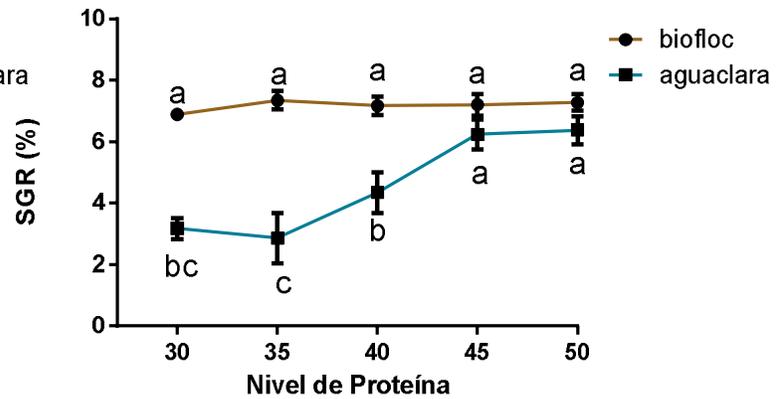


Figura10. SGR promedio de *F. brasiliensis* cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.

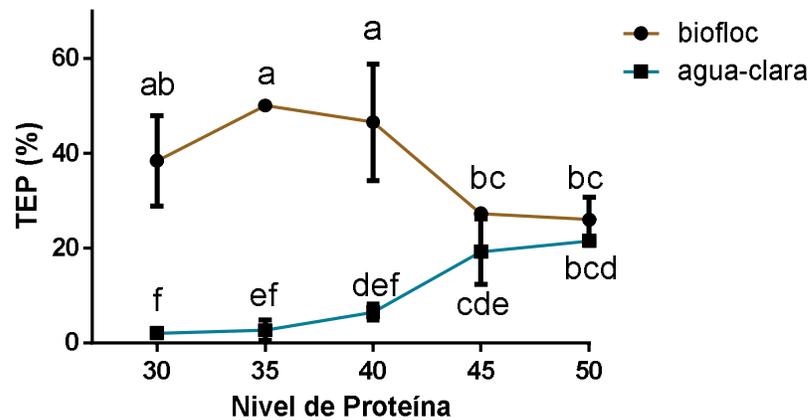


Figura11. Tasa de eficiencia proteica promedio de *F. brasiliensis* cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.

Indicadores de la respuesta fisiológica

Consumo de oxígeno

En cuanto al consumo de oxígeno basal de los organismos representado en energía/ hora /gramo (J/h/g), en la figura 12 se puede observar que no existieron diferencias significativas en el consumo de oxígeno comparando los cinco niveles de proteína en el sistema biofloc con el sistema agua clara. De igual manera en la figura 13 se presentan los valores energéticos del incremento de calor aparente (ICA) donde no se presentaron diferencias significativas en la energía que se necesita para procesar el alimento suministrado (0.02g) entre los dos factores y los cinco niveles de proteína.

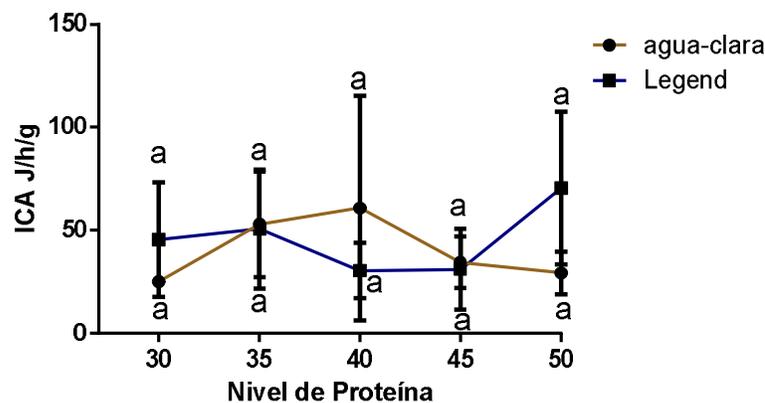
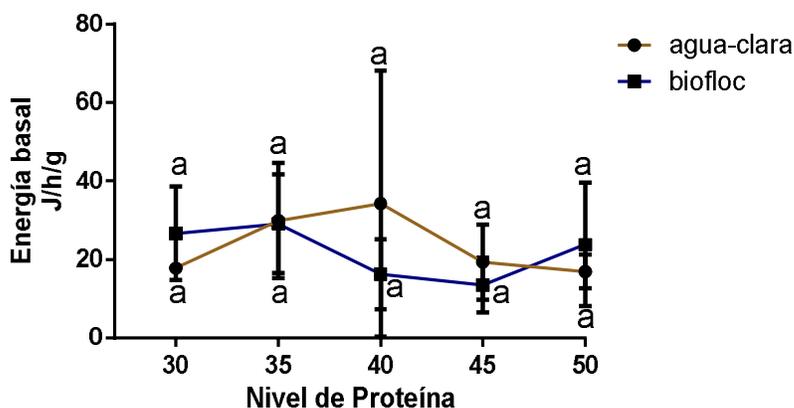


Figura12. Consumo de oxígeno basal promedio de *F. brasiliensis* cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.

Figura13. Incremento de calor aparente (ICA) promedio de *F. brasiliensis* cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.

Excreción de nitrógeno

La excreción amoniacal está representada en la figura 14 donde se muestra la cantidad de energía que el organismo excreta en forma de amonio producto del catabolismo de las proteínas del alimento suministrado, se observa que en el sistema biofloc los niveles de proteína de 35%,40% y 50% no presentaron diferencias significativas representando los vales de energía excretada más altos, también se puede observar que los valores de proteína 40%, 45% y 50% del sistema biofloc presentan similitud estadística, también es de observar que el nivel de proteína 30% y 45% biofloc presenta igualdad estadística con el nivel 45% del sistema agua clara; por ultimo dentro de los cinco niveles de proteína del sistema agua clara no se presentaron diferencias estadísticas.

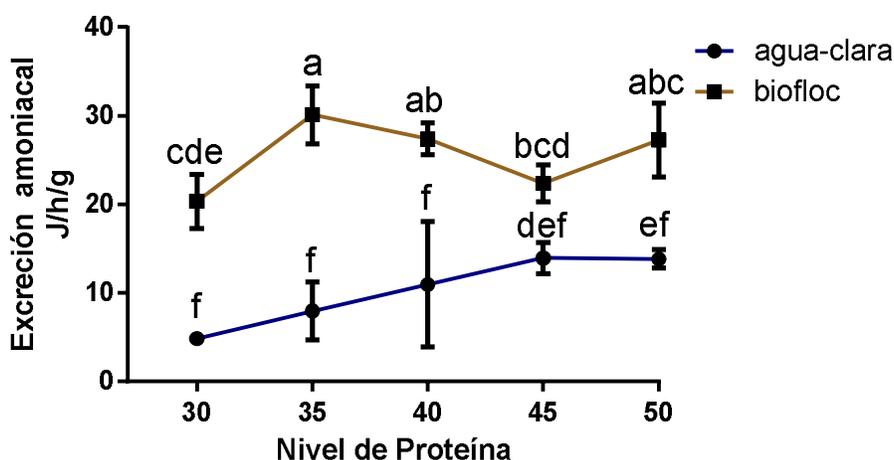


Figura14. Excreción amoniacal promedio de *F. brasiliensis* cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.

Energía perdida en la muda.

La energía perdida en la muda nos puede indicar la cantidad de energía que los organismos necesitaron para mudar su exoesqueleto y por ende crecer. En la figura 15 se representa la cantidad de energía requerida para que el organismo mude la cual representa un 25% de la energía retenida, en los niveles de proteína 35%, 40% y 50% del sistema biofloc no existieron diferencias significativas siendo en estos tratamientos donde se presentó la mayor pérdida de energía durante la muda, los niveles de proteína de 40%, 45% y 50% del sistema biofloc fueron semejantes estadísticamente; el nivel de 30% de biofloc fue diferente al resto del sistema pero sin diferencia significativa con los niveles de proteína 45% y 50% del sistema agua clara, finalmente no existió diferencia significativa entre los cinco niveles de proteína en agua clara.

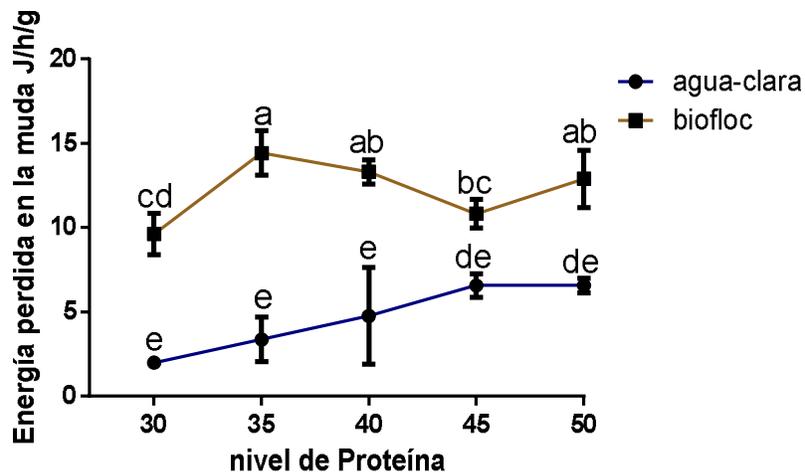


Figura15. Energía perdida en la muda de *F. brasiliensis* cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.

Balance bioenergético

La energía digestible corresponde a la sumatoria de todos los procesos fisiológicos, siendo esta sumatoria el resultado final de la energía suministrada como alimento. En la figura 16 se muestra la energía digestible promedio donde se observa que existe una similitud estadística en los niveles de proteína 35%,40% y 50% del sistema biofloc siendo estos valores los que resultaron en una mayor energía digestible, por otro lado también existe una similitud entre 40%, 45% y 50% del sistema biofloc, el nivel de 30% de biofloc es estadísticamente similar a los niveles de 45% y 50% del sistema agua clara; por ultimo no existieron diferencias significativas para las cinco dietas experimentales dentro del sistema agua clara.

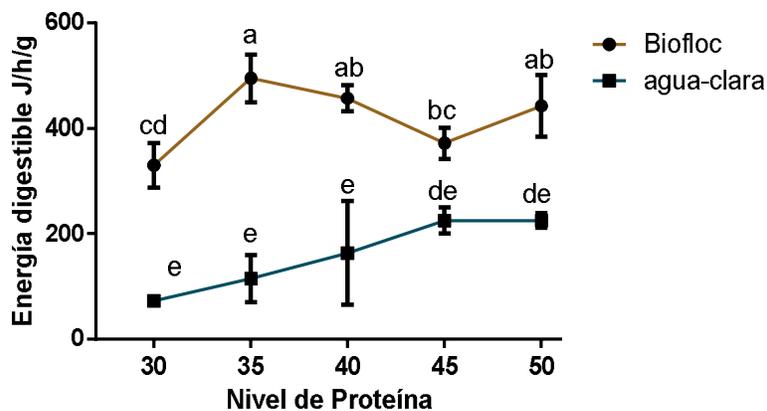


Figura16. Energía digestible de *F. brasiliensis* cultivado en biofloc y agua clara alimentadas con cinco dietas con diferentes niveles de proteína en 50 días de experimentación. Las letras diferentes denotan diferencias significativas como resultado de un análisis de varianza bifactorial, las barras verticales muestran las desviaciones estándar.

Composición nutricional del biofloc y análisis de microorganismos asociados.

Dentro de los estanque experimentales se encontraron diferentes especies de organismo que se considera que están asociados con la nutrición de los camarones; el análisis de la relación C:N del biofloc muestra un valor del 35% de proteína, siendo este valor la diferencia entre los dos sistemas experimentales. En las figuras del número 17 al número 30 se pueden observar imágenes de los organismos encontrados dentro del biofloc del presente estudio, esta diversidad reportada nos habla de un sistema estable y saludable.



Figura17. 100x.



Figura18.
Turbelario 100x.



Figura19.
Nemátodo 100x.



Figura 20.
Protozario 100x.



Figura21 100x.

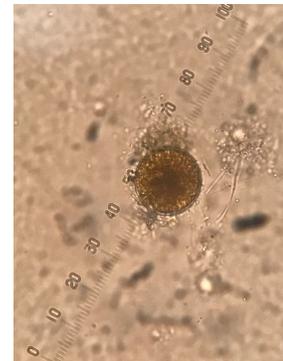


Figura22.
Protozario100x.



Figura23. 100x

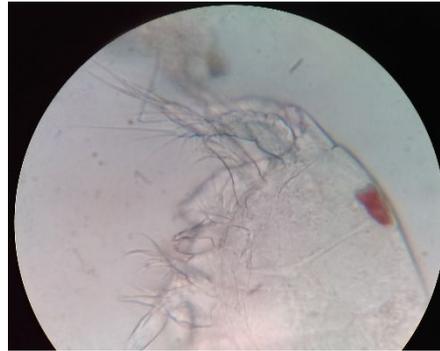


Figura24.
copéodo 100x.



Figura 25. Rotífero
100x.

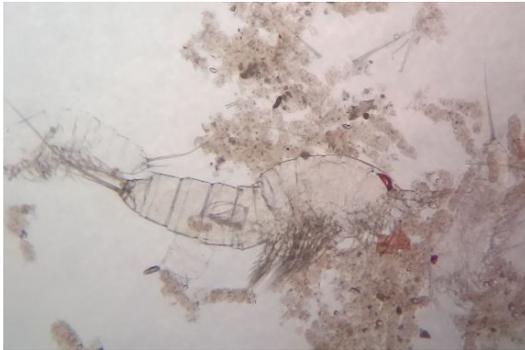


Figura26.
copéodo 80x.



Figura27.
Ostrácodo 100x.



Figura 28
copéodo 80x.



Figura29.
Vorticella 100x.



Figura30.
Gastrotricos 100x.

Presencia de *Vibrio* spp en el agua experimental.

Es importante tener conocimiento de los agentes infecciosos más comunes presentes donde se realizan actividades de tipo acuícola, para poder así llevar a cabo medidas de higiene y bioseguridad como parte del manejo preventivo por ello en la figura 31 se muestra el seguimiento de las UFC a lo largo del experimento, tomando en cuenta UFC verdes las cuales fermentaron a la sacarosa del agar tsbc pudiéndose encontrar especies como *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. fluvialis*, *V. furnissii* y UFC amarillas las cuales no fermentan a la sacarosa del agar tsbc pudiéndose encontrar especies como *V. vulnificus*, *V. hollisae* y *V. parahaemolyticus*.

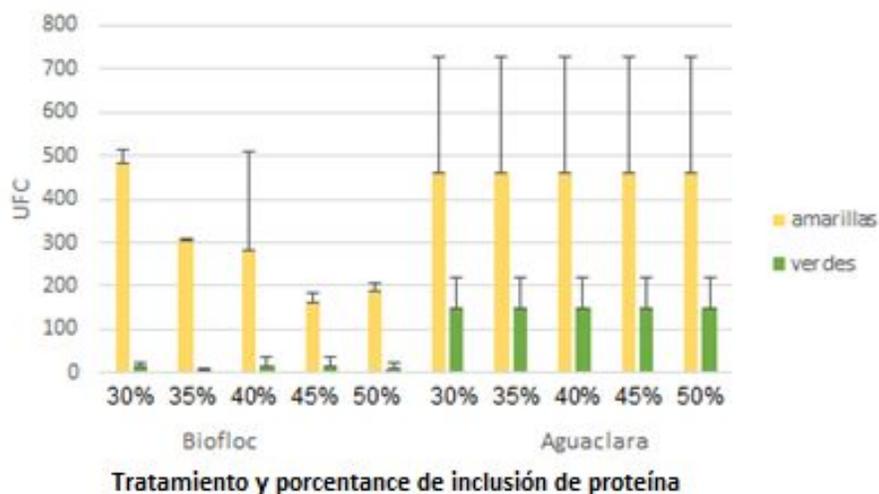


Figura 31. Unidades formadoras de colonias (UFC) verdes y amarillas. Promedio \pm D.E.

Los resultados de la figura 25 indican que donde se encontró una mayor presencia de UFC fue en el sistema con agua clara, en cambio dentro del agua del sistema biofloc hubo una notable disminución de ufc.

Discusión:

Parámetros fisicoquímicos

La calidad de agua se refiere a la calidad que afecta la respiración, alimentación, crecimiento y reproducción, esta calidad varía de un lugar a otro y es afectada por factores ambientales, así como ecológicos teniendo la finalidad de mantener una buena calidad ambiental, reducir el estrés de los animales y promover un cultivo saludable. (Valenzuela J., *et al* 2013). Dentro de los sistemas, la temperatura es un factor determinante en el metabolismo de los organismos, por lo cual es crucial que se mantenga en un rango óptimo ya que una disminución en la temperatura un aumento de esta, podría ocasionar un factor de estrés para los organismos pudiendo resultar en una pérdida de energía; durante el experimento la temperatura se mantuvo entre 27°C-28°C donde no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos; estos datos concuerdan con trabajos reportados por Brito *et al.*, (2000) y Emerenciano *et al.*, (2012), los cuales trabajaron con temperaturas similares para *F. brasiliensis* ; Así mismo Hostins *et al.* (2015) reporta que para esta especie el mejor crecimiento de *F. brasiliensis* se da a una temperatura de 27 °C. Con lo anterior se puede mencionar que la temperatura no fue un factor de estrés para los organismos a lo largo del proceso experimental, asumiendo que no interfirió en los resultados de crecimiento final para ambos sistemas experimentales

Se ha sugerido que para el éxito del cultivo en camarones peneidos los rangos de oxígeno disuelto deben estar entre 5-7 mg/L⁻¹ aunque se considera que con valores de 5 mg/L⁻¹ el sistema se encuentra en saturación, siendo este el valor más utilizado en el cultivo de camarones peneidos, así mismo también se ha descrito que para el pH se requieren rangos de entre 7-9 unidades (Jwyban *et al.*, 1995; P. Van Wyk. Scarpa 1999; Hostins *et al.*, 2015). En el presente trabajo no se encontraron diferencias significativas en los valores de O₂ los cuales oscilaron entre 4.5 mg/L⁻¹ - 4.9 mg/L⁻¹ estos valores están un poco por debajo de lo reportado por Magaña (2014) y De Souza *et al.*, (2012b) sin embargo no son datos a

considerar como un factor de estrés para los organismos. Los valores de pH para ambos sistemas se mantuvieron sin mucha variación entre 8.2 - 8.3 Unidades, coincidiendo con trabajos realizados por De Souza *et al.* (2012) y Emerenciano *et al.* (2013) donde de igual forma que en el presente trabajo, estos rangos de valores son considerados como óptimos para el buen desarrollo de los organismos.

Aunque no existieron diferencias significativas en los datos de salinidad, esta se vio afectada por la gran evaporación que se originó dentro del iglú experimental debido a las altas temperaturas medioambientales registradas durante los 50 días experimentales, los valores obtenidos fueron de 39 ‰ ~ 40‰; sin embargo, Brito *et al.*, (2000) reporta que *F. brasiliensis* crece mejor en ambientes por encima de su punto isosmótico, siendo esta característica biológica la que determina sus preferencias medioambientales así como su distribución espacial ya que esta especie está adaptada a altas salinidades por lo que se piensa que la salinidad no fue un factor limitante durante el experimento. Por otro lado, los sólidos suspendidos presentaron un valor de 7-13 ml-L^{-1} no siendo un problema para la respiración e intercambio de gases, por el congestionamiento branquial que se puede llegar a presentar cuando existen una gran cantidad de partículas suspendidas en el sistema (Magaña, 2014).

En cuanto a los compuestos nitrogenados, estos se producen como producto del catabolismo de las proteínas y se excreta de forma de amoniaco no ionizado a través de las branquias de los organismos acuáticos, en el agua el amonio existe en dos formas; amonio no ionizado NH_3 y amonio ionizado NH_4^+ la concentración relativa de cada una de estas formas está en función al pH, temperatura y salinidad. La suma de $(\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+)$ es referido como nitrógeno amoniaco total (TAN) siendo toxico en elevadas concentraciones; por ello la acuicultura necesita proporcionar mecanismos eficaces para remover concentraciones altas de amoniaco, nitrito, dióxido de carbono y solidos suspendidos dentro de los sistemas con el fin de mantenerlos en niveles aceptables. (Avnimelech 1999; Ebeling *et al.*, 2006).

De acuerdo con Ebeling *et al.* (2006) dentro del biofloc existen dos categorías funcionales de bacterias que son las principales responsables del mantenimiento de la calidad de agua, las bacterias heterotróficas (asimilación del amonio) y quimioautótrofas (bacterias nitrificantes). El grupo heterotrófico remueve el TAN de la columna de agua para construir proteínas celulares, las bacterias nitrificantes adquieren energía mediante la oxidación del amonio a nitrito y posteriormente a nitrato siendo este el menos toxico para los organismos, tanto los procesos de asimilación y de nitrificación consumen oxígeno y se requiere de una saturación de oxígeno en los sistemas. (Ray *et al.*, 2010). Como se puede apreciar en la figura 5 y figura 6, los valores de TAN en el experimento siempre se mantuvieron dentro de los parámetros óptimos de cultivo y estos no variaron mucho a lo largo del experimento por lo que se considera que el sistema de biofloc se encontró estable, esto posiblemente por la adición de carbohidratos como la melaza de caña que es una buena alternativa para reducir y/o mantener las condiciones deseables de nitrógeno inorgánico (Magaña, 2014; De Souza *et al.*, 2014).

Aunque no existe una información detallada sobre los rangos adecuados de calidad de agua para el crecimiento de *F.brasiliensis*; durante el experimento los parámetros se mantuvieron dentro de los límites reportados para el buen desarrollo de los camarones peneidos, por lo cual se cree que la condición del agua no fue un factor que pudiese interferir en los resultados obtenidos.

Parámetros de zootécnicos.

A pesar de la importancia de este tipo de estudios, la información sobre los factores que influyen mayoritariamente sobre la tasa de crecimiento de algunos camarones peneidos en cultivos, es escasa (Lester y Pante 1992). Siendo el caso de *F. brasiliensis* ya que es una especie “nueva” en la literatura acuícola por lo que no se cuenta con una amplia información que permita conocer a detalle sobre su zootecnia.

En cuanto a los parámetros zootécnicos, se pudo observar un crecimiento positivo en las postlarvas a lo largo del experimento, aunque se presentó una diferencia significativa muy marcada entre los dos tratamientos, esta diferencia tal vez sea como ya se mencionó, porque dentro del sistema biofloc existe alimento que se encuentra disponible para el camarón las 24 horas del día (Xu *et al.*, 2012; Emerenciano *et al.*, 2012; Yun *et al.*, 2015; Toledo *et al.*, 2016; Moreno-Arias *et al.*, 2017) lo cual no es así dentro del sistema tradicional de cultivo (agua clara) en donde el alimento es suministrado a cierto tiempo del día y donde tal vez no se cumpla el requerimiento nutricional que el organismo necesita para un sano desarrollo.

En un estudio realizado por Liao *et al.* (1986); reportan que *F. brasiliensis* es una especie de camarón con tendencias a la omnívora-carnívora por lo cual sus requerimientos de proteína son muy altos (alrededor del 54% de proteína), esto se traduciría a que en los tratamientos que no cumplieran con los regímenes nutricionales que la especie necesita, se encontrará una baja supervivencia debido al canibalismo, viéndose comprometida la fase de crianza ya que la supervivencia se considera el parámetro más importante para el éxito del cultivo (Hostins *et al.*, 2015), En el presente experimento, las tasas de supervivencia presentaron diferencias significativas dentro del tratamiento de agua clara con 30%, 35%, y 40% de inclusión de proteína en comparación con las inclusiones de 45% y 50% . Por otro lado, en el sistema biofloc no se presentaron diferencias significativas entre las cinco inclusiones de proteína, estos resultados coinciden con los resultados obtenidos por Emerenciano *et al.* (2012) donde de igual manera obtuvieron mejores supervivencias en los sistemas con biofloc en comparación con los sistemas control o agua clara. Es de puntualizar que no existió diferencias significativas en cuanto a la supervivencia registrada en los sistemas de agua clara con inclusiones máximas de proteína de 45 y 50% con los tratamientos de mínima inclusión de proteína en biofloc. Estos resultados corroboran la hipótesis propuesta en el presente trabajo, evidenciando que el biofloc puede sustituir el gran aporte de proteínas necesarios

para el buen desarrollo de *F. brasiliensis* a diferencia de los cultivos realizados con agua clara.

En cuanto a la tasa específica de crecimiento (SGR), esta fue significativamente mayor en el tratamiento con biofloc donde no se encontraron diferencias significativas (valores de 6.21 a 7.34) en cuanto a los cinco niveles de proteína, en comparación con el tratamiento de agua clara donde el SGR presentó valores muy por debajo (valores de 2.86 a 6.37), resultados similares fueron obtenidos por Hostins *et al.* (2015) quien evaluó el crecimiento compensatorio a diferentes temperaturas en un sistema biofloc y obtuvo tasas de crecimiento específica con valores de 6.84 para sistema biofloc. Así mismo la eficiencia en la producción del camarón en sistemas con biofloc o sistemas de agua clara se pueden mejorar mediante la optimización del contenido de proteína en el alimento, determinando cual es la óptima inclusión para la especie a cultivar; por ello la importancia de realizar este tipo de trabajos lo cuales nos acercan cada vez más al requerimiento nutricional real.

Indicadores fisiológicos:

La supervivencia y el buen desarrollo del camarón dependen del almacenamiento, la reorganización, y el uso de la energía. La energía derivada del alimento consumido es utilizada generalmente para el crecimiento y el metabolismo respiratorio, mientras que otras porciones se pierden durante la eliminación de desechos nitrogenados y las heces fecales (Ocampo, 2000). La acción dinámica específica de los alimentos, conocida como incremento de calor aparente (Beamish y Trippel, 1990; Rosas *et al.*, 1996) es un indicador del uso catabólico que está haciendo el organismo del alimento ingerido. Es, por tanto, evidente la conveniencia de conocer a detalle algunos indicadores bioenergéticos para el mejor aprovechamiento de la energía contenida en los alimentos, ya sean naturales o artificiales y por ende un manejo más adecuado de la cría o cultivo (Días-Iglesia *et al.*, 2001)

El requerimiento de energía de los camarones depende de las variaciones ambientales y por la capacidad de adaptación del animal (natural o controlado), por ejemplo, ante cambios repentinos en la salinidad, se empleará más energía de lo normal para adaptarse y sobrevivir al nuevo medio; así también en algunos procesos metabólicos como en muda y estadios larvales se requiere una mayor demanda de energía. Al analizar y tomar en cuenta lo anterior, se sabrá la cantidad y calidad del alimento para suplir las necesidades de energía del organismo, de esa manera se efectuarán adecuadamente los procesos biológicos internos y el crecimiento de los camarones (Rosas, 1999).

El consumo de O₂ es uno de los factores de gran interés porque de este depende el crecimiento de los organismos ya que el oxígeno es el último aceptor de electrones de la cadena respiratoria y su concentración intracelular dependerá a la cantidad de ATP producido y así tener la cantidad de energía requerida para hacer el trabajo de crecer (Rosas *et al.*, 1999) dentro del experimento los valores de consumo de oxígeno del metabolismo basal e ICA no presentaron diferencias significativas, lo cual nos podría sugerir que los camarones alimentados con los cinco niveles de proteína de los dos sistemas no diferenciaron en un gasto de energía al digerir los diferentes niveles de dietas, esto posiblemente porque se procuró que las dietas fueran isocalóricas. Rosas *et al.* (1998) mencionan que, si los niveles de oxígeno disuelto no son suficientes para satisfacer los costos asociados con el procesamiento del alimento ingerido, los organismos dejan de comer, lo que resultaría en una pérdida de energía y crecimiento. Aunque esta estrategia por otro lado asegura el aprovechamiento del oxígeno que el organismo necesita para producir la energía metabólica necesaria para realizar sus funciones básicas.

De acuerdo a Lucas (1993), citado por Pascual *et al.*, (2004) la energía puede ser definida como la cuantificación del cambio y la transformación de energía y materia entre organismos vivos en su medioambiente. Cuando este concepto se aplica al cultivo de camarón en estudios de nutrición, la energía ayuda a entender

como los nutrientes modulan los mecanismos fisiológicos relacionados con la transformación de la energía proveniente del alimento en biomasa donde la ecuación del balance bioenergético nos da un acercamiento a la cantidad de energía digerible, siendo esta la sumatoria de todos los procesos metabólicos que el camarón realiza a partir de una cantidad de energía proporcionada en forma de alimento, en este sentido esta ecuación nos puede proporcionar datos para saber cuánta energía del alimento es necesaria para obtener una tasa de crecimiento máxima y como los diferentes nutrientes provenientes del alimento se usan como fuente de energía metabólica para ganancia en biomasa, o se pierden como producto de desecho Pascual *et al.*, (2004). Teniendo esto en cuenta, la energía digerible que se presentó dentro del experimento difirió significativamente entre sistema y tratamiento, esto tal vez porque en las dietas con bajos niveles de proteína el camarón presenta una mayor tasa de ingestión lo que provocó un gasto innecesario de energía y al mismo tiempo una reducción en la absorción de aminoácidos que de acuerdo a Rosas *et al.* (2002) está relacionada con un tránsito más rápido del alimento ingerido lo cual afecta la asimilación de los nutrientes, esto concuerda con la diferencia en la energía retenida que se presentó dentro del experimento en las dietas con bajas concentraciones de proteína dentro de los dos sistemas, sin embargo en el sistema biofloc existió un factor compensatorio de energía asociada a los microorganismos, los cuales aportaron la energía necesaria para que el camarón pudiera alcanzar mejores tasas de biomasa, supervivencia y con ello obtener una mejor energía retenida.

Valor nutricional del biofloc.

La composición del biofloc y su valor nutricional puede contribuir en la nutrición de los camarones, reduciendo la necesidad de la adición de alimento artificial (Wasielesky *et al.*, 2006; Emerenciano *et al.*, 2012) la suma de estos factores puede dar lugar a mayores rendimientos mediante la reducción de los riesgos y de los costos asociados con las enfermedades, alimentos y calidad de agua, ya que los microorganismos presentes dentro del biofloc no solamente

remueven los excesos de los nutrientes, también están implicados en la provisión nutricional de los organismos lo que puede resultar en una mejor tasa de crecimiento y una mejor ganancia en peso (Azim *et al.*, 2008; Ray *et al.*, 2010)

Algunos de los grupos de microorganismos importantes dentro del sistema biofloc son: las bacterias, las algas y el zooplancton. Las algas como las diatomeas pueden utilizar el nitrógeno tóxico como el amonio y el fósforo para construir estructuras celulares, proteínas y azúcares, contribuyendo a cualidades tales como aminoácidos esenciales y ácidos grasos insaturados dentro de las dietas del camarón (Ju *et al.*, 2009). El zooplancton se alimenta de algas y bacterias y puede desempeñar un papel importante en la transferencia de nutrientes desde los productores primarios a los consumidores secundarios. Dentro de este grupo se encuentran los rotíferos que pueden contribuir significativamente a los requisitos de proteína y energía del camarón, sin embargo, el zooplancton también consume oxígeno y puede causar una reducción de la alcalinidad a través de la respiración (Ray 2010).

Dentro del biofloc existe una alta disponibilidad de comida muy diversa, esta diversidad de alimento recibe el nombre de “proteína nativa” la cual incluye bacterias, microalgas, protozoos, nematodos, copépodos y rotíferos. El concepto de proteína nativa está relacionado con la fuente de proteína sin tratamiento previo la cual incluye principalmente organismos vivos, dentro de los cuales las bacterias juegan un papel esencial en el equilibrio del sistema ya que ayudan a la re-ingestión de la materia orgánica particulada como las heces excretadas por los camarones lo cual resulta en un suministro constante de alimento. Por otro lado, la colonización del intestino de los camarones por bacterias crea un beneficio probiótico por ello, la ingesta de biomasa bacteriana podría ser responsable de un mejor rendimiento en cuanto al crecimiento ya que el biofloc es una fuente de aminoácidos libres, lípidos totales y ácidos grasos esenciales. (Emerencian *et al.*, 2012b; Emerenciano *et al.*, 2013a,b)

En cuanto al análisis proximal del biofloc mostro un porcentaje de proteína del 35%. Estos resultados fueron similares a los reportados por Wasielesky *et al.*, (2006), Emerenciano *et al.* (2012) y Magaña (2014) con 30%, 31% y 35% respectivamente, usando juveniles de *L. vannamei* y postlarvas de *F. brasiliensis*. Con todo lo anterior se puede mencionar que el biofloc represento una ventaja en comparación con el factor agua clara, esto por los organismos asociados ya que las cianobacterias como los nematodos son bien conocidos como alimentos naturales para camarón ya que presentan altos contenidos de proteína y lípidos (Emerenciano *et al.* 2013a,b).

Martin Albornoz (2016) en su tesis de licenciatura señala que los organismos encontrados en el contenido estomacal de *L. vannamei* contribuyen a la nutrición de los camarones, observó en orden de importancia a las cianobacterias y protozoarios ciliados, seguidos por otros grupos importantes como las vorticelas y gastotrichos y en menor proporción estaba los copépodos y rotíferos. Estos datos coincidiendo con los organismos encontrados a lo largo del experimento dentro del biofloc los cuales fueron: protozoarios, rotíferos, cianobacterias, diatomeas, copépodos, Turbelarios, Gastrotricos todos ellos siendo proveedores de alimento *in situ* ayudando a mejorar el crecimiento, sobrevivencia y biomasa de los camarones.

Presencia de *Vibrio* en el agua experimental.

El sistema inmunológico participa en el mantenimiento de la integridad biológica de cualquier organismo ya que permite reconocer y neutralizar a moléculas nocivas, provenientes del ambiente o de los procesos fisiológicos. Se considera que la inmunidad de los invertebrados es muy simple, ya que carece de algunos mecanismos presentes en los vertebrados, como las inmunoglobulinas y la memoria inmunológica. No obstante, los crustáceos constituyen uno de los grupos más antiguos y diversificados en el reino animal, y bajo esta perspectiva, representan

una importante suma de estrategias importantes contra las infecciones (Rosas *et al.* 2006).

Aunque los virus son los principales causantes de las altas mortalidades en granjas de camarón, existen también bacterias que pueden llegar a ocasionar una gran mortalidad dentro de los cultivos como es el caso de las bacterias del género *Vibrio* (Aguilera-Rivera 2013). Las infecciones por vibrios son quizá las enfermedades más comunes en la camaronicultura, debido a que estas bacterias son habitantes naturales de ambientes estuarino-marinos. Gómez-Gil (2006) describió que para que un cultivo se mantenga sano las UFC deben ser menor a 1000 por muestra de agua, teniendo en cuenta esto podemos asegurar que las condiciones dentro de los dos sistemas fueran óptimas y no interfirieron con los resultados obtenidos, ya que como se puede ver en la figura 31 los valores en ambos sistemas se mantuvieron por debajo de lo establecido para un buen desarrollo de los organismos.

Conclusiones

1. Los parámetros fisicoquímicos, así como la presencia de posibles patógenos dentro del agua experimental, se mantuvieron dentro de los rangos descritos para el óptimo desarrollo de los camarones peneidos, no encontrándose diferencias entre los dos sistemas experimentales que pudieran interferir en los resultados obtenidos.
2. Las postlarvas de *F. brasiliensis* cultivadas con un sistema de agua clara con dietas con un alto porcentaje de proteína, presentaron la misma tasa de crecimiento, biomasa y supervivencia, a las postlarvas cultivadas bajo un sistema biofloc con una mínima inclusión de proteína, esto debido a las propiedades del biofloc, descritas en el presente estudio.
3. En cuanto a los parámetros de producción, existió una diferencia marcada en la biomasa promedio final, así como en la supervivencia dentro del sistema biofloc en comparación con el sistema de agua clara, esto debido a los organismos asociados al biofloc poseen la capacidad de complementar los requerimientos nutricionales que *F. brasiliensis* necesita para un óptimo desarrollo debido al gran aporte de proteína *in situ* (aproximadamente 35%) que se presenta dentro del sistema.
4. A pesar de que no existieron diferencias significativas en las 5 inclusiones de proteína dentro del sistema biofloc para los parámetros zootécnicos, se propone trabajar con un porcentaje de proteína alrededor del 30%- 35% para un cultivo de postlarvas de *F. brasiliensis* ya que dentro de este intervalo de proteína es donde se encontraron los resultados más sobresalientes, resultando en costes de producción más bajos lo cual haría más rentable un posible cultivo.
5. Se propone seguir investigando las siguientes fases de desarrollo de *F. brasiliensis* para así poder cerrar el ciclo de cultivo y con ello poder ofrecer una alternativa más para el cultivo de camarones endémicos bien adaptados a las condiciones medioambientales de cada región.

6. El presente trabajo demuestra que *F. brasiliensis* puede ser una muy buena alternativa para pensar en el cultivo a gran escala utilizando sistemas super intensivos.

Bibliografía:

Aguilera-Rivera Diana (2013) Evaluación del efecto probiótico de los sistemas biofloc sobre la presencia de bacterias del género *Vibrio*, crecimiento, supervivencia y estado de salud en el camarón blanco del pacífico *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Maestría. UNAM.

Araneda G., Ortíz de Ora. F. A (1999) Growth in small Pens of the Caribbean Pink Shrimp *Penaeus* (*Farfantepenaeus*) *brasiliensis* (Latreille, 1817) on the Chakmuchuk Lagoon, Quintana Roo, México. Instituto Nacional de Pesca, CRIP Puerto Morelos Cancún. Q. Roo.

Arias-Castellanos, J. A.; Collazos-Lasso, L. F. (2015). Fundamentos de la tecnología biofloc (BFT). Una alternativa para la piscicultura en Colombia. Una revisión. *Orinoquia*, 77-86.

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

Avnimelech, Y. (2007). Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture*. 264, 140–147.

Avnimelech, Y. (2009). *Biofloc Technology A Practical Guide Book* The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States. 182 pp.

Avnimelech, Y. (2015). *Biofloc Technology A Practical Guide Book*, 3rd Edition. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.

Arredondo- Figueroa. J. L. (2002). El cultivo de camarón en México, actualidades y perspectivas. *Contatos* v43, 41-54.

Azim M.E., Little D.C., Bron J.E. (2008). Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture. *Bioresource Technology*, 99, 3590–3599.

Azim M.E., Little D.C. (2008) The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 283 (2008), pp. 29–35

Bureau B.P., Azevedo P.A., Tapia-Salazar M., Cuzon G. (2000). Pattern and cost of growth and nutrient deposition in fish and shrimp: potential implications and applications. *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, 19–22 Noviembre 2000, Mérida, México, 111–140.

Brito, R., Chimal, M.E., Rosas, C. (2000). Effect of salinity in survival, growth, and osmotic capacity of early juveniles of *Fartantepenaeus brasilianis* (decapoda: penaeidae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 244, 253 –263.

Crab R., Chielens B., Wille M., Bossier P., Verstraete W. (2010). The effect of different carbon sources on the nutritional value of biofloc, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquac. Res.*, 41, 559–569.

De Souza D. M., Medeiros-Suita S., Leivas-Leite F.P., Romano L. A., Wasielesky W., Cupertino-Ballester E.L. (2012) The use of probiotics during the nursery rearing of the pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) in a zero exchange system. *Aquaculture research* Volume 43, Pages 1828–1837

De Souza, D. M., Suita, S. M., Romano, L. A., Wasielesky, W. and 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. *Aquaculture Research*, 45, 270–277.

De Souza, D.M., Dias-Borges, D.F., Romano, L.A., Wasielesky Jr. W., Monserrat, M. J., Olivera-Garcia L. (2016). Antioxidant enzyme activities and immunological system analysis of *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc technology (BFT) at different water temperatures. *Aquaculture* (451), 436–443.

Dias-Iglesias E., Adriano R., Baez-Hidalgo M., Nodas F. (2001) Analisis Bioenergetico de la alimentación natural de la langosta común *Panolirus argus* (Latrielle, 1804) *Rev. Invest. Mar* 22(1):33-38.

Ebeling J.M., Timmons M.B., Bisogni J.J (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic and heterotrophic removal of ammonia—nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257, pp. 346–358

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.

Emerenciano, M., Ballester E.L.C., Cavalli, R.O. y Wasielesky W. (2012). Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture Research*, 43, 447-457.

Emerenciano, M., Cuzon, G., Goguenheim, J., Gaxiola, G., & Aquacop. (2012b). Floc contribution on spawning performance of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Aquaculture Research*, 44(1), 75–85.

Emerenciano, M., Cuzon, G., Paredes, A., Gaxiola, G., (2013). 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., Cuzon, G., Arévalo, M., Mascaró Miquelajauregui, M., & Gaxiola, G. (2013b). Effect of short-term fresh food supplementation on reproductive performance, biochemical composition, and fatty acid profile of *Litopenaeus vannamei* (Boone) reared under biofloc conditions. *Aquaculture International*, 21(5), 987–1007.

FAO. (2016). *The State of World Fisheries and Aquaculture. Contributing to food security and nutrition for all*. Rome. 200 pp.

FAO. (2011). *Desarrollo de la Acuicultura, enfoque sistemático a la acuicultura*. Roma ISSN. 1020-5314.

FAO. (1980) CATALOGUE Vol.1 - Shrimps and Prawns of the World. An Annotated Catalogue of Species of Interest to Fisheries.L.B. Holthuis. FAO Fisheries Synopsis No.125, Volume 1.

Garcia, T., Gaxiola, G., Garcia, T., Pedroza, R., Soto, L., López, N., Rosas, C. (1998). Influencia de las proteínas dietéticas sobre el crecimiento, la sobrevivencia y el rendimiento de las postlarvas del camarón blanco (*Penaeus setiferus*) y del camarón rosado (*P. duorarum*) del Golfo de México. *Aquatic No. 2*.

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.

Gómez-Gil, B. (2006). *Manual de Bacteriología*. CIAD Mazatlán, México.

Hostins, B., Braga A., Lopes, D. L.A., Wasielesky W., & Poersch Luís H.(2015). Effect of temperature on nursery and compensatory growth of pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* reared in a super-intensive biofloc system. *Aquacultural Engineering*. (66), 62–67.

J. Wyban, W.A. Walsh, D.M. Godin (1995), Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) Aquaculture, 138 pp. 267-279.

Ju Z.Y., Forster I., Conquest L., Dominy W. (2008). Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. Aquac. Nutr., 14, 533–543.

Lester, L. J. & Ma. J.R. Panten. (1992). Peneid temperature and salinity responses, p. 515-534. In A. W. Fast y L.J.Lester (eds.). Marine Shrim Culture: Principles and Practices. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, 23. Elsevier. Nueva York.

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.

Magaña. G. E. (2014). Determinación del valor nutricional del floc en el camarón blanco del pacífico (*Litopenaeus vannamei*) y el camarón rojo del Caribe (*Farfantepenaeus brasiliensis*). Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma De México. México.

Paredes. M. A. (2003) Normas técnicas relacionadas con la producción de postlarvas de tres especies de camarones: *Litopenaeus setiferus* (Linneo 1767, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817): Crustacea: decapada. Tesina de especialización en camaronicultura. Instituto Tecnológico del Mar. Campeche.

Maldonado C., Cuzon G., Guzman E., Brito R., Soto L., Arena L., Gaxiola G. (2009). Effect of an herbivorous diet on energy balance of *Litopenaeus vannamei* at selected ontogenetic stages. Aquaculture. Volume 296, (1–2), 123–128.

McTigue, T. A., Zimmerman, R. J. (1991). Carnivory versus herbivory in juvenile *Penaeus setiferus* (Linnaeus) and *Penaeus aztecus* (Ives). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 151, 1-16.

Monroy-Dosta, M.C., De Lara-Andrade, R., Castro-Mejía, J., Castro-Mejía, G., Coelho-Emerenciano, M.G. (2013). Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de tilapia. *Revista de biología marina y oceanografía*, 48(3), 511-520.

Moreno-Arias. A., López-Elías J.A., Martínez-Córdova L.R., Ramírez- Suarez J.C.,Carvallo-Ruiz M.G., García-Sanchez G., Lugo-Sanchez M.E., Mirinda-Baeza A.(2017). Effect of fishmeal replacement with a vegetable protein mixture on the amino acid and fatty acid profiles of diets, biofloc and shrimp cultured in BFT system. *Aquaculture*.Volume 483, 20 January 2018, Pages 53-62.

Naylor R.L., Goldberg R.J., Primavera J.H, Kautsky N., Beveridge M.C.M, Clay J., Folke C., Lubchenco J., Mooney H., Troell M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405, 1017–1024.

Ocampo, V.L. (2000). Energía metabolizable y eficiencia neta de crecimiento bajo el efecto de variaciones medioambientales en el camarón pp.187-201 En:Civera-Cerecedo, R., Pèrez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz Suárez, L.E.(Eds.) *Avances en nutrición Acuicola IV Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. Noviembre 15-18,1998. La paz, B.C.S., Mèxico.

Pascual, C., E. Zenteno, G. Cuzon, A. Sánchez, G. Gaxiola, G. Taboada, J. Suárez, T. Maldonado, & C. Rosas. (2004). *Litopenaeus vannamei* juveniles energetic balance and immunological response to dietary protein. *Aquaculture* 236: 431–450.

Pascual J. C. (2005). Aspectos de la Fisiología de la adaptación de los juveniles de *Litopenaeus vannamei*: Una perspectiva inmunológica. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Pérez-Farfante, I., Kensley, B. (1997). Penaeoid and sergestoid shrimp and prawns of the world. Keys and diagnoses for the families and genera. Éditions du Muséum national d'Histoire naturelle. Paris.

P. Van Wyk, J. Scarpa Water quality and management (1999), Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems, Florida Department of Agriculture and Consumer Services. P. Van Wyk, et al. (Eds.), , Tallahassee pp. 128-138.

Ray J. A., Seaborn G. Leffler W.J., Wilde. B.S., Lawson A., Browdy L.C (2010). Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. Aquaculture Volume 310, Issues 1–2 , Pages 130–138.

Rodier. J. (1981). Análisis de las aguas. Omega. Barcelona. 504 pp.

Rosas, C. Sánchez A., Díaz-Iglesia E., Soto L.A., Gaxiola G., Brito R., Baes M., y Pedroza, R. (1995). Oxygen consumption and ammonium excretion of *Penaeus setiferus*, *P. shmitti*, *P. dourarum* and *P. notialis* postlarvae fed purified test diets: Effect of protein level on substrate metabolism. Aquatic Living Resources, 8, 161-169.

Rosas, C. (1996) Bioenergética de camarones peneidos: una forma de comprender los mecanismos fisiológicos involucrados en la nutrición. Avances en Nutrición Acuícola III: Memorias del Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuícola,

(eds L. E. Cruz Suárez, D. Ricque Marie & R. Mendoza Alfaro), pp. 33–63. Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Rosas, C. (1999) Ecofisiología de Camarones de la Familia Penaeidae, México: Universidad Nacional Autónoma de México.

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Taboada, G., Arena, L. (2002). VanWormhoudt An energetic and conceptual model of the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 268 (2002), pp. 47-67.

Rosas, C., Sánchez, A., Chimal, M. E., Brito, R. (2003). Manual de métodos para la evaluación del balance energético en crustáceos. Laboratorio de Ecología y Biología Marina Experimental, Facultad de Ciencias, UNAM. Jornadas Iberoamericanas de nutrición en acuicultura. Cartagena de Indias.

Rosas, C., Carrillo, O., Wilson, R., Andreatta E. (2006). Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos cultivados en iberoameric. Subprograma II acuicultura red temática II.C. México D.F.

Souza, D. M. Martins, C. A., Jensen, L., Monserrat, J. M., Wasielesky Jr. W., Garcia, L. (2013). Effects of water temperature on oxidative stress parameters in the pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* during transport. *Aquaculture* 416-417, 310–314.

Toledo, T. M., Silva, B. C., Vieira, F. d. N., Mouriño, J. L. P., Seiffert, W. Q. (2016). Effects of different dietary lipid levels and fatty acids profile in the culture of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in biofloc technology: water quality, biofloc composition, growth and health. *Aquaculture Research*, 47, 1841–1851.

Wasielesky W Jr, Atwood H, Stokes A, Browdy CL (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., 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, 147-153.

Yun, H., Shahkar, E., Katya, K., Jang, I.K., Kim, S. K., Bai, S. C. (2015). Effects of bioflocs on dietary protein requirement in juvenile whiteleg Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*. doi: 10.1111/are.12772

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

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