



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

**ESTUDIO DEL DESEMPEÑO NUTRICIONAL DEL CAMARÓN
BLANCO DEL GOLFO DE MÉXICO (*LITOPENAEUS SETIFERUS*)
CULTIVADO EN UN SISTEMA SIN RECAMBIO DE AGUA, A
DIFERENTES SALINIDADES Y CON ALIMENTO LIBRE DE
HARINA DE PESCADO.**

TESIS

QUE PARA OPTAR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
(ACUACULTURA)

PRESENTA:
XURXO BARRAL PINTOS

TUTORA PRINCIPAL:

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

COMITÉ TUTOR:

DR. JESÚS TRINIDAD PONCE PALAFOX
(ESCUELA NACIONAL DE INGENIERÍA PESQUERA-UAN)

DR. MARTÍN FEDERICO SOTO JIMÉNEZ
(INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA-UNAM)

DR. FERNANDO DÍAZ HERRERA
(CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y SUPERIOR DE ENSENADA)

DR. ROBERTO CIVERA CERECEDO
(CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE)

SISAL, YUCATÁN, JUNIO 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.



**ESTUDIO DEL DESEMPEÑO NUTRICIONAL DEL CAMARÓN
BLANCO DEL GOLFO DE MÉXICO (*LITOPENAEUS SETIFERUS*)
CULTIVADO EN UN SISTEMA SIN RECAMBIO DE AGUA,
ADIFERENTES SALINIDADES Y CON ALIMENTO LIBRE DE
HARINA DE PESCADO.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
(ACUACULTURA)

PRESENTA:
XURXO BARRAL PINTOS

TUTORA PRINCIPAL:
DRA. MARTHA GABRIELA GAXIOLA CORTÉS
(FACULTAD DE CIENCIAS-UNAM)

COMITÉ TUTOR:
DR. JESÚS TRINIDAD PONCE PALAFOX
(ESCUELA NACIONAL DE INGENIERÍA PESQUERA-UAN)
DR. MARTÍN FEDERICO SOTO JIMÉNEZ
(INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA-UNAM)
DR. FERNANDO DÍAZ HERRERA
(CENTRO DE INVESTIAGACIÓN CIENTÍFICA Y SUPERIOR DE ENSENADA)
DR. ROBERTO CIVERA CERECEDO
(CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE)

SISAL, YUCATÁN, JUNIO 2018

Este presente trabajo fue realizado en la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la Facultad de Ciencias, UNAM con sede en Sisal, Yucatán con el apoyo financiero del proyecto PAPIIT IN221316 bajo la dirección de la Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés.

AGRADECIMIENTOS:

Agradezco al Comité Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por la beca 747423 que me fue otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

Mi más sincera gratitud a los técnicos miembros del equipo camarón que me han apoyado y enseñado a lo largo la maestría: Dr. Juan Carlos Maldonado Flores, M. en C. Manuel Ángel Valenzuela, M. en C. Miguel Arévalo, Ing. Adriana del Carmen Paredes, M. en C. Karla Susana Escalante.

De igual manera agradezco a la M. en C. Claudia Patricia Caamal por su apoyo en el entendimiento y montaje del respirómetro.

Al biólogo Samuel David Quintana por ser parte indispensable en la ejecución de los dos experimentos.

A la Ing. Bioquímica Yenni Natali Casanova por su enorme ayuda con los análisis bioquímicos.

A mis padres por darme todo en esta vida, gracias.

A mis amigos, compañeros y todas las personas que me motivaron, aguantaron y acompañaron en esta aventura.

Esta tesis está dedicada a **Teresita Andrés Barros**, una de las personas más importantes de mi vida, a quién debo tanto de lo bueno que hay en mi persona y quien por la distancia no pude despedir. Siempre estarás conmigo.

También quiero dedicar a **Cali**, la mejor perra que pude haber tenido y que se fue antes de lo que le tocaba. Gracias por llegar y alegrar mis días, siempre estarás en mi corazón.

RESUMEN

La camaronicultura es uno de los sectores acuícolas más importantes y en constante expansión, y en México, la única especie que se cultiva es *Litopenaeus vannamei*. El sector se enfrenta a grandes retos, tales como disminuir el impacto ambiental, las enfermedades, reducir la dependencia de la harina de pescado y la diversificación de las especies de cultivo.

En este estudio se compararon dos sistemas de cultivo para el desarrollo de juveniles silvestres de *Litopenaeus setiferus*, especie nativa del Golfo de México.

En un primer ensayo se compararon dos sistemas de cultivo: agua clara y biofloc, y con dos alimentos: uno comercial y otro experimental libre de harina de pescado. Pese a no hallarse diferencias significativas, los mejores resultados se obtuvieron en el tratamiento con biofloc, alimentando con alimento comercial. Se concluyó que el biofloc es mejor sistema de cultivo para esta especie en etapa de juvenil de 8.1 g.

En un segundo experimento se comparó el cultivo en biofloc a dos salinidades: 35 y 8 ups, y con dos alimentos: uno comercial y uno experimental libre de harina de pescado. Los camarones empleados en este experimento fueron juveniles de 4.7 gramos. Los dos tratamientos en baja salinidad fueron suspendidos a la mitad del tiempo programado para el experimento debido a un aumento de la concentración de nitrito que provocó una alta mortandad. No obstante, se obtuvo una mayor supervivencia con el alimento comercial. Los tratamientos de agua a 35 ups no presentaron diferencias significativas en crecimiento, ni en supervivencia, aunque los mejores resultados se obtuvieron con el alimento comercial. El crecimiento fue pobre con ambos tratamientos, pero la buena supervivencia obtenida, del 90%, promueve que se continúe experimentando con esta especie.

ABSTRACT

Shrimp farming is one of the most important and constantly growing aquaculture sectors, in Mexico the only cultivated species is *Litopenaeus vannamei*. The sector faces great challenges to reduce environmental impact, diseases, reduce dependence on fishmeal and diversification of crop species.

This study analyzes which culture system is best for the development of wild juveniles of *Litopenaeus setiferus*, a species native to the Gulf of Mexico.

In a first test, two culture systems are compared: clear water and biofloc, and two diets: a commercial one and another experimental free of fishmeal. Although no differences were found, the best results were obtained in the treatment cultivated in biofloc fed with a commercial diet. It was concluded that biofloc was the best culture system for 8.1 g wild juveniles of this species.

In a second trial, biofloc culture was compared in two salinities: 35 and 8 psu, and two diets: a commercial one and another experimental free of fishmeal. The two low salinity treatments were disassembled in the middle of the experiment cause of an increase in the concentration of nitrite that caused a high mortality, the treatment fed with commercial diet presented a greater survival. Treatments cultivated at 35 psu did not show significative differences neither in growth nor in survival, although the best growth and survival occurred in the treatment fed with commercial diet. The growth was low in both treatments but the survival was very high, which invited to continue experimenting with this species.

Tabla de contenidos

1-Introducción:	1
1.1-Panorama acuícola	1
1.2-Biología de <i>Litopenaeus setiferus</i>	3
1.3-Biofloc y salinidades	5
2-Antecedentes:.....	6
2.1-Biofloc y camaronicultura	6
2.2-Cultivo de <i>Litopenaeus setiferus</i>	8
3-Justificación.	10
4-Hipótesis:.....	10
4.1-Experimento 1:	10
4.2-Experimento 2:	10
5-Objetivos:.....	11
5.1-Objetivo General	11
5.2-Objetivos específicos	11
6-Material y métodos	11
6.1-Origen de los organismos.....	11
6.1.1-Primer experimento.....	11
6.1.2-Segundo experimento.....	12
6.2-Diseño experimental	12
6.3-Preparación del biofloc.....	14
6.4-Manejo.....	15
6.5-Formulación de alimentos	16
6.5.1-Primer experimento.....	16
6.5.2-Segundo experimento.....	18
6.5.3- Análisis proximal del alimento.....	21
6.6-Elaboración del alimento experimental.....	22

6.7-Parámetros Zootécnicos.....	24
6.7.1-Supervivencia.....	24
6.7.2-Crecimiento.....	24
6.7.3-Biomasa.....	25
6.7.4- Tasa específica de crecimiento.....	25
6.8-Indicadores fisiológicos.....	25
6.8.1-Consumo de oxígeno.....	25
6.8.2-Excreción amoniacal.....	26
6.8.3-Calorimetría.....	26
6.8.4-Energía de la muda.....	27
6.8.5-Modelo de balance energético.....	27
6.9-Indicadores bioquímicos.....	28
6.9.1-Hemocianina.....	28
6.9.2-Procesamiento del hepatopáncreas.....	28
6.9.3-Tripsina.....	29
6.9.4-Quimotripsina.....	29
6.9.5- α -Amilasa.....	30
6.9.6-Proteínas solubles totales.....	30
6.10-Análisis estadístico de los resultados.....	31
7-Resultados.....	31
7.1-Experimento 1.....	31
7.1.1-Parámetros de calidad del agua de cultivo.....	31
7.1.2-Parámetros zootécnicos.....	33
7.2-Experimento 2.....	35
7.2.1-Parámetros de calidad del agua de cultivo.....	35
7.2.2-Parámetros zootécnicos.....	38
7.2.3- Indicadores fisiológicos.....	39

7.2.4-Indicadores bioquímicos y enzimáticos.....	40
8-Discusión	41
8.1-Experimento 1	41
8.1.1-Parámetros físico-químicos del agua de cultivo.....	41
8.1.2-Parámetros zootécnicos.....	42
8.2-Experimento 2	43
8.2.1-Parámetros físico-químicos del agua de cultivo.....	43
8.2.2-Parámetros zootécnicos.....	44
8.2.3-Parámetros fisiológicos	45
8.2.4-Parámetros bioquímicos y enzimáticos.....	46
9-Conclusiones	47
9.1-Primer experimento.....	47
9.2-Segundo experimento.....	48
10-Literatura citada	49

Índice de Figuras

Figura 1. Proporción harina de pescado y harina de oleaginosas	2
Figura 2. Distribución de <i>Litopenaeus setiferus</i>	4
Figura 3.Capturas anuales de <i>Litopenaeus setiferus</i>	5
Figura 4. Diagrama del sistema experimental.....	14
Figura 5. Digestibilidad <i>in vitro</i> de las harinas.....	20
Figura 6. Harinas tamizadas	23
Figura 7. Evolución del amonio y nitritos en biofloc	33
Figura 8. Detalle de los pleópodos	34
Figura 9. Evolución del amonio y nitritos en 35 ups.....	37
Figura 10. Evolución del amonio y nitritos en 8 ups	38

Índice de Tablas

Tabla 1. Diseño experimental	13
Tabla 2.Composición proximal del alimento 40% Proteína.....	17

Tabla 3. Composición en ingredientes del alimento experimental 1.	18
Tabla 4. Composición proximal del alimento 35% proteína.	19
Tabla 5. Composición en ingredientes del alimento experimental 2.	21
Tabla 6. Composición proximal de los alimentos experimentales.	22
Tabla 7. Parámetros físico-químicos del agua del experimento 1.	32
Tabla 8. Parámetros zootécnicos del experimento 1.	34
Tabla 9. Parámetros físico-químicos del agua del experimento 2.	36
Tabla 10. Parámetros zootécnicos del experimento 2.	39
Tabla 11. Parámetros fisiológicos del experimento 2.	40
Tabla 12. Respiración basal y postprandial.	40
Tabla 13. Indicadores bioquímicos y enzimáticos del experimento 2.	41

1-Introducción:

De las 32 entidades federativas que conforman la República Mexicana, 17 tienen apertura al mar y representan el 56% del territorio nacional, la longitud de costa del país, sin contar la correspondiente a las islas, es de 11,122 Km. En el litoral del Pacífico y Golfo de California se tienen 7,828 Km y 3,294 Km en el Golfo de México y Mar Caribe (Semarnat, 2012). Los litorales nacionales se aprovechan principalmente para la pesca y la acuicultura, proporcionando seguridad alimentaria, fuente de empleo, recreación, comercio y bienestar económico para el país.

1.1-Panorama acuícola

La acuicultura representa un importante sector de la producción de alimento a nivel mundial; es una importante fuente de proteínas y genera empleo que sustenta a gran número de familias. Desde 1970 hasta 2009 la acuicultura ha incrementado anualmente su volumen de producción en un 8% de media a nivel global (Olsen & Hasan 2012). Esta tendencia se ha suavizado en los últimos años, pero la zona de América latina y Caribe, durante los primeros doce años del nuevo milenio, han ido creciendo por encima de la media, a un ritmo del 10% anual (FAO, 2014). En el año 2014, México se situaba como el quinto país en volumen de producción del continente americano (FAO, 2014).

Dentro de la acuicultura, la camaronicultura ha sido la que ha demostrado un desarrollo exponencial más grande con respecto a las demás actividades en los últimos años. Esto ha sido a causa de las altas demandas del mercado, la sobrepesca, el progreso tecnológico, y la disminución de stocks silvestres (Páez-Osuna, 2001). No obstante, zonas que se dedicaban a cultivos en escala regional se han ido expandiendo a granjas de grandísimas extensiones. Sin embargo, los métodos tradicionales de producción de camarón pueden presentar altos impactos negativos en el medio ambiente circundante a dichas granjas dentro de los cuales están, el uso constante de grandes cantidades de agua, eutrofización, transformación del paisaje, descarga de aguas hiperhalinas, fugas de especies invasoras y epizootias entre otros (Chavez & Montoya, 2004).

La harina de pescado ha sido la fuente de proteína más utilizada en los alimentos comerciales para acuicultura. De hecho, uno de los retos de esta industria es avanzar hacia la sustentabilidad mediante la sustitución de estas harinas por otras alternativas. Los alimentos peletizados y extruidos incluían de 250-500 g/Kg de harina y aceite de pescado (Megahed 2010), los cuales eran obtenidos principalmente de la pesquería de la anchoveta; de la cual Perú es el principal productor mundial. En ese país, uno de cada seis niños sufre de malnutrición crónica, pero la producción de anchoveta se dedica a la elaboración de alimento para la industria acuícola en vez de para consumo humano, pese a contar con un perfil nutricional adecuado (Majluf *et al.*, 2017).

Numerosos estudios se han enfocado en la sustitución de estas harinas por otras de origen vegetal o de subproductos de otras industrias, como la harina de ave (Maldonado *et al.*, 2009; Megahed *et al.*, 2010; Gamboa-Delgado *et al.*, 2014; Moreno-Arias *et al.*, 2016). Las propias compañías productoras de alimento acuícola han ido reduciendo el porcentaje de inclusión de harina de pescado en sus formulaciones, por motivos económicos más que ambientales, de hecho se puede observar la tendencia en la Figura 1 (FAO 2016).

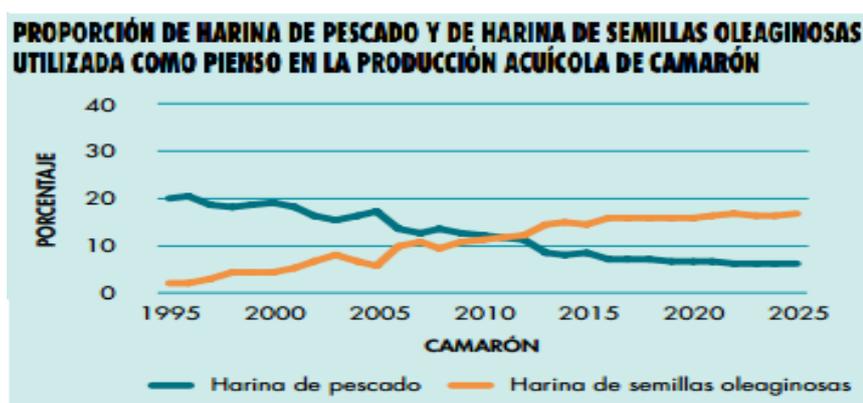


Figura 1. Proporción de harina de pescado y harina de semillas oleaginosas utilizadas como pienso en la producción acuícola de camarón (FAO 2016).

Desde la década de los 90's se comenzaron las primeras experiencias de cultivos de especies marinas eurihalinas en agua dulce y salobre. Las primeras experiencias se llevaron a cabo con *L. vannamei* en Tailandia y este tipo de cultivo se expandió rápidamente hacia Estados Unidos, Ecuador, Brasil, China y Australia. Se debe en gran parte a que estos países poseen aguas subterráneas con >1 ups, lo cual es indicado para el cultivo de camarón (Roy *et*

al., 2010). En el año 2012 la producción de camarón en agua salobre fue de 2,281,000 toneladas métricas (tm) mientras que la producción en agua dulce fue de 696,000 tm (FAO 2015). Otra de las ventajas de la camaronicultura epicontinental es que el camarón puede ser cultivado cerca de los grandes mercados y ser ofrecido verdaderamente fresco a los principales centros de consumo de muchas ciudades (Boyd y Thunjai, 2003).

Desde 1985, la camaronicultura en México ha sido una de las actividades económicas de más alto crecimiento. En 2016, México produjo un total de 211,096 tm de camarón entre pesca y acuicultura, lo que lo sitúa como el noveno productor a nivel mundial de este preciado crustáceo (SAGARPA, 2017). Las especies de camarón que se han cultivado en México son *L. vannamei* y *L. stylirostris*, aunque en la actualidad se ha abandonado el cultivo de este último (Ezquerro-Brauer *et al.*, 2003; Páez-Osuna, 2005). Del mismo modo, en México se ha investigado mucho y se cuenta con la tecnología disponible y la experiencia que permite producir camarón blanco del Pacífico *L. vannamei* en sistemas intensivos en agua a muy baja salinidad (0.5 ups) (Angulo *et al.*, 2005; Godínez-Siordia *et al.*, 2011).

La contraindicación del cultivo de *L. vannamei* en zonas del Golfo de México es el peligro de transmisión de enfermedades a las poblaciones naturales de otras especies de camarón (FAO 2004) y la transfaunación. De hecho, ya hay reportes de capturas de *L. vannamei* silvestre de poblaciones del medio natural en el Golfo de México, en la zona de Tabasco (Wakida-Kusunoki *et al.*, 2011) o la presencia de *Penaeus monodon* en la costa Este de la Península de Yucatán (Wakida-Kusunoki *et al.*, 2013).

1.2-Biología de *Litopenaeus setiferus*

Perteneciente a la familia de los peneidos, tiene una amplia distribución desde el Norte de la costa Este de Estados Unidos hasta el estado de Campeche. Es una especie que normalmente habita en zonas estuarinas y en las zonas someras del litoral; es raro encontrarla en profundidades mayores a 30 metros. Las puestas se realizan en el mar, las postlarvas y juveniles crecen en las zonas estuarinas con abundante vegetación, donde se alimentan de detritus y pequeñas presas; presentando hábitos omnívoros. Es una especie

eurihalina ya que se ha encontrado hasta 210 km río arriba en Florida (Perez-Farfante 1969) y la salinidad más baja en la que se tiene registro es a 0.42 ups en el río St. John (Muncy 1984), aunque una posible explicación de su presencia es la alta concentración de Ca^+ en dicho río.

Estas características alimentarias y de tolerancia salina hacen de esta especie que sea una firme candidata para el cultivo en acuicultura (Sandifer *et al.*, 1993; Hopkins *et al.*, 1993).

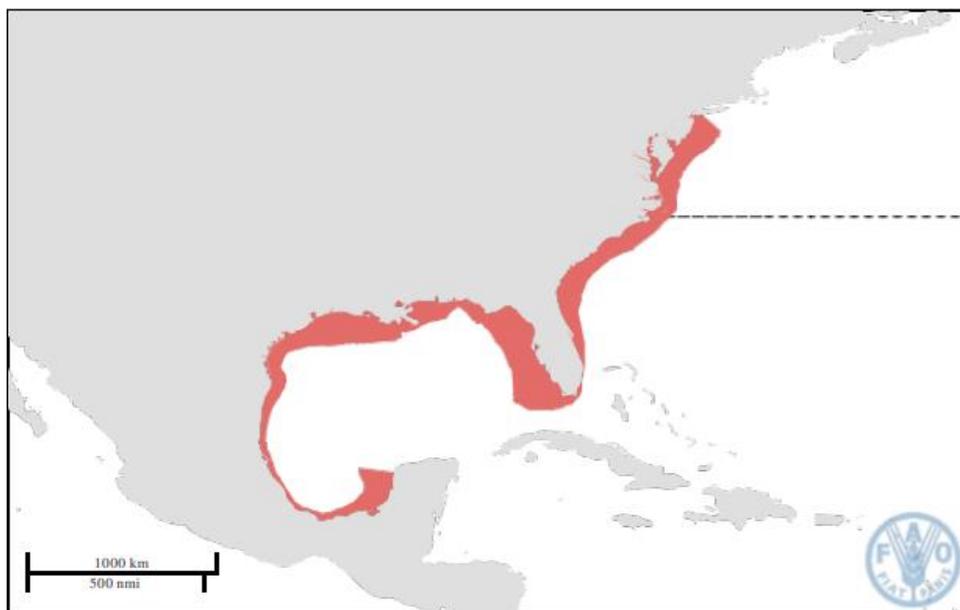


Figura 2. Distribución de *Litopenaeus setiferus* (tomado de FAO, 1980).

Se trata de una especie cuya importancia pesquera es, y ha sido, de gran importancia en el Golfo de México en las últimas décadas, siendo extraídas 38,156 tm/año de media entre 1984-1998 solo por la flota de EEUU. Desafortunadamente, la flota mexicana no desglosa por especie las capturas de camarón, sino que reporta la cantidad de peneidos totales extraídos (FAO, 2003). Comenzando el actual siglo, el volumen de capturas se ha visto acrecentado, llegando un año a superar las 60,000 toneladas y manteniéndose el promedio por encima de las 40,000 toneladas/año (FAO FishStat, 2016).

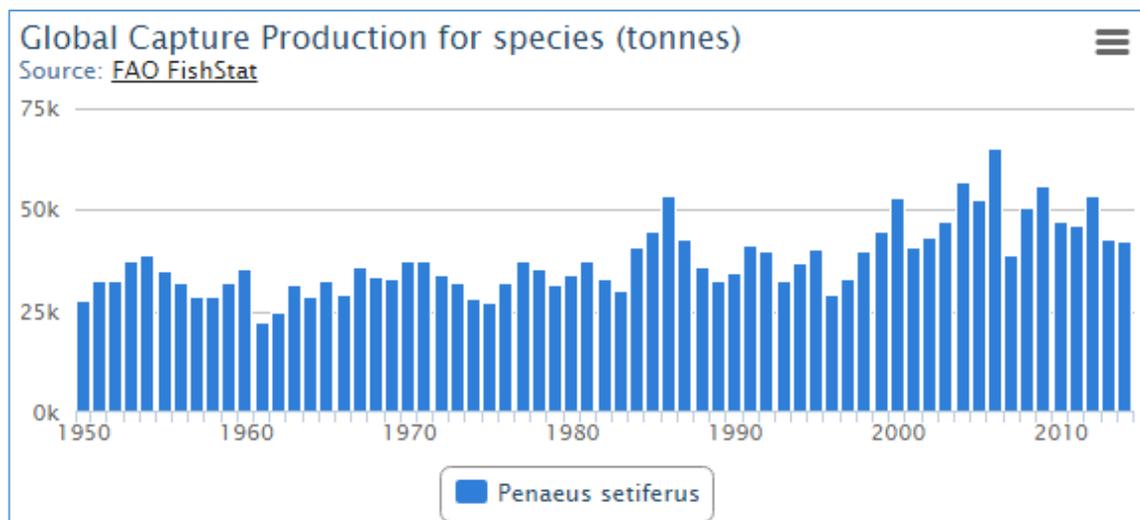


Figura 3. Capturas anuales de *Litopenaeus setiferus* (tomado de FAO FishStat, 2016).

1.3-Biofloc y salinidades

A pesar de los grandes beneficios, la camaronicultura tradicionalmente también ha traído una serie de problemas considerables:

- Destrucción de manglar para construir los vastos esteros de cultivo extensivo (Primavera 1997).
- Descargas de aguas de desecho con un alto aporte de nutrientes, causando así la eutrofización de la zona de descarga (De Schryver *et al.*, 2008).
- La utilización de altas cantidades de agua para la obtención de un kilogramo de camarón (Tacon y Metian, 2008).
- La fuerte dependencia de ingredientes de origen de la pesca extractiva; aceites y harinas de pescado; los cuáles se han ido encareciendo conforme aumenta la demanda y se reducen las poblaciones naturales (Olsen y Hasan, 2012).

El biofloc es un agregado formado por bacterias, hongos, invertebrados y pequeñas partículas orgánicas e inorgánicas (Avnimelech, 2009), el cual representa una alternativa como fuente y suplemento proteico en la alimentación de camarones. Este proviene de los sistemas de cultivo de la Tecnología Biofloc (BFT en inglés), el cuál es una opción emergente para el desarrollo de una acuicultura más amigable con el medio y sostenible.

Este tipo de cultivo presenta varias ventajas frente al tradicional, ya que durante el crecimiento del camarón en este sistema, el consumo del biofloc

satisface una fracción significativa de la demanda proteica, a la par que se observa una mejora en la tasa de crecimiento del camarón (Burford *et al.* 2004; Wasielesky *et al.* 2006; Crab *et al.* 2012).

Otro gran beneficio es el bajo o nulo recambio de agua, el cuál minimiza el impacto en el medio, disminuye los costos operacionales de manejo y limita las posibles entradas de patógenos del medio hacia los cultivos, incrementado así la bioseguridad (Wasielesky *et al.* 2006; Browdy *et al.* 2001).

En este tipo de cultivo los microorganismos juegan un rol de mayor importancia respecto a la productividad natural, ciclado de nutrientes, calidad del agua y nutrición de los animales cultivados (Moriarty 1997; McIntosh *et al.* 2000). El control de la comunidad bacteriana heterotrófica sobre los organismos autótrofos es llevado a cabo a través del uso de altas tasas Carbono-Nitrógeno (C:N) (Avnimelech *et al.* 1994). La absorción de amonio realizada por las bacterias mejora la calidad del agua e incrementa la producción de biomasa microbiana (Avnimelech 1999; Moss *et al.* 1999). Estos procesos sirven como combustible para el funcionamiento del sistema de biofloc (Burford *et al.* 2004; Cohen *et al.* 2005). Además, una fuente de alimento rica en nutrientes pasa a estar disponible 24 horas al día y puede reducir el suministro de alimentos artificiales, reduciendo así los gastos en alimentación (Browdy *et al.* 2001; Avnimelech 2007; Samocha *et al.* 2004).

2-Antecedentes:

2.1-Biofloc y camaronicultura

Los primeros en desarrollar la tecnología biofloc fueron los franceses en la década de los 70's en el COP del Ifremer de Haití (Centro Oceánico del Pacífico perteneciente al Ifremer, Instituto Francés de Investigación para la Explotación del Mar) para el cultivo de camarones peneidos tales como *Penaeus monodon*, *Fenneropenaeus merguensis*, *Litopenaeus vannamei* y *L. stylirostris* (Aquacop, 1975). Las altas densidades de cultivo, el menor uso de agua, disminución de la emisión de efluentes y la reducción del riesgo de entrada y emisión de patógenos al medio (Tacon *et al.* 2002; Crab *et al.* 2012) hacen de este sistema una alternativa con menos impacto ambiental que el cultivo tradicional. Muchos estudios se han llevado a cabo en sistemas de

biofloc con diferentes nombres como cero recambio de agua, aeróbico, heterotrófico, cero recambio/estrategia de reciclado y sistemas de reúso microbiano con aireación (Hargreaves, 2013), aunque todos estos trabajos deben ser considerados BFT (iniciales de Tecnología Biofloc en inglés) como propuso Avnimelech (2007).

De acuerdo con Emerenciano *et al.* (2012) en el biofloc está presente proteína nativa, aminoácidos y vitaminas preservadas de la oxidación, mejorando el desempeño nutricional y reproductivo de *L. stylirostris* en comparación a los organismos mantenidos en agua clara.

Aparte de los beneficios de la constante disponibilidad del alimento, los cultivos con biofloc pueden reducir de manera drástica la necesidad de aportar grandes cantidades de proteína en el alimento artificial, como demostró Megahed (2010), en su estudio donde comparó el crecimiento del juvenil de camarón *Penaeus semisulcatus* en sistema biofloc con 4 alimentos con diferentes contenidos de proteína (31.15; 21.6; 18.45 y 16.25% de proteína cruda) en comparación a un alimento comercial con 42.95% de proteína cruda. Los mejores resultados se observaron en los tanques alimentados con el alimento de 18.45% de proteína cruda; muy similares a los otros en sistema biofloc; mientras que sí hubo diferencias significativas de estos con el tanque de control en agua clara y con una alta cantidad de proteína.

Moreno-Arias *et al.* (2016) procedió a un cultivo de postlarvas de *L. vannamei* en biofloc a 5 ups en el que presentaba una serie de alimentos isocalóricos e isoproteicos en las que sustituía la harina de pescado por proteína de origen vegetal, teniendo valores de 0%, 10%, 20% y 30% harina de pescado comparado con un control de alimento comercial. Respecto a los parámetros de la calidad de agua estos no presentaron ninguna diferencia significativa. El crecimiento se mantuvo similar entre tratamientos, obteniéndose el mayor crecimiento con el alimento comercial, seguido por el alimento con un 0% de harina de pescado en su composición. No se observó diferencia significativa en la supervivencia entre los distintos tratamientos. La actividad enzimática fue mayor en los tratamientos con harinas vegetales respecto al control, aunque no siguió un patrón determinado respecto al grado de inclusión de proteína vegetal.

Magaña-Gallegos *et al.* (2018a; 2018b) mediante isotopía estable comparó la contribución relativa de las fuentes alimenticias al musculo de juveniles de *L. vannamei* y *F. brasiliensis* en un cultivo en biofloc. La contribución relativa de las partículas de biofloc mayores a 250 µm de diámetro fue muy superior (77.6% en *L. vannamei* y 97.3% en *F. brasiliensis*) a la del alimento balanceado (15.3% en *L. vannamei* y 1.3% en *F. brasiliensis*); siendo complementaria esta última fuente alimenticia.

2.2-Cultivo de *Litopenaeus setiferus*

Aunque posee una menor tasa de crecimiento que *L. vannamei*, *Litopenaeus setiferus* ha sido considerado una de las especies alternativas y con potencial para la acuicultura en la costa este norteamericana (Sandifer *et al.*, 1993; Hopkins *et al.*, 1993; Rosas *et al.*, 1996, 1999a, 2001). Las diferencias en las tasas de crecimiento en juveniles de estas dos especies han sido explicadas debido a la falta de alimentos adecuados a los requerimientos nutricionales del camarón blanco del Golfo de México (Williams *et al.*, 1996) y también se han reseñado las diferencias en las tasas metabólicas entre estas dos especies (Rosas *et al.*, 2001).

Los mejores resultados hasta la actualidad son los reportados por Sandifer *et al.* (1993) en Carolina del Sur, en la década de los 80's, sembró juveniles de 0.01 g en estanques de 0.1 ha, y cosechó individuos de 13-15 gramos al cabo de 145 días. Las densidades a las que trabajó fueron de 40 y 60 camarones/m², obteniendo tasas de conversión alimenticia de 2.6 y 2.4 respectivamente. La supervivencia fue del 97% y 87% respectivamente en las dos densidades de cultivo, tomando el total de los factores se obtuvo que el rendimiento por hectárea fue de 5,229 y 7,994 Kg respectivamente.

De acuerdo con Brito *et al.* (2000) las postlarvas de *L. setiferus* presentaron un mayor crecimiento en los tanques alimentados con alimento microparticulado comercial a la que se le añadió *Artemia sp.* y un suplemento de microalgas, en comparación a los tanques alimentados solo con alimento comercial o a los alimentados con *Artemia sp.* junto al suplemento algal.

Los efectos de las cantidades de proteína y la energía del alimento tienen un efecto directo en la actividad de las enzimas digestivas, crecimiento y

supervivencia de las postlarvas de *Litopenaeus setiferus* (Guzman *et al.*, 2001). El mayor crecimiento y la mayor actividad enzimática (proteasas totales, tripsina, quimotripsina, α -amilasa y lipasas) se obtuvo con el alimento con 400 g Kg⁻¹ de proteína y baja carga calórica (13.9 KJ g⁻¹). Se estimó la tasa óptima de proteína-energía (P/E) en 28.8 mg de proteína KJ⁻¹.

Según Rosas *et al.* (2001), la relación proteína-energía depende de factores ontogénicos, ya para juveniles de *Litopenaeus setiferus* cuyo peso es inferior a 1 g la relación que presentó un mayor crecimiento es de 36 mg de proteína KJ⁻¹, mientras que para juveniles de más de un gramo la relación que presentó un mayor crecimiento es de 16 mg de proteína KJ⁻¹.

Rosas *et al.* (1999) reportaron que el camarón blanco del Golfo de México es un animal oxirregulador en concentraciones altas de oxígeno (hasta 4 mg l⁻¹), mientras que se comporta como un oxígeno-conformador a bajas concentraciones (entre 3-2 mg l⁻¹). Este comportamiento respecto al oxígeno no se ve afectado por la salinidad del medio o por el estado nutricional (pre o postprandial). Respecto a la excreción amoniaca, se comprobó que esta fue mayor a menor salinidad (15 ups) que a salinidad normal (35 ups). A baja salinidad la excreción disminuyó conforme disminuía la concentración de oxígeno en animales sin alimentar, mientras que los animales alimentados se comportaron como amoniaco-reguladores en altas concentraciones de oxígeno. Respecto a los animales a salinidad normal, los que registraron una mayor excreción amoniaca fueron los alimentados, que se encontraban a las menores concentraciones de oxígeno disuelto.

En referencia a la salinidad de los tanques de cultivo, Perez-Velazquez *et al.* (2013) reporta que postlarvas de *L. setiferus* presentan un crecimiento significativamente mayor a 8 ups que a 16 o 32 ups. A 8 ups también presentó un crecimiento mayor que a 2 ups aunque las diferencias no fueron significativas. Esto va en consonancia con lo observado por Keiser & Aldrich (1976) que al ofrecerle un gradiente de salinidad a las postlarvas salvajes de *L. setiferus*, estas prefirieron una salinidad menor que la del medio natural. En la misma sintonía fueron los resultados observados por Rosas *et al.* (1999) en los que las postlarvas del camarón blanco del Atlántico presentaron un mayor crecimiento a una salinidad de 10 ups que a otras superiores o inferiores.

3-Justificación.

Litopenaeus setiferus representa una pesquería con una fuerte importancia económica en el Golfo de México y EEUU. El avance de la tecnología y la necesaria diversificación de la acuicultura posiciona a *Litopenaeus setiferus* como firme candidato para su producción en cultivos intensivos. Es necesaria la investigación en lo referente a alimentación y manejo principalmente, para que en un futuro cercano tengamos granjas produciendo esta especie.

4-Hipótesis:

4.1-Experimento 1:

Como se demostró para otras especies de camarones peneidos, en diferentes grados de domesticación, los flóculos presentes en el sistema biofloc representan una contribución nutricional de mayor importancia para el crecimiento que el alimento balanceado (Magaña-Gallegos *et al.*, 2018a; 2018b). Por lo tanto, al ser complementario el alimento suministrado, no se esperan diferencias significativas en el desempeño nutricional de los juveniles silvestres de *L. setiferus*, de 8.1 g cultivados en dicho sistema con dos alimentos diferentes (Alimento comercial y alimento experimental, libre de harina de pescado). Por el contrario, los juveniles cultivados en agua clara presentarán un desempeño nutricional inferior a los mantenidos en biofloc.

4.2-Experimento 2:

Debido al carácter eurihalino de los juveniles (Perez-Farfante, 1969; Perez-Velazquez *et al.*, 2013) de *L. setiferus* se espera que la salinidad no afecte al crecimiento de los juveniles silvestres de 5.7 g, mismo que no se verá afectado por los diferentes alimentos suministrados debido a su carácter complementario en sistema biofloc (Magaña-Gallegos *et al.*, 2018a; 2018b).

5-Objetivos:

5.1-Objetivo General

Evaluar el desempeño nutricional de los juveniles silvestres de *L. setiferus* cultivados en sistema biofloc en alta y baja salinidad con el suministro de dos alimentos complementarios, uno comercial y otro experimental libre de harina de pescado.

5.2-Objetivos específicos

Evaluar el efecto del sistema de cultivo, biofloc y agua clara, en juveniles silvestres de *L. setiferus* y la interacción con un alimento experimental libre de harina de pescado versus un alimento comercial conteniendo harina de pescado, sobre parámetros zootécnicos, fisiológicos y bioquímicos.

Evaluar el efecto de la salinidad en un cultivo en biofloc de juveniles silvestres de *L. setiferus* y la interacción con un alimento experimental libre de harina de pescado versus un alimento comercial conteniendo harina de pescado, sobre parámetros zootécnicos, fisiológicos y bioquímicos.

6-Material y métodos

6.1-Origen de los organismos

6.1.1-Primer experimento.

El día 17 de marzo de 2017 se obtuvieron 216 juveniles de *Litopenaeus setiferus* en la Laguna de Términos (Campeche), mismos que se extrajeron mediante una red de arrastre, la cual fue remolcada desde una embarcación de pesca ribereña (10 metros de eslora) a una velocidad de 2.5- 3 nudos; el agua se encontraba a una temperatura de 26.8°C y 21 ups. Una vez en el barco, se mantuvieron en un Rotoplast de 400 L, para en la tarde ser trasladados a las instalaciones de la UMDI Sisal. Se transportaron en bolsas con agua saturada de O₂ dentro de neveras con hielo. Una vez en las instalaciones de Sisal, se ubicaron en un estanque exterior de 20,000 L, a 25 ups en el que se llevó a

cabo la aclimatación de los organismos. La aclimatación tuvo una duración de 20 días, hasta que el 7 de abril comenzó el experimento.

6.1.2-Segundo experimento.

El día 10 de mayo de 2017 se obtuvieron 450 juveniles de *Litopenaeus setiferus* en la laguna de Términos (Campeche) mediante red de arrastre del mismo modo que se explica en el apartado anterior; el agua del área donde fueron capturados se encontraba a 27.2°C y a 23 ups. Ese mismo día se empaquetaron en bolsas plásticas y se trasladaron a las instalaciones de Sisal, donde se ubicaron en un tanque relleno con agua a 25 ups para la recepción. El 26 de mayo se separó un lote de 90 juveniles y se los trasladó a dos tanques de 500 L en el área de cultivo larvario. A este lote de animales se les realizó un recambio diario del 100% mientras se le bajaba progresivamente la salinidad con agua dulce de pozo a razón de 3 ups por día. Se repitió este procedimiento hasta llegar a 8 ups, salinidad deseada para el montaje del experimento. El día 9 de junio comenzó el experimento.

6.2-Diseño experimental

Los experimentos se llevaron a cabo en las instalaciones de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la UNAM ubicada en el puerto de Sisal, perteneciente al estado de Yucatán, México. El experimento se realizó en el iglú del área de nutrición, el cual se encuentra equipado con 42 tanques rectangulares de fibra de vidrio con una capacidad de 100L (73x44x33 cm). Los tanques pueden conectarse para trabajar en recirculación, en circuito abierto o solamente llenarlos para su utilización sin recambio de agua. Tanto el agua de mar como el agua dulce de las instalaciones provienen de sendos pozos. En la Tabla1 se recogen las principales características de cada uno de los dos experimentos llevados a cabo.

Tabla 1. Diseño experimental de los dos ensayos llevados a cabo

Parámetro	Primer experimento	Segundo experimento
Diseño experimental	Bifactorial 2x2	Bifactorial 2x2
Factores experimentales	-Sistema de cultivo: agua clara(AC) y biofloc(BFT) -Alimento: comercial y experimental	-Salinidad: normal (35 ups) y baja(8ups), ambas en biofloc -Alimento: comercial y experimental
Nº tratamientos	4	4
Nº réplicas	3	3
Nº total de tanques (100 L)	12	12
Peso promedio inicial	8.1 g	4.7 g
Densidad de siembra	8 camarones/tanque	10 camarones/ tanque
Duración del experimento	42 días	40 días

Los tanques en recirculación tenían su desagüe hacia dos tanques de recepción interconectados con un volumen de 1000 L cada uno, de esos reservorios pasaba por el filtro de arena, por el chiller y finalmente volvía a los tanques de cultivo. Cada tercer día se realizó un recambio de agua del 100%. Los tanques en sistema biofloc fueron llenados una sola vez para que madurase el ecosistema microbiano y posteriormente se rellenó cada segundo día con agua dulce para mantener el volumen del tanque y la salinidad. Los tanques en biofloc estuvieron equipados de 4 piedras difusoras para mantener una correcta aireación y generar un sistema de convección adecuado, los tanques en recirculación estuvieron equipados con una piedra aireadora. La tubería de aireación se encuentra conectada a un soplador de 5 CV provisto de un filtro de carbono.

La temperatura de los tanques en recirculación estuvo controlada mediante la acción de un chiller programado para mantenerla en 28°C, mientras que los tanques con biofloc estaban provistos de un calentador con termostato a 28°C. Todos los tanques experimentales estuvieron provistos de una red plástica para evitar los saltos de los camarones.

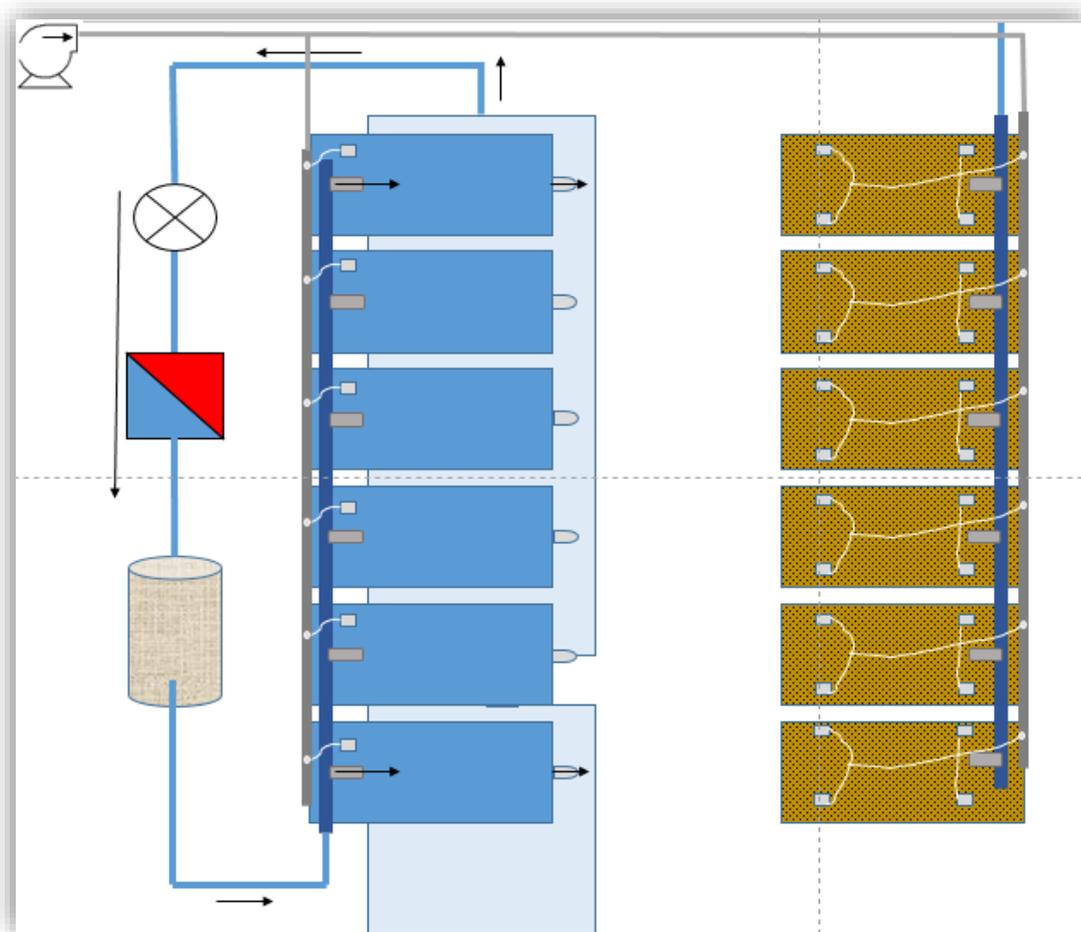


Figura 4. Diagrama del sistema experimental, a la izquierda tanques en recirculación y a la derecha tanques en biofloc.

6.3-Preparación del biofloc

Los tanques con biofloc fueron llenados 15 días antes del comienzo del experimento y fueron fertilizados de acuerdo a las técnicas reportadas por Avnimelech (2015) y Otoshi (2011). La técnica fue la siguiente:

- 14 días antes de meter a los camarones, se añaden 0.3 g de NaNO_2 en cada tanque (2mg/l).
- 7 días antes, se añade la misma cantidad de NaNO_2 y 2 g de pellet comercial Malta Cleyton Api-Camarón pulverizado en cada tanque (40% proteína en el primer experimento y 35% proteína en el segundo).
- 5 días antes, se añaden 2 g de pellet pulverizado en cada tanque.
- 4 días antes se añaden 2 g de salvado de trigo (agente nucleador) y 3 g de melaza (fuente de C) por tanque.

- 2 días antes se añade 1 g de pellet pulverizado y 3 g de melaza
- 1 día antes, se comprueba que los niveles de compuestos nitrogenados estén por debajo de 0.2 mg/l.
- Una vez sembrados los camarones, se le añadió melaza en función de la cantidad de alimento manteniendo una relación C:N de 20:1 durante la primera semana.

6.4-Manejo

Rutina diaria

Se alimentó manualmente 3 veces al día, a las 8:00, 14:00 y 20:00h. La ración entregada fue del 3% de la biomasa de tanque dividida en tres tomas, el alimento se pesó diariamente en el laboratorio de nutrición con ayuda de una balanza (Adventurer Pro, Ohaus, USA; precisión 0.1g). Se monitoreó a las 8:00, 16:00 y 20.00h la temperatura y el oxígeno disuelto del agua de cada tanque con un oxímetro (YSI Pro 20). En la mañana, antes de alimentar, con ayuda de una red y con mucho cuidado, se pasó una red por el fondo del tanque para retirar posibles camarones muertos.

El día 14 se cambió la ración de los tanques del sistema de agua clara a una ración del 4% de la biomasa y la ración de los tanques de biofloc se mantuvo en 3% de la biomasa. La ración se mantuvo en 4% de la biomasa, pero se modificaron semanalmente las cantidades de comida ofrecida a cada tanque en función de la mortalidad del tanque.

Rutina semanal.

Los lunes y los jueves de cada semana se midió a cada tanque el pH, sólidos suspendidos, concentración de nitritos y nitrógeno amoniacal total. Para la medición del pH se utilizó un potenciómetro de mesa (Orion 3 Star, Thermo Scientific, USA). Para medir los sólidos suspendidos (SS) se tomó una alícuota de cada tanque en un tubo Falcon de 50 mL, y tras 40 minutos se registró la cantidad de sólidos asentados en el fondo y se extrapoló a un volumen de un litro. La salinidad se midió con un refractómetro (Atago Master MillM) y se añadió agua dulce para compensar las pérdidas de agua por evaporación, corrigiendo así los efectos de la misma sobre la salinidad.

Para la medición de nitrógeno amoniacal total (NAT) se utilizó la técnica de azul de indofenol (Rodier, 1981) modificado para microplaca por Zuñiga (2014). La medición de nitrito se realizó a través del método de diazotación (Rodier, 1981) modificado para microplaca por Zuñiga (2014 b). Cuando los niveles de nitrito y amonio presentaban valores superiores a 0.5 mg/L se añadía melaza en una relación C:N de 12:1 de acuerdo a la metodología descrita por Kubitzka (2011):

$$\begin{aligned} & (([\text{NH}_4^+] \times 0,78) + ([\text{NO}_2^-] \times 0.3)) \times \text{Vol. tanque} = \text{g N} \\ & \text{g N} \times 12 = \text{g C} \\ & \text{g C} \times (100\text{g melaza}/37\text{gC}) = \text{g melaza a añadir} \end{aligned}$$

Cada dos semanas se realizó una biometría y se ajustó la cantidad de comida ofrecida en función a la biomasa del tanque.

Durante el segundo experimento los horarios de toma de parámetros y alimentación fueron iguales a los del primer experimento. La ración de comida suministrada en este experimento consistió en el 5% de la biomasa diaria. A partir del día 21 se cambió la ración a 6% de la biomasa inicial (no se realizó biometría ya que en el primer experimento las biometrías realizadas provocaron mortalidad). Otra diferencia en el manejo fue que se dejó de comprobar mortalidad a diario para hacerlo dos veces por semana, provocando así un menor estrés por manejo en los camarones.

6.5-Formulación de alimentos

6.5.1-Primer experimento

Alimento comercial

Se empleó el alimento comercial marca Malta Cleyton, de la línea Api-Camarón Alta Densidad 40% de proteína, que de acuerdo a la etiqueta del fabricante, contiene los siguientes ingredientes: harina de calamar, harina de escalopa, harina de pescado, harina de krill, pasta de oleoginosas, subproductos de trigo, gluten de maíz, aceite de pescado, aceite vegetal, levaduras, fosfato de calcio, carbonato cálcico, cloruro de sodio, cloruro de colina, metionina, lisina, vitaminas A, D, E y K, tiamina, niacina, riboflavina,

biotina, piridoxina, pantotenato de calcio, cobre, cobalto, magnesio, manganeso, iodo, zinc, selenio, hierro, potasio, antioxidante (ETQ 90g/ton).

En la Tabla 2 se muestra la composición química proximal reportada por el fabricante en la etiqueta del alimento.

Tabla 2. Composición proximal del alimento Api-Camarón Alta Densidad 40% Proteína.

g/100g	
Proteína	40
Lípidos	9
Humedad	12
Fibra	4
Cenizas	10
E.L.N.	25

Composición química reportada por el fabricante en la etiqueta del alimento.

Alimento experimental

Para la formulación del alimento se utilizó el software Microsoft Excel 2012, dicha formulación había sido empleada para un experimento de sustitución de harina de pescado con *L. vannamei*. La composición de los ingredientes empleados en la elaboración del alimento experimental se encuentra en el Anexo I, en el caso de los ingredientes en cuya etiqueta no venía reflejada su composición proximal, se tomaron dichos valores del “Manual de ingredientes proteicos y aditivos empleados en la formulación de alimentos balanceados para camarones peneidos” de García-Galano *et al.* (2007). En la Tabla 3 se muestra la composición en ingredientes del alimento experimental.

Tabla 3. Composición en ingredientes del alimento experimental utilizado en el Experimento 1.

Ingredientes	g/100g (peso seco)
Pasta de canola ¹	22
Pasta de soya ¹	24
Concentrado proteico de soya	9
Harina de trigo ¹	1
Harina de calamar*	5
Harina de camarón ²	12
Ac. de hígado de bacalao ³	5
Lecitina de soya líquida	1
Almidón de maíz ¹	8
Taurina ⁴	2
Micro Rovimix Camarones ⁵	2.9
Stay-C ⁶	0.03
CaHPO ₄	5
Grenetina ⁷	3
RON Phytase ⁸	0.05
<i>Total</i>	<i>100</i>

¹MYN Distribuidora S.A. de C.V. Mérida, Yucatán, México. ²Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V. Guadalajara, Jalisco, México. ³Drogas Tacuba S.A. de C.V. Ciudad de México, Mexico. ⁴L-Taurina Future Foods S.A. de C.V. Tlalnepantla, Estado de México, México. ⁵Micro Rovimix camarón: vitaminas (A, D3, E, K3, B1, B2, B6, B12,C, Niacina, Ac. Pantoténico, Ac. Fólico, Biotina, Colina), Minerales (Cobre, Hierro Manganeseo, Cobalto, Yodato de Calcio, Zinc, Selenio, Calcio, Magnesio, Sodio, Cromo, Potasio), DSM, Herleen, Holanda. ⁶Stay-C Rovimix 35, DSM, Herleen, Holanda. ⁷Progel Mexicana S.A. de C.V. León, Guanajuato, México. ⁸Ronozyme Blend Shrimp, DSM.

*Se sustituyó la harina de calamar por calamar fresco (*Loligo sp.*) siguiendo la relación según la cual el cefalópodo fresco pierde el 75% de su peso al ser transformado en harina.

6.5.2-Segundo experimento

Alimento comercial

Se utilizó el alimento comercial marca Malta Cleyton, de la línea Api-Camarón Alta Densidad 35% de proteína, que de acuerdo a la etiqueta del fabricante, contiene los siguientes ingredientes: trigo, sorgo, harina de calamar, harina de escalopa, harina de pescado, harina de krill, pasta de oleoginosas,

subproductos de trigo, gluten de maíz, aceite de pescado, aceite vegetal, levaduras, fosfato de calcio, carbonato cálcico, cloruro de sodio, cloruro de colina, metionina, lisina, vitaminas A, C, D, E y K, tiamina, niacina, riboflavina, biotina, piridoxina, pantotenato de calcio, cobre, cobalto, magnesio, manganeso, iodo, zinc, selenio, hierro, potasio, antioxidante (ETQ 90g/ton).

Tabla 4. Composición proximal del alimento Api-Camarón Alta Densidad 35% proteína.

g/100 g	
Proteína	35
Lípidos	8
Humedad	12
Fibra	4
Cenizas	10
E.L.N.	31

Composición química reportada por el fabricante en la etiqueta del alimento.

Alimento experimental

Debido a los resultados del primer experimento se decidió evaluar mediante PHStat la digestibilidad *in vitro* de ingredientes disponibles, sumando harinas alternativas animales a las vegetales empleadas en el otro experimento. Se tomaron 15 animales en aclimatación de los estanques exteriores, con un peso promedio de 4.72g y se realizaron tres pools de cinco hepatopáncreas cada uno para el ensayo de digestibilidad *in vitro*. La digestibilidad se evaluó según la metodología de Maldonado (2011) a una temperatura de 28°C y un pH de 8. Debido a la baja digestibilidad general, expresamos esta de manera comparativa en la Figura5, siendo el 100% la harina que tuvo una mayor digestibilidad *in vitro*.

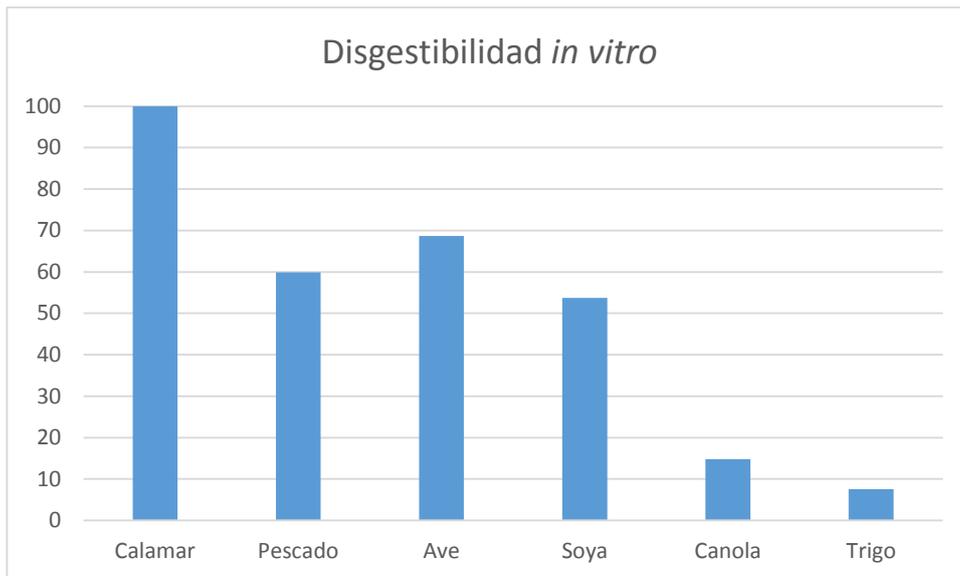


Figura 5. Digestibilidad *in vitro* de las diferentes harinas. Harinas de calamar, pescado y ave procedentes de Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V. Guadalajara, Jalisco, México. Harinas de soya, canola y trigo procedentes de MYN Distribuidora S.A. de C.V. Mérida, Yucatán, México.

En función de los datos obtenidos en la anterior prueba se decidió emplear las siguientes harinas animales alternativas: calamar, camarón y ave. Esta última presentó una gran digestibilidad *in vitro* por lo que fue elegida como fuente proteica principal para el alimento experimental. La formulación del alimento se llevó a cabo con el software Microsoft Excel 2012, con el “Manual de ingredientes proteicos y aditivos empleados en la formulación de alimentos balanceados para camarones peneidos” de García-Galano *et al.* (2007), y en el anexo I se encuentra la composición de algunos de los ingredientes empleados en la elaboración del alimento experimental, mismo que tuvo la composición mostrada en la Tabla 5.

Tabla 5. Composición en ingredientes del alimento experimental para el Experimento 2.

Ingredientes	g/100g (peso seco)
Harina de ave ¹	38
Harina de calamar ¹	6
Harina de camarón ¹	11
Ac. de hígado de bacalao ²	2
Lecitina de soya líquida	1
Almidón de trigo	30.97
DSM vit+min ³	2
Stay-C ⁴	0.03
CMC ⁵	1
Zeolita	8
<i>Total</i>	<i>100</i>

¹Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V. Guadalajara, Jalisco, México. ²Drogas Tacuba S.A. de C.V. Ciudad de México, Mexico. ³Micro Rovimix camarón: vitaminas (A, D3, E, K3, B1, B2, B6, B12, C, Niacina, Ac. Pantoténico, Ac. Fólico, Biotina, Colina), Minerales (Cobre, Hierro Manganeseo, Cobalto, Yodato de Calcio, Zinc, Selenio, Calcio, Magnesio, Sodio, Cromo, Potasio), DSM, Herleen, Holanda. ⁴Stay-C Rovimix 35, DSM, Herleen, Holanda. ⁵Carboximetilcelulosa, Farmacias París S.A de C.V. Ciudad de México, Mexico.

6.5.3- Análisis proximal del alimento.

Los alimentos experimentales elaborados para los dos ensayos se les realizó un análisis proximal: se les analizó la humedad, cenizas y lípidos (AOAC, 1995), mientras que el contenido de nitrógeno fue determinado utilizando un analizador elemental (ECS 4010, Costech Analytical Technologies Inc., USA) y el resultado se multiplicó por 6.25 con para obtener la cantidad total de proteína cruda. Los resultados se reportan en la Tabla6.

Tabla 6. Composición proximal de los alimentos experimentales.

g/100 g		
	1 ^{er} exp	2 ^o exp
*Humedad	4.63	2.77
Proteínas	39.42	33.85
Lípidos	8.14	10.16
Cenizas	11.75	17.50
E.L.N.	40.70	38.48

1^{er}exp: primer experimento; 2^o exp: segundo experimento. * La humedad se calculó antes de realizar los análisis químico-proximal, por lo que es un porcentaje del peso inicial. Proteínas, lípidos, cenizas y ELN son un % del alimento completamente seco.

6.6-Elaboración del alimento experimental

La preparación del alimento experimental se llevó a cabo en el laboratorio de nutrición, de la siguiente manera:

-Se prepararon 5 Kg, por lo que la cantidad de cada ingrediente que se utilizó es la que se muestra en las Tablas anteriores, multiplicada por 50.

-En primer lugar, se molieron todas las harinas y pastas presentes en el alimento, esto se realizó con una licuadora de doble hélice (Vitamix VM0103, Vita-Mix Corporation, USA). Una vez molidas se procedió al tamizado de las harinas hasta lograr un tamaño menor a 250 μ m, este tamaño de grano es el recomendable para obtener un pellet homogéneo y estable frente a la lixiviación. Se utilizaron una serie de tamices metálicos; para separar las fracciones de mayor tamaño se utilizó un tamiz de 500 μ m seguido de otro de 250 μ m. Las fracciones de las harinas y pastas que se quedaron retenidas en los tamices se molieron nuevamente para obtener el tamaño adecuado de grano.

-Una vez tamizadas, se juntaron todas las harinas en una bolsa plástica para mezclarlas de manera manual. Los ingredientes minoritarios se juntaron en otra bolsa por separado y se mezclaron del mismo modo. Se colocaron los

ingredientes minoritarios y su equivalente en peso de la mezcla de harinas en una amasadora automática de eje vertical (Blazer 20-A, Torrey, México; 20L-9Kg capacidad máxima) durante 10 minutos.



Figura 6. Izquierda fracción de harina $<250\mu\text{m}$, derecha fracción $<500\mu\text{m}$ y abajo fracción $>500\mu\text{m}$.

A continuación, se agregó el resto de la mezcla de harinas y se mezcló durante 10 minutos más.

-Paralelamente a la mezcla de las harinas, por un lado se disolvieron con una batidora automática de mesa (K45SSWH, KitchenAid, USA) 150g de grenetina en 300mL de agua durante 20 minutos, y por otro lado, mediante otra batidora de mesa se realizó una emulsión con el aceite de hígado de bacalao y la lecitina de soya, mezclándose durante 20 minutos.

-Una vez que las harinas y los ingredientes minoritarios estuvieron bien homogeneizados, se comenzó a añadir poco a poco la emulsión de aceite con lecitina mientras se continuaba mezclando en la amasadora, tras añadir la emulsión se mezcló durante 15 minutos. Pasado este tiempo, se comenzó a añadir la solución de grenetina en la amasadora poco a poco, se incorporó y prosiguió el amasado durante 10 minutos hasta que se añadieron 500 mL de agua poco a poco. Tras 5 minutos de mezcla se añadió otro medio litro de agua del mismo modo, se repitió otra vez más este proceso. Finalmente añadimos agua, pero de 100 en 100 mL hasta lograr la textura adecuada de la masa; en

este caso, sumando toda el agua añadida y la de la gnetina disuelta, se utilizaron en total 2.1 litros.

Una vez obtenida una masa homogénea, se extruyó en un molino de carne con dado de 3 mm de diámetro. Los espaguetis obtenidos se pusieron en 5 charolas y se trasladaron al horno de secado. El proceso de secado se realizó a una temperatura de 60°C durante 10 horas para conseguir un secado eficiente y homogéneo. Posteriormente, se rompieron manualmente los pellets para que tuviesen una longitud similar a los pellets comerciales de 5-6mm. Tras esto, se empacaron en bolsa zip-loc y se conservaron en refrigeración hasta el momento de su utilización en el experimento.

*En el primer experimento se utilizó calamar en fresco (*Loligo sp.*) en lugar de harina de calamar, asumiendo que el cefalópodo pierde el 75% de su peso al ser transformado en harina. Para incorporarlo al alimento, se descongeló, se retiraron boca y pluma, se molió junto a 50 ml de agua hasta lograr una masa viscosa sin grumos. La masa se filtró con ayuda de un colador de cocina para comprobar que no hubiese trozos sin moler. Esta masa se incorporó poco a poco a la mezcladora automática, una vez que ya se había realizado la mezcla de las harinas.

6.7-Parámetros Zootécnicos

6.7.1-Supervivencia

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

$$\text{Tasa de supervivencia} = (\text{número final/número inicial}) \times 100.$$

6.7.2-Crecimiento

El crecimiento en peso se evaluó comparando los promedios de pesos finales de cada tratamiento.

$$\text{Crecimiento} = ((\text{peso final-peso inicial}) / \text{peso inicial}) \times 100$$

6.7.3-Biomasa

La biomasa se determinó como la sumatoria de los pesos finales de los camarones en cada tanque y en cada tratamiento.

6.7.4- Tasa específica de crecimiento

La tasa específica de crecimiento (TEC) se calculó con la siguiente fórmula:

$$TEC = 100 \times ((\ln \text{ peso promedio final} - \ln \text{ peso promedio inicial}) / n^{\circ} \text{ días})$$

6.8-Indicadores fisiológicos

6.8.1-Consumo de oxígeno

El consumo de oxígeno (O₂) se determinó mediante un respirómetro de sistema abierto (Oxy-10, Presens), utilizando 9 cámaras respirométricas con capacidad de 450 mL, en las que se colocaron los camarones individualmente, dejando una cámara sin animal, que sirvió como cámara control. Estos 8 camarones provenían de cada tratamiento experimental. Los organismos que se utilizaron en la respirometría permanecieron en ayuno durante 24 horas para lograr una mejor aclimatación y disminuir el efecto de estrés por manipulación. Después de 24 horas de aclimatación se determinó en las primeras horas el consumo de oxígeno de ayuno. Posteriormente se alimentaron los animales con el alimento correspondiente a su tratamiento y se determinó el consumo de oxígeno post-prandial.

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, y conociendo el caudal (promedio de 1 mL/ segundo, medido individualmente por cámara para un ajuste real del consumo) y temperatura (28⁰± 1 °C) (Rosas et; al 1999).

$$VO_2 = \{([O_2]_{\text{en}} - [O_2]_{\text{sal}}) * F\} - \{([O_2]_{\text{en control}} - [O_2]_{\text{sal control}}) * F_{\text{control}}\}$$

Dónde:

VO₂: consumo de oxígeno expresado en mg O₂/segundo.

[O₂]en: concentración en mgO₂ l⁻¹ del agua que entra a la cámara respirométrica.

[O₂]sal: concentración en mgO₂ l⁻¹ del agua que sale de la cámara respirométrica.

F: flujo de la cámara respirométrica expresada en litros por hora.

6.8.2-Excreción amoniacal

Los valores de energía excretada (UE+ZE) fueron estimados de acuerdo a la ecuación de Bureau (2000) que corresponde al 8% de la sumatoria de la energía retenida (RE), la energía de respiración basal y la energía del incremento del calor aparente.

$$UE+ZE= (RE+HeE+HiE) \times 0.08$$

Donde:

UE: excreción amoniacal en ayuno.

ZE: excreción amoniacal postprandial.

RE: energía retenida para el crecimiento.

HeE: energía de respiración de rutina.

HiE: energía de respiración del incremento del calor aparente.

0.08: constante.

6.8.3-Calorimetría

Para el análisis del valor calórico se utilizaron los 8 camarones por tratamiento, mismos a los que previamente se les determinó el consumo de O₂. Posteriormente, los camarones fueron sometidos a un proceso de secado durante 24 horas a 60°C, macerado y pulverizado, y se hicieron pastillas de aproximadamente 0.3 ± 0.05 g (3 réplicas por camarón). Se utilizó una bomba calorimétrica de la marca Parr, la cual se introdujo en una cubeta de acero con 2L de agua destilada a una temperatura de 2°C menor a la temperatura ambiente.

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

$$Hg= \{(\Delta T^{\circ}CW)-(e1+e2) N\} M$$

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.

e1: consumo de NaOH para titular.

e2: diferencia entre alambre inicial y quemado.

N: calorías estándar del alambre.

M: peso pastilla.

6.8.4-Energía de la muda

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

$$HxE=0.25*(RE)$$

Donde:

0.25: constante.

RE: energía retenida (crecimiento).

La energía perdida en la exuvia (SE) se calculó 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.

6.8.5-Modelo de balance energético

Para determinar la energía digerible y 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 amoniacaes.

HxE: energía perdida durante la muda.

SE: energía perdida en la exuvia.

6.9-Indicadores bioquímicos

6.9.1-Hemocianina

Se extrajo hemolinfa con ayuda de una jeringuilla de insulina de 0.5 mL con 100µl de SIC-EDTA refrigerada previamente; antes de la extracción de hemolinfa se desechó la totalidad del anticoagulante. La hemolinfa se extrajo del seno ventrolateral del abdomen del camarón. La aguja se insertó suavemente a través de la membrana articular del quinto pereiópodo. Tras la extracción la hemolinfa se descargó sobre un papel parafilm, colocado sobre una placa refrigerante. Con ayuda de una micropipeta, se tomaron 15 µl de hemolinfa y lo se colocaron en una celda de espectrofotómetro previamente rellenada con 1,485µL de agua libre de pirógenos (dilución 1:100). Se leyó la muestra a 335 nm en un espectrofotómetro de UV(Genesys 10UV, Thermo Scientific, USA) y tras leer las muestras se realizó la lectura de un blanco (agua destilada) para restarlo a todas las mediciones.

$$[Hc]= (Abs/\epsilon)* FD$$

Donde:

[Hc]: concentración de hemocianina

Abs: absorbancia con el blanco ya restado

ε: coeficiente de extinción 17.26

FD: factor de dilución

6.9.2-Procesamiento del hepatopáncreas

Durante el muestreo final, se le bajó 5°C la temperatura del agua en la que se trasladaron los camarones al laboratorio para disminuir su metabolismo. Tras medir la longitud, peso y extraer hemolinfa, se procedió a dar eutanasia a los camarones mediante un corte en el cordón nervioso, tras esto se disectó el hepatopáncreas. Este se guardó en un tubo Eppendorf de 1.5mL y se sumergió este en N₂ líquido para posteriormente guardarlo en el congelador a -80°C

hasta el momento de procesarlo. Para realizar los análisis enzimáticos y de proteínas totales fue necesario procesar el hepatopáncreas; en un tubo Eppendorf de 1.5mL se pusieron 500 µl de agua libre de pirógenos y se introdujo la totalidad de la glándula digestiva del camarón. Con ayuda de un homogeneizador de tejidos se trituró la muestra durante 30 segundos. Durante este proceso el tubo Eppendorf se encontraba dentro de un pequeño vaso con hielo en escama. Tras la homogenización, se procedió a centrifugar las muestras a 13,200 rpm (18,506 fcr) durante 20 min (Centrifuge 5420R, Eppendorf, Alemania), tras esto, con la ayuda de una pipeta, se retiró el sobrenadante y se pasó a un tubo Eppendorf nuevo; este es el extracto puro de hepatopáncreas. Se realizaron diluciones 1:10 y 1:100 de cada muestra. Todo el proceso anterior se realizó manteniendo en frío las muestras procesadas y por procesar, debido a que los extractos se degradan rápidamente a temperatura ambiente.

6.9.3-Tripsina

Se evaluó la actividad de esta enzima siguiendo la técnica de Geiger y Fritz (1988) con modificaciones (Herrera-Salvatierra, 2011). Se preparó una solución buffer TRIS 0.1 M, pH 8 a 60 °C, se ajustó el pH (mediante adición de NaOH y HCl 1N) y se controló la temperatura por medio de una placa de calentamiento (Isotemp, Fisher Scientific, Laboratory Instrument, Canadá). En una microplaca se adicionaron 5 µL de extracto por triplicado/muestra, después se agregaron a cada pozo 250 µL de buffer TRIS 0.1 M, pH 7 a 60 °C, y finalmente 6 µL de sustrato BAPNA 100 mM. Se colocó en el espectrofotómetro ELISA (Benchmark Plus Microplate Reader, Bio-Rad Laboratories, USA) y se leyó al momento, tomando esta medida como el tiempo cero, continuando la lectura a los 1 y 2 minutos; la lectura se realizó a 405 nm. Previo a la primera lectura se programó el agitador a 5 segundos.

6.9.4-Quimotripsina

El análisis se realizó de acuerdo a la técnica de Geiger y Fritz (1988) con modificaciones (Herrera-Salvatierra, 2011). Se realizó de manera similar a la tripsina, pero variando el buffer TRIS 0.1 M, pH 7 a 50 °C (Sigma-T1378) y el

sustrato de la reacción, en este caso SAPPNA 150 mM. Se adicionaron 5 μ L de muestra por cada una de las tres repeticiones, y después se agregaron a cada pozo 250 μ L de buffer y finalmente 6 μ L del sustrato SAPPNA 150mM. Se colocó en el espectrofotómetro a 405 nm y se tomaron las lecturas al inicio y a los 1 y 2 minutos. Igual que la tripsina se agitó por 5 segundos antes de la primera medición.

6.9.5- α -Amilasa

Se evaluó de acuerdo a la técnica de Bernfeld (1955) con modificaciones (Herrera-Salvatierra, 2011). Se preparó una solución buffer de sodio fosfato 10 mM pH 5 a 60 °C. En el caso de esta enzima la actividad se determina mediante una lectura de punto final por lo que se detiene la reacción mediante la adición de ácido dinitrosalicílico (DSA). Se preparó el sustrato de glucógeno (Ostra) al 1.5% en buffer sodio fosfato 10 mM a 60 °C y pH 5. En una microplaca se adicionaron 10 μ L del extracto de muestra por triplicado. Posteriormente, se le agregaron 50 μ L de buffer-sustrato glucógeno a 60 °C y se añadieron 40 μ L de agua libre de pirógenos, colocándose en la incubadora de microplacas (Heidolph Inkubator 1000, Alemania) con agitación a una velocidad de 900 rpm (2.72 fcr) durante un minuto. Posteriormente, la placa se incubó a 65°C por 40 minutos con agitación a una velocidad de 450 rpm (0.68 fcr). Al término del tiempo de incubación se añadieron 100 μ L de DSA y se leyó en el espectrofotómetro a 540 nm.

6.9.6-Proteínas solubles totales

La medición de proteínas totales solubles se hizo mediante la técnica de Bradford (1976) con un kit comercial (Biorad). Se depositaron 10 μ L por muestra más 200 μ L del kit reactivo. Se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente, tras este lapso se leyó la microplaca a una longitud de onda de 595 nm. Se realizó una curva patrón con una disolución de albumina bovina; de este modo se pudo calcular la concentración proteica en cada muestra. La cantidad de proteínas solubles totales es fundamental para la medición de enzimas ya que estas se reportan en UI/mg de proteína.

6.10-Análisis estadístico de los resultados

Debido a que se empleó el diseño bifactorial de 2 X 2, se aplicó el análisis de varianza bifactorial para todos los parámetros de las respuestas zootécnicas y fisiológicas. Previamente, se revisó la normalidad y homogeneidad de varianza. Los resultados expresados en porcentaje fueron transformados a arcoseno antes de aplicar el ANDEVA. Se realizó un análisis de rangos post hoc de Tukey para ponderar las diferencias entre tratamientos. Se trabajó con un nivel de probabilidad de 0.05.

7-Resultados

7.1-Experimento 1

7.1.1-Parámetros de calidad del agua de cultivo.

7.1.1.1-Parámetros físico-químicos

Se representan los dos tratamientos de agua clara juntos debido a que estos se encontraban conectados al mismo sistema de recirculación. La temperatura se mantuvo estable en torno a los 28°C (Tabla 7), en agua clara estuvo ligeramente por debajo debido a la acción del chiller que impidió que se calentara en las horas centrales del día, mientras que los tratamientos en biofloc sí se vieron afectados por el calentamiento del iglú, quedando su temperatura media ligeramente debajo de los 29°C, siendo esta diferencia de temperatura entre agua clara y biofloc significativa estadísticamente.

El oxígeno disuelto se mantuvo en todos los tratamientos por encima de los 4 mg/L. La menor concentración se registró en el sistema de agua clara, 4.10 mg/L, mientras que la de los dos tratamientos con biofloc estuvo en 4.29 mg/L

En relación al pH se registraron diferencias significativas entre agua clara y biofloc, siendo mayor en agua clara con 8.21 unidades, y menor en los tratamientos con biofloc, siendo 8.14 en el tratamiento con alimento comercial y 8.08 con alimento experimental.

Al sistema de agua clara se le hizo un recambio del 100% de su volumen cada tercer día, por ello que los valores de nitrógeno amoniacal total (NAT), NO₂⁻ y sólidos suspendidos (SS) no llegaron a ser cuantificables por lo que no

se representaron en la Tabla 7 ni la Figura 6. Respecto al NAT el tratamiento biofloc con alimento experimental (BE) tuvo 0.25 mg/l mientras que el tratamiento biofloc con alimento comercial (BC) registró la mitad de esa concentración, no se hallaron diferencias significativas. La concentración de NO₂⁻ y SS fue muy pareja en ambos tratamientos, con valores de 0.63 y 0.66 mg/L de NO₂⁻, mientras que los SS se mantuvieron en 7.08 y 8.31 mL/L para los tratamientos BE y BC respectivamente (Tabla 7).

Tabla 7. Parámetros físico-químicos del agua de cultivo en el Experimento 1.

Parámetros	Agua clara	Biofloc Exp	Biofloc Com
T ^a (°C)	27.81 ± 0.35 ^a	28.97 ± 0.21 ^b	28.88 ± 0.18 ^b
O ₂ (mg/l)	4.10 ± 0.54	4.29 ± 0.54	4.29 ± 0.53
pH	8.21 ± 0.07 ^a	8.08 ± 0.03 ^b	8.14 ± 0.03 ^b
NAT (mg/l)	ND	0.25 ± 0.11	0.12 ± 0.12
NO ₂ ⁻	ND	0.63 ± 0.11	0.66 ± 0.18
SS (mL/l)	ND	7.08 ± 1.25	8.31 ± 1.04

Valores promedio ± desviación estándar. NAT: nitrógeno amoniacal total; SS: sólidos suspendidos; ND: no detectados. Superíndices diferentes denotan diferencias significativas ($P < 0.05$).

7.1.1.2-Compuestos nitrogenados

En la Figura 7 se observa cómo a partir del tercer día se produce un aumento en la concentración de amonio de los tanques con alimento experimental, registrando su máximo en el décimo día de experimento, 3 mg/L en el tanque 3, tras lo cual la concentración disminuyó (<1 mg/L) y se mantuvo estable hasta el fin del experimento. Los tanques con alimento comercial se mantuvieron estables durante la totalidad del experimento (<1 mg/L).

Respecto al NO₂⁻ se observa un aumento en su concentración a partir del tercer día en todos los tanques, alcanzando 1.5 mg/L, a partir del día 17 comenzó a descender su concentración.

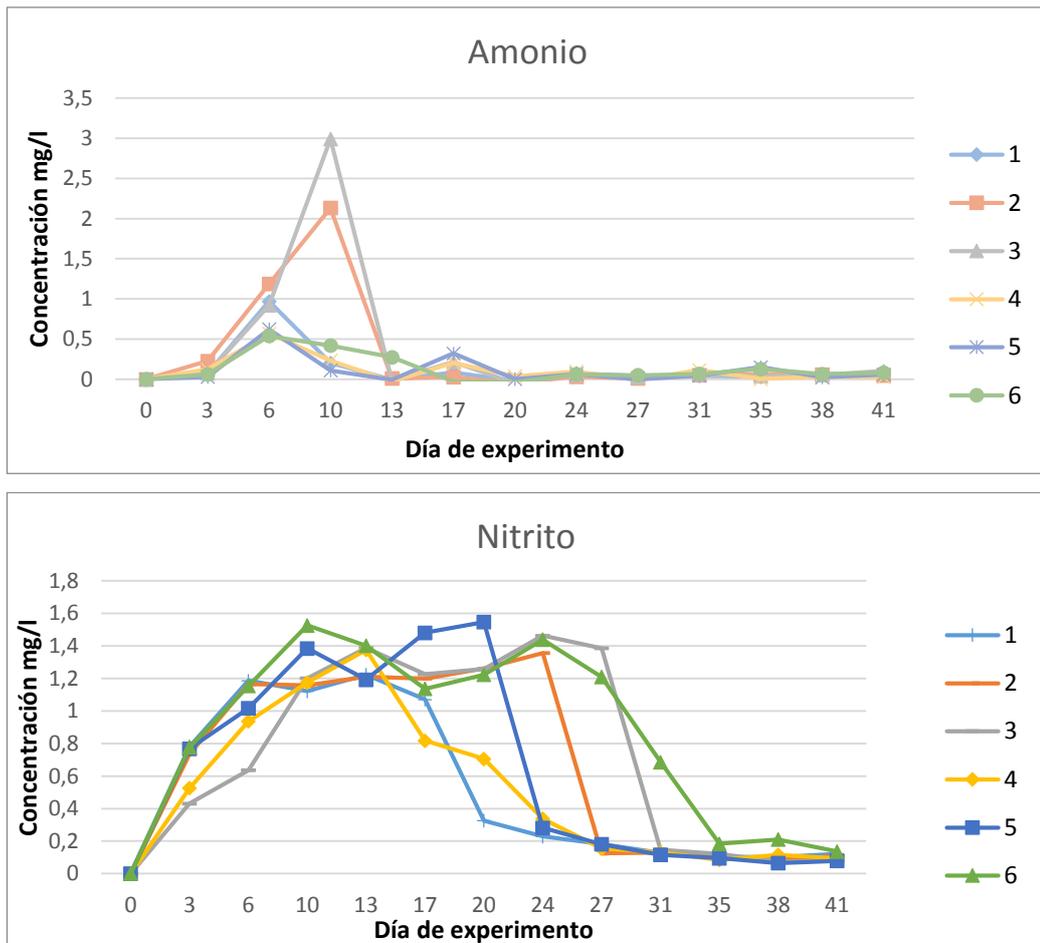


Figura 7. Evolución de la concentración de amonio y nitritos en los tanques de biofloc a lo largo de 42 días de experimento. Tanques 1, 2 y 3 Biofloc con alimento experimental; tanques 4, 5 y 6 biofloc con alimento comercial.

7.1.2-Parámetros zootécnicos

Se observó que la supervivencia más baja se dio en el tratamiento de agua clara alimentado con alimento experimental (ACE) con una supervivencia del 38%, casi la mitad que la observada en los otros tres tratamientos 67-71%. El tratamiento BE presentó una supervivencia del 67% mientras que el tratamiento en agua clara con alimento comercial (ACE) y BC obtuvieron una supervivencia del 71%. Producto de la alta variabilidad en las tres réplicas provocó que esta visible diferencia no llegase a ser significativa desde el punto de vista estadístico. No existieron diferencias significativas de ningún tipo.

Respecto al crecimiento fue nulo en todos los tratamientos salvo en el tratamiento BE, lo que sitúa a este tratamiento como el mejor de nuestro diseño experimental (Tabla8).

Tabla 8. Parámetros zootécnicos del Experimento 1 al cabo de 42 días.

Parámetro	Bio Exp	Bio. Com	A.C.Exp	A.C. Com
Supervivencia (%)	66.67 ± 7.22	70.83 ± 7.22	37.5 ± 25	70.83 ± 7.22
Peso inicial (g)	8.27 ± 1.53	8.66 ± 1.87	7.9 ± 2.12	7.47 ± 1.96
Peso final (g)	7.15 ± 1.19	8.97 ± 1.51	6.43 ± 2.1	7.42 ± 1.88
Crecimiento (%)	---	4.33 ± 9.79	---	---
Biom. inicial (g)	66.17 ± 7.43	69.27 ± 7.85	63.20 ± 2.71	59.71 ± 2.96
Biom. final (g)	38.11 ± 4.79	50.74 ± 3.81	19.29 ± 14.32	42.03 ± 4.96
TEC (% g/día)	---	0.09 ± 0.22	---	---

Valores promedio ± desviación estándar de cada tratamiento. Bio: biofloc; A.C.: agua clara; Com: alimento comercial; Exp: alimento experimental; TEC: tasa específica de crecimiento.

Debido a los resultados obtenidos se descartó el realizar los otros análisis y se decidió repetir el experimento. El balance energético quedó truncado debido a la ausencia de crecimiento.

En los tanques del tratamiento ACE se dio una acentuada mortandad, sumado a una coloración rojiza en los pleópodos y telson de algunos camarones (Figura 8), lo que llevó a pensar que presuntivamente podría tratarse de vibriosis. Dos días antes del final del experimento se realizó un sembrado de placas Petri con agar TCBS (Kobayashi *et al.* 1963) para comprobar si había presencia de vibrionáceos en el agua de los tanques. Para ello, se tomaron muestras de agua aleatorias en los tanques de los dos sistemas de cultivo y del reservorio del sistema de agua clara en recirculación. Los resultados para estos cultivos microbianos fueron negativos en todos los casos.



Figura 8. Detalle de los pleópodos (Izquierda) y telson (Derecha) de organismos juveniles de *L. setiferus* con coloración rojiza atípica.

Una vez finalizado el experimento, se realizó un análisis de vibrionáceas en placa de cultivo con agar TCBS (Kobayashi *et al.* 1963) a las materias

primas utilizadas, obteniendo un resultado positivo para el calamar congelado (>100,000UFC/g).

7.2-Experimento 2

7.2.1-Parámetros de calidad del agua de cultivo.

7.2.1.1-Parámetros físico-químicos

La temperatura se mantuvo en todos los tratamientos ligeramente por encima de los 29°C, entre 29.1 y 29.4°C (Tabla 9). La concentración de oxígeno se mantuvo por encima de 4 mg/L en todos los tratamientos, en los tanques con agua a 35 ups su concentración fue significativamente menor (4.3 mg/L) que los tratamientos de 8 ups (4.6-4.7 mg/L). Los valores de pH fueron significativamente menores en los tratamientos de salinidad 35 ups; siendo de 7.65 en el tratamiento con alimento experimental (S35E) y de 7.93 en el de alimento comercial (S35C). Los dos tratamientos de salinidad 8 ups registraron valores de pH de poco más de 8.5 unidades, este parámetro se encontró vió afectado por la interacción entre salinidad y alimento.

El NAT presentó una baja concentración(<1mg/L), se encontraron diferencias significativas en el factor salinidad, ya que los tratamientos a 35 ups mostraron unos valores inferiores (0.14-0.15 mg/L) a aquellos a 8 ups (0.21-0.23 mg/L). Los nitritos también presentaron diferencias en función de la salinidad, con valores menores en salinidad 35 ups (<0.2 mg/L) y más elevados en los tratamientos a 8 ups (0.9-1.2 mg/L).

Los sólidos suspendidos no mostraron diferencias entre los cuatro tratamientos, siendo ligeramente más elevados en el tratamiento de agua a 35 ups.

Tabla 9. Parámetros físico-químicos del agua de cultivo en el Experimento 2

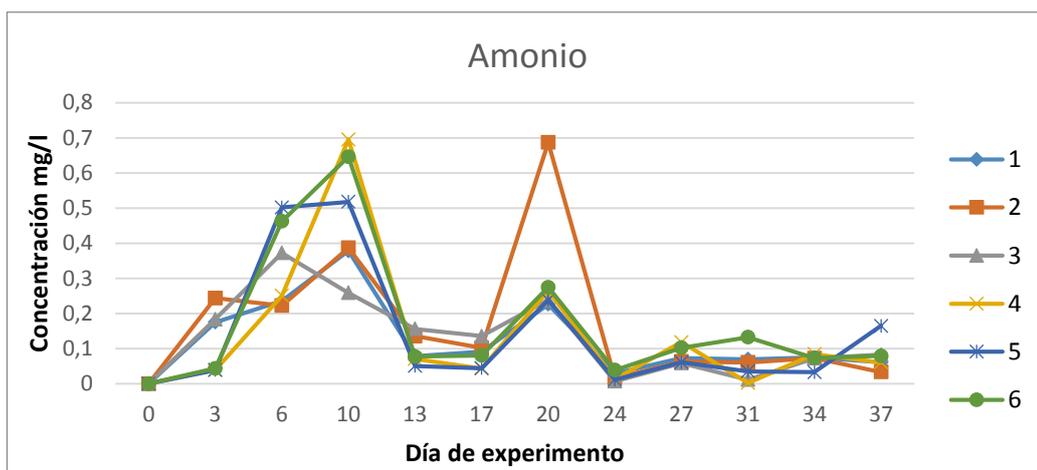
Parámetros	Sal 35 Exp	Sal 35 Com	Sal 8 Exp	Sal 8 Com
T ^a (°C)	29.22 ± 0.24	29.09 ± 0.01	29.24 ± 0.19	29.38 ± 0.31
O ₂ (mg/l)	4.29 ± 0.03 ^a	4.25 ± 0.03 ^a	4.65 ± 0.02 ^b	4.55 ± 0.08 ^b
pH	7.65 ± 0.16 ^a	7.93 ± 0.12 ^a	8.59 ± 0.05 ^a	8.52 ± 0.10 ^a
NAT (mg/l)	0.14 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.23 ± 0.06	0.21 ± 0.22
NO ₂ ⁻ (mg/l)	0.12 ± 0.01 ^a	0.18 ± 0.06 ^a	0.93 ± 0.48 ^b	1.16 ± 0.17 ^b
SS (mL/l)	10.38 ± 1.31	10 ± 1.44	8.94 ± 0.78	9.19 ± 0.47

Valores promedio ± desviación estándar de cada tratamiento. Sal: salinidad; Exp: alimento experimental; Com: alimento comercial; TAN: nitrógeno amoniacal total; SS: sólidos suspendidos.

7.2.1.2-Compuestos nitrogenados en los tanques con agua a salinidad de 35 ups

En la Figura 9 observamos como la concentración de amonio se incrementa desde el comienzo del experimento hasta alcanzar su máximo en día 10 de experimento (0.7 mg/L) para luego estabilizarse por debajo de los 0.3 mg/L, solo un tanque muestra un repunte en su concentración en el día 20 del experimento.

La concentración de nitrito se mantuvo por debajo de los 0.3 mg/L hasta el día 27, en el que dos tanques aumentaron su concentración con un máximo de 0.77 mg/L.



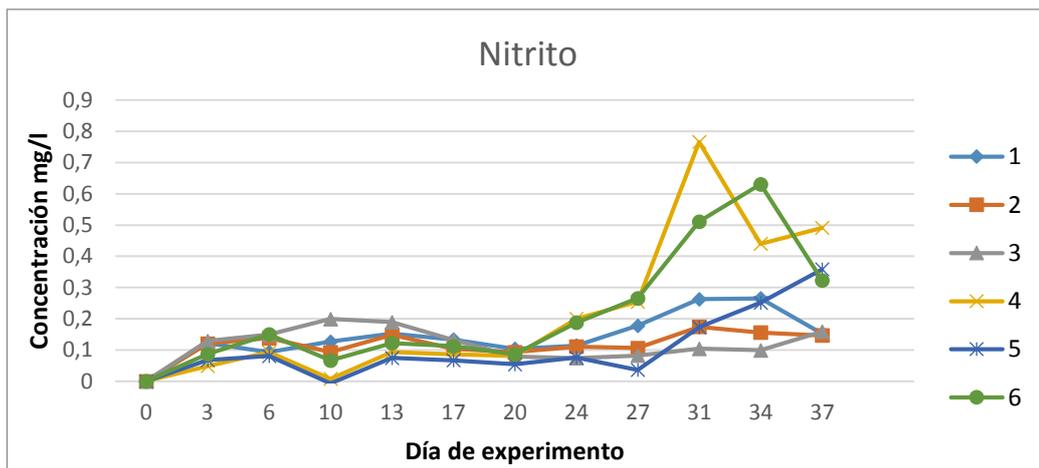
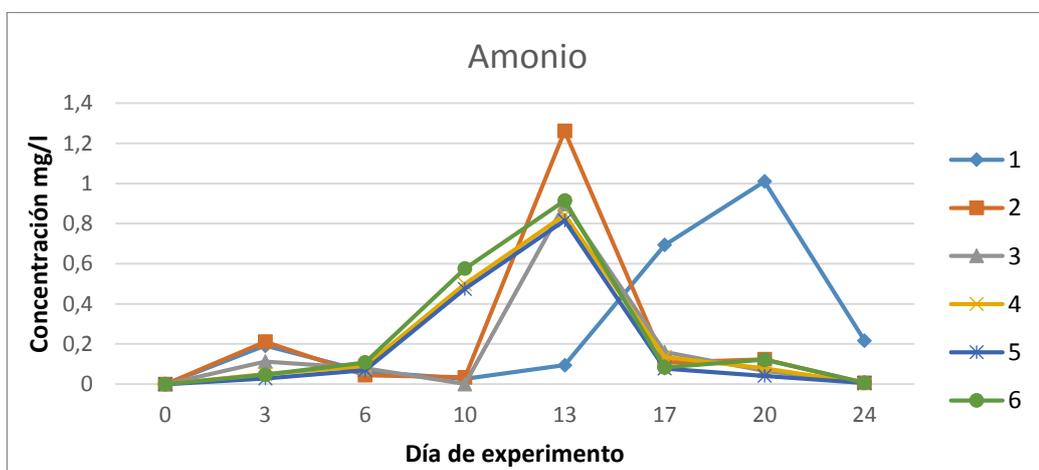


Figura 9. Evolución de la concentración de amonio y nitritos en los tanques con agua a salinidad de 35 ups. Tanques 1, 2 y 3 alimentados con alimento experimental; tanques 4, 5 y 6 alimentados con alimento comercial.

7.2.1.3-Compuestos nitrogenados en los tanques con agua a salinidad de 8 ups

En la Figura 10 se observa que a partir del día 6 de experimento aumenta la concentración de amonio, llegando a su máximo en el día 13 de cultivo, de ahí en adelante su concentración cae por debajo de 0.2 mg/L; el tanque 1 mostró esa misma dinámica pero con 7 días de retraso.

A partir del día 10 se observa un pico de nitrito en los tanques, llegando a su máximo en el día 17 en el que 5 tanques de los 6 en esta salinidad se encuentran con una concentración de 4-5 mg/L. La mortalidad relacionada con esta alta concentración de NO_2^- propició que se desmontasen estos dos tratamientos en el día 25 de experimento.



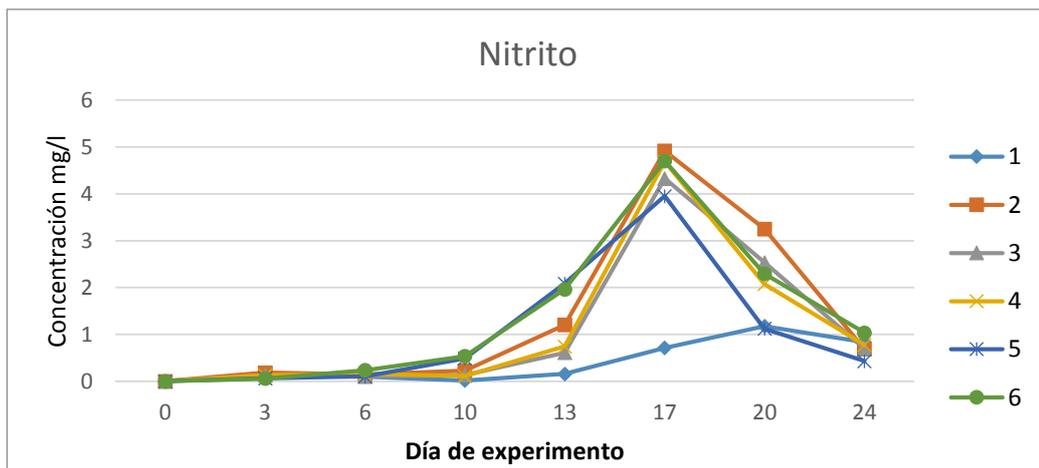


Figura 10. Evolución de la concentración de amonio y nitritos en los tanques con agua a salinidad de 8 ups. Tanques 1, 2 y 3 fueron alimentados con alimento experimental; tanques 4, 5 y 6 alimentados con alimento comercial

7.2.2-Parámetros zootécnicos

Debido a la supervivencia del 7% y 47% en los tanques de salinidad 8 ups respectivamente para S8E y S8C, se decidió desmontar estos tratamientos en el día 25 de experimento. Los valores de supervivencia de los tratamientos en 35 ups fueron mayores, 87% y 93% para S35E y S35C respectivamente (Tabla10); estas diferencias fueron significativas en relación a ambos factores, la supervivencia se vio afectada por la salinidad y el alimento, pero no se observó interacción entre ambas.

Respecto al peso inicial de los organismos podemos observar en la Tabla 10 que los organismos de agua a baja salinidad tenían un peso significativamente menor cuando se comenzó el experimento. Respecto al peso final se detectaron diferencias significativas en relación a la salinidad, siendo menor el peso de los organismos cultivados en agua a 8 ups.

En los tanques de salinidad 35 ups se observó un mayor crecimiento en el tratamiento alimentado con alimento comercial, pero debido a la alta dispersión entre réplicas no se detectaron diferencias significativas. Sí se detectaron diferencias significativas para el factor salinidad.

Tabla 10. Parámetros zootécnicos en el Experimento 2 al cabo de 40 días.

Parámetros	Sal 35 Exp	Sal 35 Com	Sal 8 Exp	Sal 8 Com
Supervivencia (%)	86.67 ± 5.77 ^{ab}	93.33 ± 5.77 ^a	6.67 ± 5.77 ^c	46.67 ± 30.55 ^{bc}
Peso inicial (g)	5.46 ± 1.1 ^a	5.24 ± 0.86 ^a	3.92 ± 0.11 ^b	4.34 ± 0.37 ^b
Peso final (g)	6.24 ± 0.26 ^a	6.51 ± 0.79 ^a	4.25 ± 0.78 ^b	4.58 ± 0.70 ^{ab}
Crecimiento (%)	14.13 ± 0.87	23.93 ± 5.70	0.08 ± 0.16	0.05 ± 0.07
Biomasa inicial (g)	54.63 ± 2.11 ^a	52.43 ± 4.12 ^a	39.17 ± 1.05 ^b	43.47 ± 3.66 ^b
Biomasa final (g)	54.13 ± 5.76 ^a	60.97 ± 10.03 ^a	2.83 ± 2.51 ^b	20.87 ± 13.68 ^b
TEC (% g/día)	0.33 ± 0.02	0.53 ± 0.12	0.19 ± 0.37	0.12 ± 0.17

Valores promedio ± desviación estándar de cada tratamiento. Sal: salinidad; Exp: alimento experimental; Com: alimento comercial; TEC: tasa específica de crecimiento. Superíndices diferentes entre columnas denotan diferencias significativas ($P < 0.05$).

El crecimiento también mostró diferencias significativas para el factor salinidad, lo mismo para la biomasa inicial, biomasa final y tasa específica de crecimiento, siempre siendo mayores los valores de los tanques a 35 ups.

7.2.3- Indicadores fisiológicos

Solamente se analizaron los indicadores fisiológicos de los tanques cultivados a 35 ups ya que en el tratamiento de baja salinidad no hubo individuos suficientes para realizar la respirometría, siendo esta vital para completar el balance bioenergético.

En general, el gasto energético en cada proceso fisiológico fue mayor en los individuos alimentados con alimento experimental (Tabla 11). Solamente existen dos excepciones: la energía retenida (RE) y la energía perdida durante la muda (HxE) (que se calcula como un porcentaje de la primera), que resultaron significativamente mayores en el tratamiento con alimento comercial (RE: 133.21 en comercial frente a 93.65 J día⁻¹camarón⁻¹ en alimento experimental y HxE: 33.3 en comercial y 20.9 J día⁻¹camarón⁻¹ en experimental) como se observa en la Tabla 11.

En el resto de procesos fisiológicos, aunque los valores fueron ligeramente mayores con el tratamiento alimento experimental, no se detectaron diferencias significativas. La dispersión también fue mayor, con valores de más del doble que los del tratamiento alimento comercial.

La energía digerible (ED) es calculada como el sumatorio de todos los anteriores procesos fisiológicos, por ende, su valor es mayor en el tratamiento alimentado con alimento experimental.

Tabla 11. Parámetros fisiológicos ($J \text{ día}^{-1} \text{ camarón}^{-1}$) de camarones alimentados con alimento experimental y comercial (Experimento 2).

Parámetro	Experimental	Comercial
HeE	1,447.53 ± 683.80	1,233.59 ± 246.30
HiE	42.23 ± 19.15	36.19 ± 8.53
RE*	93.65 ± 2.89	133.21 ± 4.47
UE+ZE	127.55 ± 55.89	114.90 ± 20.41
HxE*	20.91 ± 0.72	33.30 ± 1.12
SE	47.83 ± 20.96	43.09 ± 7.65
ED	1,769.69 ± 775.44	1,594.30 ± 283.22

Valores promedio ± desviación estándar. El símbolo * denota diferencias significativas en ese parámetro ($P < 0.05$).

En la Tabla 12 se muestran datos de respiración basal y postprandial, mismos que en la Tabla 11 pero en diferentes unidades, ya que de este modo es más sencillo compararlo con trabajos precedentes de fisiología.

Tabla 12. Respiración basal y postprandial ($J \text{ h}^{-1} \text{ g peso seco}^{-1}$) de camarones alimentados con alimento experimental y comercial (Experimento 2).

Parámetro	Experimental	Comercial
HeE	40.67 ± 19.21	33.18 ± 6.63
HiE	18.98 ± 8.61	15.58 ± 3.67

Valores promedio ± desviación estándar.

7.2.4-Indicadores bioquímicos y enzimáticos.

En la Tabla 13 se muestran los resultados de los análisis bioquímicos y enzimáticos de los camarones del experimento 2. Sólo se exponen los resultados de los camarones cultivados a 35 ups, debido a que los animales cultivados a 8 ups no se encontraban en buenas condiciones de salud para ser manipulados, por lo que se descartó realizar los análisis bioquímicos y enzimáticos.

La mayor concentración de hemocianina se encontró en el tratamiento de alimento comercial, siendo significativamente mayor al del tratamiento de alimento experimental ($P < 0.05$). En lo referente a enzimas digestivas, los mayores valores de actividad se encontraron en los camarones alimentados con el alimento experimental, siendo pequeña la diferencia en actividad de tripsina y muy acentuada, con diferencias significativas, las actividades de quimotripsina y α -amilasa.

Tabla 13. Indicadores bioquímicos y enzimáticos de camarones cultivados a 35 ups, alimentados con alimento experimental y comercial (Experimento 2)

Parámetro	Experimental	Comercial
Hemocianina* (mMol/L)	0.74 ± 0.17	1.13 ± 0.18
Tripsina(Ul/mg)	5.13 ± 0.56	4.63 ± 1.03
Quimotripsina*(Ul/mg)	74.03 ± 24.67	33.77 ± 14.77
α-amilasa*(Ul/mg)	98.71 ± 42.59	40.58 ± 24.69

Valores promedio ± desviación estándar. El símbolo * denota diferencias significativas en ese parámetro ($P < 0.05$).

8-Discusión

8.1-Experimento 1

8.1.1-Parámetros físico-químicos del agua de cultivo

La temperatura del agua se mantuvo en el rango entre 27-29°C, siendo valores adecuados para el cultivo de esta especie, de acuerdo a lo reportado en diversos estudios como el de Sandifer *et al.* (1993) se realizó a 27°C, el de Rosas *et al.* (2001) a 28°C y el de Guzmán *et al.* (2001) a 29°C.

La concentración de O₂ disuelto se mantuvo siempre por encima de 4 mg/l como aconseja Rosas *et al.* (2001), ya que por debajo de esta concentración *L. setiferus* empieza a actuar como oxiconformador.

El pH osciló entre 8.08-8.21, estos valores se encuentran dentro de los rangos reportados en los experimentos mencionados en la temperatura (dos párrafos arriba).

El NAT presentó valores promedio reducidos, y solamente una de las réplicas del tratamiento de alimento comercial mostró un pico de amonio de 3 mg/l que se corrigió rápidamente, y no parece haber afectado a la supervivencia de los organismos en dicho tanque. Estos valores puntuales de TAN son más altos que los reportados por Alcaraz *et al.* (1999) como letales para la mitad de la población en postlarvas de *L. setiferus*; eso nos puede indicar que los juveniles sean más resistentes a altas concentraciones de NAT.

Los valores de NO₂⁻ se mantuvieron bajos en general, y sus máximos valores apenas excedieron de 1.5 mg/l, mismos que se encuentran muy por debajo de lo reportado por Alcaraz *et al.*, (1999) como tóxico para postlarvas de *L. setiferus* cultivadas a 30 ups.

Los valores de SS se mantuvieron entre 7-8 mL/l, valores muy por debajo del máximo de 15mL/l y por encima del mínimo de 5mL/L que recomienda Taw (2010) para un correcto desarrollo de los camarones.

8.1.2-Parámetros zootécnicos.

La supervivencia fue baja en todos los tratamientos, en especial en el de agua clara alimento experimental, pero con una amplia dispersión por lo que no llegaron a detectar diferencias significativas con los otros tres tratamientos.

El crecimiento sólo logró en los organismos del tratamiento de biofloc-alimento comercial, y solamente fue de 0.32 g en 42 días, por lo que este tratamiento, pese a presentar el mejor resultado, no fue lo que se esperaba en base al trabajo de Rosas et al. (2001), que sus tratamientos crecieron 4 veces más. Una de las posibles causas del escaso crecimiento pudo ser el mal manejo, de lo cual se infiere qué para animales silvestres, no se debe comprobar diario si hay mortandad, ya que los camarones se estresan demasiado, impidiendo su correcto desarrollo y reduciendo así la supervivencia. El crecimiento no es comparable al obtenido por Rosas (2001) en el que en 45 días obtuvo un incremento de peso de 1.5-1.8 gramos en los diferentes tratamientos. Ni el crecimiento ni la supervivencia se pueden comparar tampoco con los resultados obtenidos por Sandifer *et al.* (1993), que en un ciclo de cultivo de 147 días logró un aumento de 15 gramos y supervivencias mayores al 84%.

Respecto a la alta mortandad registrada en el tratamiento agua clara alimento experimental, no se encontró un resultado positivo cuando realizamos la siembra de microplacas para determinar presencia de vibrionaceas en el agua de cultivo, pero sí hubo presencia de vibrionaceas en el calamar congelado utilizado para la elaboración del alimento experimental. Este resultado, aunado a la sintomatología observada en los camarones, explicarían la alta mortandad registrada con el tratamiento agua clara alimento experimental. En contraparte, se estaría poniendo en evidencia el efecto benéfico y probiótico del biofloc sobre la condición nutricional y la salud de los camarones, como ha sido reportado por algunos autores (Ekasari *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2014) pues siendo alimentados con un alimento contaminado, la

supervivencia del tratamiento biofloc alimento experimental fue casi igual a la obtenida en los tratamientos de alimento comercial (66.7% frente a 70.8% en los tratamientos de alimento comercial).

8.2-Experimento 2

8.2.1-Parámetros físico-químicos del agua de cultivo

La temperatura del agua se mantuvo ligeramente por encima de 29°C, siendo valores similares a los que reportaron Guzmán *et al.* (2001) de 29°C.

La concentración de O₂ disuelto se mantuvo siempre por encima de 4 mg/l por lo que este parámetro se mantuvo en buenas condiciones para el desarrollo del experimento. La concentración de oxígeno fue del orden de 0.3 mg/l, más alta en los tanques con baja salinidad, seguramente debido a la mayor solubilidad del oxígeno en el agua dulce y a la ligeramente menor cantidad de SS.

El pH osciló entre 7.6-8.6, este rango de valores se encuentra dentro de lo reportado por Sandifer *et al.* (1993) en el experimento más exitoso (en términos de rápido crecimiento y alta supervivencia a gran escala) hasta la fecha.

El NAT presentó valores medios bajos, y solamente dos tanques del tratamiento biofloc a baja salinidad con alimento experimental superaron 1 mg/l en uno de los días del experimento. Respecto a la concentración de NO₂⁻, en los tratamientos a salinidad de 35 ups los valores fueron bajos, mientras que en los tanques a baja salinidad la concentración fue significativamente más elevada. Hubo un pico de nitrito a partir del día 13 en la mayoría de los tanques, que llegó a una concentración 4-5 mg/l, lo cual provocó una gran mortandad de los organismos y redujo la duración del experimento a 25 días en esta salinidad. Estas concentraciones de nitrito fueron muy elevadas para una salinidad de 8 ups, como reporta Furtado *et al.* (2016) para juveniles de *L. vannamei*.

Los SS se mantuvieron entre 9-10 mL/l para todos los tratamientos, valores adecuados para el correcto desarrollo de los camarones, por debajo del máximo recomendado por Taw (2010).

8.2.2-Parámetros zootécnicos

La supervivencia de los tratamientos de baja salinidad fue significativamente menor que la de los tratamientos a 35 ups, ello fue debido a un pico de nitrito en el agua de cultivo en 5 de los 6 tanques que conformaban los dos tratamientos a partir del día 13 de experimento. Debido a este contratiempo, se decidió detener el experimento en el día 25. Esta mortandad fue probablemente debida a la mayor toxicidad del nitrito en bajas salinidades, ya que el ion cloruro compite con el ion nitrito para la entrada en las branquias, con lo que bajando la salinidad del agua, se disminuyó la concentración del ion cloruro, que es el mayoritario en agua marina, provocando una mayor entrada del ion nitrito al interior del animal. La entrada de este ion provoca una reacción de oxidación de la hemocianina de la hemolinfa del camarón, volviéndola una forma no funcional en el transporte de oxígeno (metahemocianina) provocando así una anoxia progresiva al animal (Frías-Espéricueta & Páez-Osuna, 2001). Experimentos previos con *L. vannamei* también reportan mortalidad del 100% en los tratamientos en agua dulce o muy baja salinidad, como son los trabajos de Esparza Leal *et al.* (2016) y Maicá *et al.* (2012). La alta mortandad obtenida aquí, indica que *Litopenaeus setiferus* puede tener una mayor sensibilidad que *Litopenaeus vannamei*, ya que estos últimos, cultivados en biofloc a 8 ups con una concentración constante de 5 mg/l NO_2^- tuvieron una supervivencia del 30% en un experimento de 30 días de duración (Furtado *et al.*, 2016). En el mismo experimento, el tratamiento con una concentración constante de 2.5 mg/l NO_2^- tuvo una supervivencia de 75%. En nuestro experimento, el pico de nitrito alcanzó un máximo de 5 mg/l, pero la concentración de NO_2^- no estuvo más de 10 días por encima de 1 mg/l.

En relación a los tratamientos de salinidad 35 ups, la diferencia en la supervivencia es casi inapreciable, y pese a que el alimento comercial promovió un mayor crecimiento de los organismos, las diferencias en peso no llegaron a ser significativas. Una posible explicación para el menor desarrollo de los animales alimentados con el alimento experimental es que la cantidad de harina de ave incluida en el alimento haya sido excesiva (40%) ya que Gamboa-Delgado *et al.* (2014) reporta que cuando se sustituye la harina de pescado en un porcentaje mayor al 50% por harina de ave (28% de inclusión), el crecimiento se ve afectado. En nuestro alimento, la harina de ave representó

el 69% de todas las harinas que lo componen. Según se reporta por Gamboa-Delgado *et al.* (2014) el perfil lipídico de las harinas de ave no es totalmente adecuado para un óptimo crecimiento de los camarones.

Ambos tratamientos de 35 ups presentaron una supervivencia similar, incluso ligeramente mejor que la obtenida por Rosas (2001) con juveniles de *L. setiferus*, aunque el crecimiento en este último trabajo fue bastante mayor. Lo anterior podría deberse a que ese experimento fue realizado con animales nacidos en cautiverio, mientras los de nuestros experimentos eran silvestres, con lo cual el grado de estrés durante el cultivo sería mayor que el de aquellos individuos nacidos en cautiverio.

La supervivencia en nuestro experimento (87-93%) fue similar a la obtenida por Sandifer *et al.* (1993) (87-97%) pese a que nuestra densidad de cultivo fue aproximadamente la mitad (60 camarones/m² frente a 30 camarones/m² en este trabajo). La buena supervivencia indica que esta especie se adapta bien a este sistema de cultivo. Respecto a las tasas de crecimiento fueron muy inferiores a las de Sandifer (1993) ya que en ese trabajo se obtuvo un crecimiento de 0.74 g/semana, mientras que nuestros camarones crecieron poco más de 1 g de promedio en 40 días.

8.2.3-Parámetros fisiológicos

Los valores de energía empleada en la respiración basal (HeE) y postprandial (Hie) son mayores en los camarones alimentados con alimento experimental, aunque no se detectaron diferencias significativas. Sí encontramos diferencias significativas en la energía retenida (RE) y la energía empleada en el proceso de la muda (HxE), estos parámetros son mayores en el tratamiento con alimento comercial debido a la mayor asimilación del alimento, que se vió reflejado en el mayor peso de estos organismos en comparación a aquellos cultivados con alimento experimental.

Rosas *et al.* (2002) reporta que el tratamiento de 27% de proteína es donde encuentra un mayor crecimiento, ya que aquí coinciden la menor respiración basal y la menor respiración postprandial. Por el contrario, en el tratamiento de 33% de proteína la respiración postprandial basal es mayor y la postprandial es casi del triple del valor del tratamiento anterior.

En nuestro experimento coincide igualmente la relación observada, que a menor gasto energético en respiración (basal y postprandial) mayor es la energía retenida (crecimiento) observada en el respectivo tratamiento. La alta dispersión encontrada al medir la respiración del tratamiento experimental es la que provoca que las diferencias no lleguen a ser significativas. Para evitar el problema de la alta dispersión en pruebas futuras se podría aumentar el número de organismos a analizar y buscar la mayor similitud de talla posible.

En proporción a la energía total digerible (ED), en el tratamiento comercial el crecimiento (RE) fue el 8.35% del total, mientras que en el tratamiento experimental fue solamente de 4.72%; esto nos indica que en el tratamiento con alimento experimental el gasto metabólico fue mayor, quedando una menor proporción de la energía total digerible para ser utilizada en crecimiento. En lo referido a la energía empleada en excreción amoniacal (UE+ZE), la energía empleada en la muda (HxE) y la energía perdida en la exuvia (SE) se calculan de manera indirecta, como proporción de los parámetros anteriores de acuerdo a la fórmula del balance bioenergético de Bureau (2000). Lamentablemente, el crecimiento no fue el suficiente para que este modelo se ajuste correctamente a los datos obtenidos en los respectivos tratamientos de nuestro experimento.

8.2.4-Parámetros bioquímicos y enzimáticos

Se detectaron diferencias significativas en la concentración de hemocianina, siendo el mayor valor (1.13 mMol/l) el del tratamiento comercial, coincidiendo con el tratamiento que mostró un mayor crecimiento. Esto nos indica que el alimento comercial probablemente promovió una mayor reserva de proteínas en forma de hemocianina, la cual, aparte de transportadora de oxígeno, ha sido identificada como osmolito transportador de ecdisona y tiene un rol importante en el sistema inmune (Cuzon *et al.*, 1980; Pascual *et al.*, 2004). Las concentraciones de hemocianina obtenidas en este trabajo (0.7-1.1 mMol/L), son inferiores a las reportadas por Pascual (2006) en juveniles de *L. vannamei* alimentados con alimentos que contenían 40% y 5% de proteína (1.5-2.2 mMol/L). Goimier *et al.* (2006) reporta en reproductores de *L. setiferus* valores de hemocianina superiores a los de este trabajo (1.7-2.1 mMol/L).

La actividad de tripsina varió muy poco entre tratamientos (5.13-4.43 UI/mg) no detectándose diferencias significativas. Dicha actividad es tres veces mayor que la reportada por Guzmán (2001) en postlarvas de *L. setiferus* alimentadas con un alimento que contenía el 40% de proteína, que fue el que presentó el mejor crecimiento. Esta mayor actividad en los juveniles puede ser debida a cambios ontogénicos de la especie.

La actividad de quimotripsina fue significativamente más elevada en los camarones del tratamiento del alimento experimental, llegando a ser más del doble que la registrada con el tratamiento comercial. Pese a que ambos alimentos fueron isoproteicos, la naturaleza de las fuentes de proteína pudo haber provocado una mayor actividad de esta enzima en el alimento experimental. Los niveles de actividad de quimotripsina se encuentran dentro de los rangos observados por Guzmán (2001) que reportó un máximo de 5-140 UI/mg de proteína en el tratamiento de alta energía y 30% de proteína. No nos queda patente la correlación entre tripsina y quimotripsina ($r= 0.71$) reportada por el autor anterior, ya que en nuestro caso no pudimos realizar análisis de correlación por el número tan limitado de alimentos.

Las actividades de α -amilasa fueron significativamente mayores en el alimento experimental, de más del doble que lo observado en el alimento comercial (98.71-40.58 UI/mg). En comparación al trabajo de Guzmán *et al.* (2001), que reporta un valor máximo de 50 UI/mg de proteína, el tratamiento con alimento experimental del presente estudio tuvo un valor de casi el doble, esta mayor actividad podría deberse a factores ontogénicos.

9-Conclusiones

9.1-Primer experimento.

Los parámetros fisicoquímicos del cultivo se mantuvieron dentro de los considerados correctos en comparación a los anteriores experimentos con la misma especie. La supervivencia fue baja, con gran dispersión, por lo que no hubo diferencias entre tratamientos. El crecimiento fue nulo en todos los tratamientos salvo el de biofloc con alimento comercial, cuyo crecimiento muy bajo, 4% en 42 días. El biofloc probablemente mejoró el sistema inmune de los

camarones, ya que en el tratamiento de biofloc con alimento experimental, este estaba contaminado con *Vibrio* y la supervivencia fue mejor que los cultivados en agua clara con el mismo alimento (debido a la alta dispersión en el tratamiento agua clara con alimento experimental no se detectaron diferencias significativas).

9.2-Segundo experimento.

Los parámetros de cultivo durante este experimento fueron similares al de primer experimento con excepción del nitrito, el cual presentó una alta concentración en los tratamientos de 8 ups. Los juveniles de *Litopenaeus setiferus* cultivados en esa salinidad presentaron una supervivencia muy baja, el tratamiento con alimento experimental tuvo el peor resultado (7%) mientras que en el tratamiento de alimento comercial fue de algo menos de la mitad (47%).

Los camarones cultivados en agua a 35 ups mostraron una alta supervivencia (87% y 93%) sin diferencias entre tratamientos, el crecimiento fue muy bajo, por debajo de lo esperado.

10-Literatura citada

- Alcaraz, G., Chiappa-Carrara, X., Espinoza, V., & Vanegas, C. (1999). Acute toxicity of ammonia and nitrite to white shrimp *Penaeus setiferus* postlarvae. *Journal of the World Aquaculture Society*, 30(1), 90-97.
- Angulo, C. J., Mejía, A., & Engel, R. (2005). Cultivo experimental de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en el Valle del Mezquital, Hidalgo, México. *Panorama Acuícola*, 1(1), 10-13.
- AOAC, 1995. Official methods of analysis of AOAC International. AOAC International, Washington, DC, USA.
- AQUACOP (1975). Maturation and spawning in captivity of penaeid shrimp *Penaeus merguensis* de Man, *Penaeus japonicus* Bate, *Penaeus aztecus* Ives, *Metapenaeus ensis* de Haan, and *Penaeus semisulcatus* de Haan. *J. World Maricult. Soc.*, 6 (1975), pp. 123–132.
- Avnimelech, Y., Kochva, M., & Diab, S. (1994). Development of controlled intensive aquaculture systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 46(3), 119-131.
- Avnimelech, Y. (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176(3), 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.
- Boyd, C. E., & Thunjai, T. (2003). Concentrations of major ions in waters of inland shrimp farms in China, Ecuador, Thailand, and the United States. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34(4), 524-532.
- Brito, R., Chimal, M.-E., Rosas, C., 2000. Effect of salinity in survival, growth, and osmotic capacity of early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* (decapoda: penaeidae). *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 244, 253–263.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-Dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Browdy, C.L., Bratvold, D., Stokes, A.D., McIntosh, R.P., 2001. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. En: Browdy, C.L., Jory, D.E. (Eds.), *The New Wave*, Proceedings of the special session on sustainable

shrimp culture. Aquaculture 2001. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA.

Bureau, D. 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, 111-140.

Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman, R.H., Pearson, D.C., 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture* 232, 525–537.

Chávez Sánchez, M.C. & Montoya Rodríguez, L. (2004) Medidas de Bioseguridad para evitar la Introducción y Dispersión de Enfermedades Virales en Granjas Camaronícolas. *Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola* (eds L. E. Cruz Suárez, D. Ricque Marie, M. G. Nieto López, D. A. Villareal Cavazos, U. Scholz & M. González), pp. 650-670. Hermosillo, Sonora.

Cohen, J., Samocha, T. M., Fox, J. M., & Lawrence, A. L. (2005). Biosecured production of juvenile *Pacific white shrimp* in an intensive raceway system with limited water discharge. *Aquaculture Engineering*, 32, 425-442.

Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., 2012. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture* 356-357, 351–356.

Cuzon, G., Cahu, C., Aldrin, J. F., Messenger, J. L., Stephan, G., & Mevel, M. (1980). Starvation effect on metabolism of *Penaeus japonicus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 11(1-4), 410-423.

De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., & Verstraete, W. (2008). The basics of bio-flocs technology: the added value for Aquaculture. *Aquaculture*, 277(3), 125-137.

Ekasari, J., Azhar, M. H., Surawidjaja, E. H., Nuryati, S., De Schryver, P., & Bossier, P. (2014). Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. *Fish & shellfish immunology*, 41(2), 332-339.

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

Esparza-Leal, H. M., Xavier, J. A. A., & Wasielesky, W. (2016). Performance of *Litopenaeus vannamei* postlarvae reared in indoor nursery tanks under biofloc conditions at different salinities and zero-water exchange. *Aquaculture International*, 24(5), 1435-1447.

Ezquerria-Brauer, J.M., Salazar Leyva, J.A., Bringas Alvarado, L., Rouzaud Sandez, O., 2003. Effect of dietary protein on muscle collagen, collagenase and shear force of farmed white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Eur. Food Res. Technol.* 217, 277–280.

FAO. (2004). Introductions and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the Pacific

FAO. (2014). The state of world fisheries and aquaculture 2014. United Nations Food and Agriculture Organization, Rome.

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

Frías-Espericueta, M.G. & F. Páez-Osuna. 2001. Toxicidad de los compuestos de nitrógeno en camarones. In: F. Páez-Osuna (ed.). Camaronicultura y medio ambiente. Universidad Nacional Autónoma de México, México DF, pp. 224-242.

Furtado, P. S., Valenzuela, M. A., Rodriguez-Fuentes, G., Campos, B. R., Wasielesky Jr, W., & Gaxiola, G. (2016). Chronic effect of nitrite on the rearing of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* in two salinities. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 49(3), 201-211.

Gamboa-Delgado, J., Castañeda-Solís, J. D. D., Nieto-López, M. G., Villarreal-Cavazos, D., & Cruz-Suárez, L. E. (2014). Isotopic Evaluation of the Nutritional Contribution of Poultry By-product Meal and Fish Meal to the Growth of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45(4), 430-438.

García-Galano, T., H. Villarreal y J. Fenucci (Eds.)(2007). Manual de ingredientes proteicos y aditivos empleados en la formulación de alimentos balanceados para camarones peneidos. EUDEM, Argentina, 264 pp. ISBN: 978-987-1371-02-

Geiger, R. and Fritz, H. 1988. Trypsin. In: *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergemeyer, J. & Grab, M. eds), pp. 104-110.

Godínez-Siordia, D., & Chávez-Sánchez, M., & Gómez-Jiménez, S. (2011). Acuicultura epicontinental del camarón blanco del pacífico, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14 (1), 55-62.

Goimier, Y., Pascual, C., Sánchez, A., Gaxiola, G., Sánchez, A., & Rosas, C. (2006). Relation between reproductive, physiological, and immunological condition of *Litopenaeus setiferus* pre-adult males fed different dietary protein levels (Crustacea; Penaeidae). *Animal reproduction science*, 92(1), 193-208.

Guzman, C., Gaxiola, G., Rosas, C., & Torre-Blanco, A. (2001). The effect of dietary protein and total energy content on digestive enzyme activities, growth

and survival of *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus 1767) postlarvae. *Aquaculture Nutrition*, 7(2), 113-122.

Hargreaves, J.A., 2013. *Biofloc Production Systems for Aquaculture*. SRAC. 4503, 1–12.

Herrera-Salvatierra N. (2011). Caracterización del estado fisiológico-inmunológico de los juveniles de la langosta espinosa *Panulirus argus* infectados naturalmente con el virus PaV1. Master's Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México.

Hopkins, J. S., Hamilton, R. D., Sandier, P. A., Browdy, C. L., & Stokes, A. D. (1993). Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. *Journal of the World Aquaculture Society*, 24(3), 304-320.

Keiser, R.K., Aldrich D.V. (1976). Salinity preference of postlarval brown and white shrimp (*Penaeus aztecus* and *P. setiferus*) in gradient tanks. Dept. of Wildlife and Fisheries Science Publication, TAMU-SG-75-208, Texas Agricultural Experimental Station (1976), p. 260

Kim, S. K., Pang, Z., Seo, H. C., Cho, Y. R., Samocha, T., & Jang, I. K. (2014). Effect of bioflocs on growth and immune activity of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Aquaculture Research*, 45(2), 362-371.

Kobayashi, T., S. Enomoto, R. Sakazaki, and S. Kuwahara. 1963. A new selective medium for pathogenic vibrios, TCBS (modified Nakanishi's agar). *Jpn. J. Bacteriol.* 18:387.

Kubitza F. Criação de tilapias em sistema com bioflocos sem renova- ção de água. *Panorama da AQUICULTURA*. 2011;21(125):14– 23.

Magaña-Gallegos, E., González-Zúñiga, R., Arevalo, M., Cuzon, G., Chan-Vivas, E., López-Aguilar, K., ... & Gaxiola, G. (2018a). Biofloc and food contribution to grow-out and broodstock of *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) determined by stable isotopes and fatty acids. *Aquaculture Research*.

Magaña-Gallegos, E., González-Zúñiga, R., Cuzon, G., Arevalo, M., Pacheco, E., Valenzuela, M. A., ... & Noreña-Barroso, E. (2018b). Nutritional Contribution of Biofloc within the Diet of Growout and Broodstock of *Litopenaeus vannamei*, Determined by Stable Isotopes and Fatty Acids. *Journal of the World Aquaculture Society*.

Maicá, P. F., de Borba, M. R., & Wasielesky Jr, W. (2012). Effect of low salinity on microbial floc composition and performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles reared in a zero-water-exchange super-intensive system. *Aquaculture Research*, 43(3), 361-370.

- Majluf P, de la Puente S, Christensen V(2017). The little fish that can feed the world. *Fish Fish*. 2017;18:772–777.
- Maldonado C, Cuzon G, Guzmán 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*, 296:123-128.
- Maldonado J. C.(2011). Evaluación de concentrados proteicos vegetales en la nutrición de *L. vannamei*: aspectos de digestibilidad, bioquímicos y calidad. PhD Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México.
- McIntosh, D., Samocha, T. M., Jones, E. R., Lawrence, A. L., McKee, D. A., Horowitz, S., & Horowitz, A. (2000). The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange. *Aquacultural Engineering*, 21(3), 215-227.
- Megahed, M. E. (2010). The effect of microbial biofloc on water quality, survival and growth of the green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) fed with different crude protein levels. *Journal of the Arabian Aquaculture Society*, 5(2), 119-142.
- Moreno-Arias, A., López-Elías, J. A., Miranda-Baeza, A., Rivas-Vega, M. E., Martínez-Córdova, L. R., & Ramírez-Suárez, J. C. (2017). Replacement of fishmeal by vegetable meal mix in the diets of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity biofloc system: effect on digestive enzymatic activity. *Aquaculture Nutrition*, 23(2), 236-245.
- Moriarty, D. J. (1997). The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture*, 151(1), 333-349.
- Moss, S. M., Argue, B. J., & Arce, S. M. (1999). Genetic improvement of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*, at the Oceanic Institute. *Global Aquaculture Advocate*, 2(6), 41-43.
- Muncy, R.J. 1984. Species profiles: life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (south Atlantic): white shrimp. U.S. Fish and Wildl. Serv. FWS/OBS-82/11.27. U.S. Army Corps of Engineers, TR EL-82-4. 19 pp.
- Olsen, R. L., & Hasan, M. R. (2012). A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends Food Sci.* 27, 120-128.
- Otoshi, C.A., N. Rodriguez & S.M. Moss. 2011. Establishing nitrifying bacteria in super-intensive biofloc shrimp production. *Glob. Aquacult. Advocate*, 14(4): 24-26
- Páez-Osuna, F. Camaronicultura y Medio Ambiente. (2001). Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, El Colegio de Sinaloa, México D.F.

- Páez-Osuna, F., 2005. Retos y perspectivas de la camaronicultura en la zona costera. *Rev. Latinoam. Recur. Nat.* 1, 21–31.
- Pascual, C., Zenteno, E., Cuzon, G., Sánchez, A., Gaxiola, G., Taboada, G., ... & Rosas, C. (2004). *Litopenaeus vannamei* juveniles energetic balance and immunological response to dietary protein. *Aquaculture*, 236(1), 431-450.
- Pascual, C., Sánchez, A., Zenteno, E., Cuzon, G., Gabriela, G., Brito, R., ... & Rosas, C. (2006). Biochemical, physiological, and immunological changes during starvation in juveniles of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 251(2), 416-429.
- Perez-Farfante, I. 1969. Western Atlantic shrimps of the genus *Penaeus*. U.S. Fish Wildl. Serv. Fish. Bull. 67(3):461-591.
- Perez Farfante, I., & Kensley, B. (1997). Penaeoid and sergestoid shrimps and prawns of the world. Keys and diagnoses for the families and genera. Editions du Museum national d'Histoire naturelle.
- Perez-Velazquez, M., González-Félix, M. L., Davis, D. A., Roy, L. A., & Zhu, X. (2013). Studies of the thermal and haline influences on growth and survival of *Litopenaeus vannamei* and *Litopenaeus setiferus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 44(2), 229-238.
- Primavera, J.H., 1997. Socio-economic impacts of shrimp culture. *Aquac. Res.* 28, 815–827.
- Rodier, J.1981. Análisis de las aguas. Aguas naturales, aguas residuales y agua de mar. Ediciones Omega. Barcelona-España.
- Rosas C, Sanchez A, Díaz E, Soto LA, Gaxiola G, Brito R (1996) Effect of dietary protein level on apparent heat increment and post-prandial nitrogen excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis postlarvae*. *Journal of the World Aquaculture Society* 27, 92-102
- Rosas C, Martinez E, Gaxiola G, Brito R, Sanchez A, Soto LA (1999a) The effect of dissolved oxygen and salinity on oxygen consumption, ammonia excretion and osmotic pressure of *Penaeus setiferus* (Linnaeus) juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 234, 41-57
- Rosas, C., L. Ocampo, G. Gaxiola, A. Sanchez, and L. A. Soto. (1999b). Effect of salinity on survival, growth, and oxygen consumption of postlarvae (PL10-PL21) of *Litopenaeus setiferus*. *Journal of Crustacean Biology* 19:244–251.
- Rosas C, López N, Mercado P, Martinez E (2001) Effect of salinity acclimation on oxygen consumption of white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Journal Crustacean Biology* 21, 279-292.

Roy, L. A., Davis, D. A., Saoud, I. P., Boyd, C. A., Pine, H. J., & Boyd, C. E. (2010). Shrimp culture in inland low salinity waters. *Reviews in Aquaculture*, 2(4), 191-208.

SAGARPA, 2017. Aumenta producción de camarón 65.5 por ciento en cuatro años.

Samocha, T.M., Patnaik, S., Gandy, R.L., 2004. Heterotrophic intensification of pond shrimp production, En: Book of Abstract of Fifth International Conference on Recirculating Aquaculture. 22–25.

Sandifer, P. A., Hopkins, J. S., Stokes, A. D., & Browdy, C.L.(1993). Preliminary comparisons of the native *Penaeus setiferus* and *Pacific P. vannamei* white shrimp for the pond culture in South Carolina, USA. *Journal of World Aquaculture Society*, 24(3), 295-303.

Tacon, A. G. J., Cody, J. J., Conquest, L. D., Divakaran, S., Forster, I. P., & Decamp, O. E. (2002). Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquaculture nutrition*, 8(2), 121-137.

Tacon, A.G.J., Metian, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*. 285, 146–158.

Taw, N., 2010. Biofloc technology expanding at white shrimp farms. *Glob. Aquac. advocate*.

Wakida-Kusunoki, A. T., Amador-del Angel, L. E., Alejandro, P. C., & Brahms, C. Q. (2011). Presence of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in the Southern Gulf of Mexico. *Aquat Invasions*, 6(Suppl), S139-S142.

Wakida-Kusunoki, A. T., Rojas-González, R. I., González-Cruz, A., Amador-del Ángel, L. E., Sánchez-Cruz, J. L., & López-Tellez, N. A. (2013). Presence of giant tiger shrimp *Penaeus monodon* Fabricius, 1798 on the Mexican coast of the Gulf of Mexico. *BiolInvasions Records*, 2(4), 325-328.

Wasielesky Jr, W., Atwood, H., Stokes, A., Browdy, C.L., 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 258, 396–403.

Williams, A. S., Davis, D. A., & Arnold, C. R. (1996). Density-dependent growth and survival of *Penaeus setiferus* and *Penaeus vannamei* in a semi-closed recirculating system. *Journal of the World Aquaculture Society*, 27(1), 107-112.

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

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

ANEXO I

M Y N DISTRIBUIDORA, S.A. DE C.V.
NORMAS DE CALIDAD DE MATERIAS PRIMAS

No. de Hoja: _____
 Fecha de Elaboración: _____
 Fecha de Revisión: _____
 Sustituye a: _____

INGREDIENTE:

PASTA DE SOYA

DEFINICION:

PRODUCTO OBTENIDO DE LA
 MOLIENDA Y EXTRACCION DE
 ACEITE DEL FRIJOL DE SOYA.

CLASIFICACION:

PROTEINA 45% Y 47%

OLOR:

CARACTERISTICO, LIBRE DE
 SOLVENTES U HONGOS.

COLOR:

DE BEIGE CLARO A CAFÉ CLARO.

PESO ESPECIFICO:

600 Gr/Lts. MINIMO.

GRANULOMETRIA:

5% RETENIDO EN CRIBA No. 10
 U.S.

ESPECIFICACIONES

	SOYA 46%		SOYA 48%	
	MINIMO	MAXIMO	MINIMO	MAXIMO
HUMEDAD (%)	-	12	-	12
PROTEINA CRUDA (%)	46	-	48	-
GRASA (%)	.5	-	.5	-
FIBRA CRUDA (%)	-	5.5	-	4.5
CENIZA (%)	-	7	-	6
AFLATOXINAS (p.p.b)	-	20	-	20
ACTIVIDAD UREASICA:	0.05	.3	0.05	.3
FRECUENCIA DE MUESTREO:	CADA CAMION O FURGON RECIBIDO.			
ANALISIS POR EMBARQUE:	HUMEDAD, PROTEINA, GRANULO- METRIA Y ACTIVIDAD UREASICA.			
ANALISIS POR PROVEEDOR:	MICOTOXINAS, FIBRA.			

ANEXO I

M Y N DISTRIBUIDORA, S.A. DE C.V.

NORMAS DE CALIDAD DE MATERIAS PRIMAS

No. de Hoja: _____

Fecha de Elaboración: _____

Fecha de Revisión: _____

Sustituye a: _____

INGREDIENTE:

PASTA DE CANOLA O NABO

DEFINICION:

RESIDUO DE LA EXTRACCION DEL ACEITE DE SEMILLA DE NABO CANADIENSE BAJO EN ACIDO ERUCICO Y DE GLUCOSINOLATOS.

COLOR:

AMARILLO A BEIGE CON CASCARILLA NEGRA EN MENOS DEL 10%

GRANULOMETRIA:

10% RETENIDO EN CRIBA No. 10 TYLER

OLOR:

CARACTERISTICO, LIBRE DE SOLVENTES Y CONTAMINACIÓN MICOTICA.

ESPECIFICACIONES

	MINIMO	MAXIMO
HUMEDAD (%)	-	12
PROTEINA CRUDA (%)	34	-
GRASA (%)	0.5	-
FIBRA CRUDA (%)	-	12
CENIZAS (%)	-	8
AFLATOXINAS (p.p.b)	-	10
ZEARALENONA (p.p.b.)	-	100
TOXINA T2 (p.p.b.)	-	100
DIACETOXISCISPERNOL (p.p.b)	-	100
VOMITOXINA (p.p.b.)	-	100
OCHRATOXINA (p.p.b.)	-	20
FUMONISINA (p.p.b)	-	5,000

ANEXO I



PROTEÍNAS MARINAS
Y AGROPECUARIAS,
S.A. DE C.V.

HARINA DE AVE PRIME (Origen- USA) Ficha Técnica

La Harina de Ave Prime o Pet Food Grade, es el más alto estándar en calidad en las Harinas de Ave. Considerada como ingrediente Premium para los alimentos de alta proteína como Mascotas, Acuicultura y otras especies pecuarias. Preferida por su alta digestibilidad, de color café dorado y muy Palatable.

Análisis de Calidad Garantizado

Proteína	65-67%	AOAC 984 13-1990
Grasa	10% Min.	AOAC 920 39-1990
Humedad	10% Máx.	AOAC 934 01-1990
Ceniza	14% Max.	AOAC 942 05-1990
Fibra	3% Max.	AOAC 962 09-1990
Pepsina (0.2%)	85% Min.	AOAC 971 09 1990
Salmonella	Ausencia	
Magnesio	0.12%	
Calcio	3.75%	
Fosforo	2.14%	
Textura	US #10 Malla	95% de finos
Color	Café dorado a medio	
Olor	Fresco, Característico a ave	

Perfil de Aminoácidos

Alanina	4.97%
Arginina	4.03%
A. Aspártico	5.93%
Cistina	0.66%
A. Glutámico	7.60%
Glicina	7.55%
Histidina	1.62%
Isoleucina	2.20%
Leucina	4.12%
Lisina	3.20%
Methionina	1.15%
Prolina	4.62%
Triptófano	0.28%

**Controles de Bioseguridad:

- Tratamiento preventivo con antioxidante y salmonicida
- Lotificación y trazabilidad por embarque
- Hoja de seguridad del producto
- Reporte de fumigación
- Muestreo y análisis Bacteriológicos por laboratorio oficial (EMA), Entidad Mexicana de Acreditación
- Certificado de calidad por lote embarcado

- PRESENTACIONES: sacos de polipropileno, peso aproximado 40 Kg., Súper saco y granel
- VIDA DE ANAQUEL: Min. 12 meses, en condiciones óptimas de almacenamiento.

Ing. Lilia Marin Martinez
Dirección General

ANEXO I



**PROTEINAS MARINAS
Y AGROPECUARIAS,
S.A. DE C.V.**

HARINA DE CALAMAR

Origen: Perú

Ficha Técnica

Descripción: La harina pura de Calamar está elaborada de la manta y las viseras del Calamar Gigante. Es un poderoso attractante, fuente de micro ingredientes como el colesterol. Su uso es muy recomendado para la inclusión en el alimento de acuicultura y mascotas.

Análisis de Calidad Garantizado

PROTEÍNA	80.0 %	AOAC-984 13-1990
GRASA	3 a 6 %	AOAC 920 39-1990
CENIZA	13.0 %	AOAC 942 05-1990
HUMEDAD	10.0 % Máx.	AOAC 934 01-1990
SAL Y ARENA	< 5.0%	
DIGESTIBILIDAD (0.2%)	95.0 % Mín.	
HISTAMINA	300 PPM Máx.	
TVN	< 350 Mg/ 100gr	
COLESTEROL	7.90 g/kg	
SALMONELLA	AUSENTE	
ANTIOXIDANTE	150 PPM Min.	
OLOR	CARACTERISTICO A PESCADO FRESCO	

Perfil de Aminoácidos

80.0% de P.C

Metionina	1.94%	Cistina	0.61%
Lisina	5.08%	Triptófano	0.76%
Arginina	3.67%	Isoleucina	2.99%
Glicine	4.50%	Histidina	1.52%
Treonina	2.78%	Taurina	1.1%
Valina	3.52%	Treonina	2.63%
Leucina	4.98%	Tirosina	2.07%
Fenilalanina	2.63%		

❖ Controles de Bioseguridad:

- Tratamiento preventivo con antioxidante y salmónica
- Lotificación y trazabilidad por embarque
- Hoja de seguridad del producto
- Reporte de fumigación
- Muestreo y análisis Bacteriológicos por laboratorio oficial (EMA) Entidad Mexicana de Acreditación.
- Certificado de calidad por lote embarcado

PRESENTACION: Sacos de polipropileno, peso aprox. 40 Kg

VIDA DE ANAQUEL: 2 años en condiciones optimas de almacenamiento.

Ing. Lilia Marin Martinez
Dirección General

ANEXO I



HARINA DE CAMARON

Origen: México

FICHA TECNICA

Descripción: La harina de camarón es obtenida de los sub productos del empacado de camarón, para consumo humano, utilizando cabezas y caparazón.

Contiene Astaxantina, Antioxidante y pigmento natural, útil en la producción de alimento de camarón y peces, además ayuda en nutrición con proteínas y vitaminas solubles, energía y carotenos y por ser un atrayente natural.

Tipo de proceso: Cocción vapor y secado en frío.

Análisis de Calidad Garantizado

PROTEÍNA	48 a 50 %	AOAC-984 13-1990
GRASA	8 a 12 %	AOAC 920 39-1990
CENIZA	23.0 % Máx.	AOAC 942 05-1990
HUMEDAD	11.0 % Máx.	AOAC 934 01-1990
SALMONELLA	AUSENTE	
OLOR	CARACTERISTICO ,FRESCO, AGRADABLE	
COLOR	CAFÉ CLARO	
TEXTURA	90% RET. MALLA No. 10- Máx.	

Perfil de Aminoácidos

48.0% de P.C

Metionina	1.7%	Cistina	2.4%
Lisina	9.3%	Triptófano	0.6%
Arginina	6.8%	Isoleucina	6.3%
Glicina	-	Histidina	2.3%
Treonina	4.30%		
Valina	6.9%		
Leucina	6.8%		
Fenilalanina	4.73%		

** Controles de Bioseguridad:

- Tratamiento preventivo con antioxidante y salmónica
- Lotificación y trazabilidad por embarque
- Hoja de seguridad del producto
- Reporte de fumigación
- Muestreo y análisis Bacteriológicos por laboratorio oficial (EMA) Entidad Mexicana de Acreditación.
- Certificado de calidad por lote embarcado

PRESENTACIONES: Sacos de polipropileno, peso aprox. 40 Kg, Súper sacos y granel.

VIDA DE ANAQUEL: 2 años en condiciones optimas de almacenamiento.

Ing. Lilia Marín Martínez
Dirección General