

La investigación reportada en esta tesis es parte de los programas de investigación del CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California).

La investigación fue financiada por el CONAHCYT (Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías).

Todo el material contenido en esta tesis está 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 o titular de los Derechos de Autor.

**Centro de Investigación Científica y de Educación  
Superior de Ensenada, Baja California**



---

**Maestría en Ciencias  
en Acuicultura**

---

**Cultivo del camarón blanco (*Penaeus vannamei*) con Biofloc,  
utilizando agua residual del proceso de nixtamalización como  
fuente de carbono**

Tesis  
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias

Presenta:

**Augusto Felipe Alvarado Espinoza**

Ensenada, Baja California, México  
2024

Tesis defendida por  
**Augusto Felipe Alvarado Espinoza**

y aprobada por el siguiente Comité

**Dr. Benjamín Barón Sevilla**  
Director de tesis

**Dr. Miguel Ángel del Río Portilla**

**Dra. María de Lourdes Virginia Díaz Jiménez**

**Dr. Efraín Gómez Arias**



**Dr. Roberto Cruz Flores**  
Coordinador del Posgrado en Acuicultura

**Dra. Ana Denise Re Araujo**  
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Augusto Felipe Alvarado Espinoza** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Acuicultura.

**Cultivo del camarón blanco (*Penaeus vannamei*) con Biofloc, utilizando agua residual del proceso de nixtamalización como fuente de carbono**

Resumen aprobado por:

Dr. Benjamín Barón Sevilla  
**Director de tesis**

El desarrollo de biomasa heterotrófica en los cultivos acuícolas con Tecnología Biofloc (TB) requiere del suministro de fuentes de carbono orgánico (C orgánico) que sean asequibles y que no afecten de manera negativa los parámetros de la calidad del agua de los cultivos. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos en la calidad del agua y el desempeño productivo del camarón, generados por el uso de nejayote, un residuo agroindustrial con alta relevancia ambiental en México, como fuente de C orgánico en distintas relaciones C:N para el desarrollo de Biofloc heterotrófico. El experimento consistió en cuatro tratamientos con tres réplicas por cada uno: Tratamiento control sin C orgánico añadido (biofloc mixotrófico), y los tratamientos con las relaciones C:N 10:1, 15:1 y 20:1. Doce unidades experimentales (UE) fueron sembradas con 14 postlarvas (PL) de *Penaeus vannamei* ( $0.86 \pm 0.1$  g) cada una, equivalentes a una densidad de  $823 \text{ PL/m}^3$  y cultivadas por 28 días. Las características del nejayote pueden tener una gran variación entre plantas productoras, sin embargo, los carbohidratos son su mayor constituyente. Los valores de alcalinidad fueron significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) del tratamiento control. El nejayote es una fuente de iones OH y puede aumentar la alcalinidad al agua de cultivo. El control del nitrógeno amoniacal fue exitoso y sin diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos. Los sólidos suspendidos totales, suspendidos volátiles, suspendidos fijos y sedimentables tuvieron un comportamiento normal o esperado. De los nutrientes en los flóculos solo se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el contenido de lípidos entre el tratamiento control y los tratamientos con nejayote en la semana cuatro. Con relación a los parámetros productivos, los resultados fueron inadecuados en todos los tratamientos, debido principalmente a la incidencia de agentes patógenos virales (IHHNV y AHPND), y en el caso de los tratamientos con nejayote, las altas concentraciones de sólidos suspendidos totales junto con estas enfermedades resultaron en mortalidades de 100 %. En general, los hallazgos de este estudio indican que el nejayote se puede utilizar como fuente de C orgánico para producir biomasa heterotrófica, la cual controla efectivamente los niveles de NAT en el sistema Biofloc.

**Palabras clave:** Biofloc, Nejayote, *Penaeus vannamei*, Sólidos Suspendidos Totales (SST), Alcalinidad, Biomasa Heterotrófica.

Abstract of the thesis presented by **Augusto Felipe Alvarado Espinoza** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Aquaculture.

**White shrimp (*Penaeus vannamei*) cultivation with Biofloc, using wastewater from the nixtamalization process as a carbon source**

Abstract approved by:

Dr. Benjamín Barón Sevilla  
**Thesis Director**

The development of heterotrophic biomass in aquaculture with Biofloc Technology (TB) requires the supply of affordable organic carbon (C organic) sources that do not negatively affect the water quality parameters of the crops. The objective of this study was to evaluate the effects on water quality and shrimp production performance generated using nejayote, an agro-industrial waste with high environmental relevance in Mexico, as a source of C organic in different C:N ratios for the development of heterotrophic Biofloc. The experiment consisted of four treatments with three replicates each: Control treatment without added C organic (mixotrophic Biofloc), and treatments with C:N ratios of 10:1, 15:1, and 20:1. Twelve experimental units (UE) were sown with 14 post-larvae (PL) of *Penaeus vannamei* ( $0.86 \pm 0.1$  g) each, equivalent to a density of 823 PL/m<sup>3</sup> and cultured for 28 days. The characteristics of nejayote can have a great variation between producing plants, however, carbohydrates are its main constituent. About water quality, alkalinity values were significantly different ( $p < 0.05$ ) from the control treatment. Nejayote is a source of OH ions and can increase the alkalinity of the culture water. The control of ammoniacal nitrogen was successful and there were no significant differences ( $p < 0.05$ ) between treatments. Total suspended solids, volatile suspended solids, fixed suspended solids and settleable solids had a normal or expected behavior. Of the nutrients in the flocs, significant differences ( $p < 0.05$ ) were only observed in lipid content between the control treatment and the treatments with nejayote in week four. In relation to production parameters, the results were poor in all treatments, mainly due to the incidence of viral pathogens (IHNV and AHPND), and in the case of nejayote treatments, the high concentrations of total suspended solids together with these diseases resulted in 100 % mortality. In general, the findings of this study indicate that nejayote can be used as a source of C organic to produce heterotrophic biomass, which effectively controls NAT levels in the Biofloc system.

**Keywords:** Biofloc, Nejayote, *Penaeus vannamei*, Total Suspended Solids (TSS), Alkalinity, Heterotrophic Biomass.

## Dedicatoria

*Para mis amados padres:*

*María Eugenia Espinoza Lara*

*y*

*José Felipe Alvarado Ramírez*

## Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por otorgarme una beca para la realización de mi maestría.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE) por aceptarme en el posgrado de la maestría en Ciencias en Acuicultura y por permitirme el uso de sus instalaciones.

Agradezco al Doctor Benjamín Barón Sevilla, de quien aprendí el pensamiento crítico-científico y de mejora continua. También por su gran apoyo, guía, compartirme su conocimiento, por su confianza y por brindarme los materiales, equipo y espacio necesarios para llevar a cabo esta investigación.

A la Doctora Beatriz Cordero Esquivel, por sus instrucciones, su tiempo y mucha ayuda. Por permitirme el uso de su laboratorio y materiales. Y por ser una linda persona conmigo.

Agradezco a los distinguidos Doctores miembros de mi comité, Dr. Miguel Ángel del Rio Portilla, Dra. María de Lourdes Virginia Díaz Jiménez y Dr. Efraín Gómez Arias, por su tiempo, observaciones y motivaciones. Gracias enormes por su contribución para llevar a buen puerto este proyecto, que para mí representa una pequeña pero significativa aportación a la ciencia mexicana.

A los técnicos Abelardo Campos y Yanet Guerrero por su apoyo para llevar a cabo el análisis de mis muestras. Y a todo el respetable personal administrativo, de intendencia y de vigilancia por realizar sus actividades con gran profesionalismo.

A mi amiga Nancy, la guardia, a quien le debo mi más profundo respeto. Gracias por sus lecciones de vida que me dieron ánimo en los momentos tristes.

A mis amigos, Naoki Kawamoto, Alejandra Castillo, Héctor Santos y Gilberto Calvillo, por sus motivaciones, diversión a su lado y soporte.

Y a mi hermano, David Alvarado, por estar para mí cuando lo necesito.

## Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria .....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	ix
Lista de tablas .....	x
<b>Capítulo 1. Introducción .....</b>	<b>1</b>
1.1 Antecedentes .....	4
1.1.1 Camarón Blanco del Pacífico .....	4
1.1.2 Los sistemas de cultivo más comunes.....	10
1.1.3 Sistemas Biofloc.....	13
1.1.4 Nejayote .....	20
1.2 Justificación .....	24
1.3 Hipótesis.....	25
1.4 Objetivos .....	25
1.4.1 Objetivo general .....	25
1.4.2 Objetivos específicos.....	25
<b>Capítulo 2. Metodología .....</b>	<b>27</b>
2.1 Diseño experimental .....	27
2.2 Postlarvas .....	28
2.3 Maternidad.....	28
2.4 Unidades experimentales.....	29

2.5	Tasas de alimentación .....	30
2.6	Obtención de Nejayote .....	30
2.7	Caracterización del nejayote .....	30
2.8	Manejo de los tratamientos con Biofloc .....	34
2.9	Calidad nutricional del Biofloc.....	36
2.10	Parámetros de calidad del agua .....	36
2.11	Cuantificación de las variables productivas de <i>P. vannamei</i> .....	38
2.12	Análisis estadístico .....	39
<b>Capítulo 3. Resultados.....</b>		<b>40</b>
3.1	Caracterización del nejayote .....	40
3.2	Calidad nutricional del Biofloc.....	41
3.2.1	Proteína cruda .....	41
3.2.2	Carbohidratos totales.....	42
3.2.3	Lípidos totales .....	43
3.3	Sólidos suspendidos totales .....	44
3.4	Sólidos suspendidos volátiles.....	44
3.5	Sólidos suspendidos fijos.....	45
3.6	Sólidos Sedimentables .....	46
3.7	Temperatura, Salinidad, Oxígeno Disuelto y pH .....	47
3.8	Alcalinidad .....	48
3.9	NAT .....	49
3.10	Nitritos.....	49
3.11	Variables productivas.....	50
<b>Capítulo 4. Discusión .....</b>		<b>52</b>
4.1	Caracterización del nejayote.....	52

4.2	Calidad nutricional del Biofloc.....	56
4.3	Sólidos .....	58
4.4	Alcalinidad .....	60
4.5	Temperatura, Salinidad, Oxígeno Disuelto y pH .....	62
4.6	Nitrógeno Inorgánico .....	62
4.7	Parámetros productivos.....	63
<b>Capítulo 5. Conclusiones.....</b>		<b>65</b>
<b>Literatura citada .....</b>		<b>66</b>

## Lista de figuras

Figura	Página
1. <i>Penaeus vannamei</i> (Camarón Blanco).....	4
2. Ciclo de vida natural de <i>P. vannamei</i> .....	5
3. Participación porcentual de los estados mexicanos en la producción nacional de camarón.....	8
4. Microorganismos que se presentan en el sistema Biofloc.....	14
5. El uso del nitrógeno en un sistema Biofloc .....	16
6. Acomodo al azar de las unidades experimentales.....	27
7. Ejemplo del procedimiento de cálculo para estimar la cantidad de carbono a añadir .....	35
8. Contenido de proteínas en los flóculos de los cuatro tratamientos.....	41
9. Contenido de carbohidratos en los flóculos de los cuatro tratamientos.....	42
10. Contenido de lípidos en los flóculos de los cuatro tratamientos.....	43
11. Concentración promedio semanal de sólidos suspendidos totales.....	44
12. Concentración promedio semanal de sólidos suspendidos volátiles.....	45
13. Concentración promedio semanal de sólidos suspendidos fijos .....	46
14. Volumen promedio semanal de sólidos sedimentables .....	46
15. Concentraciones promedio de la alcalinidad en mg/l de CaCO <sub>3</sub> .....	48
16. Concentraciones promedio del nitrógeno amoniacal total (NAT) .....	49
17. Concentraciones promedio del nitrógeno en forma de nitritos (N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ).....	50

## Lista de tablas

Tabla	Página
1 Contenido del Biofloc. ....	18
2 Composición del Nejayote expresada en base seca. ....	21
3 Diseño del experimento. ....	27
4 Programa de alimentación de acuerdo con el peso húmedo del camarón. ....	30
5 Caracterización y contenido del nejayote. ....	40
6 Resultados de las mediciones fisicoquímicas del agua de cultivo en los cuatro tratamientos por un periodo de 28 días. ....	47
7 Resultados de las variables de productividad del cultivo de <i>Penaeus vannamei</i> . ....	50

## Capítulo 1. Introducción

---

Se prevé que para el año 2050, la población mundial alcance los 9 mil millones de personas, para esto se deberá mínimamente duplicar la actual producción de alimentos. Sin embargo, la escasez de tierras, la sobrepesca de los océanos, el cambio climático y la limitación de agua, pueden implicar retos para esta futura necesidad de producir grandes cantidades de alimento. Por ello, para enfrentar esta problemática alimentaria y nutricional futura, pero también actual, ya que hay casi mil millones de personas padeciendo hambre crónica en todo el mundo y 3 mil millones no se pueden permitir una dieta saludable, se necesita reevaluar lo que se come y la manera en cómo se produce. De igual importancia es la necesidad de identificar las áreas de mejoras, cumplirlas y reducir el desperdicio de alimentos. Para todo esto es imperante encontrar mejores y más modernas formas de producción de alimentos (Van Huis, 2013; FAO, 2022).

Una importante contribución a la producción de alimentos en el mundo ha sido dada por la acuicultura, ya que en años recientes esta actividad ha logrado constantes récords de producción, expansión y crecimiento. De hecho, de la acuicultura proviene más de la mitad del pescado disponible para el consumo humano. Para dar una idea del gran potencial de la acuicultura, en el año 2020 se alcanzó más del doble de lo producido en 2004, pasando de los 41.9 millones a los 87.5 millones de toneladas. Se espera que para el 2030 se alcancen los 202 millones de toneladas (FAO, 2010; Anderson, 2019; FAO, 2022). Otro dato importante que revela el rápido crecimiento de la producción acuícola mundial es el registro de la producción de animales acuáticos, que creció más de un 60 % en un periodo de 30 años (1990-2020), superando notablemente la tasa de crecimiento de la misma población mundial (FAO, 2022).

Aunado a lo anterior, actualmente existe una estrategia cuyo propósito es ampliar y mejorar de manera sostenible los sistemas alimentarios acuícolas y pesqueros del mundo, para incrementar la contribución de productos alimenticios que garanticen la accesibilidad a una dieta saludable, en un entorno de crecimiento económico y socialmente equitativo. Esta estrategia, denominada *la transformación azul*, es promovida e impulsada por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO, por sus siglas en inglés (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (FAO, 2016). Por todo esto es que se considera de amplia relevancia el papel actual y futuro de las investigaciones en el área de la acuicultura para lograr el mejoramiento en la producción de las distintas especies producidas y así alcanzar la seguridad alimentaria y nutricional mundial, sin dejar de lado el respeto al medioambiente.

Aunque la acuicultura ofrece una amplia diversidad de organismos animales para el consumo humano,

reportes más recientes señalan que la especie animal más cultivada en el mundo es el camarón blanco o camarón patiblanco (*Penaeus vannamei*), ya que ha alcanzado una producción de más de 5.8 millones de toneladas (FAO, 2022). Esto lo convierte en el crustáceo de mayor importancia a nivel mundial. Esta especie de camarón tiene varias ventajas que explican su mayor elegibilidad por los productores, en general cuenta con una gran capacidad para adaptarse a un amplio rango de salinidades y soportar altas densidades poblacionales durante su cultivo en cautiverio. Además, el camarón blanco cuenta con gran demanda en todo el mundo debido a su excepcional sabor y valor dietético (Das y Mishra, 2023).

Convencionalmente, el cultivo de camarón blanco se realiza en sistemas extensivos y al aire libre, cercanos a la zona costera. Este tipo de sistemas de producción acuícola generan continuamente desechos de alimento no consumido, materia fecal y otras excretas, que al descomponerse promueven la aparición de compuestos tóxicos en los estanques de cultivo (Vinatea, 2006). Por ello son ampliamente criticados, debido a que generan contaminación del agua en los ecosistemas cercanos. Para controlar los compuestos potencialmente tóxicos es necesario realizar intercambios del agua de los estanques de cultivo con los cuerpos de agua aledaños, a fin de diluirlos. El agua desechada a los ecosistemas acuáticos aledaños (de ríos, lagunas, bahías y mares) es rica en nutrientes y materia orgánica, lo que contribuye al deterioro ambiental por efectos de eutrofización, disminución de oxígeno y salinización (Páez-Osuna 2001; Mariscal-Lagarda *et al.*, 2014; Cardoso-Mohedano *et al.*, 2018). Sumado a esto, también se promueve la proliferación de microorganismos patógenos para la fauna nativa como bacterias, virus y riketsias entre otros (Anaya-Rosas, 2005) y se provoca la reducción de los hábitats de otras especies, rompiendo así el balance de los ecosistemas (Ramos-Sotelo, 2021)

En años recientes los productores de este organismo buscan alcanzar, cada vez más, una producción sustentable, una mayor bioseguridad y el acercamiento a los mercados locales para abastecerlos con un producto ultra fresco y de alta calidad, a través de varias estrategias. Entre estas estrategias, destaca la Tecnología Biofloc (BFT, por sus siglas en inglés) (Avnimelech, 2015; Samocha, 2019). En años recientes, esta tecnología ha sido aplicada para cultivar de manera exitosa a *P. vannamei* con mínimo o nulo recambio de agua, lo que permite que al adoptar la Tecnología Biofloc se minimizen los efectos negativos al ambiente, producidos por el cultivo extensivo convencional de camarón blanco (Hai-Hong *et al.*, 2022).

La tarea primordial de la Tecnología Biofloc (TB) es evitar la acumulación de compuestos tóxicos. A fin de mantener en óptimas condiciones el agua donde se cultivan los organismos acuáticos, se promueve la generación de comunidades microbianas *in situ* en el agua del cultivo. Las comunidades bacterianas que se desarrollan con la TB tienen como base de su sobrevivencia la asimilación del nitrógeno residual (una

parte la proveen las excreciones derivadas del metabolismo energético de los organismos cultivados y otra el alimento no consumido) en el estanque de cultivo. Pero, para promover dicho crecimiento bacteriano, aparte de suministrar una aireación adecuada al agua de cultivo, se debe suministrar suficiente carbono orgánico (pudiendo provenir del alimento o de una fuente adicional). De esta manera las comunidades bacterianas logran proliferar y forman agregados llamados bioflóculos (o Biofloc), los cuales “secuestran” el nitrógeno residual y forman una cuantiosa biomasa bacteriana que a su vez sirve como fuente de alimento secundario para el organismo cultivado. De esta forma se generan ahorros significativos en el uso de alimentos comerciales y, también, se contribuye a mejorar sustancialmente la calidad del agua de los estanques de producción (Avnimelech, 2015). Actualmente hay abundante información sobre distintos productos y desechos que pueden ser aprovechados como fuentes de carbono orgánico para el desarrollo de los bioflóculos. Sin embargo, lo importante para elegir una fuente de carbono es su costo y disponibilidad.

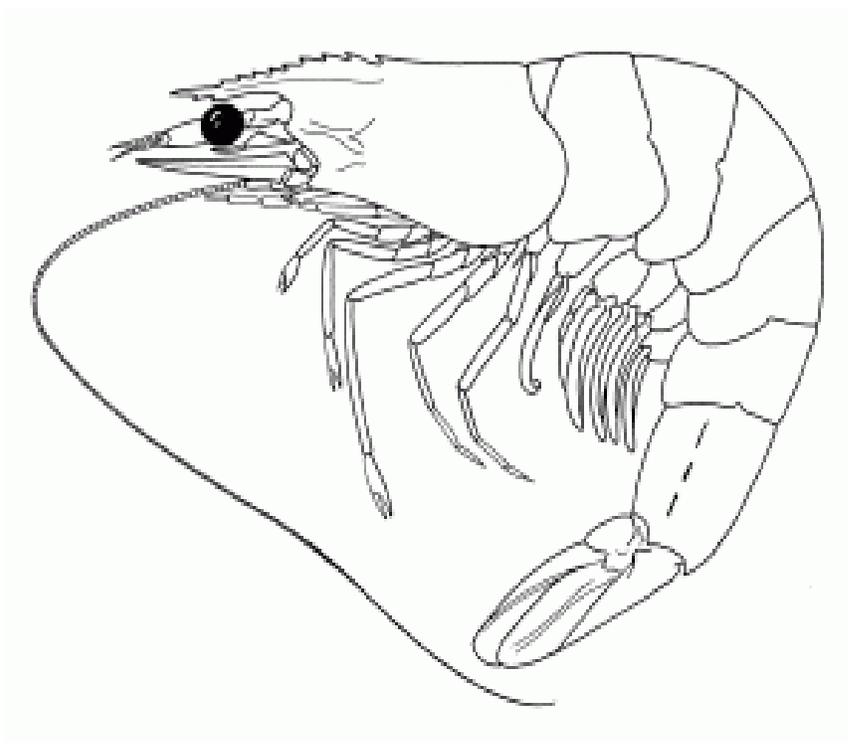
En México, un residuo agroindustrial de alta relevancia social y ambiental es el nejayote. Este residuo está constituido por el agua residual de los procesos de producción de masa de maíz por medio de la nixtamalización. Debido a que el nejayote genera una alta demanda biológica y química de oxígeno, a que grandes volúmenes son producidos en México (llegando a los 14.4 millones m<sup>3</sup> producidos al año) (Acosta-Estrada *et al.*, 2015), sumado a sus valores de pH por arriba de 11, y a su descarga directa al alcantarillado, sin ningún tratamiento previo; se reconoce como un agente contaminante con una alta relevancia ambiental (Valenzuela-Vázquez *et al.*, 2017). Debido a esta importancia, se han realizado varias investigaciones en torno a la reducción de las características contaminantes del nejayote, algunas de ellas se han encaminado al uso de biorreactores aerobios, con resultados exitosos en la disminución de la demanda química de oxígeno (González-Martínez *et al.*, 1984; Salmerón-Alcocer *et al.*, 2003). En esta línea, se debe mencionar que precisamente las bases microbiológicas de estos tratamientos son equivalentes a lo anteriormente descrito respecto al funcionamiento de las comunidades bacterianas en la Tecnología Biofloc, debido a esto, nació la idea del aprovechamiento del nejayote como fuente de carbono orgánico para ser añadido en los estanques de cultivo en los que se requiere generar Biofloc para controlar el nitrógeno residual.

Con base a la información antes descrita, el objetivo de este trabajo fue evaluar la factibilidad del aprovechamiento del nejayote como una fuente adicional de carbono orgánico para el desarrollo de Biofloc heterotrófico y para la producción de *Penaeus vannamei*. Para esto se realizó un bioensayo donde se suministraron cantidades de nejayote en tres diferentes relaciones de Carbono-Nitrógeno o C:N (carbono contenido en el Nejayote: nitrógeno residual en los tanques de cultivo) para mantener una

adecuada calidad del agua en el cultivo de juveniles de camarón blanco. Este bioensayo duró cuatro semanas y en este mismo periodo se analizó la calidad del agua, se obtuvieron muestras para evaluar la composición proximal tanto del Biofloc como del nejayote y también se obtuvieron los parámetros productivos zootécnicos.

## 1.1 Antecedentes

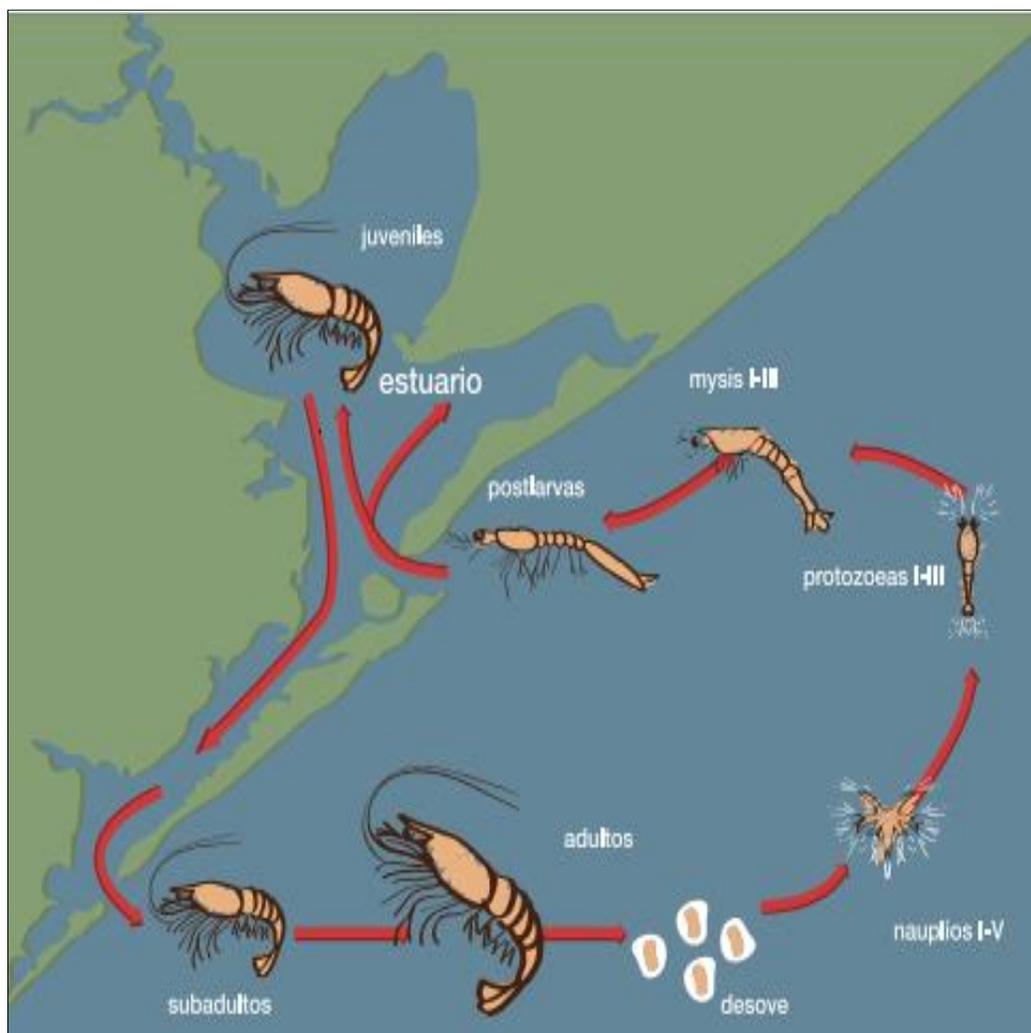
### 1.1.1 Camarón Blanco del Pacífico



**Figura 1.** *Penaeus vannamei* (Camarón Blanco) (FAO, 2009).

*Penaeus vannamei* (Boone 1931) (Fig. 1) se denomina comúnmente como camarón blanco del Pacífico o patiblanco (INAPESCA, 2018). Este crustáceo pertenece a la familia de los peneidos y es oriundo de las costas del océano Pacífico, donde se distribuye desde el estado de Sonora en México, hasta las costas de Tumbes, Perú. Naturalmente se le encuentra en los ecosistemas marinos tropicales y subtropicales, donde las aguas normalmente alcanzan temperaturas superiores a 20 °C durante todo el año. Toleran un intervalo de salinidad de 2 a 40 g/l. En condiciones de vida libre, estos organismos en su etapa adulta viven y se

reproducen en hábitats marinos con fondos arenosos, pero en su etapa de postlarva migran hacia las costas para pasar la etapa juvenil y preadulta en estuarios, lagunas costeras y manglares. Su desarrollo cuenta con seis etapas después de la eclosión del huevo (nauplio, protozoa, mysis, postlarva, juvenil y adulto) (Fig. 2). Los machos de esta especie alcanzan la madurez a los 20 g y las hembras hasta los 28 g, después de aproximadamente 6.5 meses de vida, aunque los pesos de cosecha van desde los 11 hasta los 24 g (FAO, 2009; INAPESCA, 2018).



**Figura 2.** Ciclo de vida natural de *P. vannamei* (modificado de Cid y Guzmán, 2011)

Más específicamente, las ventajas que *P. vannamei* posee y que han permitido su posición mundialmente como la especie de camarón más cultivada, según Briggs *et al.* (2005) son las siguientes:

- Tasas de crecimiento rápidas (3 g/semana) hasta los 20 g, después alcanzan tasas de 1 a 1.5 g/semana.

- Soporta altas densidades de siembra ya que no es tan agresiva como otras especies, lo que lleva a aumentar la productividad.
- Se puede cultivar en un amplio rango de salinidades, entre 0.5 a 45 g/l, haciendo posible su cultivo tierra adentro en sitios de agua dulce. Aunque crece mejor en bajas salinidades, entre 10 y 15 g/l.
- Acepta alimentos con menor contenido de proteínas, que favorece la reducción de los costos de alimentación y el manejo de los sistemas de producción. Los contenidos de proteína en las dietas para *P. vannamei* pueden ser de 20 % hasta 35 %.
- Cuenta con un bajo Factor de Conversión Alimenticia (FCA), una buena tasa de crecimiento y buena supervivencia, lo que aminora los costos de producción.
- Crece mejor a temperaturas entre los 23 y 30 °C esto permite un cultivo perenne en la mayor parte de las zonas ubicadas dentro de las franjas tropicales y subtropicales del mundo, con esto se obtiene un incremento de la rentabilidad de la cosecha en todo el año. También se adapta a temperaturas menores a 15 °C y mayores a 33 °C, aunque con tasas de crecimiento más lentas.
- Por ser una especie con un télico abierto (estructura donde el macho deposita su espermátforo en la hembra), facilita su inducción al apareamiento y desove en condiciones de cautiverio, de este modo, los productores se liberan de la dependencia de los imprevisibles “stocks” de reproductores silvestres y también permite implementar selecciones genéticas para crear líneas resistentes a patógenos o con otras características deseadas.
- Su domesticación, todavía en proceso, ha promovido la disponibilidad y la comercialización de líneas domesticadas resistentes a enfermedades específicas que garantizan la seguridad de los cultivos, al mantener zonas libres de patógenos y evitar pérdidas de producción.
- Las supervivencias en la etapa de postlarva son más altas (50 a 60 %).
- Los consumidores estadounidenses prefieren el sabor de la carne de *P. vannamei* en comparación con la del camarón tigre (*Penaeus monodon*).
- La productividad medida como la cantidad de carne es mejor en *P. vannamei* (66-68 %) que en

otras especies como *P. monodon* (62 %).

- El tratamiento postcosecha de inmersión en agua enfriada con una gran cantidad de hielo previene la melanosis y el mantenimiento de una buena apariencia hasta tres o cuatro días después de su congelamiento.

#### 1.1.1.1 Contexto económico mundial

La relevancia que *P. vannamei* tiene en la acuicultura se confirma por su importancia como la especie animal cultivada con mayor producción a nivel mundial, con 5.8 millones de toneladas en peso vivo (FAO, 2022). Esto hace que el camarón blanco *P. vannamei* represente el 70 % de la producción mundial de camarones. De hecho, en muchos países su cultivo se ha propagado hacia tierra adentro, en ambientes con salinidades por debajo de 5 g/l (Li *et al.*, 2018).

Los países que actualmente son líderes en producción de *P. vannamei* son China, con 1.76 millones de toneladas (t) por año, Indonesia (708,680 t), India (620,000 t), Ecuador (510,000 t), Vietnam (475,000 t) y Tailandia (347,258 t) (Boyd *et al.*, 2021).

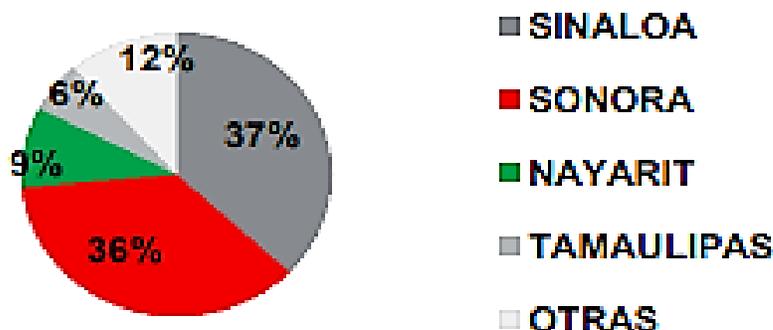
La enorme oferta de esta especie de crustáceo responde a una demanda de igual dimensión, lo cual estimula aún más los esfuerzos de producción, impulsando el desarrollo de sistemas que se vuelven cada vez más intensivos, ya que se ha observado que en años recientes existe un constante incremento en los rendimientos por unidad de área de producción (Boyd y McNevin, 2020).

#### 1.1.1.2 Contexto económico nacional

La producción acuícola de *P. vannamei* en territorio mexicano la inició la Universidad de Sonora, a principios de la década de 1970, a pesar de ello fue hasta fines de la década de los 80 que inició su producción a nivel comercial. Es importante mencionar que esta especie representa más del 60 % de la producción nacional total de camarón (INAPESCA, 2018).

Reportes del año 2021 denotan que el 62 % de la producción de camarón en México se lleva a cabo por medio de la acuicultura con más de 182 mil toneladas producidas de peso vivo alcanzando un valor de más

de 23.7 mil millones de pesos, siendo los estados del noroeste del país los más productivos (Fig. 3). Por su volumen, el sector de la camaronicultura se posiciona en el tercer lugar de producción. Sin embargo, es importante recalcar que, en términos de importancia económica, ocupa el primer lugar entre las especies acuícolas y pesqueras de México. Otro dato importante es que la tasa media de crecimiento anual (2021) de este sector fue de 4.56 % y los principales países que reciben camarón desde México son Estados Unidos, China y Japón (CONAPESCA, 2021).



**Figura 3.** Participación porcentual de los estados mexicanos en la producción nacional de camarón (CONAPESCA, 2021).

### 1.1.1.3 Problemática de bioseguridad

Por otra parte, la camaronicultura tiene sus propias vicisitudes en cuanto a los patógenos y enfermedades que afectan a los camarones, en gran parte debido a que sus sistemas de producción crean un ambiente artificial que puede ser benéfico para diversos agentes infecciosos (Unzueta-Bustamante *et al.*, 2004). Este efecto se hace más grave si: 1) Existen malas prácticas de manejo; 2) Se introducen animales infectados a regiones que anteriormente no habían reportado cierto patógeno o enfermedad; y 3) Se realiza la importación de especies exóticas (Martínez-Córdova *et al.*, 2009).

A pesar de las ventajas que ofrece la posibilidad de cultivar a *P. vannamei* en altas densidades, su producción se ve limitada, en gran medida por la ocurrencia de enfermedades, de las cuales las virales figuran como las más importantes en materia de bioseguridad, tales como: Virus del Síndrome de Taura, Virus del Síndrome de Mancha Blanca, Virus de la Cabeza Amarilla, Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa, Hepatopancreatitis Necrotizante y el Virus de la Vacuolización del Órgano Linfoide (Briggs *et al.*, 2005). Naturalmente, esto crea la necesidad de seguir estrategias que garanticen la bioseguridad de los cultivos.

Una de las estrategias para lograr la bioseguridad en los cultivos es el desarrollo de poblaciones libres de patógenos específicos (SPF, por sus siglas en inglés) y resistentes a patógenos específicos (SPR, por sus siglas en inglés). Gracias a que *P. vannamei* puede completar todo su ciclo de vida dentro de estanques de cultivo en los que se utilizan sistemas de recirculación que controlan la calidad del agua y la incidencia de patógenos, se pueden obtener reproductores sanos, evitando así recurrir a reproductores del medio silvestre, esto permite continuar con la domesticación y mejora genética. Y se favorece el acceso a la producción de PLs resistentes y libres de patógenos (Briggs *et al.*, 2005).

Otra estrategia clave para la bioseguridad es evitar el recambio de agua, ya que las descargas de los efluentes de los estanques camaronícolas se asocian con la degradación de los cuerpos de agua receptores, estos mismos frecuentemente sirven como fuente de agua para las granjas vecinas, lo que puede propiciar la dispersión de enfermedades. Por último, usar alimento de buena calidad, incluir probióticos, lograr una cadena trófica basada en la biomasa heterotrófica microbiana en el agua del estanque y controlar la buena calidad del agua, son ejemplos de más medidas para lograr un control de las enfermedades en la camaronicultura (Páez-Osuna, 2005; Avnimelech, 2015; Moreno-Figueroa, 2017).

#### 1.1.1.4 Problemática ambiental

Los grandes niveles de producción de la camaronicultura y de los esfuerzos por aumentar sus cuotas de rendimiento han logrado ejercer grandes impactos en el medio ambiental tales como:

- La destrucción de millones de hectáreas de manglares y marismas para instalar granjas camaroneras en todo el mundo (Naylor *et al.*, 2000; Martínez-Córdova *et al.*, 2009).
- Contaminación y competencia por el agua, debido a las descargas de aguas residuales con altos contenidos de nitrógeno que pueden ocasionar aumentos enormes en la biomasa del fitoplancton, lo cual propicia la muerte de las comunidades bentónicas por toxicidad y patógenos (Martínez-Córdova *et al.*, 2009).
- Se ha valorado que, con el uso de sistemas extensivos, por cada PL de camarón que se siembra, se destruyen de 4 a 7 de organismos de otras especies (Páez-Osuna, 2005).
- La propagación de enfermedades y patógenos en especies nativas, en regiones en donde el camarón figura como una especie introducida y donde las PL pueden escapar al medio (Martínez-Córdova *et al.*, 2009).

- Contaminación de acuíferos por intrusión de agua salina (Páez-Osuna, 2001).

Sin embargo, la necesidad de volver más sustentable la producción camaronícola es ahora ampliamente reconocida por la industria, gracias a una pujante demanda por parte de los consumidores que, además de demandar cada vez más este producto, buscan asegurar que la producción de lo que consumen tenga criterios de respeto al medio ambiente (Samocha, 2019).

### 1.1.2 Los sistemas de cultivo más comunes

Parte del éxito de la economía de *P. vannamei* se debe a que su cultivo es posible en toda la variedad de sistemas de producción, como los sistemas extensivos, semiintensivos, intensivos y super o hiperintensivos (Briggs *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2018).

Pero para lograr el cultivo de camarón de manera exitosa, es necesario en gran parte, mantener en buenas condiciones la calidad del agua del cultivo y la forma más común de lograrlo en los sistemas convencionales es por medio del recambio de agua, de tal manera que se reemplaza cierta cantidad de agua de los estanques del cultivo con agua de diferentes fuentes, como ríos, lagos o mares. El problema de esta práctica es que depende de las condiciones en las que se encuentran estos ambientes, por ejemplo, la temperatura, la cantidad de sólidos suspendidos, los niveles de oxígeno, malezas y basura a la deriva e insectos depredadores (Bregnballe, 2022).

Por otro lado, por medio del recambio de agua se logra el control de florecimientos (“blooms”) de fitoplancton y la prevención del detrimento de la calidad del agua resultante de la descomposición de residuos de alimento (con altos porcentajes de proteína) y diferentes excretas de los organismos cultivados (Burford *et al.*, 2003). Sin embargo, la dependencia al recambio de agua genera los impactos ambientales resultantes de la gran cantidad de residuos que reciben los cuerpos de agua, debido a que los recambios pueden ser >20 % del volumen del estanque por día (INAPESCA, 2018).

Actualmente está ocurriendo una intensificación de los sistemas de producción camaronícola, lo que se contempla como una respuesta a la necesidad de optimizar la producción a fin de abastecer la cada vez más alta demanda del mercado (Moreno-Figueroa, 2017).

Además, la intensificación en la producción da paso al abandono de la práctica de deforestación de manglares para la instalación de granjas extensivas, ya que estos tienen suelos con alto contenido de

materia orgánica y pH ácido que no son ideales para los sistemas más intensivos (Lewis *et al.*, 2003).

#### 1.1.2.1 Sistemas extensivos

Estos sistemas tienen una tasa promedio de recambio diario de 5 a 10 %, cuentan con una densidad de siembra de 4 a 10 PL/m<sup>2</sup>. Utilizan grandes extensiones de tierra (5-30 ha), ya que así se compensa la disminución de la productividad por contar con profundidades bajas (0.7 a 1.2 m) y mortalidades del 50 %. Debido al nulo o poco mantenimiento de estos sistemas y a que gran parte de la alimentación de los organismos es por medio de la productividad natural de los estanques (producida por la adición de nitrógeno inorgánico o el suministro de alimento una vez al día, con bajo contenido de proteínas), se logran reducir los costos de producción, pero con rendimientos bajos (<1 t/ha/cosecha).

Aquí se incluyen los sistemas tradicionales, donde se emplea semilla silvestre, es decir, la captura y retención de juveniles que llegan con las mareas. Con esta forma de captura y retención es que la camaricultura se desarrolló en zonas intermareales (como los manglares). Sin embargo, actualmente también se emplean PL producidas en laboratorio. Estos sistemas no cuentan con bombeo de agua ni aireación, lo que los hace totalmente dependientes de la entrada de agua nueva y drenado por efecto de las mareas (Lewis *et al.*, 2003; FAO, 2009; INAPESCA, 2018; Maldonado-Hernández, 2023).

#### 1.1.2.2 Sistemas semiintensivos

Comparados con los sistemas extensivos, en estos sistemas la alimentación depende en gran parte de la adición de alimento balanceado que hace posible el aumento en la densidad de siembra (10 a 30 PL/m<sup>2</sup>) (INAPESCA, 2018). Por otro lado, también se emplean sistemas de aireación para compensar el requerimiento de oxígeno de toda la biomasa (camarones y productividad natural aumentada por el aprovechamiento del alimento añadido) y la implementación de bombeo incrementa la tasa de recambio diario (10-20 %) para diluir los compuestos tóxicos resultantes de la descomposición de alimento y excretas acumulados en el fondo de los tanques (Avnimelech, 2015; INAPESCA, 2018). Si no se empleara el bombeo de agua y aireación, el fondo acumularía una gran cantidad de lodo que en condiciones anaeróbicas produce compuestos tóxicos como ácido sulfhídrico y metano (Vinatea, 2006). Sin embargo, en estos sistemas, la aireación es aplicada sólo cuando es necesario, en la noche para compensar la respiración de la biomasa algal y en situaciones de bajos niveles de oxígeno. Estos sistemas cuentan con una tasa de

supervivencia promedio del 75 %, entregando rendimientos que varían de 500 a 3000 kg/ha/cosecha, tienen extensiones de 1-5 ha, cuentan con profundidades de 1-1.2 m y se encuentran en zonas intermareales o en zonas más elevadas de la costa. Las PLs pueden ser capturadas del medio o provenir de laboratorios. Aproximadamente dos tercios de las granjas latinoamericanas cuentan con este tipo de sistemas de producción (Lewis *et al.*, 2003; FAO, 2009; INAPESCA, 2018; Maldonado-Hernández, 2023).

### 1.1.2.3 Sistemas intensivos

Estos sistemas cada vez más se ubican lejos y más arriba de las áreas intermareales para drenarse con facilidad pudiendo ser localizados en tierras más baratas y donde hay agua de baja salinidad. En estos sistemas es común el empleo de recubrimiento del suelo de los estanques lo cual ayuda a evitar su erosión y así mantener la buena calidad del agua. Los sistemas intensivos son comunes en Asia y en algunas partes de América Latina y se reportan rendimientos de siete y hasta 20,000 kg/ha/cosecha (FAO, 2009).

Los sistemas intensivos tienen una total dependencia con la aireación, ya que ésta sirve tanto para la respiración de los organismos como para la oxidación, suspensión y movimiento de la materia orgánica las 24 h (Boyd *et al.*, 2021).

Los estanques son pequeños (0.1-1 ha) pudiendo ser circulares o cuadrados, con profundidades de 1.5 m, densidades de siembra de 60 a 300 PL/m<sup>2</sup>, tasas de recambio de más del 20 %, uso únicamente de PLs producidas en laboratorio y cuentan con supervivencias de más del 75 % (Lewis, *et al.*, 2003; INAPESCA, 2018).

Para los altos niveles de densidad de siembra en estos sistemas se debe contar con un gran cuidado de los parámetros de calidad del agua, sobre todo los que concierne con niveles suficientes de oxígeno y el mantenimiento de niveles bajos de los potencialmente tóxicos residuos nitrogenados procedentes de la oxidación de la materia orgánica y del metabolismo de los organismos en cultivo, los cuales son amoniaco (NH<sub>3</sub>), amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), nitritos (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) y nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Pero también se debe controlar el aumento de la salinidad (por motivos de evaporación), los niveles adecuados de pH (ya que disminuye al aumentar el CO<sub>2</sub> producido por la respiración de las algas, camarones y microorganismos en las noches) y una suficiente alcalinidad (que se agota al amortiguar una caída abrupta del pH) (Samocha, 2019).

La alta densidad del cultivo en estos sistemas depende de cantidades mayores de alimentación y

fertilización lo cual conlleva una gran producción de materia orgánica residual constituida tanto por restos de alimentación como por la biomasa de microorganismos creada por la abundancia de nutrientes, todo esto genera partículas en suspensión y sedimentables, que si no son controladas consumirán grandes cantidades de oxígeno, que por una parte forzarán la capacidad de carga del sistema (capacidad de mantener en buenas condiciones ambientales cierto número de organismos cultivados) que aumentará los costos debido a la necesidad de aumentar el bombeo de aire, y por otra parte generarán efectos perjudiciales en las branquias, el crecimiento y la supervivencia de los camarones (Hernández-Gurrola, 2016).

Actualmente estos sistemas están tendiendo a minimizar o eliminar las tasas de recambio de agua, ya que esto puede llevar a la transmisión de enfermedades entre estanques y granjas de una misma zona (Lewis *et al.*, 2003). En estos casos se depende aún más de buenos niveles de aireación, que permiten el desarrollo del sistema de floculación (conglomeración) bacteriana el cual controla los niveles de residuos nitrogenados dentro del estanque. Pero esto hace que existan dos comunidades a controlar dentro del estanque, la de los camarones y la de los microorganismos. Parte del control bacteriano se logra por medio de la manipulación de las relaciones en las cantidades de Carbono orgánico y Nitrógeno suministradas al estanque, la cual se conoce como relación Carbono: Nitrógeno (C:N). Este tipo de sistemas son parte de la tecnología Biofloc, la cual es una alternativa que permite controlar la calidad del agua, lograr la bioseguridad del estanque, alcanzar el nivel de sistemas súper intensivos y conseguir la disminución de los costos de alimentación por medio de reciclamiento de nutrientes al aprovechar más eficientemente el alimento, sin dejar de lado el respeto al medio ambiente (Avnimelech, 2015).

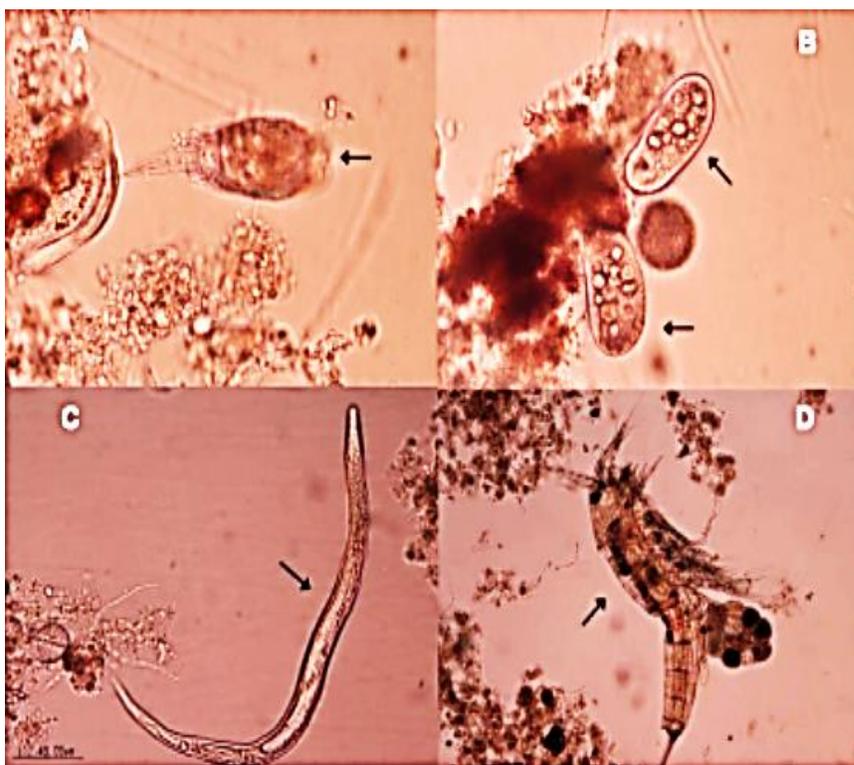
### 1.1.3 Sistemas Biofloc

Eventualmente los sistemas extensivos con altos porcentajes de recambio de agua serán sustituidos por sistemas cada vez más intensivos y productivos, resultando en la reducción del impacto sobre los ecosistemas por parte de las granjas camaroneras (Henriksson, *et al.*, 2018). Sin embargo, los sistemas de producción acuícola con nulo o mínimo recambio de agua, tanto intensivos como súper intensivos son una práctica menos extendida que aquellos con altas tasas de recambio (Lewis *et al.*, 2003).

Como se mencionó anteriormente, una alternativa de sistema que consigue operar con un mínimo o nulo recambio de agua en los sistemas acuícolas es la TB. En comparación con los otros tres tipos de sistemas con alto recambio de agua, los sistemas intensivos con base en la TB son la respuesta a la generación de

altos rendimientos con porcentajes mínimos de recambios de agua y, por consiguiente, menor impacto ambiental (Noguera-Muñoz *et al.*, 2021). Los sistemas súper intensivos con Biofloc, desarrollados en EUA, se enfocan en estanques de flujo rápido sin recambio de agua (más que para reponer las pérdidas por evaporación) o descargas, y utilizan PL de líneas SPF. La productividad en estos sistemas es bastante alta, ya que en estanques de 282 m<sup>2</sup> se siembran de 300 a 450 juveniles/m<sup>2</sup> y son cosechados en un periodo de entre 3 y 5 meses con productividades de hasta 68 t/ha/cosecha. Cuentan con una supervivencia de hasta 91 % y una tasa de crecimiento de 1.5 g/semana (FAO, 2009).

Con este tipo de sistemas (más intensivos) se puede lograr el uso eficiente de los recursos agua y tierra, el control o erradicación de patógenos, mayor bioseguridad para el consumidor, más control de los parámetros que afectan el crecimiento y bienestar de los organismos cultivados (como la temperatura, el oxígeno, los desechos nitrogenados, la alimentación, la seguridad contra depredadores), alcanzar altas densidades de producción y el acercamiento a mercados locales, con todo lo cual se obtiene una mayor rentabilidad y a la vez una reducción de los impactos al medio ambiente (Timmons y Vinci, 2002; Bregnballe, 2022).



**Figura 4.** Microorganismos que se presentan en el sistema Biofloc. A) protozoos, B) protozoos ciliados, C) nematodos, D) copépodos (Emerenciano *et al.*, 2013).

Otra ventaja destacable del empleo de la TB es el ahorro de energía para el bombeo de agua con lo cual

se obtiene una disminución indirecta en los costos de alimentación, pues al no hacer recambios de agua se conserva el nitrógeno del alimento, que genera biomasa de bacterias, fitoplancton y zooplancton que son aprovechados por los camarones como segunda fuente de alimento (Moreno-Figueroa, 2017) (Fig. 4).

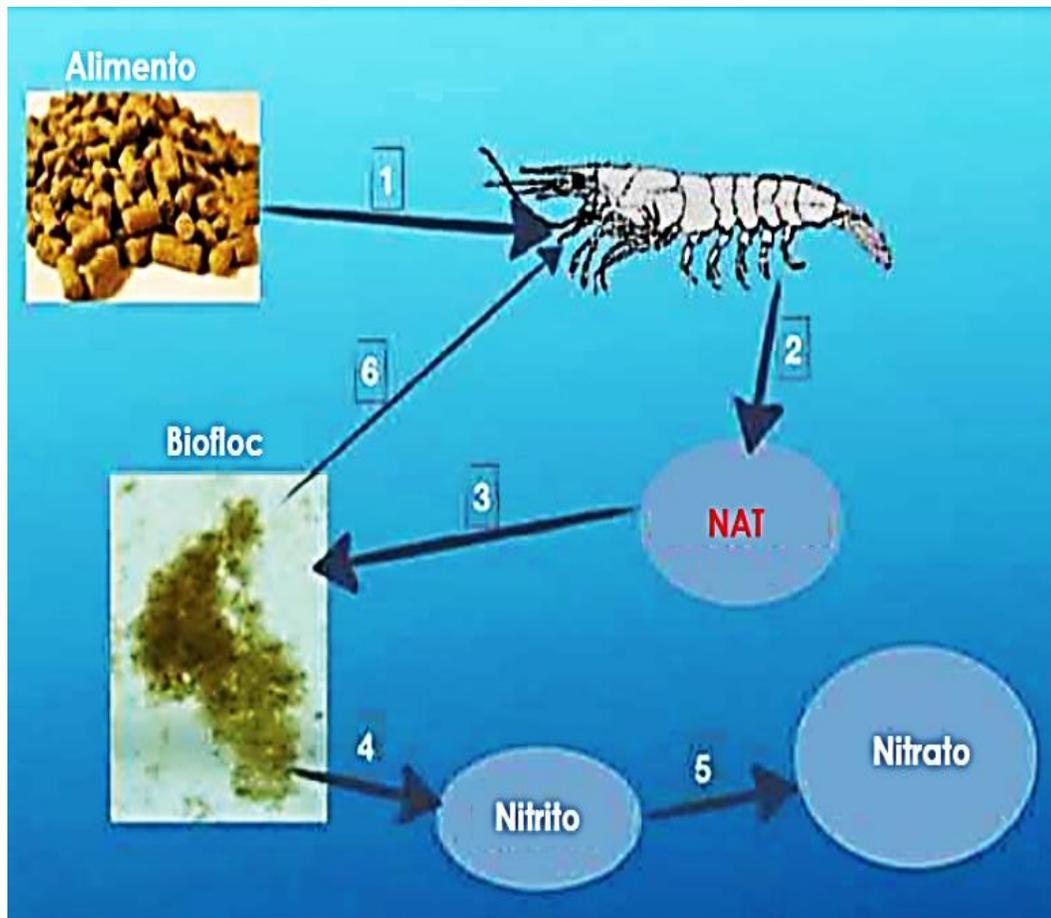
Normalmente los sistemas Biofloc cuentan con la dominancia de las comunidades bacterianas denominadas heterótrofas (usan el carbono orgánico como fuente de energía para formar nuevas moléculas) y una menor pero significativa participación de comunidades químio autótrofas nitrificantes (consumen carbono inorgánico para formar nuevas moléculas y oxidan compuestos inorgánicos para obtener energía) y cuando hay luz, también existe la presencia de organismos fotótrofos (como microalgas), que tienen una mayor injerencia sobre la calidad del agua sólo en sistemas Biofloc a campo abierto. Cuando se presenta más de un tipo de metabolismo microbiano se denomina sistemas Biofloc mixotrófico. Esta aproximación mixotrófica ha demostrado ser más eficiente para asegurar una alta calidad de agua y al mismo tiempo, proveer un suplemento alimenticio natural que es rico en nutrientes (Samocha, 2019).

#### 1.1.3.1 Nitrógeno en los sistemas Biofloc

En los sistemas con TB la fuente principal de Nitrógeno en los estanques proviene de la proteína presente en el alimento suministrado a los camarones, por lo cual, la eficiencia en el aprovechamiento del alimento afecta directamente la concentración de compuestos nitrogenados disueltos en el estanque. La presencia de estos compuestos es producto de la excreción de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), como subproducto metabólico de los camarones, que al reaccionar con el agua y en función del pH, temperatura y salinidad, se convierte en cierta cantidad de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). De esta manera es que ambas especies químicas se encuentran en el agua, tanto en su forma no ionizada ( $\text{NH}_3$ ) como en su forma ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ) y la suma de ambos se denomina nitrógeno amoniacal total (NAT:  $\text{N-NH}_3 + \text{N-NH}_4^+$ ) (Timmons y Vinci, 2022).

Aunque la mayor fuente de nitrógeno amoniacal en el estanque es producto del catabolismo de los aminoácidos contenidos en la dieta suministrada a los animales cultivados, también es producto de la acción microbiana (heterotrófica) que oxida el alimento no consumido y la materia fecal (Martínez, 2014; Samocha, 2019). Y a pesar de que también lo generan, las comunidades heterotróficas se encargarán de la remoción de la mayor parte de NAT en el agua al asimilarlo para generar proteína celular y así “secuestrarlo” de los estanques por efecto de su crecimiento poblacional. Se ha visto que la eliminación del NAT en los estanques, es 10 veces más rápida por medio de la generación de biomasa de bacterias

heterotróficas que por medio de las bacterias que realizan la nitrificación, otro proceso de oxidación del NAT (llevado a cabo por las bacterias quimio autotróficas), esto infiere que la biomasa de las bacterias heterótrofes es la que mayoritariamente conforma los flóculos debido a que las bacterias heterótrofes crecen más rápido que las bacterias nitrificantes (Monroy-Dosta *et al.*, 2013; Mugwanya *et al.*, 2021).



**Figura 5.** El uso del nitrógeno en un sistema Biofloc. Los camarones ingieren nitrógeno proteico del alimento formulado (1) y del Biofloc (flóculos) (6) para su crecimiento. Excretan amoníaco (2) que será inmovilizado por flóculos tanto heterótrofes como quimio autótrofos (3). Las comunidades heterótrofes forman biomasa bacteriana y las quimioautótrofos nitrifican el amoníaco en dos pasos: primeramente, a nitrito (4) y después a nitrato (5). Las comunidades bacterianas nitrificadoras autótrofas producen menos biomasa comparadas con las bacterias heterótrofes (modificado de Samocha, 2019).

No obstante, el desarrollo de las bacterias heterótrofes no impide la presencia de las comunidades bacterianas nitrificantes, ya que el remanente de NAT no secuestrado por las heterótrofes sirve como sustrato para las bacterias autótrofas que en la nitrificación lo oxidan primeramente a  $\text{NO}_2^-$  y después en  $\text{NO}_3^-$ . Esta última especie química solamente es tóxica a concentraciones muy elevadas (>400 mg/l a una salinidad de 30 g/l). De esta manera, en los estanques de cultivo se logra producir una biomasa bacteriana diversa, que es consumida por protozoarios y que se agrupa en los flóculos, los cuales son consumidos por

el organismo de cultivo, logrando así un reciclamiento del nitrógeno de la dieta (Avnimelech ,2006; De Schryver *et al.*, 2008; Ekasari *et al.*, 2014) (Fig. 5). Gracias a estas dos comunidades microbianas (heterótrofas y nitrificantes), se logran controlar las concentraciones de los compuestos nitrogenados. La importancia de este control en el sistema se debe a que si el amoníaco ( $N-NH_3$ ) y el nitrito ( $N-NO_2^-$ ) superan las concentraciones de 1.4 mg/L y 1 mg/L respectivamente, causan estrés por toxicidad en los camarones, lo cual afecta la productividad del cultivo (Frías-Espéricueta y Páez-Osuna, 2001; Yong-Chin y Jian-Chu, 2001). A concentraciones mayores de amoníaco y nitrito, se produce la muerte de los organismos de cultivo.

### 1.1.3.2 Carbono en los sistemas Biofloc

Para que las comunidades bacterianas heterótrofas remuevan el nitrógeno amoniacal, es necesario que la relación C:N en los estanques se mantenga entre 10:1 y 20:1. En otras palabras, a relaciones altas de C:N, las bacterias heterótrofas, asimilarán directamente el NAT para convertirlo en proteína celular (Timmons y Vinci, 2022). Pero, para lograr una relación C:N adecuada en los estanques se añade directamente al agua de cultivo una fuente rica en carbono orgánico (como la muy usada melaza, almidón, glucosa y harinas de maíz, trigo o arroz) (Avnimelech, 2006; De Schryver *et al.*, 2008).

Conviene aclarar que, para que inicie la formación de flóculos, primeramente, se debe acumular NAT en el estanque, después se promoverá el crecimiento bacteriano por medio de la adición de la fuente de carbono orgánica, esto siempre y cuando se aplique suficiente aireación al tanque para mantener una condición normóxica que asegure la actividad metabólica aeróbica de las bacterias y que al mismo tiempo evite su sedimentación (De Schryver *et al.*, 2008; Avnimelech, 2015). El motivo de añadir carbono orgánico al tanque de cultivo es que este tipo de carbono es un sustrato limitante de la proliferación de bacterias heterótrofas (*Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*) (Azam, 1983). Se pueden utilizar una gran variedad de fuentes de carbono orgánico, pero económicamente hablando, es mejor aprovechar aquellas que se consideran subproductos o desechos de alguna industria.

### 1.1.3.3 Cualidades nutritivas de los flóculos

Está bien probada la factibilidad de usar los flóculos producidos con TB como segunda fuente de alimento debido a sus cualidades nutritivas (Tabla 1), lo cual permite reducir el uso de harina de pescado, haciendo

que la TB sea una alternativa más económica y sustentable (Mugwanya *et al.*, 2021). Sin embargo, es importante mencionar que el valor nutricional de los flóculos depende en gran medida de la comunidad microbiana que lo integra, y son muchos los factores que afectan y determinan la estructura y composición de las comunidades microbianas del Biofloc, algunos de ellos son: la luz, la fuente de carbono, el manejo y tipo de sistema de cultivo (Sánchez-Muros, 2020; Mugwanya *et al.*, 2021). Por ejemplo, con suficiente luz en cultivos de camarones con TB en estanques al exterior, las comunidades fototróficas dominarán sobre las heterotróficas, mientras que, si hay una deficiencia de luz directa, esta dominancia puede decaer (Ju *et al.*, 2008). Es así como el factor luz puede repercutir en el contenido de lípidos del Biofloc, ya que las microalgas y el zooplancton son una fuente más rica de lípidos que las bacterias (Zhukova y Kharlamenko 1999). En este sentido, sistemas Biofloc en condiciones de luz limitada, contienen niveles muy bajos de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA's por sus siglas en inglés), debido a la dominancia de las comunidades bacterianas heterotróficas sobre las comunidades microalgales ricas en estos ácidos grasos (Crab *et al.*, 2010; Anand *et al.*, 2014).

**Tabla 1.** Contenido del Biofloc (Samocha, 2019).

<b>Nutriente</b>	<b>%</b>
<b>Proteína cruda</b>	12.0-50.0
<b>Lípidos</b>	0.5-41.0
<b>Carbohidratos totales</b>	14.0-59.0
<b>Cenizas</b>	3.0-61.4

Resultados en base seca

En el caso de la fuente de carbono como factor que afecta las características nutritivas de los flóculos, como se mencionó anteriormente, se debe a que pueden utilizarse una gran variedad de insumos. Por ejemplo, Crab *et al.* (2010) observaron que el Biofloc que se produjo a partir del uso de glicerol junto con *Bacillus* sp.; acetato y glicerol; y glucosa contenían 58 %, 42-43 % y 28 % de proteína respectivamente. Y comparados con la glucosa, los carbohidratos complejos de lenta asimilación, como el salvado de arroz y los residuos de café hacen que el contenido proteico de los flóculos sea de 47.99 % y 30.28 % respectivamente (Becerril-Cortés *et al.*, 2018). Es así, como se muestra que el tipo de insumos repercute en el contenido proteico de los flóculos, ya que según Anand *et al.* (2014) fuentes de carbono como el

acetato y el glicerol pueden favorecer más el crecimiento celular de las bacterias, incrementando su contenido proteico, a comparación de fuentes de carbono como la harina de trigo que puede favorecer más bien la producción de exopolisacáridos bacterianos disminuyendo el aporte proteico de los flóculos.

Debido a que son numerosos los factores que pueden afectar las características nutritivas de los flóculos, se puede decir que cada Biofloc es distinto a otro e incluso entre ciclos productivos de un mismo estanque, esta es la razón por la cual no se puede hablar de un contenido estándar de ciertos nutrientes, como los aminoácidos en el Biofloc, sin embargo, se puede decir que normalmente todos los aminoácidos esenciales están presentes en el Biofloc, no obstante, puede haber ciertas limitaciones de triptófano (Ibarra *et al.*, 2019), metionina y la lisina (Gamboa-Delgado, 2017).

#### 1.1.3.4 *P. vannamei* cultivado en sistemas Biofloc

Por el tipo de alimentación omnívora (menos carnívora que otros camarones) *P. vannamei* se considera la especie de camarón más compatible para su cultivo con TB, ya que se ha demostrado ampliamente la viabilidad de producir organismos sanos con esta tecnología (FAO, 2009; Panigrahi *et al.*, 2018; Samocha, 2019).

Wasielesky *et al.* (2006) reportan mayores ganancias de peso, biomasa final, consumo de alimento y una menor tasa de conversión alimenticia (TCA) cuando *P. vannamei* se cultiva en un sistema Biofloc. Y se ha demostrado que esta forma de cultivo reduce notablemente los costos de alimentación en esta especie (Burford *et al.*, 2004; Moreno-Figueroa, 2017). También la producción de *P. vannamei* con TB ha demostrado su capacidad para aumentar la productividad, ya que se han reportado densidades de cultivo de hasta 828 organismos/m<sup>2</sup> (Otoshi *et al.*, 2007).

Además, se ha comprobado que un buen empleo de la TB no perjudica en nada al crecimiento y supervivencia de los camarones cultivados (Hernández-Gurrola, 2016). Otra de las cualidades de la TB y que resulta altamente beneficiosa para *P. vannamei* es que los flóculos bacterianos contienen polisacáridos que estimulan positivamente al sistema inmune de esta especie (Crab *et al.*, 2010). Se ha encontrado que cuando los camarones se alimentan de los flóculos de los sistemas con TB, se aumenta el número de hemocitos, lo que sugiere que el consumo de flóculos tiene un efecto estimulante del sistema inmune de los camarones (Kaya *et al.*, 2019).

Por otra parte, es necesario mencionar que los flóculos contienen una alta variedad de compuestos bioactivos, como carotenoides, clorofila, polisacáridos, fitoesteroles, taurina y vitaminas liposolubles. De hecho, en sistemas con TB se puede disminuir el porcentaje de proteína en el alimento para pasar de 35 a 25 %, sin afectar la inmunidad de *P. vannamei*, lo que comprueba que los flóculos suplementan la nutrición y contribuyen a la salud del camarón blanco. Por otra parte, se ha comprobado que la suplementación de alimento con altos niveles de proteína (35 %) en sistemas de TB, puede aumentar significativamente la respuesta inmune de otros camarones (*Penaeus indicus*) (Khanjani *et al.*, 2023). Por otra parte, en esta misma línea de investigaciones, se ha encontrado que el Biofloc puede promover la expresión de genes relacionados con el sistema inmune en PL de *P. vannamei* (Kim *et al.*, 2014).

#### 1.1.4 Nejayote

En México y otros países latinoamericanos, el maíz (*Zea mays*) es un importante alimento básico. Su aprovechamiento se lleva a cabo usando un proceso precolombino de pretratamiento llamado nixtamalización, el cual favorece el reblandecimiento y la remoción del pericarpio del grano, que resulta en la absorción del agua por parte del endospermo y así facilita su molienda, para producir masa o harina de maíz (Pedroza-Islas y Durán, 1990).

La palabra nixtamal (castellanizada) tiene raíces en el náhuatl (*nextli*: cal de cenizas; y *tamalli*: masa cocida de maíz) y significa: maíz cocido con cal (Cabrera, 1972). La nixtamalización se realiza hirviendo los granos de maíz en una proporción 1:3 (maíz:agua) junto con hidróxido de calcio (1-3 %), con lo que alcanza un pH de 11 a 13. El periodo de cocción puede durar de 20 a 40 min y depende de la variedad de maíz usado, por lo que la cocción es de menor duración con variedades de endospermo más suave y de mayor duración con variedades de endospermo más duro (Acero-Godínez, 2000). Pasado el tiempo de cocción, el maíz se deja reposar y enfriar de 10 a 14 horas, el agua del cocimiento, finalmente se drena y se desecha, se prosigue con el lavado del nixtamal para enjuagarlo del exceso de cal, posteriormente el nixtamal se muele con un molino de piedra para resultar en la masa para tortillas (Trejo *et al.*, 1982).

Un aspecto importante a tener en cuenta sobre el proceso de nixtamalización es que este logra controlar la actividad microbiana, aumenta el contenido de calcio, mejora la disponibilidad de nutrientes del maíz (vitaminas, proteínas y minerales) y disminuye factores anti nutricionales como el ácido fítico; sin embargo, este proceso térmico alcalino también puede conllevar pérdidas elevadas de sólidos solubles (6 a 15 %) y como resultado se pierde fibra, almidón, proteínas, aminoácidos esenciales y vitaminas (tiamina,

niacina, riboflavina). Todos estos quedan solubilizados en el nejayote, el cual es el agua residual de todo el proceso de nixtamalización (Pflugfelder *et al.*, 1988; Bressani, 1990; Gómez *et al.*, 1996; González-Hernández *et al.*, 1997; Acero-Godínez, 2000).

**Tabla 2.** Composición del Nejayote expresada en base seca (modificados de Rosentrater, 2006, Díaz-Montes *et al.*, 2016 y Téllez, 2017).

<b>Parámetro</b>	<b>Contenido</b>
<b>Sólidos Totales (g/l)</b>	11.68
<b>Carbono Orgánico Total (mg/l)</b>	2,984.10
<b>Nitrógeno Total (%) *</b>	0.08
<b>pH</b>	12-14
<b>Calcio (mg/l)</b>	1,526.21
<b>Humedad (%)</b>	97.72
<b>Proteína cruda (%)</b>	1.30-7.42
<b>Lípidos (%)</b>	0.49-5.76
<b>Carbohidratos totales (%)</b>	71.93-75.41
<b>Cenizas (%)</b>	1.09-23.15

base húmeda (\*).

Nutricionalmente, el nejayote tiene un contenido reducido de proteínas y grasas; sin embargo, tiene un mayor contenido de carbohidratos y de otras moléculas ricas en carbono (Tabla 2), estos son derivados de los componentes del endospermo y la cascarilla del maíz, como la hemicelulosa, la celulosa, el almidón y la lignina (Pérez-Pérez, 2012). Es por ello por lo que es necesario considerar la variación de los nutrientes del nejayote, ya que estos dependen tanto del tipo de maíz utilizado como del mismo proceso de nixtamalización (Rosentrater, 2006; Acosta-Estrada *et al.*, 2014). De acuerdo con la información nutrimental del nejayote, el mayor potencial de su aprovechamiento se podría encontrar en la extracción y utilización de los componentes residuales de la fibra (Rosentrater, 2006).

#### 1.1.4.1 Efectos contaminantes del nejayote

El nejayote generado en los pequeños molinos urbanos y en las grandes industrias productoras de harinas

es potencialmente peligroso para el medio ambiente, debido a su composición y características reportadas: pH 12, demanda química de oxígeno (DQO) de 40,000 mg/litro, demanda bioquímica de oxígeno (DBO) de 8,100 mg/l y 35,000 mg/l de sólidos en suspensión (González-Martínez 1984; Pedroza-Islas y Durán, 1990; Valderrama-Bravo *et al.*, 2012). Cabe destacar que estos niveles sobrepasan los límites permisibles de la normativa ambiental mexicana sobre contaminantes en las descargas de aguas residuales.

A pesar de ello, en México se vierten en los cuerpos de agua, en los suelos y en el alcantarillado público entre 16 a 22 millones de metros cúbicos al año de nejayote, generalmente sin tratamiento previo alguno, por lo que se ha convertido en un tema de preocupación ambiental (Salmerón-Alcocer *et al.*, 2003; Valenzuela-Vázquez *et al.*, 2017).

#### 1.1.4.2 Tratamientos realizados al nejayote

Debido a su mencionada relevancia, la investigación para el tratamiento del nejayote ha sido activa. Varios métodos alternativos han sido probados, tales como la implementación de técnicas alternativas a la nixtamalización tradicional (sustituyendo el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  por sales de calcio más débiles), la reutilización del nejayote, tratamiento con materiales floculantes, uso de tecnologías de membranas o distintos procesos biológicos anaeróbicos y aeróbicos para reducir sus propiedades contaminantes (Díaz-Montes *et al.*, 2016; Valenzuela-Vázquez *et al.*, 2017). Siendo quizás la primera investigación para el tratamiento del nejayote, González-Martínez (1984) utilizó cuatro distintos sistemas biotecnológicos para el tratamiento del nejayote, de los cuales dos eran sistemas aerobios, uno de estos era un reactor (24 l) de cascada y película fija y otro era un sistema de lodos activados (17 l); y dos sistemas anaerobios, de estos uno era un reactor de lecho empacado (11.5 l) y otro un reactor de contacto (9.1 l). Resultando en que los sistemas más eficientes fueron el de lodos activados y el de lecho empacado, logrando una remoción de DQO de 90 y 91 % respectivamente, en los primeros cinco días de operación, el autor sugirió que el nivel del pH del nejayote debe neutralizarse para mejorar su tratamiento.

Posteriormente, en la investigación de Pulido-Pérez y Escárcega-Pliego (1986), se utilizaron reactores rotatorios (de naturaleza aeróbica) de tres capacidades (15, 50 y 250 l), los resultados revelaron que este tipo de tratamientos disminuye la carga de materia orgánica hasta en 96.43 % (reactor de 15 l) y, por medio de modelos matemáticos, se estimó que la reducción de la carga de materia orgánica puede alcanzar un 92.02 % en un volumen de operación mayor (2,500 l).

Pedroza-Islas y Durán (1990), evaluaron la composición proximal de la biomasa bacteriana resultante del tratamiento del nejayote en un reactor biológico rotatorio (aerobio) y obtuvieron 41.5 % de proteínas, 3.45 % de lípidos, 14.8 % de fibra y 15.1 % cenizas, aunado a esto lograron reducir en un 84.6 % la DQO. Concluyeron que esta biomasa puede ser un ingrediente con potencial para la formulación de piensos para animales.

En 2007, Durán-de Bazúa *et al.* (2007), reportaron el uso de un sistema acoplado anaeróbico-aeróbico para tratar el nejayote de plantas nixtamaleras con capacidad de 2,500 m<sup>3</sup>/día, para obtener agua reutilizable. Después del tratamiento, la biomasa obtenida fue de 10.6 kg y se utilizó para hacer alimentos para peces, sustituyendo el alimento comercial hasta en un 50 %, lo que resultó en un pequeño incremento del peso con respecto a una dieta control sin sustitución, además se logró la reutilización del agua. Con estas investigaciones se puede considerar a los sistemas biológicos aeróbicos capaces de procesar al nejayote y así disminuir su capacidad contaminante (Díaz-Montes *et al.*, 2016).

Por otra parte, otras investigaciones denotan las amplias posibilidades en el aprovechamiento de las cualidades prebióticas del nejayote, ya que se ha reportado que contiene arabinosilanos, los cuales en su estructura poseen ácido ferúlico, el cuál otorga al nejayote la singularidad de actuar como prebiótico y antioxidante (Díaz-Montes *et al.*, 2016; Márquez-Escalante, 2018).

Con respecto a las capacidades probióticas, parece ser que en el nejayote naturalmente se presentan bacterias que resultan ser benéficas para el camarón blanco. A continuación, se explica este punto. Baqueiro-Peña *et al.* (2019), directamente de una muestra de nejayote, lograron el aislamiento y caracterización de una cepa bacteriana nativa. La caracterización bioquímica y fenotípica de la cepa aisladas fueron 99 % similar a *Bacillus megaterium*, que es productor de compuestos de naturaleza antibiótica, de gran importancia farmacéutica para combatir infecciones causadas por otras bacterias gram positivas. Relacionado con esto, Surawut *et al.* (2023) evaluaron la capacidad de un cultivo mixto de *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* y *B. megaterium* para controlar la enfermedad del síndrome de mortalidad temprana en *P. vannamei* y encontraron resultados favorables con su aplicación al cultivo y puntualizaron que la presencia de *B. megaterium* desempeñó un papel clave en el control de *Vibrio parahaemolyticus*, causante de dicho síndrome. Siguiendo con esta línea de ideas, Sánchez-González *et al.* (2011), también aislaron e identificaron dos microorganismos del nejayote, que fueron 100 % idénticos a *Bacillus flexus*, bacteria alcalófila facultativa y halotolerante (soporta altas concentraciones de salinidad). Concerniente a esto, en otra investigación, distintas relaciones de factores de abundancia (UFC/ml) de dos cepas de esta misma especie, junto con una cepa de *B. licheniformis* fueron cultivados como multicepa de *Bacillus spp.*

y vertidos en los estanques de cultivo para evaluar su actividad como agente probiótico y de biocontrol de la calidad del agua en estanques con *P. vannamei*, las cepas con más alta abundancia de *B. flexus* aportaron los resultados más favorables en la remoción eficiente de DQO, NAT y  $\text{NO}_3^-$ , pero también un significativo efecto inhibitorio sobre el número inicial de *Vibrio* spp. (UFC/ml) en el agua de los estanques (Ren *et al.*, 2021).

## 1.2 Justificación

Los mayores costos de producción en las actividades del sector acuícola provienen del aseguramiento de una adecuada calidad del agua y de una óptima nutrición para los organismos producidos. Por lo que las tecnologías de producción acuícola que atienden estos aspectos son cada vez más empleadas, en este sentido, la TB logra cumplirlo dichos aspectos y a la par, permite alcanzar una mayor sustentabilidad. De hecho, los atributos alimenticios del Biofloc ya han sido probados, tanto así que se utiliza como una opción viable para suplementar la alimentación y mejorar la producción de *Penaeus vannamei*.

Por otra parte, para lograr la formación de Biofloc en un sistema acuícola, se requiere suficiente aireación, un suministro de nitrógeno y otro de carbono orgánico; es importante tomar en cuenta que el insumo para suministrar carbono orgánico debe ser preferentemente económico, con alta disponibilidad y que no compita con el mercado de los productos para consumo humano. Es así como se han evaluado diversas fuentes de carbono orgánico como el azúcar y diversos desechos agroindustriales como melazas, residuos de café, salvado de arroz, etc. Las investigaciones concernientes a la búsqueda de nuevas fuentes de carbono orgánico siguen avanzando. Sin embargo, a nuestros días ninguna investigación se ha encargado de la evaluación del nejayote, como fuente de carbono para sistemas con TB.

El nejayote es uno de los subproductos agroindustriales altamente abundantes a nivel nacional y que por sus características contaminantes tiene incidencia en el medio ambiente. Algunas investigaciones han reportado una alta eficiencia en el tratamiento de este residuo por medio de procesos aeróbicos bacterianos y se ha investigado el uso de la biomasa bacteriana resultante de estos tratamientos como fuente de alimento para peces. Estos tratamientos de naturaleza aeróbica y con presencia de desechos orgánicos, son equivalentes a los procesos que se desarrollan para la formación de la biomasa bacteriana con TB, ya que se realizan en condiciones aeróbicas y también procesan materia rica en carbono orgánico, por este motivo es que se prospectó el aprovechamiento del nejayote como fuente de carbono orgánico en los sistemas Biofloc.

Como se mencionó antes, actualmente no existen registros de producción de organismos acuáticos en un sistema con TB utilizando nejayote como fuente de carbono orgánico para el sistema, por lo cual este estudio evaluó el desempeño productivo de *P. vannamei* y la calidad del agua en un sistema Biofloc suministrando nejayote como fuente de carbono orgánico.

### 1.3 Hipótesis

El uso del nejayote como fuente de carbono orgánico en una relación C:N de 15:1 promoverá el crecimiento de las comunidades bacterianas heterótrofas y del Biofloc, disminuirán el nitrógeno amoniacal y los nitritos disueltos en el agua y a la vez mejorará las variables productivas (% de supervivencia, ganancia de peso, tasa de crecimiento específica, tasa de conversión del alimento) del camarón blanco *Penaeus vannamei*.

### 1.4 Objetivos

#### 1.4.1 Objetivo general

Conocer los efectos del uso del nejayote como fuente de carbono orgánico en un sistema Biofloc con tres relaciones C:N (10:1, 15:1 y 20:1), sobre la calidad del agua y el desempeño productivo del camarón *Penaeus vannamei* en condiciones controladas.

#### 1.4.2 Objetivos específicos

- Diseñar y construir el sistema de cultivo para trabajar a una densidad de 823 organismos/m<sup>3</sup>, en un volumen de 17 l, y asegurar un suministro de oxígeno y control de la temperatura.
- Conocer las características fisicoquímicas del Nejayote (pH, densidad, peso seco, humedad, relación C:N) así como su contenido en proteínas, grasas y carbohidratos.
- Conocer las fluctuaciones de las cantidades de sólidos sedimentables y sólidos suspendidos

totales, volátiles y fijos a través del tiempo en cultivo

- Describir las variables productivas del camarón blanco: peso ganado, tasa de conversión alimenticia, supervivencia y tasa de crecimiento específico.
- Registrar los parámetros de calidad del agua: nitrógeno amoniacal total, nitritos, sólidos disueltos, salinidad, pH, oxígeno disuelto, temperatura y alcalinidad.
- Conocer la calidad nutricional del Biofloc mediante el análisis del contenido de proteínas, grasas y carbohidratos en los tres tratamientos.
- Evaluar el desempeño productivo del camarón, los parámetros de calidad del agua y el perfil nutricional de los flóculos entre los tres tratamientos y el control a través del análisis estadístico de los datos y determinar cuál fue el tratamiento óptimo.



Los tres tratamientos con C orgánico adicional correspondieron a las relaciones C:N de 10:1, 15:1 y 20:1 con tres réplicas cada uno, usando al nejayote como fuente de carbono orgánico. Y las tres réplicas del control utilizaron el carbono que contenía el mismo alimento suministrado a los camarones, el alimento contó con un contenido de proteína del 35 %. La relación teórica de C:N del alimento fue de 9:1 (Xu *et al.*, 2016). Por último, el acomodo de las unidades experimentales fue al azar y quedó como se muestra en la Fig. 6.

## 2.2 Postlarvas

Las postlarvas (PLs) de camarón (*P. vannamei*) fueron obtenidas de un laboratorio de reproducción de camarón, ubicado en Mazatlán, Sinaloa, México. Dichas PLs estaban acreditadas como libres de patógenos y contaban con un tiempo de vida de seis días. En ese momento el peso promedio de las PL fue de 10.4 ±1.3 mg y se recibieron tres mil PLs aproximadamente.

## 2.3 Maternidad

Las PLs se “sembraron” equitativamente y aclimataron a las condiciones de salinidad y temperatura en dos estanques con una capacidad de 600 l (con 500 l útiles). Estos estanques se colocaron dentro del laboratorio y con iluminación artificial de una lampara tipo fluorescente de 5,500 K, emitiendo luz blanca, en un horario de 08:00 a 22:00 horas.

Antes de la introducción de las PLs, en cada estanque se propició la formación de Biofloc utilizando azúcar como fuente de carbono orgánico y NH<sub>4</sub>Cl como fuente de nitrógeno, ambos a una relación C:N de 10:1 y a una concentración de 1 mg/l de NAT. Este proceso se mantuvo en funcionamiento por 2 semanas hasta el momento de recibir las PLs.

Posteriormente, ya con las PLs sembradas, el Biofloc se mantuvo a partir del alimento con un 35 % de proteína y azúcar como fuente de carbono, la relación C:N fue de 10:1. Las dos tinas contaron con aireación continua, para mantener una concentración de oxígeno disuelto de 5 mg/l. Con una bomba de calor se mantuvo el control de la temperatura de un estanque de nueve mil litros que funcionó como baño maría, dentro del cual se colocaron los dos tanques de 600 l con las PLs. En este sistema se mantuvieron a las PLs por 45 días hasta el inicio del experimento y a este periodo se le denominó maternidad.

Aunque se modificaron las relaciones C:N mediante el aumento o disminución del suministro de azúcar para mantener niveles adecuados de NAT, también se usaron recambios de agua de hasta un 40 % dos o tres veces por semana, para controlar los niveles de los compuestos nitrogenados (NAT,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ), la salinidad y los sólidos sedimentables. Estos parámetros junto con la temperatura, oxígeno disuelto y pH se midieron diariamente. En este periodo se hicieron biometrías semanales para dar seguimiento al crecimiento y supervivencia de las PLs y así modificar las raciones alimenticias correspondientes a la biomasa promedio de PLs.

## 2.4 Unidades experimentales

Cada unidad experimental consistió en una cubeta blanca de plástico de 20 litros con un volumen útil de 17 l y cada unidad se cubrió con una tela tul negra para impedir el escape de los camarones. Para cumplir con el volumen inicial de agua de las unidades, se utilizó el agua de uno de los tanques de maternidad, evitando así formar Biofloc totalmente desde cero.

Todas las unidades experimentales contaban con aireación por medio de difusores de cerámica con un flujo de aire de 283.16 l/h, el suministro de aire se obtuvo del sistema de aireación del Laboratorio de Cultivo de Peces Marinos y se midió el flujo de aire con un rotámetro. Las unidades experimentales se mantuvieron en condiciones de interior (dentro del laboratorio) con las mismas condiciones de iluminación descritas para el periodo de maternidad. Las fluctuaciones de la calidad del agua en cada unidad experimental fueron independientes, ya que no tenían interconexión. Las 12 unidades experimentales se ubicaron dentro de una tina rectangular grande con agua, sumergidas hasta un tercio de su altura. En la tina se colocaron dos bombas de agua y un calentador autorregulado de 800 W (Fig. 6) que sirvieron para controlar la temperatura del agua de manera continua a 28 °C en todas las unidades experimentales. Una vez que las PLs alcanzaron un peso de  $0.86 \pm 0.1$  g en la maternidad, se colocaron en las unidades experimentales a una densidad de 823 camarones/ $\text{m}^3$  (Otoshi *et al.*, 2007), lo que resultó en 14 camarones por unidad experimental.

Como contramedida al incremento de la salinidad por efecto de la evaporación, se adicionó agua dulce en cantidad suficiente para mantener la salinidad a 32 g/l. Cuando la alcalinidad disminuía por debajo de 100 mg/l de  $\text{CaCO}_3$ , se agregaba bicarbonato de sodio de acuerdo con la ecuación de Skinner y Hales (1995), hasta obtener aproximadamente 150 mg/l de  $\text{CaCO}_3$ .

## 2.5 Tasas de alimentación

El alimento utilizado fue de denominación comercial, con un 35 % de proteína cruda y se suministró dos veces al día (09:00 y 21:00 horas). La cantidad de alimento suministrada a cada unidad experimental era calculada de acuerdo con el tamaño promedio (en gramos) de todos los organismos de esa unidad que servía para calcular el % de alimentación diaria (Tabla 4) y este se multiplicaba por el número de camarones supervivientes en cada periodo. En este caso, se utilizó una tabla de alimentación de una granja productora de camarones *P. vannamei*. Y es importante mencionar que el tamaño del “pellet” suministrado se modificó de acuerdo con el peso húmedo promedio de los organismos.

**Tabla 4.** Programa de alimentación de acuerdo con el peso húmedo del camarón (Peiro, comunicación personal, 2017).

Tamaño promedio (g)	% de alimento de acuerdo con el peso promedio de los organismos
0.01-0.09	52.90-28.20
0.10-1.50	27.40-14.10
1.50-3.50	13.40-8.20
3.50-6.50	7.30-5.00
6.50-10.50	4.70-3.50
10.50-13.50	3.30-2.90
13.50-16.00	2.80-2.50

## 2.6 Obtención de nejayote

El Nejayote se obtuvo de una planta productora de tortillas de maíz, denominada “San Antonio de las Minas”, ubicada en Ensenada, B.C., México y se almacenó congelado en recipientes de plástico de 20 l para su conservación en un cuarto frío (-20 °C). Previo al uso se descongeló a lo largo de un día, se modificó su pH y se mantuvo en refrigeración (4 °C). El pH se redujo con la adición de HCl 1 M, mezclando en forma constante hasta alcanzar un pH de  $8.2 \pm 0.3$ , para casi emular el pH del agua de mar (8.3) proveniente del sistema de suministro.

## 2.7 Caracterización del nejayote

Previo al congelamiento, se procedió a caracterizar al nejayote con las siguientes pruebas:

- a) *pH*. Usando un potenciómetro marca Thermo Orion, modelo 290A+.
- b) *Peso seco (sólidos totales), materia orgánica (sólidos totales volátiles) y cenizas (sólidos totales fijos)*. Para estas pruebas, tres muestras de 50 ml de nejayote se secaron durante 3 días con un liofilizador, posteriormente se aplicaron los métodos descritos en Baird *et al.* (2017). El liofilizado de nejayote se colocó en una navecilla de aluminio (previamente incinerada a 550 °C y pesada) y se metió en un horno a 103-105 °C por  $\geq 1$  h, a continuación, se enfrió en un desecador y se obtuvo su peso seco. Posteriormente, por medio de una mufla, la muestra seca se incineró a 550 °C ( $\geq 45$  min), a continuación, se enfrió en desecador y se pesó nuevamente. Finalmente se calcularon los sólidos de acuerdo con las siguientes fórmulas:

- Sólidos Totales

$$ST \text{ (mg/l)} = [(A - C) \times 1000] \div \text{Volumende la muestra [ml]} \quad (1)$$

- Sólidos totales volátiles

$$STV \text{ (mg/l)} = [(A - B) \times 1000] \div \text{Volumende la muestra [ml]} \quad (1)$$

- Sólidos totales fijos

$$STF \text{ (mg/l)} = [(B - C) \times 1000] \div \text{Volumende la muestra [ml]} \quad (3)$$

A= Peso de la muestra seca + peso de navecilla de aluminio previamente incinerada a 550 °C, ambos pesos en mg.

B= Peso de la muestra incinerada + peso de navecilla de aluminio incinerada a 550 °C, ambos pesos en mg.

C= Peso seco de la navecilla de aluminio incinerada a 550 °C en mg.

- c) *Densidad*. Mediante una balanza digital se midió la masa de un volumen conocido del nejayote y se calculó la densidad con la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad (mg/l)} = m \div V \quad (4)$$

m= masa de la muestra (mg)

V= volumen de la muestra (l)

- d) *Porcentaje del peso seco*. Tomando a la densidad como peso total (100 %) se calculó el porcentaje correspondiente al peso seco proveniente de los Sólidos Totales:

$$\% PS = (\text{Sólidos totales} \times 100) \div \text{Densidad} \quad (5)$$

- e) *Porcentaje de humedad*. Para su cuantificación se usó el porcentaje del peso seco anteriormente visto y se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Humedad}(\%) = 100 \% - \% PS \quad (6)$$

- f) *Proteína cruda (%)*. Se cuantificó por medio del método micro-Kjeldahl (Ma y Zuazaga, 1942) de acuerdo con el método oficial descrito por AOAC (2005). Este método consistió en tres etapas. La primera fue la digestión de 50 ±2 mg de nejayote liofilizado vertido en un matraz Kjeldahl, junto con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, sulfato de potasio (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y sulfato cúprico pentahidratado (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O), esta mezcla se llevó a punto de ebullición (del ácido) por 30 min, al finalizar la digestión se aforó con agua destilada a un volumen de 25 ml (muestra digerida). La segunda etapa se realizó mediante un destilador de nitrógeno (marca Tecnal modelo TE-0364), en este aparato se colocó la muestra digerida junto con hidróxido de sodio (NaOH) al 40 % y agua destilada para ser sometidos a un proceso de arrastre de vapor el cual terminaba su recorrido en una solución colectora formada de ácido bórico (3 %) con indicador Shiro Tashiro. La tercera parte consistió en la titulación de la solución colectora con ácido clorhídrico (HCl) 0.02 N, los ml de HCl usados en la titulación se utilizaron para obtener primeramente el porcentaje de N (fórmula 7), el cual se multiplicó por el factor de 6.25 (es el factor inverso del supuesto de que las proteínas contienen 16 % de nitrógeno) para obtener el porcentaje de proteína cruda.

$$\% \text{Nitrógeno} = [(ml \text{ HClm} - ml \text{ HClb}) \times (N) \times (5)] \div [g \text{ de la muestra}] \quad (7)$$

ml HClm= ml de HCl utilizados para titular la muestra

ml HClb= ml de HCl utilizados en la titulación del blanco (sin muestra)

N= Normalidad valorada del HCl

5= Factor de alícuota (FA)

$$FA = \text{Vol. total del producto de la digestión} \div \text{Vol. de la alícuota} \quad (8)$$

- g) *Carbohidratos totales (%)*. Esta técnica consistió en la extracción de los carbohidratos de la muestra de acuerdo con Whyte (1987) y su posterior cuantificación con el método de Dubois *et al.* (1956). En la extracción se utilizaron muestras liofilizadas de  $1 \pm 0.3$  mg, que se depositaron en tubos de ensayo, después se les añadió H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 M y se dejó actuar al ácido por un periodo de 24 h en refrigeración (4 °C), finalizado este tiempo se recuperó la solución de extracción junto con los lavados realizados con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 M a cada tubo, para completar un volumen de 2-3 ml con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 M. Después de aplicar ultrasonido, los tubos de ensayo se colocaron en baño maría a 100 °C por 15 min, posterior al baño se procedía a hacer una centrifugación y se recuperaba el sobrenadante, al cual se le aplicó fenol al 5 % y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado a una relación volumétrica de 1:1:5 (sobrenadante:fenol:ácido), esto se mezcló con vórtex y se dejó enfriar para finalmente leer su absorbancia a 485 nm en un espectrofotómetro de placa a un volumen de 200 µl. La curva de calibración se basó en glucosa anhidra. El resultado de la absorbancia indicó la concentración de carbohidratos por cada mililitro de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 M usado, este volumen se multiplicó por los mililitros usados y finalmente se calculó el porcentaje de carbohidratos en función de los gramos de la muestra.
- h) *Lípidos totales (%)*. Para el desarrollo de esta técnica, a las muestras liofilizadas de  $2 \pm 0.2$  mg primero se les extrajeron los lípidos con una mezcla de diclorometano:metanol (1:2 v/v) (Bligh y Dyer, 1959), después se aplicó ultrasonido y se incubaron por 24 h en refrigeración (4 °C), terminado este tiempo, se centrifugó y se recuperó el sobrenadante, este procedimiento se repitió una vez más para asegurar la extracción de todos los lípidos de la muestra, posteriormente se agregó agua destilada, se mezcló con vortex y se centrifugó para propiciar la separación entre los lípidos y el agua destilada, el agua destilada se desechó y los lípidos junto con el solvente se colocaron en una estufa a 45 °C hasta evaporar el solvente. A continuación, se agregó dicromato de potasio al 2 % y la solución se colocó a baño maría a 100 °C por 15 min, posteriormente se enfrió a temperatura ambiente y se procedió a agregar agua destilada, finalmente se tomaron 200 µl de esta solución y se leyó su absorbancia en un espectrofotómetro de placa a 590 nm (Pande *et al.*, 1963). Para este protocolo se usó tripalmitina como estándar de la curva de calibración. Los resultados de la absorbancia indicaron los miligramos de lípidos en la muestra y el porcentaje de lípidos se calculó de acuerdo con el peso de la muestra.

- i) *Carbono orgánico total (% COT) y Nitrógeno (% N) en peso húmedo.* Se analizó el contenido de Carbono Orgánico y Nitrógeno mediante el analizador elemental Vario EL cube. Este análisis consiste en la incineración a 1200 °C de una muestra de materia orgánica (0.8 mg de peso seco en este caso) envuelta en estaño, posteriormente se reducen los gases de la combustión por medio de una placa de cobre caliente. Los gases formados (CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>) quedan en una corriente de gas portador (He) y en un proceso de desorción térmica programada a diferentes temperaturas y tiempos se separan los gases (CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>) para que el gas portador los arrastre separando estas moléculas en distintos tiempos para hacerlas pasar a través de un detector de conductividad térmica. Se construye una gráfica en la que, a partir de la intensidad de la señal del detector y el tiempo de dicha señal, el área bajo la curva de cada pico corresponde a la cantidad de COT o N en moles de acuerdo con la curva de calibración. Los resultados en moles se convierten en gramos para después despejar el porcentaje de estos elementos con relación al peso de la muestra. La curva de calibración se basó en el contenido teórico de C y N de acuerdo con un peso conocido de un estándar puro (en este caso acetanilida) y su representación como áreas bajo la curva. Es importante aclarar que estos primeros resultados eran en base seca, pero como se requería la determinación del porcentaje en peso húmedo del contenido de estos elementos en el nejayote, se usó la siguiente fórmula:

$$\% EPH = \% PS \times (\% EPS \times 100) \quad (9)$$

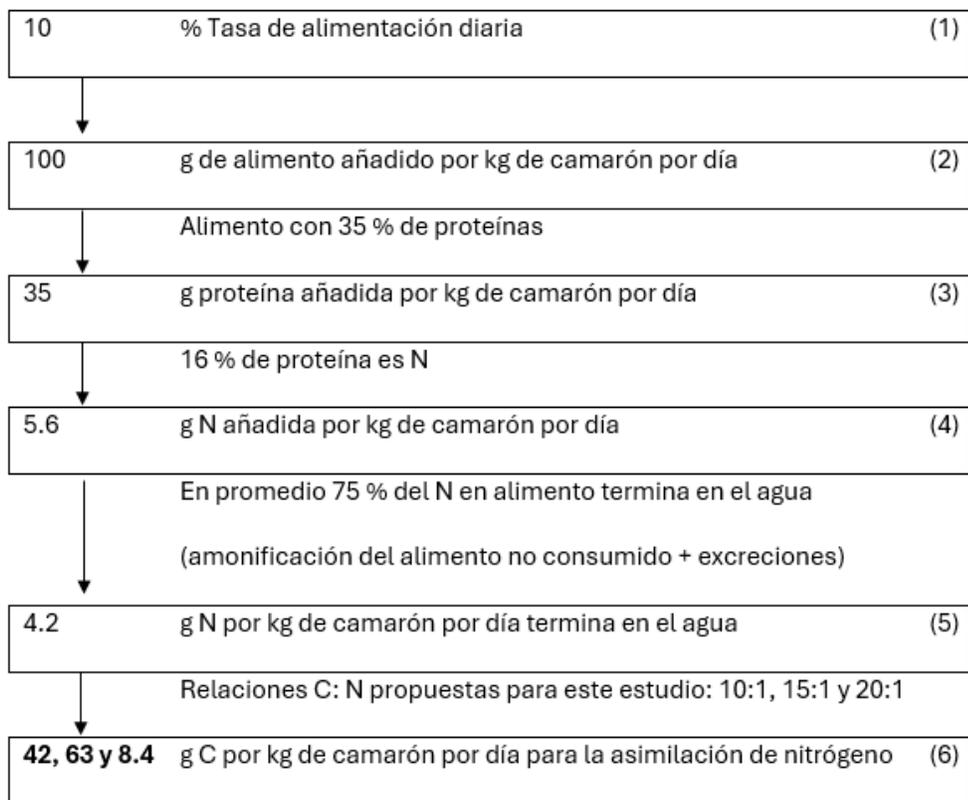
% EPH = El porcentaje del elemento (COT o N) en peso húmedo

% PS = El porcentaje del peso seco en el nejayote

% EPS = El porcentaje del elemento (COT o N) en base seca

## 2.8 Manejo de los tratamientos con Biofloc

A partir de la siembra de las PLs, diariamente, a las 15:00 horas, se añadía la cantidad de nejayote necesaria para obtener las relaciones C:N de 10:1, 15:1 y 20:1, como se muestra en el ejemplo de la Fig. 7. En el diagrama se ilustra el procedimiento de cálculo del nitrógeno residual que se produciría con una tasa de alimentación del 10 % del peso del camarón y con un alimento que contiene el 35 % de proteínas. Después de conocer la cantidad de N residual se calculó la cantidad de carbono necesario para el control del nitrógeno producido.



**Figura 7.** Ejemplo del procedimiento de cálculo para estimar la cantidad de carbono a añadir de acuerdo a la tasa de alimentación y a la relación C:N (modificada de De Schryver *et al.*, 2008).

Los gramos de N resultantes del punto 5 (Fig. 7) de este esquema se multiplicaron por 10, 15 o 20 para conocer el C que es necesario agregar de acuerdo a la relación C:N correspondiente a cada tratamiento. Posteriormente, el resultado del punto 6 del diagrama se multiplicó por la biomasa existente correspondiente a cada unidad experimental para obtener la cantidad el total de C (g) que se requería en cada una de las unidades experimentales en el día. Finalmente se calculó el porcentaje de C contenido en el peso húmedo del nejayote de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Requerimiento de la fuente de Carbono (g/día)} = (100 \% \times TCUE) \div \% CPH \quad (10)$$

TCUE = Total de gramos de Carbono requeridos por unidad experimental al día (punto 6)

% CPH = Porcentaje de Carbono contenido en el nejayote en peso húmedo (% EPH)

Después de conocer la cantidad de nejayote (g) requerida para cada UE, se tomó la cantidad necesaria de nejayote para toda la semana y se procedió a añadir HCl 1 M para reducir su pH. Después de añadir el

ácido, se reposó por un periodo de 10 a 20 min y en caso necesario se agregó más ácido hasta alcanzar un pH de  $8.2 \pm 0.3$ . Sólo una vez a la semana se realizaba este procedimiento y el nejayote con pH reducido se mantuvo en un refrigerador a 4 °C. Este proceso se repitió tres veces durante el experimento.

## 2.9 Calidad nutricional del Biofloc

Para conocer el valor nutricional del Biofloc, las últimas dos semanas del experimento se tomaron muestras de 20 ml de los flóculos de cada unidad experimental, se liofilizaron por 3 días y posteriormente se cuantificaron con los métodos anteriormente descritos los siguientes contenidos bioquímicos:

- a) Porcentaje de proteína cruda
- b) Porcentaje carbohidratos totales
- c) Porcentaje de lípidos totales

## 2.10 Parámetros de calidad del agua

**Sólidos suspendidos:** Se cuantificaron de acuerdo con el método descrito en Baird *et al.* (2017). De cada unidad experimental semanalmente se tomaron muestras de  $40 \pm 5$  ml de agua; la toma de muestra se hizo de la parte central de cada UE para asegurar una correcta representación de la calidad del agua. La muestra colectada de cada UE se filtró al vacío usando filtros de fibra de vidrio marca Whatman GF/C de 47 mm de diámetro y poro de  $1.2 \mu\text{m}$ , previamente incinerados a 550 °C ( $\geq 15$  min) y pre pesados. Posteriormente el vial portador del volumen de cada muestra era lavado con una solución de formiato de amonio al 3 % para recuperar toda la muestra y para eliminar las sales del agua de mar, también se lavaron las paredes del adaptador del filtro con este formiato. Después de filtrar la muestra, los filtros se recuperaron con la ayuda de un fórceps (sin tocar la parte que retenía muestra) y se colocaron en navcillas de aluminio inertes, secas y limpias. Posteriormente estas navcillas (+filtros) se metieron en un horno donde se secaron a 103-105 °C ( $\geq 1$  h), una vez secas, las muestras se enfriaron en un desecador y se pesaron únicamente los filtros. A continuación, los filtros se colocaron nuevamente en las navcillas de aluminio y se procedió a incinerarlos en una mufla a 550 °C por  $\geq 45$  min, después se enfriaron en un desecador y nuevamente se pesaron. Posteriormente se aplicaron las siguientes fórmulas:

- Sólidos suspendidos totales

$$SST \text{ (mg/l)} = [(A - C) \times 1000] \div \text{Volumende la muestra [ml]} \quad (11)$$

- Sólidos suspendidos volátiles

$$SSV \text{ (mg/l)} = [(A - B) \times 1000] \div \text{Volumende la muestra [ml]} \quad (12)$$

- Sólidos suspendidos fijos

$$SSF \text{ (mg/l)} = [(B - C) \times 1000] \div \text{Volúmen de la muestra [ml]} \quad (13)$$

A= Peso del filtro + material filtrado secado a 103-105 °C en mg.

B= Peso del filtro + material filtrado incinerado a 550 °C en mg.

C= Peso del filtro en mg.

**Sólidos sedimentables:** Esta medición se realizó cada semana en conos Imhoff, que se llenaron con una muestra de 1 l del agua de las UE (con el agua en movimiento por efecto de la aireación) y al término de 45 min de reposo, se agitaba gentilmente la muestra con movimientos circulares y se dejaba reposar otros 15 min para finalmente tomar la lectura del volumen de sólidos sedimentados (SS) en ml/l (Baird *et al.*, 2017).

Por otro lado, diariamente, mediante un analizador multiparámetro (YSI modelo 85) y un potenciómetro marca Thermo Orion modelo 290A+ se midieron respectivamente los siguientes parámetros:

**-Temperatura (°C)**

**-Salinidad (g/l)**

**-Oxígeno disuelto (mg/l)**

**-pH**

**Alcalinidad:** Semanalmente se cuantificó la alcalinidad de una muestra de agua de cada UE por titulación de acuerdo con la técnica correspondiente descrita en Baird *et al.* (2017). Se tomaron muestras de 250 ml y se les añadió el indicador verde-bromocresol y rojo de metilo. La solución se mezcló con un agitador magnético y con una bureta se agregó lentamente una solución de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 0.02 N, hasta que se observó un cambio de color, en ese momento se detuvo la adición de ácido y se registró la cantidad de ácido vertida, para posteriormente calcular la alcalinidad mediante la siguiente fórmula:

$$ALK \text{ (mg/l [CaCO}_3\text{])} = (A \times N \times 50,000) \div \text{Volumen de la muestra [ml]} \quad (24)$$

A= ml vertidos de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hasta virar de color

N= Normalidad del ácido

**Nitrógeno inorgánico:** Diariamente se cuantificó el nitrógeno amoniacal total (NAT) con la técnica de Solorzano (1969) descrita en Baird *et al.* (2017). Esta técnica consiste en la cuantificación espectrofotométrica de la concentración de N amoniacal en la forma de azul de indofenol a 640 nm, trabajando con un volumen total (muestra + reactivos) de 236 µl vertidos en una microplaca. El NAT hace referencia a la suma de las especies del nitrógeno en la forma de amonio y amoniaco. El fundamento de esta técnica es que la parte de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) existente en el agua se convierte en NH<sub>3</sub> en un medio alcalino, de esta manera se cuantifica todo el nitrógeno amoniacal como NH<sub>3</sub>, por lo que el resultado se expresa como la concentración de NAT (N-NH<sub>3</sub> + N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Se utilizó NH<sub>4</sub>Cl como estándar. Para cuantificar la concentración de N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en el agua, se utilizó la técnica que se basa en la reacción colorimétrica de Griess (Tsikas, 2005), la cual consiste primeramente en una reacción de diazotización de los nitritos junto con sulfanilamida en presencia de HCl concentrado y posteriormente en el desarrollo de un cromóforo (muy rosado) al agregar N-(1-naftil)-etilendiamina diclorhidrato, para finalmente cuantificar la concentración de nitritos en un espectrofotómetro a 540 nm. En esta técnica se trabajó con un volumen total de 270 µl (muestra + reactivos) en una microplaca. Se utilizó NaNO<sub>2</sub> como estándar. Es importante mencionar que, como preparativo para estas dos técnicas, las muestras de agua de las UE se centrifugaron y se trabajó con los sobrenadantes.

## 2.11 Cuantificación de las variables productivas de *P. vannamei*

Para evaluar la productividad del cultivo, semanalmente se realizaron biometrías del peso húmedo

promedio de todos los organismos de cada una de las unidades experimentales, esto ayudaba a calcular el peso ganado, la tasa de crecimiento específico y la supervivencia. Y al final del experimento se evaluó el factor de conversión alimenticia.

- Peso ganado:

$$\text{Peso ganado (g)} = \text{peso final [g]} - \text{peso inicial [g]} \quad (15)$$

- Tasa de crecimiento específico (TCE):

$$TCE = 100 (\ln \text{ peso final [g]} - \ln \text{ peso inicial [g]}) \div \text{Días de cultivo} \quad (16)$$

- Supervivencia:

$$\% \text{ Supervivencia} = 100 (\# \text{ organismos final} \div \# \text{ organismos inicial}) \quad (17)$$

- Factor de conversión alimenticia (FCA):

$$FCA = \text{alimento suministrado en el periodo} \div \text{peso ganado del periodo} \quad (18)$$

## 2.12 Análisis estadístico

La estadística descriptiva de los datos se hizo con Excel 2020. Todos los análisis estadísticos inferenciales se llevaron a cabo con el software estadístico SPSS Statistics para Windows, Version 27.0. Armonk, NY: IBM Corp. Se usaron pruebas para corroborar los supuestos de homocedasticidad y normalidad (Levene y Shapiro-Wilk respectivamente). Y se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para el análisis nutricional de los flóculos, la supervivencia, ganancia de peso, tasa de crecimiento específica y el factor de conversión alimenticia y en caso de diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) se usó la prueba post hoc de Games-Howell. Y para los sólidos suspendidos totales, sólidos suspendidos volátiles, sólidos suspendidos fijos, sólidos sedimentables, NAT,  $\text{N-NO}_2^-$  y alcalinidad se aplicó el ANOVA de medidas repetidas, previa confirmación de la normalidad de los datos con la prueba de Shapiro-Wilk, en caso de diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) se utilizó la prueba post hoc de Tukey. Se empleó la prueba de ANOVA de medidas repetidas debido a que las medidas a través del tiempo fueron del mismo sujeto experimental (UE), haciendo de esto una dependencia intra-sujetos (Zar, 2010).

## Capítulo 3. Resultados

### 3.1 Caracterización del nejayote

Tabla 5. Caracterización y contenido del nejayote.

Propiedades evaluadas	Resultado
pH	12.10
Peso seco	31.50 g/l
Materia orgánica	23,037 ±99 mg/l
Cenizas	8,440 ±108 mg/l
Densidad	1,016.12 g/l
% Peso seco	3.10 %
% Humedad	96.90 %
% Proteína cruda (b.s.)	8.73 ±0.18%
% Carbohidratos totales (b.s.)	56.91 ±3.99 %
% Lípidos totales (b.s.)	1.39 ±0.33%
% COT en peso húmedo	1.10 ±0.01%
% Nitrógeno en peso húmedo	0.03 ±0.02%
Relación C:N	36.66:1

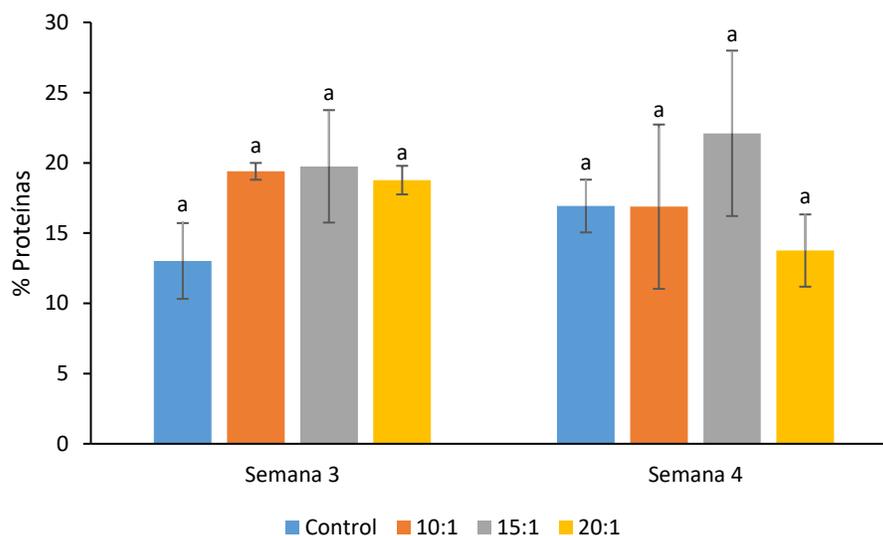
Valores mostrados: Medias ±desviación estándar. Base seca (b.s.). COT: carbono orgánico total.

En la Tabla 5 se muestran las propiedades y componentes del nejayote. Se muestran el peso seco, la materia orgánica y las cenizas como resultado del análisis de los tres distintos tipos de sólidos totales. Sin embargo, para facilitar el contraste entre estos tres, también se pueden presentar como porcentajes, siendo el peso seco el 100 %, la materia orgánica el 73.13 % y las cenizas el 26.80 %. Reflejando así que casi tres cuartas partes del peso seco del nejayote fue materia orgánica y más de una cuarta parte, fueron cenizas o minerales, resultantes de la cal usada en la nixtamalización. Otro punto que resalta de estos resultados es el alto contenido de carbohidratos totales en base seca (b.s.) contrastado con el porcentaje de lípidos totales y proteínas, que, a comparación de estos, los carbohidratos son una fuente de carbono orgánica con mayor biodisponibilidad, ya que las proteínas y las grasas son macromoléculas más complejas

y requieren rutas más elaboradas para su descomposición lo que implica un proceso más lento y energéticamente costoso. Por último, se presentan los resultados del contenido porcentual de COT y N en peso húmedo, sin embargo, en peso seco el contenido porcentual de COT y N fue de 35.76 y 0.97 % respectivamente o 11,264 mg/l de COT y 306 mg/l de N. Siendo fútil el contenido porcentual de N en peso húmedo, por lo cual no se consideró el N al formular las relaciones C:N de los tratamientos.

## 3.2 Calidad nutricional del Biofloc

### 3.2.1 Proteína cruda

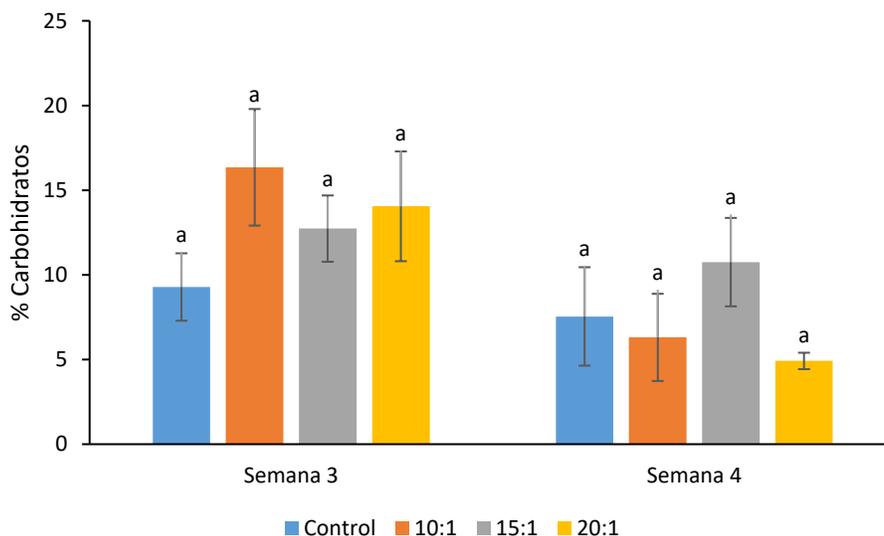


**Figura 8.** Contenido de proteínas en los flóculos de los cuatro tratamientos. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos por cada semana de acuerdo con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

A continuación, se muestran el contenido porcentual de proteínas de los flóculos en base seca (Fig. 8). Pero antes de continuar, conviene aclarar que únicamente se muestran resultados de dos semanas, ya que al principio del experimento se prospectó que el bioensayo duraría nueve semanas y se obtendrían muestras de siete semanas para el análisis de proteína cruda, lípidos y carbohidratos totales, sin embargo, esto no fue posible debido a la incidencia de enfermedades. Y de las primeras dos semanas no se tomaron muestras debido a que se esperaba que después de un periodo mínimo de dos semanas las dinámicas poblacionales de la biomasa microbiana empezarían a estabilizarse debido al cambio de fuente de carbono

adicional (azúcar) que se suministraba en la etapa de maternidad y que luego se cambió al nejayote. Por ello se consideran insuficientes los datos para interpretar adecuadamente la variación en las características nutricionales de los flóculos. Los resultados de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis indican que tanto para la tercera como para la cuarta semana no hubo diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre tratamientos en su porcentaje de proteínas de los flóculos (Fig. 8). Lo cual se puede interpretar como que la relación C:N y la aplicación de nejayote no influyeron en el contenido de proteínas de los flóculos. Un punto que resaltar de estas dos gráficas es la falta de consistencia o de tendencias entre semanas, ya que para los cuatro tratamientos el contenido promedio de proteínas varió de una semana a otra. Al lograr contenidos promedio de proteína más altos que los presentes en el nejayote (8.73 %), estos resultados indican que las bacterias fueron eficientes en el uso de las fuentes de nitrógeno orgánico (proteínas del nejayote y alimento de los camarones) y del inorgánico (amonio, nitritos y nitratos) para construir sus proteínas.

### 3.2.2 Carbohidratos totales

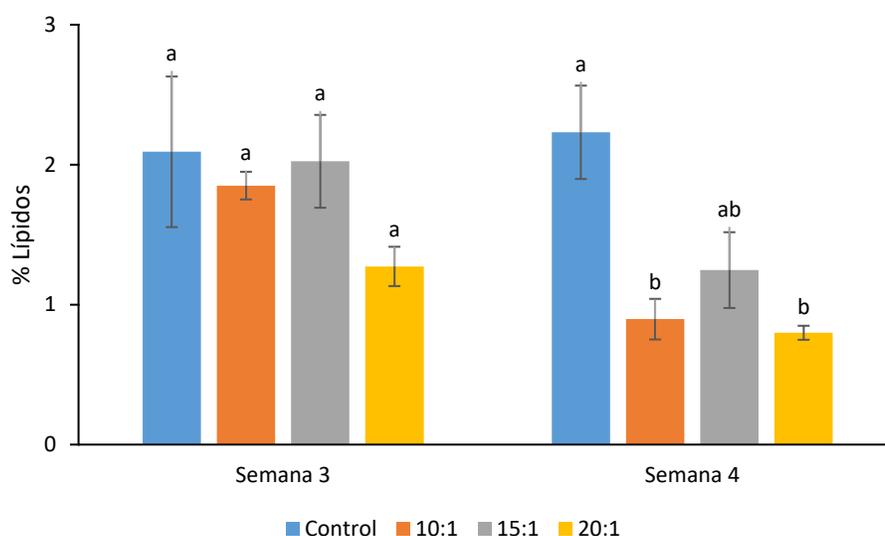


**Figura 9.** Contenido de carbohidratos en los flóculos de los cuatro tratamientos. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos por cada semana de acuerdo con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

De acuerdo con el estadístico de Kruskal-Wallis, el contenido de carbohidratos totales (Fig. 9) no fue afectado por la relación C:N ni por el uso de nejayote, ya que no hubo diferencias significativas ( $p > 0.05$ )

entre tratamientos tanto para la semana tres como para la cuatro. Sin embargo, de acuerdo con las gráficas, comparado con la semana tres, en la semana cuatro se presentó una disminución en el contenido de carbohidratos totales para los cuatro tratamientos. Y se podría decir que el contenido de carbohidratos del tratamiento control se mantuvo menos variable, de lo que se infiere, por una parte, que posiblemente ocurrió una inhibición en la síntesis de algún tipo de carbohidrato por parte de las comunidades microbianas que recibían nejayote, y por otra, que las comunidades bacterianas consumían en mayor medida los carbohidratos presentes en los flóculos.

### 3.2.3 Lípidos totales



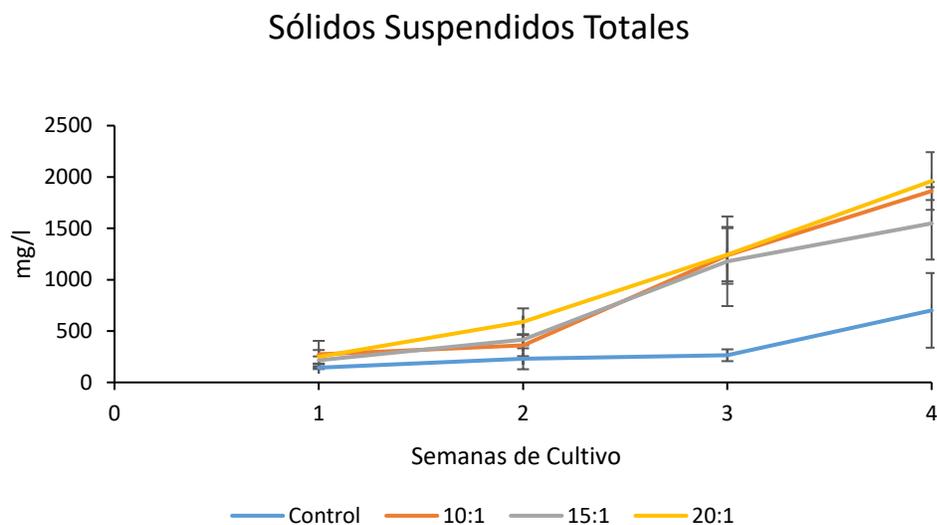
**Figura 10.** Contenido de lípidos en los flóculos de los cuatro tratamientos. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos por cada semana de acuerdo con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

En la Fig. 10, se muestra el contenido de lípidos. Con base en la prueba estadística, para la tercera semana no hubo diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) pero para la cuarta sí ( $p < 0.05$ ). De acuerdo con esto, para la tercera semana el uso de nejayote y las distintas relaciones C:N no afectaron el contenido de lípidos de los flóculos. Sin embargo, para la cuarta semana, el uso de nejayote sí afectó el contenido de lípidos en los flóculos, lo cual indica que en la semana cuatro posiblemente ocurrió un efecto inhibitorio sobre la síntesis de lípidos totales o un mayor consumo de estos por parte de las comunidades bacterianas como lo ocurrido con los carbohidratos en los tratamientos donde se suministró nejayote. También se aprecia que

para ambas semanas el contenido promedio de lípidos para el tratamiento control no tuvo gran variación, por lo que se podría pensar que en general algún factor presente en los tratamientos con nejayote está repercutiendo el contenido de lípidos totales en los flóculos.

### 3.3 Sólidos suspendidos totales

La acumulación de sólidos suspendidos totales (SST) en cada tratamiento se muestra en la Fig. 11. En los tratamientos con nejayote se observó un mayor incremento semanal en la concentración de los SST, apreciándose desde la semana dos hasta el final del experimento. En cambio, el tratamiento control sin nejayote, se comportó más conservador en el incremento de SST, ya que únicamente presentó un incremento notable hasta la última semana. El análisis estadístico ANOVA de medidas repetidas resultó en diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) siendo el tratamiento control el que se diferenció del resto.

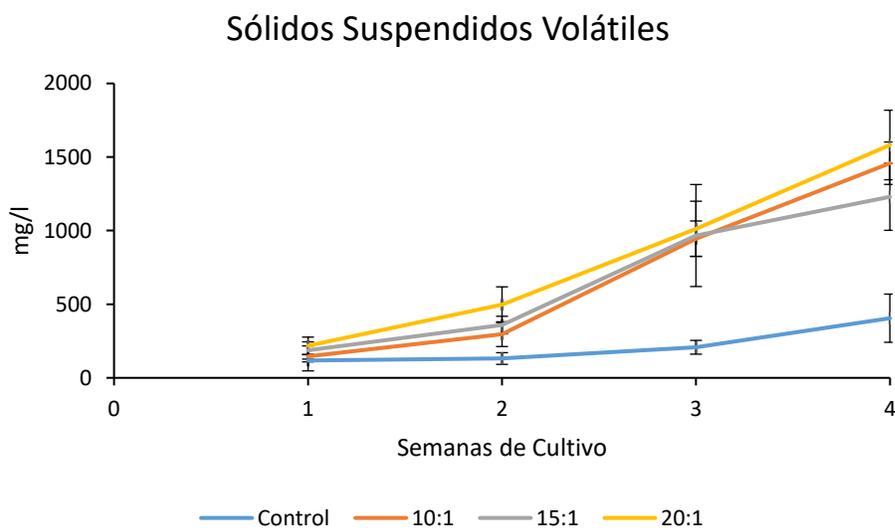


**Figura 11.** Concentración promedio semanal de sólidos suspendidos totales en el agua de cultivo en los cuatro tratamientos por un periodo de 28 días. Líneas verticales representan la desviación estándar.

### 3.4 Sólidos suspendidos volátiles

El contenido de materia orgánica de los sólidos suspendidos en cada tratamiento se muestra en la Fig. 12. De acuerdo con los resultados de la prueba ANOVA de medidas repetidas, se observaron diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ), siendo el tratamiento control el que tuvo diferencias

significativas con respecto al resto de los tratamientos. Desde la segunda semana se observa un incremento sostenido en todos los tratamientos, siendo más notable en los tratamientos que recibían nejayote. Y como ocurrió con los SST, el tratamiento control presentó menores incrementos. Comparado con el control el tratamiento de la relación 20:1 en la última semana presentó hasta cuatro veces más materia orgánica suspendida.

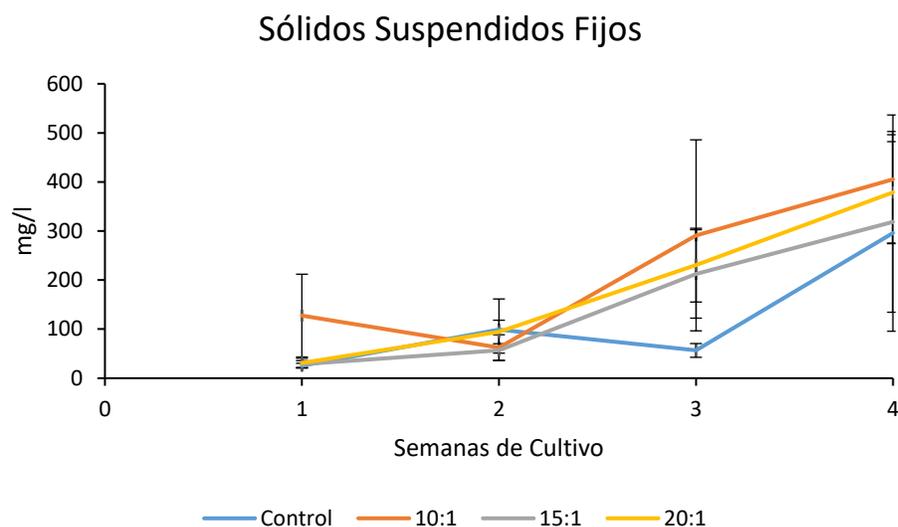


**Figura 12.** Concentración promedio semanal de sólidos suspendidos volátiles en el agua de cultivo en los cuatro tratamientos por un periodo de 28 días. Líneas verticales representan la desviación estándar.

### 3.5 Sólidos suspendidos fijos

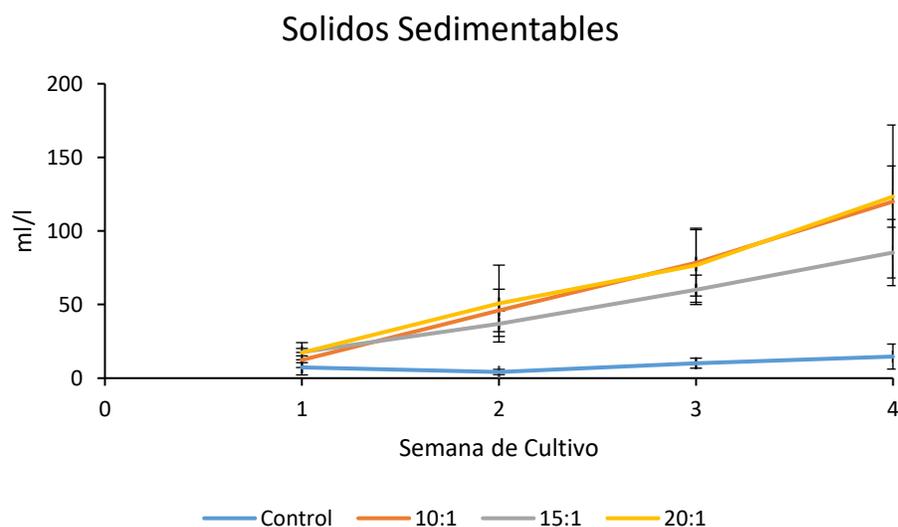
Respecto a los SSF (Fig. 13), o las cenizas de los sólidos suspendidos, los resultados de la prueba ANOVA de medidas repetidas indicaron que no se tuvieron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos. De acuerdo con esto, parece ser que la aplicación de nejayote o las diferentes relaciones C:N no tuvieron un mayor efecto en la fracción de materia inorgánica de los sólidos suspendidos, dicho de otra manera, los resultados indican que sí hubo un incremento en la concentración a través del tiempo, pero no una diferenciación entre tratamientos.

Un hecho que es necesario considerar es que, comparado con la materia orgánica suspendida, la fracción mineral (cenizas) fue por mucho la fracción más pequeña de los sólidos suspendidos en los tratamientos con nejayote, pero en los sólidos suspendidos del tratamiento control, la fracción mineral no fue tan menor que la orgánica.



**Figura 13.** Concentración promedio semanal de sólidos suspendidos fijos en el agua de cultivo en los cuatro tratamientos por un periodo de 28 días. Líneas verticales representan la desviación estándar.

### 3.6 Sólidos sedimentables



**Figura 14.** Volumen promedio semanal de sólidos sedimentables en el agua de cultivo en los cuatro tratamientos por un periodo de 28 días. Líneas verticales representan la desviación estándar.

Las mediciones del volumen de flóculos (sólidos sedimentables) (Fig. 14), mostraron que en todo el

periodo del experimento no ocurrió un gran aumento en el tratamiento sin nejayote. Con respecto al análisis estadístico, sí hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos en el transcurso del tiempo, principalmente a favor del tratamiento control. Y los tratamientos con nejayote a diferentes relaciones C:N no tuvieron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre ellos.

En general se puede interpretar que se presentó una gran acumulación de flóculos en los tratamientos con nejayote a medida que avanzaba el experimento, llegando a volúmenes promedio de 123 ml/l de SS en la última semana para el tratamiento de la relación 20:1. En contraste, los volúmenes promedio del tratamiento control en ningún momento sobrepasaron los 20 ml/l de SS.

### 3.7 Temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y pH

**Tabla 6.** Resultados de las mediciones fisicoquímicas del agua de cultivo en los cuatro tratamientos por un periodo de 28 días.

Tratamiento	Temperatura	Salinidad	Oxígeno disuelto	pH
	°C	g/l	mg/l	
<b>Control</b>	27.65 ±0.63	34.02 ±2.46	5.68 ±0.24	8.41 ±0.07
<b>10:1</b>	28.15 ±0.70	32.67 ±2.21	5.35 ±0.26	8.57 ±0.10
<b>15:1</b>	28.10 ±0.72	33.60 ±1.69	5.30 ±0.26	8.62 ±0.12
<b>20:1</b>	28.24 ±0.73	32.87 ±1.99	5.27 ±0.26	8.57 ±0.15

Valores mostrados: Medía ±desviación estándar.

La Tabla 6 muestra los valores promedio y las desviaciones estándar de los parámetros en los que se mantuvieron las UE de cada tratamiento. Para el caso de la temperatura, el promedio más bajo fue 26.27 °C para las UE del tratamiento control y el mayor fue de 28.97 °C en las UE en los tratamientos de las relaciones 10:1 y 20:1.

En el caso de la salinidad, siempre se procuró mantenerla a 32 g/l. Sin embargo, el efecto de aireación contribuyó a la evaporación de cierta cantidad de agua (normalmente un litro cada 2-3 días) lo que llevó a presentar salinidades de hasta 37.27 g/l en el tratamiento control.

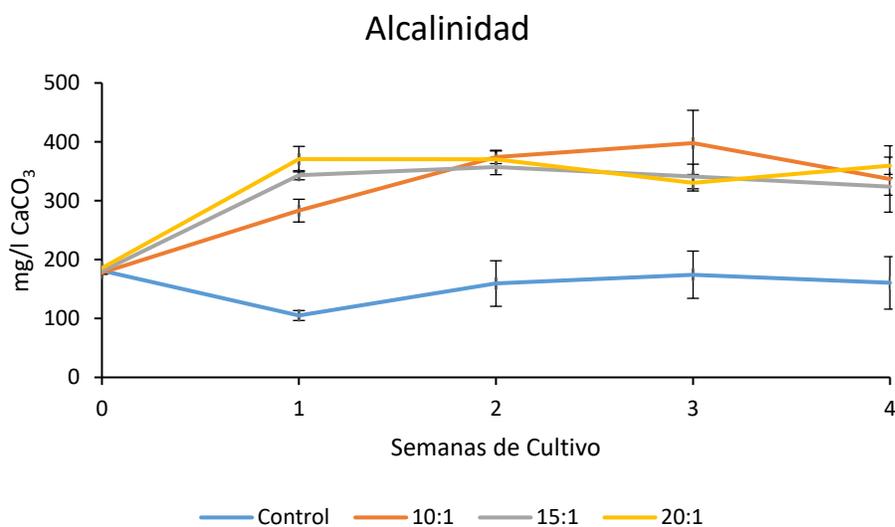
Las medidas de OD tuvieron menores variaciones gracias al control del flujo de aire por medio de los rotámetros. Sin embargo, aunque todos se dispusieron para suministrar 283.16 l/h algunas UE presentaron

medidas de OD de hasta 6.16 (tratamiento control). Y respecto a las medidas de pH, las que correspondían al tratamiento control fueron las que presentaron valores y variaciones menores, contrario a lo ocurrido con el tratamiento 15:1 que presentó un pH de 8.62, el más alto entre tratamientos.

### 3.8 Alcalinidad

De acuerdo con los resultados de la prueba ANOVA de medidas repetidas realizada a los datos de la alcalinidad (Fig. 15), sí se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos. Siendo el tratamiento control el que se diferenció del resto a través del tiempo debido a que resultó con menor concentración de alcalinidad. El tratamiento control no presentó gran variación entre las medidas de alcalinidad iniciales y posteriores, puesto que para este tratamiento se suministraron 1.3 g de bicarbonato de sodio semanalmente para reponer la alcalinidad. El tratamiento control fue el único que recibió una reposición de alcalinidad semanal.

Por otra parte, los tratamientos que recibían nejayote tuvieron un incremento en la primera semana, para posteriormente mantenerse relativamente estables hasta el final del experimento. Los valores promedio más altos de alcalinidad fueron de 397.9 mg/l de  $\text{CaCO}_3$  en la semana tres del tratamiento 10:1 y el menor valor promedio fue en la semana uno del tratamiento control con 105 mg/l de  $\text{CaCO}_3$ .

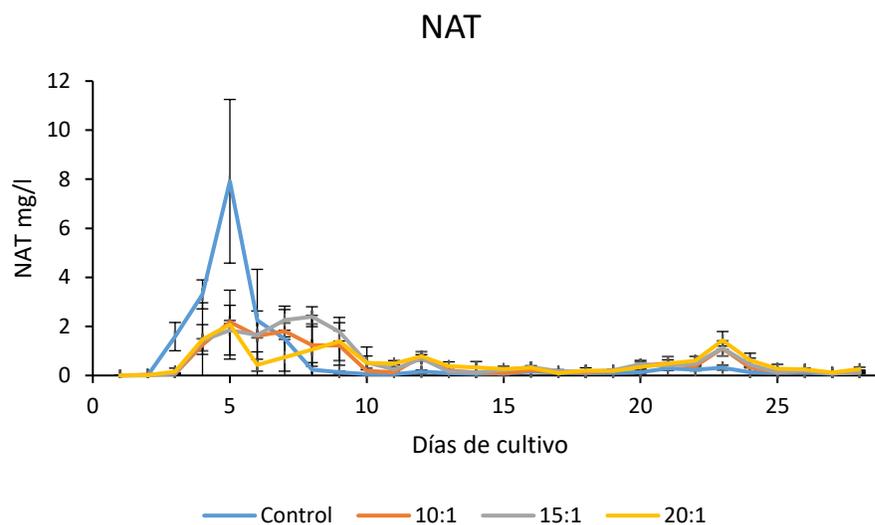


**Figura 15.** Concentraciones promedio de la alcalinidad en mg/l de  $\text{CaCO}_3$  en el agua de cultivo en los cuatro tratamientos por un periodo de 28 días. Líneas verticales representan la desviación estándar.

### 3.9 NAT

En los primeros 9 días de cultivo (Fig. 16) las medidas de NAT presentaron altas concentraciones con promedios de hasta 7.92 mg/l de NAT en el día cinco del tratamiento control, 2.17 mg/l de NAT en el día cinco del tratamiento 10:1, 2.4 mg/l de NAT en el día ocho del tratamiento 15:1 y 2.07 mg/l de NAT en el día cinco para el tratamiento 20:1. Posteriormente y hasta el final del experimento, las concentraciones promedio no superaron los 2 mg/l de NAT.

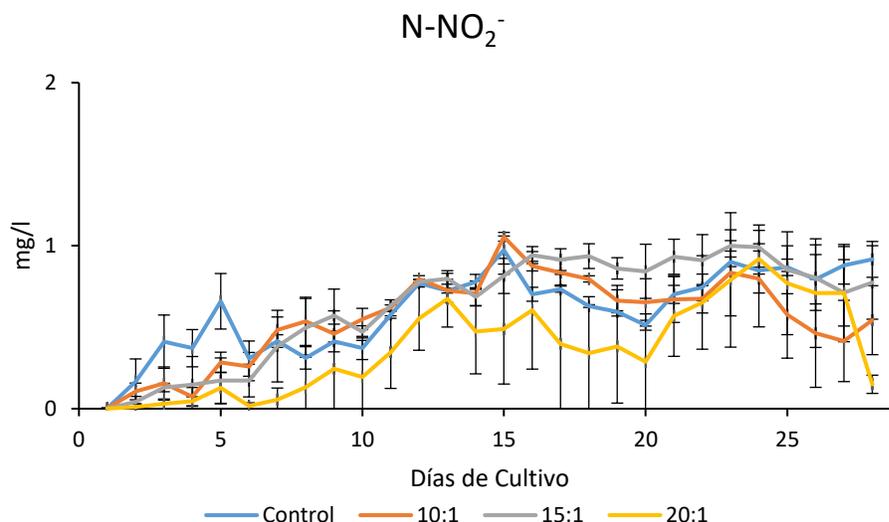
La prueba ANOVA de medidas repetidas indicó que no se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos a lo largo del tiempo.



**Figura 16.** Concentraciones promedio del nitrógeno amoniacal total (NAT) en el agua de cultivo en los cuatro tratamientos por un periodo de 28 días. Líneas verticales representan la desviación estándar.

### 3.10 Nitritos

Para el caso de las concentraciones de nitrógeno en forma de nitritos, el ANOVA de medidas repetidas indicó que no hubo diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos a lo largo del tiempo. Las concentraciones de  $\text{N-NO}_2^-$  presentaron un crecimiento sostenido hasta los 15 días, posteriormente y hasta el último día de cultivo (Fig. 17), los valores promedio de los cuatro tratamientos no superaron 1 mg/l de  $\text{N-NO}_2^-$ .



**Figura 17.** Concentraciones promedio del nitrógeno en forma de nitritos (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) en el agua de cultivo en los cuatro tratamientos por un periodo de 28 días. Líneas verticales representan la desviación estándar.

### 3.11 Variables productivas

**Tabla 7.** Resultados de las variables de productividad del cultivo de *Penaeus vannamei* en los cuatro tratamientos por un periodo de 28 días.

Tratamiento	Ganancia de peso (g)	Supervivencia (%)	Tasa de crecimiento específico	Factor de conversión alimenticia
<b>Control</b>	0.54a ±0.09	78.39a ±12.05	2.02a ±0.23	80.61a ±9.35
<b>10:1</b>	0.93a ±0.28	16.67b ±17.98	2.48a ±0.53	68.76a ±20.87
<b>15:1</b>	0.48a ±0.38	16.67b ±17.98	1.40a ±0.96	128.95a ±97.54
<b>20:1</b>	0.65a ±0.15	45.24ab ±39.34	1.94a ±0.34	81.20a ±12.23

Valor promedio de las tres réplicas ± desviación estándar. Letras distintas en columnas representan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) de acuerdo con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

En esta sección es preciso mencionar que, a través del periodo experimental, e incluso en el periodo de maternidad, se presentaron eventos súbitos de mortalidad, los cuales consistieron en la muerte de un gran número de organismos por estanque o UE de un día al siguiente. Naturalmente esto llamó la atención y por ello se realizaron pruebas de ADN para la identificación de patógenos de camarones, dichas pruebas se realizaron en el laboratorio de Sanidad y Patología del Departamento de Acuicultura del CICESE. Los

resultados de esta prueba identificaron la presencia del virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa y de *Vibrio parahaemolyticus* causante de la Necrosis Aguda del hepatopáncreas. Sin embargo, por cuestiones de tiempo y de recursos se tuvo que continuar el experimento aún en estas condiciones. Lo anterior, hizo que posiblemente los resultados de la productividad se vieran afectados tanto por la incidencia de estos patógenos como por los tratamientos. Este es el motivo por el que se dio por terminado el experimento a tan solo cuatro semanas, ya que para la quinta semana solamente sobrevivían un promedio de 76 % de camarones de las tres réplicas del tratamiento control mientras que para los otros tres tratamientos ninguna de sus réplicas tuvo sobrevivencias. Lo cual infiere que, a pesar de la presencia de los patógenos, la mortalidad también obedeció a otras variables de índole ambiental que únicamente concernían a las UE que recibieron nejayote.

En la Tabla 7 se muestran la ganancia de peso, el porcentaje de supervivencia, la tasa de crecimiento específico y el factor de conversión alimenticia de cada tratamiento. Para la ganancia de peso, la tasa de crecimiento específico y el factor de conversión alimenticia, la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis indicó que no hubo diferencias significativas entre tratamientos. Sin embargo, para el porcentaje de supervivencia sí se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), ya que el tratamiento control presentó la mayor supervivencia promedio, siendo significativamente mayor que las obtenidas en los tratamientos 10:1 y 15:1, pero no así con el tratamiento 20:1.

## Capítulo 4. Discusión

---

### 4.1 Caracterización del nejayote

Este estudio exploró por primera vez el uso del nejayote, un residuo que se considera como un contaminante de alta relevancia ambiental en México, como fuente de carbono orgánico en el desarrollo de un sistema Biofloc para el cultivo de *P. vannamei*. Por tal motivo, primeramente, se tuvo que analizar el contenido de carbono orgánico y así poder hacer los cálculos de cuanto nejayote era necesario agregar a las UE de acuerdo con los gramos de carbono requeridos (según la Fig. 7). Los resultados de la concentración de carbono orgánico total del nejayote utilizado en este trabajo (11,264 mg/l) son mayores a las reportadas en otras investigaciones: 2,785 mg/l (Castro-Muñoz *et al.*, 2015) y 2,984 mg/l (Tabla 2). Sin embargo, comparado con otras fuentes de carbono, el 1.1 % de contenido de carbono en peso húmedo del nejayote parece bastante pobre en comparación con el 33.65 % en la melaza (Collazos-Lasso, *et al.*, 2022), el 42 % en la azúcar pura, el 46.52 % en el salvado de arroz (Hou *et al.*, 2019) y el 36.92 % en el salvado de trigo (Zhou *et al.*, 2018). Esto sería diferente si el nejayote se hubiera aplicado en base seca, porque de esta manera entregaría 35.76 g de C por cada 100 g, en la práctica esta comparación no es realista, ya que el nejayote se aplicó en base húmeda, por lo cual está en desventaja con las fuentes de C antes mencionadas con nulo o bajo contenido de agua y que son aplicadas sin un procesamiento adicional. En el caso de usar al nejayote en forma seca, implicaría aumentar los costos por su procesamiento para eliminar el agua. Es así como la aplicación de nejayote en base húmeda da como resultado que, para suministrar los requerimientos de carbono en un estanque con TB, se deben agregar volúmenes mayores, comparado con las otras fuentes de carbono antes mencionadas. Esta adición de un volumen importante de nejayote influiría directamente en el volumen total de los estanques de cultivo. De hecho, esta idea se refuerza al comparar la densidad del nejayote con la densidad de la melaza que es otro residuo agroindustrial semi acuoso bastante usado en sistemas Biofloc. La densidad del nejayote fue de 1.01 kg/l, que es prácticamente igual a la reportada por Valderrama-Bravo *et al.* (2012) (1,003.54 kg/m<sup>3</sup>) y Rosentrater *et al.* (2006) (1,047.32 kg/m<sup>3</sup>). En contraste, la melaza que tiene una densidad de 1.36 kg/l (Acosta-Piantini *et al.*, 2023) y 1.40 kg/l (Hassan *et al.*, 2019) por lo tanto tiene un mayor contenido de C por cada litro en comparación con el nejayote. Pero para denotar aún más las diferencias entre la cantidad de nejayote y melaza que se podrían usar en un cultivo, se tiene el siguiente ejemplo: Para un tanque con una biomasa de 14.9 kg (828 camarones/m<sup>2</sup> con un peso promedio de 18 g), 35 % de proteína en el alimento, una tasa de alimentación del 2.5 %, una relación C:N de 10:1 y siguiendo el procedimiento de

cálculo de la Fig. 7, se tiene que se usarían 14.22 kg de nejayote o 465 g de melaza o lo que es lo mismo, 14.1 l de nejayote o 0.33 l de melaza diariamente. Esto sin duda es una desventaja volumétrica, que se agravaría en el caso de usar nejayote con concentraciones menores de COT, que, de acuerdo con los datos anteriores, es muy probable que ocurra. En este mismo ejemplo, si se calculan los sólidos totales añadidos en cada situación y considerando que la melaza tiene un 81 % de ST (Sjölin *et al.*, 2019) y el nejayote un 3.1 % (Tabla 5) resulta que se estarían añadiendo 441 g de sólidos totales con el nejayote y solo 376.7 g de sólidos totales con la melaza. Según este análisis, se puede decir que el nejayote presenta la desventaja de aumentar el volumen de las unidades de cultivo y además puede añadir hasta un 17 % más de sólidos totales al agua (comparado con la melaza), esto último infiere una mayor acumulación de SST los cuales pueden afectar el desempeño productivo de *P. vannamei* (Gaona *et al.*, 2015), sin embargo, como más adelante se discute, el aumento de SST (Fig. 11) en el agua de cultivo de los tratamientos con nejayote, parece corresponder más al crecimiento de la biomasa bacteriana heterotrófica respondiendo a una mayor disponibilidad de C orgánico, que al suministro de ST por parte del nejayote, ya que en los tratamientos con nejayote, la fracción orgánica (SSV) de los SST presentó semanalmente importantes incrementos en sus concentraciones a diferencia de la fracción inorgánica (SSF) de los SST, que de hecho no logró diferencias significativas con el tratamiento control. Por otra parte, una posible solución al problema del aumento del volumen por uso del nejayote como fuente de carbono, sería previamente retirar de los tanques el volumen equivalente de nejayote que se verterá, lo que sería como un recambio de agua. Sin embargo, la constante adición de nejayote llevaría a que, en cierto punto, el agua de cultivo fuera puramente agua de nejayote, resultando con efectos negativos en la salinidad, sólidos, equilibrio iónico, pH, alcalinidad, etc. Pero se podrían contrarrestar estos efectos al neutralizar adecuadamente el pH del nejayote y aplicando medidas para el control de los sólidos y mantenimiento de una adecuada salinidad y equilibrio iónico.

Continuando con los resultados del análisis del nejayote, el valor del pH (Tabla 5) se encontró dentro de lo esperado (Tabla 2) para este residuo agroindustrial. Esto incidió en el volumen del agente acidificante (HCl 1 M) necesario para disminuir el pH al nivel requerido. Es preciso mencionar que cuando el ácido se adicionó al nejayote, se tuvo que esperar entre 1-2 horas para que se lograra una aparente estabilización del pH, ya que al momento de mezclar nejayote con el HCl 1 M se bajaba abruptamente el pH y tras 10-20 min volvía a subir, por ello, nuevamente se agregaba ácido y este procedimiento se repetía 3 veces en total, hasta que el pH se estabilizara. Este proceso aumentó el volumen final (nejayote+HCl) de la fuente de carbono, ya que si se hubiera usado HCl puro se hubiera evitado agregar volúmenes innecesarios a las UE. De todo esto es necesario traer a consideración cuatro cosas, el costo del agente acidificante, su uso adecuado para evitar accidentes, el periodo de pH variable que a su vez hace necesaria una mezcla

continua y el volumen final agregado a las UE. Sin embargo, el uso de un agente acidificante no es totalmente necesario, pues también se pudo haber usado agua potable o marina para disminuir el pH del nejayote, aunque esta opción aumentaría mucho más los volúmenes finales. Otra opción, sería usar como fuente de alcalinidad al nejayote a cierto pH, porque en los cultivos con Biofloc (no fotoautótrofos), si no se proporciona una fuente de alcalinidad, el pH de los estanques disminuye y sólo en estos casos, la aplicación del nejayote con pH alcalino contribuye a neutralizar la acidez del medio. Pero esto se debe considerar en forma cuidadosa, ya que como más adelante se discutirá, si no se neutraliza correctamente el pH del nejayote añadido continuamente y según la dosis, podría aumentar negativamente el pH del estanque por el incremento de las concentraciones de ion hidróxido. Por último, otra solución al problema del pH del nejayote sería simplemente usar nejayote con pH más bajo, que resultaría de disminuir la cantidad de cal empleada para el cocimiento del maíz o empleando mucha más agua en el proceso de cocimiento y lavado del maíz, lo que puede resultar en valores de 8.5 de pH (Campechano-Carrera *et al.*, 2012). Sin embargo, estas opciones no son tan factibles ya que, en el caso de emplear mucha más agua en el proceso de nixtamalización, se estarían aumentando los costos tanto económicos como medioambientales, y en el caso de emplear menor cantidad de cal, según Trejo-González *et al.* (1982) se afectarían las propiedades mecánicas, sensoriales y nutricionales de la tortilla. Por otra parte, después de disminuir y estabilizar el pH a  $8.2 \pm 0.3$  el volumen de nejayote para toda una semana, era necesario refrigerarlo ya que de otra forma se descompondría rápidamente, lo cual, en el hipotético caso de emplear al nejayote de esta forma (bajo pH) en una granja acuícola, implicaría contar con un gran espacio de refrigeración, ya que como se ha demostrado anteriormente, son necesarios grandes volúmenes de nejayote (comparados con la melaza) para entregar la cantidad de carbono requerido por las unidades de producción altamente intensivas, una opción a este problema sería adquirir nejayote producido diariamente, calcular el requerimiento de nejayote en el día, disminuir y estabilizar su pH y suministrar enseguida. Sin embargo, esta última opción implicaría confiar en que el contenido de carbono en el nejayote empleado sea el mismo día con día, lo cual sería así sólo en el caso en que exista una completa estandarización y control preciso en las operaciones de nixtamalización, ya que tanto el proceso de nixtamalización como la variedad de maíz afectan el contenido nutricional del nejayote (Pflugfelder *et al.*, 1988).

Continuando con los resultados de ST (31.51 g/l) o lo que es lo mismo, el porcentaje de peso seco del nejayote (3.1 %), fue superior a lo esperado (11.68 g/l, Tabla 2) y a lo reportado por Valderrama-Bravo *et al.* (2012) y Téllez-Pérez *et al.* (2018), de 2.28 % y 1.08 %, respectivamente. Una posible explicación para estas diferencias puede ser la pérdida de sólidos del maíz debido a un fuerte proceso de nixtamalización, más específicamente a la cocción alcalina y posterior enjuague del maíz. Ramírez-Romero *et al.* (2013)

señala que esta pérdida de sólidos puede variar entre un 5.5 a un 12.5 % y que está relacionada con las operaciones de producción de nixtamal. Esto hace evidente la variabilidad de las propiedades del nejayote en relación con las operaciones de producción del nixtamal, que pueden cambiar bastante entre plantas productoras. Haciendo de esto una consideración importante al momento de pensar al nejayote como una fuente de carbono para sistemas con TB.

Ahora bien, en la Tabla 5 se puede ver que el nejayote analizado contenía 8.73 % de proteínas, 1.39 % de lípidos y 56.91 % de carbohidratos totales. En otros trabajos se han reportado contenidos de proteínas entre 2.9 y 5.11 %, de lípidos entre 0.27 y 0.35 % y de carbohidratos entre 37.8 y 66.97 % (Durán-Arenas, 1981; Velasco-Martínez *et al.*, 1997; Campechano-Carrera *et al.*, 2012; Valderrama-Bravo *et al.*, 2012). Es claro que los carbohidratos están en mayor cantidad, seguidos por las proteínas y por último los lípidos. Esta proporción no es azarosa, ya que corresponde con el contenido promedio de estos nutrientes en el maíz: 65 % de carbohidratos, 8.8 % de proteínas y 3.8 % de lípidos (Belitz *et al.*, 2009). Sin embargo, no todos los maíces tienen estos mismos contenidos, pues la calidad nutricional del maíz depende de la variedad, su genética, la forma de cultivo y el proceso postcosecha. Además de la interacción entre el genotipo y el ambiente, por ejemplo, el maíz híbrido blanco contiene mayor porcentaje de proteínas y lípidos que otras variedades y el maíz amarillo es el de mayor contenido de carbohidratos (Mex-Álvarez *et al.*, 2016). Esto añade más puntos que no facilitan la estandarización del contenido nutrimental y de carbono del nejayote, pero, por otra parte, tantas fuentes de variación explican la diferenciación de los resultados obtenidos (Tabla 5) respecto a otras investigaciones. No obstante, sí se puede decir que, en general, el mayor constituyente de los sólidos del nejayote son los carbohidratos.

Aunque no se encontraron datos que expongan todo el perfil de carbohidratos en el nejayote, en general, de los carbohidratos en los cereales, el principal es el almidón (55-70 %), seguido de arabinosilanos (1.5-8 %) y en menor proporción los betaglucanos (0.5-7 %), azúcares ( $\approx 3$  %), celulosa ( $\approx 2.5$  %) y gluco-fructanos ( $\approx 1$  %) (Gobbetti y Gänzle, 2013). Por otra parte, del 75.1 % de carbohidratos que contiene la melaza (Mohd-Khairul *et al.*, 2022), el contenido de azúcares es de 62.3 % y de estos, hasta un 48.8 % del peso seco de la melaza solamente es sacarosa (Palmonari *et al.*, 2020), un carbohidrato altamente soluble. Esto indica que el nejayote, a diferencia de la melaza, cuenta con carbohidratos más complejos, lo que no precisamente es malo, ya que se ha comprobado que el almidón de maíz (posiblemente el carbohidrato más abundante del nejayote), por su capacidad coagulante, favorece el crecimiento microbiano, fungiendo, así como sitio de nucleación para el Biofloc (Aparicio-Simón *et al.*, 2020).

Respecto al uso del almidón de maíz como fuente de carbono en un sistema Biofloc, Tinh *et al.* (2021) mostraron que el almidón de maíz comparado con la melaza mejora los parámetros productivos en *P. vannamei*, con la diferencia en que los carbohidratos más simples de la melaza contribuyeron a disminuir significativamente más la concentración de NAT, aunque el almidón de maíz también ayudó a mantener niveles adecuados (0.02 a 0.1 mg/L NAT). Ahora bien, la gelatinización del almidón después de la nixtamalización, y, los arabinoxilanos con su alta capacidad de absorber y retener hasta 50 veces su peso en agua (Gobbetti y Gänzle, 2013), hacen que el nejayote posea cierto grado de viscosidad (Díaz-Montes *et al.*, 2016) que puede tener dos efectos adversos: el primero es aumentar la capacidad de retención de aire debido a que se conservan mejor las burbujas (Gan *et al.*, 1995) lo que puede no ser favorable para el correcto intercambio de gases tanto de los organismos como de los tanques, de hecho, esto último se pudo observar, ya que todas las UE con nejayote presentaron una cuantiosa cantidad de espuma, generada por la aireación, y tenía que ser removida continuamente. Esta espuma era “pesada y resistente”. Otro efecto negativo de la viscosidad es que afecta la sedimentación de las partículas, manteniéndolas en suspensión (Boyd, 2015), lo que puede ocasionar un movimiento incorrecto de los sólidos dentro de la masa de agua y por ende afectar su calidad u ocasionar regiones de baja calidad de agua.

## 4.2 Calidad nutricional del Biofloc

En este estudio se puede concluir que los flóculos de los cultivos que recibieron nejayote, en comparación con el control, no son significativamente diferentes en su contenido de proteína, carbohidratos y lípidos. Y aunque únicamente en la semana cuatro, en los tratamientos que recibían nejayote, se presentó una diferencia significativamente con el tratamiento control, esto no es suficiente para aseverar que hay una diferencia sostenida en el contenido de lípidos. Por otra parte, de acuerdo con esto, se podría concluir que no existe una ventaja nutricional en los flóculos formados a partir de nejayote y aunque la hubiera, la capacidad nutricional de los flóculos no se limita al contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos. Con respecto a las proteínas, un menor contenido de estas en los flóculos no está directamente relacionado a una severa desventaja en el rendimiento productivo de los camarones, ya que según Tinh *et al.* (2021) aunque los flóculos generados con melaza tuvieron un contenido de proteínas significativamente mayor, los mejores resultados en los parámetros productivos del cultivo de *P. vannamei* se obtuvieron con el uso del almidón de maíz como fuente de carbono, ya que permitió una mayor estabilidad en las condiciones ambientales del cultivo. Lo cual hace recordar que el contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas en los flóculos, sólo son una de muchas variables que influyen en el cultivo de organismos. Sin embargo,

grosso modo los resultados de proteínas en los cuatro tratamientos, caen dentro del intervalo esperado (12-50 %) recopilado por Samocha (2019).

Aunque, por otra parte, los resultados del contenido de proteínas de los flóculos de esta investigación parecen ser bajos comparados con otras investigaciones, ya que no sobrepasaron el 30 %. En contraste, los resultados de Rajkumar *et al.* (2015) indican que con una relación aproximada de 10:1, los flóculos de melaza, harina de tapioca y harina de trigo contenían 46, 52 y 54 % de proteína respectivamente. Incluso los flóculos producidos a partir del almidón de maíz parecen tener más contenido de proteínas que los de nejayote ya que Tinh *et al.* (2021) reportan un contenido de 39.4 % a una relación de 12:1. Además de la relación C:N, otros factores pueden influir en la concentración de proteínas de los flóculos, como la densidad de organismos en el estanque y en menor medida la fuente de carbono utilizada (Tinh *et al.*, 2023). También, un alto contenido de SST puede disminuir el contenido de proteínas en los flóculos (Schveitzer *et al.*, 2013), lo cual ocurrió en esta investigación. Cabe aclarar que los resultados del contenido de proteínas en los flóculos que Rajkumar *et al.* (2015) y Tinh *et al.* (2021) reportan son de flóculos de muestras promedio o finales, de periodos de cultivo de mayor duración, en comparación con la presente investigación.

Por otra parte, el contenido de carbohidratos promedio (<12 %) en la semana cuatro, tanto del tratamiento control como de los que recibieron nejayote, estuvo muy por debajo del 14-59 % reportado por Samocha (2019) y del 18.5 % reportado por Khatoon *et al.* (2016) para flóculos generados con harina de trigo y melazas. Crab *et al.* (2010) también reportaron un contenido superior al 14 % de carbohidratos con distintas fuentes de carbono a una relación 10:1. En cambio, en la semana tres, el contenido de carbohidratos fue mayor y alcanzó los valores esperados, pero debido a la reducida duración del experimento, no se puede saber si estos resultados reflejan una tendencia o una excepción.

Ahora bien, el contenido promedio de lípidos tanto del control como de los tratamientos con nejayote estuvo dentro del intervalo reportado por Samocha (2019), sin embargo, el contenido de lípidos de los flóculos en otras investigaciones no alcanza el 1 % (Ballester *et al.*, 2010; Emerenciano *et al.*, 2013). Y como se mencionó anteriormente, con los resultados de esta investigación no se puede aseverar ninguna tendencia o diferenciación entre el contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos de los flóculos de los mismos tratamientos a través del tiempo ni entre el tratamiento control y los que recibieron nejayote ya que los datos son insuficientes. Además, es esperado que la composición proximal de los flóculos sea altamente variable, ya que depende de muchos factores (Emerenciano *et al.*, 2013b). Por otra parte, una alta productividad no siempre está relacionada única y directamente a la naturaleza nutricional de los

flóculos, pues también tienen efectos la tasa de ingesta de alimentos, la digestibilidad, la palatabilidad, la absorción, la asimilación y la salud del animal (Ju *et al.*, 2008; Khatoon *et al.*, 2016).

### 4.3 Sólidos

Las mediciones de sólidos suspendidos totales se usan para conocer la concentración de flóculos en los sistemas Biofloc, un adecuado monitoreo y medidas de control de los niveles de SST permitirá mantener un funcionamiento idóneo del sistema de producción, para lograr condiciones ambientales saludables y óptimas en el cultivo de especies acuícolas con TB (Zemor *et al.*, 2019). En esta investigación, las concentraciones de SST en los tratamientos que recibían nejayote presentaron diferencias significativas con respecto al tratamiento control que no recibió nejayote. Desde la semana dos, los tratamientos con las relaciones 15:1 y 20:1 superaron los 350 mg/l de SST, que exceden la recomendación de Samocha (2019). Posteriormente las concentraciones de SST se incrementaron más allá de 600 mg/l, que es el valor máximo recomendado para sistemas superintensivos de cultivo de *P. vannamei*. Con concentraciones mayores de sólidos se perjudica la productividad y estabilidad del sistema, y sobrepasando los 800 mg/l, *P. vannamei* baja su supervivencia (Schveitzer *et al.*, 2013), esto infiere que a partir de la semana 3 era de esperarse mortalidad en los tratamientos con nejayote, solamente por efecto de los sólidos suspendidos. El efecto negativo de las altas concentraciones de SST no solo se debe a la oclusión y daño a las branquias, sino que también a que es un ambiente propicio para el desarrollo de bacterias oportunistas que pueden ser patógenas (Schveitzer *et al.*, 2024).

El incremento gradual en la concentración de SST se debe a que naturalmente la biomasa microbiana aumenta en el tiempo. En diversas investigaciones se ha observado este comportamiento en los SST, algunas con un aumento continuo y otras no, pero siempre con un aumento a través del tiempo, esto siempre y cuando no haya un control directo sobre los SST (Ray *et al.*, 2010; Samocha, 2019). Por otra parte, en las primeras semanas, la velocidad en el incremento de la concentración de SST puede ser reflejo de la densidad de cultivo (Emerenciano *et al.*, 2013), ya que por ejemplo Xu *et al.* (2016) trabajando con una densidad de 300 camarones/m<sup>3</sup> y relaciones 12:1, 15:1 y usando melaza como fuente de carbono, también demostraron un incremento gradual de los SST, pero menores a 800 mg/l en la semana tres. En esta investigación, en la semana tres se alcanzaron valores superiores a los 1,200 mg/l, pero con una mayor densidad de camarones. La producción (velocidad en el incremento de las concentraciones) de los SST tiene una mayor dependencia de la cantidad disponible de carbono orgánico que del tipo de fuente de carbono (Schnider *et al.*, 2006), como lo mostraron Khalil *et al.* (2020), ya que sus resultados mostraron

que a mayor relación C:N, mayores eran los incrementos de una semana a otra en los SST, según este autor esto último se explica por el crecimiento de las comunidades bacterianas heterotróficas respondiendo a una mayor disponibilidad de C orgánico en los estanques. Esto se puede observar haciendo una comparación entre los resultados de las Figs. 12 y 13, que refleja un incremento progresivo en la diferencia entre la porción orgánica (SSV) e inorgánica (SSF) de los sólidos suspendidos producidos en los tratamientos con nejayote. Ya que como se muestra en la Fig. 12, la porción orgánica de los flóculos de los tratamientos con nejayote presentó aumentos más importantes, a diferencia del tratamiento control, y en cambio no se observaron diferencias significativas en la porción inorgánica de los flóculos entre los distintos tratamientos (Fig. 13). Es así como el aumento de la disponibilidad de carbono orgánico da como resultado el aumento de floculación, resultando en el crecimiento de la biomasa bacteriana heterótrofa (Khalil *et al.*, 2020) representado en los SSV.

Estos resultados están en armonía con los reportados por Xu *et al.* (2016), quienes indican que las comunidades nitrificantes, al contrario de las heterotróficas, contienen mayor cantidad de materia inorgánica, lo que sugiere que una mayor diferencia entre los SSV y SSF en los tratamientos con nejayote reflejan la dominancia heterotrófica, y, al contrario, en el tratamiento control, la menor diferencia entre SSV y SSF reflejan un mayor contenido de comunidades bacterianas nitrificantes.

Ahora bien, el desarrollo de los sólidos sedimentables tuvo la misma tendencia esperada que las concentraciones de SST. Con los SS también existe el efecto de la densidad de siembra (Emerenciano *et al.*, 2013) ya que al comparar con los resultados de Xu *et al.* (2016) (mismo ejemplo usado con los SST), hasta la cuarta semana de su experimento los SS no superaban los 60 ml/l, pero en esta investigación, los tratamientos con nejayote superaban los 80 ml/l y llegaron hasta los 120 ml/l de SS. Estos valores excedieron por mucho los 14 ml/l recomendados por Samocha (2019), quien señala que incluso con 39 ml/l de SS se presentan eventos de mortalidad en *P. vannamei*. Aunque los resultados de esta investigación indican que los SS y los SST son variables correlacionadas, no siempre es así, ya que la correlación entre SS y SST no es la regla y es más probable que los valores de turbiedad tengan más correlación con los SST (Schweitzer *et al.*, 2013; Samocha, 2019).

Es preciso mencionar que la formación de los SS está sujeta a otros factores tales como el exceso de alimentación, materia fecal de los camarones, las mudas y el propio crecimiento de los camarones (Samocha, 2019). Esto último se relaciona con el consumo de los flóculos, que a su vez depende de la alimentación, el peso del organismo, el tamaño y la densidad de flóculos (Khalil *et al.*, 2020). Por otra parte, es necesario mencionar que, en la última semana de muestreo, la fracción superior de los flóculos

sedimentados con el cono Imhoff, presentaban una condición bastante laxa y transparente, afectando así a la cuantificación de su volumen, ya que era muy difícil discernir el límite entre los flóculos y el agua, lo que pudo conducir a la sobre o subestimación del volumen de flóculos.

De acuerdo con lo anterior, si el nejayote se utiliza como fuente de carbono en relaciones iguales o superiores a 10:1 en cultivos con altas densidades ( $>800$  organismos/m<sup>3</sup>), tan solo después de 2 semanas los sólidos superarán los límites recomendados y después de 4 semanas de cultivo, los SST los rebasarán por mucho, lo que hace necesario el uso de sistemas físicos o químicos para su control. Esta solución puede significar un costo operativo y de infraestructura adicional, que se suma al problema del manejo de los desechos. Aunque se podría optar por simplemente reducir la densidad de cultivo y la relación C:N.

Se podría pensar que el tratamiento control tuvo los mejores resultados en cuanto a la concentración de sólidos, sin embargo, esto no siempre es así, ya que, por ejemplo, Xu *et al.* (2016), incluso con densidades menores a las evaluadas en esta investigación, obtuvieron cantidades no recomendables tanto de SS como de SST después de la cuarta semana de cultivo para el tratamiento en el que la fuente de carbono provenía del mismo alimento (como el tratamiento control en esta investigación). Los resultados de esta investigación se deben considerar con cautela, dado que se basan solamente a un mes de producción, que es un periodo insuficiente para extrapolar conclusiones a un cultivo comercial de mayor duración (superior a 3 meses). Con todo lo anterior, se refuerza la necesidad de manejar eficazmente los sólidos producidos indistintamente de la fuente de carbono y las relaciones C:N. En conclusión, los resultados de sólidos sugieren que el nejayote puede ser usado como una fuente alternativa de C orgánico para la biosíntesis de biomasa microbiana heterotrófica.

#### 4.4 Alcalinidad

En los sistemas Biofloc, normalmente la fuente de carbono orgánico no tiene influencia directa sobre la alcalinidad, ya que habitualmente su aumento o reposición, depende de la adición de sustancias químicas como por ejemplo carbonato (Boyd, 2015) y las disminuciones por otra parte dependen de la actividad de comunidades microbianas nitrificantes y heterotróficas aerobias (Ebeling *et al.*, 2006). En el agua de mar, a un pH de 8 la alcalinidad consiste en 89.8 % bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), 6.7 % carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), 2.9 % borato ( $\text{B(OH)}_4^-$ ), 0.2 % silicato ( $\text{SiO(OH)}_3^-$ ), y 0.1 % de cada uno de los siguientes: monohidroxilato de magnesio ( $\text{MgOH}^+$ ), hidróxido ( $\text{OH}^-$ ) y fosfato ( $\text{HPO}_4/\text{PO}_4$ ) (Millero, 1996). Según Gerardi (2003), los constituyentes de la alcalinidad de carbonatos están relacionados como se expresa en la siguiente ecuación:

$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{CO}_3^{2-} + 2\text{H}^+$ . Si por ejemplo el pH del agua disminuye (aumentan las concentraciones de ion hidronio), los constituyentes más a la izquierda aumentan sus concentraciones, al contrario, cuando se añade una fuente de  $\text{OH}^-$  para aumentar el pH los constituyentes del lado derecho aumentan, como resultado aumenta la alcalinidad en forma de bicarbonatos y carbonatos. Esto se debe a que existe un equilibrio entre los constituyentes de este sistema de reacciones, que neutralizan los iones hidronio o hidróxido. Debido a esto es que se considera que el aumento de la alcalinidad en los tratamientos que recibían nejayote se debe a que su pH, al momento de agregarlo a las UE, era mayor a lo requerido, ya que el tiempo de acidificación fue más largo de lo que se estimó. Esto pudo ser resultado de que la concentración del ácido usado no fue suficientemente fuerte como para lograr una estabilización más rápida del pH, y así asegurar que el pH del nejayote añadido fuera el adecuado. Es así como el nejayote se convirtió en una fuente de iones hidróxido, que por sí solos contribuyen a la alcalinidad, pero que también al reaccionar con los constituyentes más ácidos de la ecuación de la alcalinidad producen carbonatos y bicarbonatos. Por otra parte, también el ion  $\text{Ca}^{2+}$  proveniente de la cal usada en el proceso de nixtamalización, pudo contribuir al aumento de la alcalinidad, ya que este ion reacciona con el  $\text{CO}_2$  y produce  $\text{CaCO}_3$  y agua, para posteriormente volver a reaccionar con el  $\text{CO}_2$  y agua para producir  $\text{Ca}^{2+}$  y dos moléculas de  $\text{HCO}_3^-$  (Boyd *et al.*, 2016), en otras palabras, ambos iones del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  producen alcalinidad. Adicionalmente el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  puede producir precipitados de  $\text{CaCO}_3$  y  $\text{MgCO}_3$  que no afectan las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  del agua salina (Sá *et al.*, 2019). A pesar de todo, aunque los valores de la alcalinidad presentados en esta investigación sobrepasaron los 400 mg/l, según Samocha (2019) se pueden cultivar exitosamente camarones por arriba de 400 mg/l. Sitanggang y Amanda (2019) señalan una alcalinidad máxima de 500 mg/l para *P. vannamei*. Por otra parte, si no se hubiese aumentado la alcalinidad por medio del pH alcalino del nejayote, lo esperado era que, debido a las altas concentraciones de SST, la alcalinidad debía disminuir a través del tiempo como lo exponen Furtado *et al.* (2011) y Gaona *et al.* (2011). Esta disminución corresponde a dos procesos, el primero relacionado con la respiración de las comunidades microbianas, que producen suficiente  $\text{CO}_2$  como para disminuir el pH del agua, lo que reduce los niveles de alcalinidad (Wasiolesky *et al.*, 2006; Vinatea *et al.*, 2010) y la segunda relacionada al consumo de alcalinidad por parte de la gran cantidad de biomasa heterótrofa, ya que aunque las bacterias nitrificantes consumen más alcalinidad, pues requieren 7.05 g para metabolizar 1 gramo de  $\text{N-NH}_4$ , también, una gran biomasa heterotrófica de bacterias puede reducir la alcalinidad, ya que consumen 3.57 g de alcalinidad para metabolizar la misma cantidad de nitrógeno. Por último, la disminución de la alcalinidad del tratamiento control en la primera semana, corresponde principalmente a la presencia de bacterias nitrificantes y su requerimiento de carbono inorgánico en forma de alcalinidad (Ebeling *et al.*, 2006).

#### 4.5 Temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y pH

Durante el periodo experimental, la temperatura y salinidad estuvieron dentro de los límites óptimos sugeridos por Ponce-Palafox *et al.* (1997) y los niveles promedio de pH y oxígeno disuelto se encontraron dentro del intervalo sugerido por Van Wyk *et al.* (1999). Sin embargo, es necesario hacer notar que los valores de pH en los tratamientos con nejayote fueron ligeramente más altos que en el control, con esto se podría confirmar que el aumento en la alcalinidad de los tratamientos con nejayote resultó del pH donado por el nejayote.

#### 4.6 Nitrógeno inorgánico

Con respecto al NAT, dentro de los primeros 9 días, en los cuatro tratamientos se presentó un alza en las concentraciones de este parámetro. Esto pudo ser la consecuencia de una biomasa microbiana insuficiente, debido a que para llenar las cubetas donde se desarrolló este experimento, se utilizó el agua de la maternidad, y como se mencionó anteriormente, en este periodo se realizaron recambios de agua de hasta el 40 % de dos a tres veces por semana, lo que significaba la reducción de la biomasa microbiana heterotrófica y nitrificante encargadas de controlar el NAT. Sin embargo, como se aprecia en la Fig. 16, el tratamiento control presentó un pico de concentraciones de NAT mucho mayor que los tratamientos con nejayote, ya que, aunado a una insuficiente biomasa microbiana, este tratamiento pasó de recibir una relación C:N de 10:1 (con azúcar como fuente de carbono orgánico de uso rápido), a una relación 9:1 (más baja) con el carbono propio del alimento. Y según Khalil *et al.* (2020), entre más alta la relación C:N, más rápido será el desarrollo de la biomasa microbiana. Es así que, comparado con los demás tratamientos, en el tratamiento control se ralentizó el desarrollo de biomasa microbiana para controlar el NAT, debido a una disminución en la relación C:N. Pero como medida adicional para controlar el incremento de NAT en el tratamiento control, también se disminuyó o se eliminó la alimentación hasta por tres días, posteriormente empezaron a disminuir las concentraciones de NAT, debido a su conversión en biomasa microbiana (Avnimelech, 1999), principalmente nitrificante. Por otra parte, los tratamientos que recibieron nejayote solo tuvieron como limitante, el tiempo que tomó el desarrollo de una suficiente biomasa microbiana. A pesar de este panorama, el tratamiento control sólo estuvo un día por arriba del nivel seguro, de 3.95 mg/l de NAT a 35 g/l de salinidad señalado por Lin y Chen (2001). Después de los primeros 10 días, las concentraciones de NAT estuvieron por debajo de los 2 mg/l. Los niveles bajos de NAT a altas densidades de siembra, están asociados con las comunidades microbianas heterotróficas y

nitrificantes (Vinatea *et al.*, 2010). Aunque, se espera que con el aumento de carbono orgánico en los estanques se promueva la dominancia de la comunidad bacteriana heterotrófica (Ju *et al.*, 2009). Como se ve en la Fig. 17, las concentraciones de nitrito no fueron nulas, lo que indicó la presencia de la comunidad microbiana nitrificante. Gaona *et al.* (2015) en un periodo de cultivo de seis semanas, el cual señalan como insuficiente para el desarrollo de las cualidades nitrificantes del Biofloc y con niveles superiores a 600 mg/l de SST, tuvieron grandes incrementos en las concentraciones de nitritos, contrario a esto, los niveles de  $\text{N-NO}_2^-$  (Fig. 17) se mantuvieron por debajo de 1 mg/l, estos niveles bajos corresponden a la actividad de las bacterias nitrificantes, que posiblemente por motivo de niveles suficientes de alcalinidad (en todos los tratamientos), pudieron mantenerse a pesar de la alta competencia por recursos que las bacterias heterotróficas representan (Luo *et al.*, 2013). Xu *et al.* (2016) también reportaron niveles por debajo de 1 mg/l de  $\text{N-NO}_2^-$  cuando se suministraba bicarbonato, a pesar de los niveles cercanos a 1,000 mg/l de SST. Sin embargo, el tiempo de este experimento no permite dilucidar más acerca del comportamiento de las comunidades microbianas. Por otra parte, en ningún momento se alcanzaron concentraciones por arriba del nivel seguro que según Lin y Chen (2003) es 25.7 mg/l de  $\text{N-NO}_2^-$  a 35 g/l de salinidad. Con estos resultados, se podría decir que el nejayote, por un lado, puede considerarse como fuente de carbono orgánico para el control del NAT al promover la actividad metabólica de biomasa heterotrófica en el Biofloc, pero otro lado también el nejayote al reponer alcalinidad, promovió el mantenimiento de las comunidades nitrificantes que contribuyen al control del NAT. Independientemente de la relación C:N, las comunidades bacterianas heterotróficas reaccionaron a este sustrato con una buena tasa de crecimiento (SST) y asimilación del nitrógeno amoniacal. Aunque hay que apuntar que el nejayote no es la causa directa del control sobre los niveles de NAT, pues independientemente de la relación C:N o la fuente de carbono, una vez que se desarrolla una comunidad microbiana madura y suficiente, los niveles tanto de NAT como de  $\text{N-NO}_2^-$  estarán bajo control (Xu *et al.*, 2016).

## 4.7 Parámetros productivos

De acuerdo con el análisis de todas las variables previamente discutidas, se destacan los SST en los tratamientos con nejayote, debido a que sus niveles se mantuvieron por encima del máximo recomendado para *P. vanammei* (Schweitzer *et al.*, 2024), pero comparado con los resultados de otras investigaciones (Schweitzer *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2016) donde los niveles de SST también sobre pasan este máximo (800 mg/l), el desempeño de los parámetros productivos (Tabla 7), parece bastante inadecuado, incluso comparados con los resultados de Gaona *et al.* (2016) que utilizaron concentraciones de hasta 4,000 mg/l de SST, lo cual apunta a que el pésimo rendimiento y las bajas tasas de supervivencia no fueron resultado

únicamente de las altas concentraciones de SST. Con lo cual, por último, queda traer a colación la presencia de las enfermedades diagnosticadas (AHPND y IHHNV) en la fase de maternidad, como probable causa de tan bajo desempeño, las cuales pudieron influir directamente o en conjunto con los altos niveles de SST que se tuvieron desde la segunda semana de experimento, ya que como Newcombe y MacDonald (1991) sugieren, más que las altas concentraciones de sólidos suspendidos, la exposición a concentraciones elevadas por largos periodos de tiempo, ocasionan mayores efectos negativos sobre los organismos acuáticos. Los sólidos suspendidos pueden obstruir sus branquias y estructuras de alimentación, lo que reduce la eficiencia con la que obtienen alimento. Como consecuencia, sus tasas de crecimiento disminuyen, se estresan y se vuelven vulnerables a enfermedades (Hynes, 1970; Bilotta y Brazier, 2008). Por lo anterior, la explicación a las bajas tasas de supervivencia que presentaron los camarones con los tratamientos de nejayote es que fueron causadas por un efecto sinérgico de las enfermedades y los altos niveles de SST. Pero también el tratamiento control, que tuvo un crecimiento promedio de tan sólo 0.54 g en cuatro semanas, habla de un fuerte efecto inhibitorio de los patógenos, más específicamente del IHHNV, que, aunque no causa una infección letal en *P. vannamei*, sí produce una reducción o retardamiento en su crecimiento y una diversidad de deformaciones que en conjunto se conocen como síndrome de deformidad y enanismo (Kalagayan *et al.*, 1991; Lightner, 1996). Por otra parte, el AHPND, también conocido como síndrome de mortalidad temprana (EMS), es una enfermedad bacteriana causante de hasta el 100 % de la mortalidad en cultivos de camarón como *P. vannamei* y *P. monodon* (camarón tigre). Algunos signos de infección son: tracto gastrointestinal vacío, una apariencia lechosa en el estómago y un hepatopáncreas blanquecino atrofiado (Han *et al.*, 2020). De acuerdo con esta información, era de esperarse una alta mortalidad y en el mejor de los casos un bajo rendimiento en los parámetros productivos. Esto implica reconocer que el efecto del nejayote sobre los parámetros productivos quedará sin conocerse. Por último, se debe señalar que el tratamiento con Biofloc de tipo mixotrófico, con mayor abundancia de bacterias nitrificantes (Samocho, 2019) y menor concentración de sólidos, aunque no dio un gran rendimiento, sí se sobrepuso a las mortalidades agudas que tuvieron los tratamientos con nejayote y dominancia heterótrofa, ya que después de 5 semanas de cultivo, las tres réplicas de este tratamiento fueron las únicas que permanecieron en pie con una supervivencia promedio de 76 %.

## Capítulo 5. Conclusiones

---

Se logró conocer las características fisicoquímicas del nejayote, pero se debe señalar que estas características no se pueden extrapolar a otras fuentes de nejayote.

El control del pH del nejayote representa un reto y un gasto importante, con el cuál se requiere especial manejo y la comprobación de valores de pH adecuados.

El nejayote puede usarse como una fuente de alcalinidad y carbono orgánico cuando el pH es ligeramente más alcalino que el pH del agua de mar.

El bajo contenido de C orgánico en el nejayote hace que se requieran grandes cantidades de este residuo para emular los contenidos de C orgánico de otras fuentes, lo que podría implicar problemas adicionales al añadir más volumen a los tanques de cultivo.

La acumulación de SST y SSV a través del tiempo, junto con los bajos niveles de NAT, demostraron una adecuada conversión de NAT a biomasa heterotrófica y que el nejayote fungió como fuente de carbono para su desarrollo.

La presencia de agentes infecciosos no permitió conocer la influencia del nejayote sobre los parámetros productivos.

La sustitución de una fuente de carbono simple (azúcar), por nejayote, se debe hacer en forma gradual para evitar incrementos repentinos de nitrógeno inorgánico.

Se recomienda investigar el uso del nejayote en las relaciones C:N 10 y 12, en condiciones de luz solar, con menores densidades de camarones y por periodos más largos.

Para el cultivo a alta densidad de camarones, se sugiere usar un sistema Biofloc de corte mixotrófico, y únicamente añadir nejayote como fuente de carbono orgánico cuando sea indispensable, como en los casos en que se presenten incrementos de NAT superiores a los límites recomendados. Adicionalmente se recomienda el uso de sedimentadores para controlar los SST en niveles óptimos.

## Literatura citada

- Acero-Godínez, M. A. (2000). *Uso del cerdo como modelo biológico para evaluar la calidad de la tortilla por dos procesos de Nixtamalización y la Fortificación con vitaminas y pasta de soya* [Tesis de Maestría, Universidad de Colima]. [https://sistemas.ucol.mx/tesis\\_posgrado/resumen1327.htm](https://sistemas.ucol.mx/tesis_posgrado/resumen1327.htm)
- Acosta-Estrada, B. A., Lazo-Vélez, M. A., Nava-Valdez, Y., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2014). Improvement of dietary fiber, ferulic acid and calcium contents in pan bread enriched with nejayote food additive from with maize (*Zea mays*). *Journal of Cereal Science*, *60*(1), 264-269. doi: [10.1016/j.jcs.2014.04.006](https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.04.006)
- Acosta-Piantini, E., Rodríguez-Díez, E., Chavarri, M., López-de-Armentia, I., Villaran, M. C., & Lombraña, J. I. (2023). Preparation of hydrolyzed sugarcane molasses as a low-cost medium for the mass production of probiotic *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* F19. *Separations*, *10*(1), 33. <https://doi.org/10.3390/separations10010033>
- Anand, P. S., Kohli, M. P. S., Kumar, S., Sundaray, J. K., Roy, S. D., Venkateshwarlu, G. (2014). Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, *418-419*, 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.051>
- Anaya-Rosas, R.E. (2005). *Cultivo de camarón blanco Litopenaeus vannamei, Boone (1931) en sistema cerrado a alta densidad* [Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California] <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/1144>
- Anderson, J. L., Asche, F., & Garlock, T. (2019). Economics of Aquaculture Policy and Regulation. *Annual Review of Resource Economics*, *11*, 101-123. doi: [10.1146/annurev-resource-100518-093750](https://doi.org/10.1146/annurev-resource-100518-093750)
- AOAC, C. (2005). *Official methods of analysis*. AOAC International. [Archivo PDF] [https://www.researchgate.net/publication/292783651\\_AOAC\\_2005](https://www.researchgate.net/publication/292783651_AOAC_2005)
- Aparicio-Simón, B., Real-Moreno, E., Espinosa-Chaurand, D., García-Morales, R., Garza-Torres, R., de Jesús Cortés-Sánchez, A. D., Lora-Sánchez, D. y Maeda-Martínez, A. N. (2020). Giant bladder kelp (*Macrocystis pyrifera*) and maize (*Zea mays*) meals as nucleation sites for biofloc formation. *Aquaculture reports*, *16*(100289). <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100289>
- Avnimelech, Y. (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, *176*(3-4), 227-235. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00085-X)
- Avnimelech, Y. (2006). Bio-filters: the need for an new comprehensive approach. *Aquacultural engineering*, *34*(3), 172-178. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.04.001>
- Avnimelech, Y. (2015). *Biofloc technology: a practical guidebook* (3ª ed.). World Aquaculture Society. <https://www.was.org/shopping/biofloc-technology-a-practical-guidebook-3rd-edition>
- Azam, F., Fenchel, T., Field, J. G., Gray, J. S., Meyer-Reil, L. A., & Thingstad, F. J. M. E. P. S. (1983). The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine ecology progress series. Oldendorf*, *10*(3), 257-263. <https://doi.org/10.7208/chicago/9780226125534-024>

- Baird, R.B., Eaton, A.D. & Rice, E.W., (Eds.). (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (23rd ed.) American Public Health Association. <https://www.amazon.com/Standard-Methods-Examination-Water-Wastewater/dp/087553287X>
- Ballester, E. L. C., Abreu, P. C., Cavalli, R. O., Emerenciano, M., De Abreu, L., & Wasielesky Jr, W. (2010). Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero-exchange suspended microbial flocs intensive system. *Aquaculture Nutrition*, 16(2), 163-172. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00648.x>
- Baqueiro-Peña, I., Contreras-Jáquez, V., Kirchmayr, M. R., Mateos-Díaz, J. C., Valenzuela-Soto, E. M., & Asaff-Torres, A. (2019). Isolation and characterization of a new ferulic-acid-biotransforming *Bacillus megaterium* from maize alkaline wastewater (nejayote). *Current Microbiology*, 76, 1215-1224. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00284-019-01726-4>
- Becerril-Cortés, D. (2018). *Efecto sobre la composición nutricional de los bioflóculos producidos, a partir de distintas fuentes de carbono (melaza, residuos de café y harina de arroz) en un sistema Biofloc* [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de México]. <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/bitstream/123456789/2060/1/181139.pdf>
- Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P. (2009). Cereals and cereal products. En: Belitz H.-D., Grosch, W., Schieberle, P. (Eds.) *Food chemistry* (pp. 670-745), 4th ed. Springer. [https://citations.springernature.com/item?doi=10.1007/978-3-540-69934-7\\_16](https://citations.springernature.com/item?doi=10.1007/978-3-540-69934-7_16)
- Bilotta, G. S., & Brazier, R. E. (2008). Understanding the influence of suspended solids on water quality and aquatic biota. *Water research*, 42(12), 2849-2861. [doi: 10.1016/j.watres.2008.03.018](https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.03.018)
- Bligh, E. G. & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911-917. <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.1139/o59-099>
- Boyd, C. E. (2015). *Water Quality: An introduction*. Springer. [doi:10.1007/978-3-319-17446-4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-17446-4)
- Boyd, C. E., Davis, R. P., Wilson, A. G., Marcillo, F., Brian, S., y McNevin, A. A. (2021). Resource use in whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* farming in Ecuador. *Journal of the World Aquaculture Society*, 52(4), 772–788. [doi:10.1111/jwas.12818](https://doi.org/10.1111/jwas.12818)
- Boyd, C. E., Tucker, C. S., & Somridhivej, B. (2016). Alkalinity and hardness: Critical but elusive concepts in aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 47(1), 6–41. <https://doi.org/10.1111/jwas.12241>
- Boyd, C. E., & McNevin, A. A. (2020). Aerator energy use in shrimp farming and means for improvement. *Journal of the World Aquaculture Society*, 52(1), 6-29. <https://doi.org/10.1111/jwas.12753>
- Bregnballe, J. (2022). *A guide to recirculation aquaculture – An introduction to the new environmentally friendly and highly productive closed fish farming systems*. FAO and Eurofish International Organisation. <https://doi.org/10.4060/cc2390en>
- Bressani, R. (1990). Chemistry, technology, and nutritive value of maize tortillas. *Food Reviews International*, 6(2), 225-264. <https://doi.org/10.1080/87559129009540868>

- Briggs, M. R., Funge-Smith, S. J., Subasinghe, R. P., Philips, M. (2005). *Introducciones y movimiento de dos especies de camarones peneidos en Asia y el Pacífico. Documento técnico de pesca. No. 476.* FAO. <https://www.fao.org/fishery/es/publication/10037>
- Burford, A.M. Thompson, P. T., McIntosh, R.H., Bauman, D.C. Pearson. (2003). Nutrient and microbial dynamics in high intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture*, 219(1-4), 393-411. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00575-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00575-6)
- Burford, A. M., Thompson, P.T., McIntosh, R.H., Bauman, D. C. Pearson. (2004). The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a highintensity, zero-exchange system. *Aquaculture*, 232(1-4), 525-537. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00541-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00541-6)
- Cabrera, L. (1972). *Diccionario de aztequismos*. Colofón, S. A. Primera Edición México. [https://books.google.com.mx/books/about/Diccionario\\_de\\_aztequismos.html?id=h9luAAAAYAAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.com.mx/books/about/Diccionario_de_aztequismos.html?id=h9luAAAAYAAJ&redir_esc=y)
- Campechano-Carrera, E. M., Figueroa-Cárdenas, J. D, Arámbula Villa, G., Martínez Flores, H. E., Jiménez Sandoval, S. J., & Luna Bárcenas, J. G. (2012). New ecological nixtamalisation process for tortilla production and its impact on the chemical properties of whole corn flour and wastewater effluents. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(3), 564-571. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02878.x>
- Cardoso-Mohedano, J. G., Lima-Rego, J., Sanchez-Cabeza, J. A., Ruiz-Fernández, A. C., Canales-Delgadillo, J., Sánchez-Flores, E. I., & Páez-Osuna, F. (2018). Sub-tropical coastal lagoon salinization associated to shrimp ponds effluents. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 203, 72-79. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.01.022>
- Castro-Muñoz, R., Cerón-Montes, G.I., Barragán-Huerta, B.E., y Yáñez-Fernández, J. (2015). Recovery of carbohydrates from nixtamalization wastewaters (nejayote) by ultrafiltration. *Revista mexicana de ingeniería química*, 14(3), 735-744. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-27382015000300016&lng=es&tIng=en](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382015000300016&lng=es&tIng=en)
- Cid, A., y Guzmán, A. (2011). Alternativas de manejo en la Pesquería de Camarón en las lagunas de Tamiahua y Madre. *Biodiversitas, CONABIO*, 95, 1-7. <https://www.cofemersimir.gob.mx/expediente/17118/mir/37849/anexo/1102003>
- Collazos-Lasso, L. F., Ueno-Fukura, M., Suárez-Contento, L., & Aya-Baquero, E. (2022). Establecimiento de biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno, tendiente a la producción de zooplancton. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 69(3), 281-298. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n3.99968>
- CONAPESCA. (2021). *Anuario estadístico de acuacultura y pesca de la comisión nacional de acuacultura y pesca* 2021. [https://nube.conapesca.gob.mx/sites/cona/dgppe/2021/ANUARIO\\_ESTADISTICO\\_DE\\_ACUACULTURA\\_Y\\_PESCA\\_2021.pdf](https://nube.conapesca.gob.mx/sites/cona/dgppe/2021/ANUARIO_ESTADISTICO_DE_ACUACULTURA_Y_PESCA_2021.pdf)
- Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier P., Verstraete, W. (2010). The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquaculture Research* 41(4): 559-567. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02353.x>

- Das, J., & Mishra, H. N. (2023). A comprehensive review of the spoilage of shrimp and advances in various indicators/sensors for shrimp spoilage monitoring. *Food Research International*, 173(1), 113270. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113270>
- 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(3-4), 125-137. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.019>
- Díaz-Montes, E., Castro-Muñoz, R., y Yáñez-Fernández, J. (2016). Exploración del subproducto de la nixtamalización, nejayote: un panorama. *Ingeniería agrícola y biosistemas*, 8(2), 41-60. <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2016.03.002>
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. y Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350 – 356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Durán-Arenas, P. (1981). *Aprovechamiento de nejayote de nixtamal por métodos microbiológicos* [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. <https://repositorio.unam.mx/contenidos/3608292>
- Durán-de Bazúa, C., Sánchez-Tovar, S. A., Hernández-Morales, M. R., & Bernal-González, M. (2007). Use of anaerobic-aerobic treatment systems for maize processing installations: applied microbiology in action. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, 2007, 3-12. <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=df894cfa328eaae8c2e66aea2943b0f5b186e2a7>
- Ebeling, J.M., Timmons, M.B., Bisogni, J.J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, auto trophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257(1-4), 346-358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>
- Ekasari, J., Angela, D., Waluyo, S. H., Bachtiar, T., Surawidjaja, E. H., Bossier, P., & De Schryver, P. (2014). The size of Biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. *Aquaculture*, 426-427, 105–111. [doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.01.023](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.023)
- Emerenciano, M., Cuzon, G., Paredes, A., & Gaxiola, G. (2013). Evaluation of biofloc technology in pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* culture: growth performance, water quality, microorganisms profile and proximate analysis of biofloc. *Aquaculture international*, 21(6), 1381-1394. <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9640-y>
- Emerenciano, M., Gaxiola, G., & Cuzon, G. (2013b). Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry. *Biomass now-cultivation and utilization*, 12, 301-328. <http://dx.doi.org/10.5772/53902>
- FAO. (2009). *Penaeus vannamei*. In *Cultured aquatic species fact sheets*. FAO. [https://www.fao.org/fishery/docs/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es\\_whitelegshrimp.htm](https://www.fao.org/fishery/docs/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es_whitelegshrimp.htm)
- FAO. (2010). *Estado mundial de la pesca y la acuicultura*. FAO. <http://www.fao.org/docrep/013/i1820s/i1820s00.htm>

- FAO. (2016). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos*. FAO. <https://openknowledge.fao.org/items/1d867839-6104-470f-918d-e821ea329cf4>
- FAO. (2022). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Frías-Espericueta, M.G. & Páez-Osuna, F. (2001). Toxicidad de los compuestos de nitrógeno en camarones. En: F. Páez-Osuna (Ed.), *Camaricultura y Medio Ambiente* (pp. 253-276). Universidad Nacional Autónoma de México. [Archivo PDF] <https://cesaibc.org/pdf/infointeres/crustaceos/toxicidadamonio.pdf>
- Furtado, P. S, Poersch, L. H, Wasielesky, W. (2011) Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems. *Aquaculture*, 321, 130–135. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.08.034>
- Gamboa-Delgado, J., Rodríguez Montes de Oca, G. A., Román Reyes, J. C., Villarreal-Cavazos, D. A., Nieto-López, M., & Cruz-Suárez, L. E. (2017). Assessment of the relative contribution of dietary nitrogen from fish meal and biofloc meal to the growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture research*, 48(6), 2963-2972. [doi:10.1111/are.13129](https://doi.org/10.1111/are.13129)
- Gan, Z., Ellis, P. R., & Schofield, J. D. (1995). Mini review: Gas cell stabilization and gas retention in wheat bread dough. *Journal of Cereal Science*, 21(3), 215-230. <https://doi.org/10.1006/jcsc.1995.0025>
- Gaona, C. A. P., De Almeida, M. S., Viau, V., Poersch, L. H. & Wasielesky, W. (2015). Effect of different total suspended solids levels on a *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) BFT culture system during biofloc formation. *Aquaculture Research*, 48, 1070-1079. <https://doi.org/10.1111/are.12949>
- Gaona C. A. P., Poersch L. H., Krummenauer, D., Foes G. K., Wasielesky, W. J. (2011) The effect of solids removal on water quality, growth and survival of *Litopenaeus vannamei* in a Biofloc Technology culture system. *International Journal of Recirculating Aquaculture*, 12(1). <https://doi.org/10.21061/ijra.v12i1.1354>
- Gaona, C. A. P., Serra, F. D. P.; Furtado, P. S., Poersch, L. H., Wasielesky, W. (2016). Effect of different total suspended solids concentrations on the growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a BFT system. *Aquacultural Engineering*, 72-73, 65-69. [doi: 10.1016/j.aquaeng.2016.03.004](https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2016.03.004)
- Gerardi, M. H. (Ed.), 2003. *The Microbiology of Anaerobic Digesters*. John Wiley and Sons, Inc. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/0471468967>
- Gobbetti, M., & Gänzle, M. (Eds.). (2013). *Handbook on sourdough biotechnology* (Vol. 304). Springer. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-031-23084-4>
- Gómez A., Martínez B. F., Figueroa J. D. C. y González-Hernández J. (1996). Cambios en algunos componentes químicos y nutricionales durante la preparación de tortillas de maíz elaboradas con harinas instantáneas obtenidas por extrusión continua. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 46 (4), 315-319. <https://www.alanrevista.org/ediciones/1996/4/art-10/>
- González-Hernández, J., Figueroa, J. D. C., Martínez, M. L., Vargas, H., & Sánchez-Sinencio, F. (1997). Technological modernization of the alkaline cooking process for the production of masa and

- tortilla. En Gazzinelli, R., Moreira, R. L. & Rodrigues, W. N. (Eds.), *Physics and Industrial Development: Bridging the Gap* (pp. 120-124). World Scientific Publishing Co. [Archivo PDF] [https://www.researchgate.net/publication/227695795\\_Corn\\_Masa\\_and\\_Tortillas\\_from\\_Extruded\\_Instant\\_Corn\\_Flour\\_Containing\\_Hydrocolloids\\_and\\_Lime](https://www.researchgate.net/publication/227695795_Corn_Masa_and_Tortillas_from_Extruded_Instant_Corn_Flour_Containing_Hydrocolloids_and_Lime)
- González-Martínez, S. (1984). Biological treatability of the wastewaters from the alkaline cooking of maize (Indian corn). *Environmental Technology Letters*, 5(1-11), 365-372. <https://doi.org/10.1080/09593338409384287>
- Hai-Hong, H., Chao-Yun, L., Tao, L., Yan-Ju, L., Pin-Hong, Y., y Meng-Xiang, W. (2022). Effects of carbon-to-nitrogen ratio (C: N) on water quality and growth performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in the biofloc system with a salinity of 5‰. *Aquaculture Research*, 53(15), 5287-5299. <https://doi.org/10.1111/are.16013>
- Han, J. E., Choi, S.-K., Han, S.-H., Lee, Seung C., Jeon, H. J., Lee, C., Kim, K. Y., Lee, Young S., Park, S. C., Rhee, G., Park, S. Y., Kim, J.-S., Park, S., Kim, J. H. & Lee, K.-J. (2020). Genomic and histopathological characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from an acute hepatopancreatic necrosis disease outbreak in Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) cultured in Korea. *Aquaculture*, 524(735284). [doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735284](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735284)
- Hassan, S. H., Abd el Nasser, A. Z., & Kassim, R. M. (2019). Electricity generation from sugarcane molasses using microbial fuel cell technologies. *Energy*, 178, 538-543. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.04.087>
- Henriksson, P.J.G.; Järviö, N.; Jonell, M.; Guinée, J.B. & Troell, M. (2018). The Devil in the Details—The Carbon Footprint of a Shrimp. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 16(1), 10–11. [doi:10.1002/fee.1748](https://doi.org/10.1002/fee.1748)
- Hernández-Gurrola, J. A. (2016). *Caracterización de la calidad de agua en un sistema intensivo de cultivo de camarón blanco Litopenaeus vannamei, en condiciones de alta salinidad con recambio de agua limitado* [Tesis de Maestría, Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S. C.]. <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/505>
- Hou, T., Chen, N., Tong, S., Li, B., He, Q., & Feng, C. (2019). Enhancement of rice bran as carbon and microbial sources on the nitrate removal from groundwater. *Biochemical Engineering Journal*, 148, 185-194. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.07.010>
- Hynes, H.B.N. (1970). *The Ecology of Running Waters*. Liverpool University Press. [Archivo PDF]. [https://books.google.com.mx/books/about/The\\_Ecology\\_of\\_Running\\_Waters.html?id=cnBiPQAACAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.com.mx/books/about/The_Ecology_of_Running_Waters.html?id=cnBiPQAACAJ&redir_esc=y)
- Ibarra, E., Llanes, J. E., & Rodríguez, B. (2019). Nutritional characterization of biofloc developed with water from the Ecuadorian Pacific for growing *Litopenaeus vannamei*. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 53(4). <https://www.cjasience.com/index.php/CJAS/article/view/929>
- INAPESCA. (2018). *Acuacultura Camarón blando del Pacífico. Acuacultura Comercial*. INAPESCA. <https://www.gob.mx/imipas/acciones-y-programas/acuacultura-camaron-blanco-del-pacifico>
- Ju, X. T., Xing, G. X., Chen, X. P., Zhang, S. L., Zhang, L. J., Liu, X. J., Cui, Z. L., Yin, B., Christie, P., Zhu, Z. L., Zhang, F. S. (2009). Reducing environmental risk by improving N management in intensive Chinese

- agricultural systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(9), 3041-3046. <https://doi.org/10.1073/pnas.0813417106>
- Ju, Z. Y., Forster, I., Conquest, L., & Dominy, W. (2008). Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. *Aquaculture nutrition*, 14(6), 533-543. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00559.x>
- Kalagayan, H., Godin, D., Kanna, R., Hagino, G., Sweeney, J., Wyban, J., & Brock, J. (1991). IHNN virus as an etiological factor in runt-deformity syndrome (RDS) of juvenile *Penaeus vannamei* cultured in Hawaii. *Journal of the World Aquaculture society*, 22(4), 235-243. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1991.tb00740.x>
- Kaya, D., Genc, M. A., Aktas, M., Yavuzcan, H., Ozmen, O., & Genc, E. (2019). Effect of biofloc technology on growth of speckled shrimp, *Metapenaeus monoceros* (Fabricus) in different feeding regimes. *Aquaculture Research*, 50(10), 2760-2768. <https://doi.org/10.1111/are.14228>
- Minabi, K., Sourinejad, I., Alizadeh, M., Ghatrami, E. R., & Khanjani, M. H. (2020). Effects of different carbon to nitrogen ratios in the biofloc system on water quality, growth, and body composition of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. *Aquaculture International*, 28, 1883-1898. <https://doi.org/10.1007/s10499-020-00564-7>
- Khalil, M., Sourinejad, I., Alizadeh, M., Ghatrami, E. R., & Khanjani, M. H. (2020). Effects of different carbon to nitrogen ratios in the biofloc system on water quality, growth, and body composition of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. *Aquaculture International*, 28, 1883-1898. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10499-020-00564-7>
- Khanjani, M. H., Sharifinia, M., & Emerenciano, M. G. C. (2023). A detailed look at the impacts of biofloc on immunological and hematological parameters and improving resistance to diseases. *Fish & Shellfish Immunology*, 137, 108796.
- Khatoon, H., Banerjee, S., Yuan, G. T. G., Haris, N., Ikhwanuddin, M., Ambak, M. A., & Endut, A. (2016). Biofloc as a potential natural feed for shrimp postlarvae. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 113, 304-309. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.04.006>
- 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.p 362–371. <https://doi.org/10.1111/are.12319>
- Lewis, R.R. III, Phillips, M. J., Clough, B. & Macintosh, D. J. (2003). *Thematic Review on Coastal Wetland Habitats and Shrimp Aquaculture*. FAO. Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment. <https://www.doc-developpement-durable.org/file/Elevages/Crevettes/FinalMangrove.pdf>
- Lightner, D. V. (1996). Epizootiology, distribution and the impact on international trade of two penaeid shrimp viruses in the Americas. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 15(2), 579-601. <https://doi.org/10.20506/rst.15.2.944>
- Lin, Y. C., & Chen, J. C. (2001). Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 259(1), 109-119. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(01\)00227-1](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(01)00227-1)

- Lin, Y. C., & Chen, J. C. (2003). Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 224(1-4), 193-201. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00220-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00220-5)
- Li, E., Xu, C., Wang, X., Wang, S., Zhao, Q., Zhang, M., Qin, J. G & Chen, L. (2018). Gut Microbiota and its Modulation for Healthy Farming of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26(3), 381–399. <https://doi.org/10.1080/23308249.2018.1440530>
- Luo, G. Z., Avnimelech, Y., Pan, Y. F., & Tan, H. X. (2013). Inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge. *Aquacultural engineering*, 52, 73-79. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.09.003>
- Maldonado-Hernández, I., Leos-Rodríguez, J.A., Aguilar-Gallegos, N., Sagarnaga-Villegas, L.M. & Astorga-Ceja, J. (2023). Transición a la intensificación sostenible en el cultivo de camarón: retos y oportunidades. *Economía Agraria y Recursos Naturales*, 23(2), 143-165. <https://doi.org/10.7201/earn.2023.02.06>
- Mariscal-Lagarda M.M., Páez-Osuna F. (2014). Mass balances of nitrogen and phosphorus in an integrated culture of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) with low salinity groundwater: A short communication. *Aquacultural Engineering*, 58:107-112. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2013.12.003>
- Martínez, L., & Enriquez, F. (2007). Study of the benthic fauna in a discharge lagoon of a shrimp farm with special emphasis on polychaeta. *Journal of Biological Sciences*, 7(1), 12-17. <https://doi.org/10.3844/ojbsci.2007.12.17>
- Martínez, M. E. (2014). *Niveles de nutrientes residuales, ecoeficiencia, desempeño productivo y estado fisiológico de Litopenaeus vannamei a diferentes niveles de proteína por efecto de micro biota en cultivos hiperintensivos* [Tesis de Maestría, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C]. <https://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/283>
- Martínez-Córdova, L. R., Martínez Porchas, M., & Cortés-Jacinto, E. (2009). Camaronicultura mexicana y mundial: ¿actividad sustentable o industria contaminante? *Revista internacional de contaminación ambiental*, 25(3), 181-196. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-49992009000300006&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-49992009000300006&script=sci_arttext)
- Marquez-Escalante, J. A., Carvajal-Millan, E., Yadav, M. P., Kale, M., RasconChu, A., Gardea, A. A., Valenzuela-Soto, E. M., Lopez-Franco, Y. L., Lizardi-Mendoza, J., & Faulds, C. B. (2018). Rheology and microstructure of gels based on wheat arabinoxylans enzymatically modified in arabinose to xylose ratio. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(3), 914-922. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8537>
- Ma, T., & Zuazaga, G. (1942). Micro-Kjeldahl determination of nitrogen. A new indicator and an improved rapid method. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*, 14(3), 280-282. <https://doi.org/10.1021/i560103a035>
- Mex-Álvarez, R. M. J., Garma-Quen, P. M., Bolívar-Fernández, N. J. & Guillén-Morales, M. M. (2016). Análisis proximal y fitoquímico de cinco variedades de maíz del Estado de Campeche, México. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 12(2), 74-80. <https://doi.org/10.23913/ciba.v6i11.64>

- Millero, F.J. (Ed.), 1996. *Chemical Oceanography*. 2nd ed. CRC Press. [Archivo PDF]. [https://books.google.com.mx/books?id=KhqYHXfcT0gC&lpg=PA1&ots=7Dq2SL8rzu&dq=Millero%2C%20F.J.%20\(Ed.\)%2C%201996.%20Chemical%20Oceanography.%202nd%20ed.%20CRC%20P ress.&lr&hl=es&pg=PA1#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=KhqYHXfcT0gC&lpg=PA1&ots=7Dq2SL8rzu&dq=Millero%2C%20F.J.%20(Ed.)%2C%201996.%20Chemical%20Oceanography.%202nd%20ed.%20CRC%20P ress.&lr&hl=es&pg=PA1#v=onepage&q&f=false)
- Mohd-Khairul, S. A., Mahyudin, N. A., Abas, F., Jamaludin, N.-S., & Mahmud-Ab Rashid, N. K. (2022). The proximate composition and metabolite profiling of sugarcane (*Saccharum officinarum*) molasses. *Malaysian Applied Biology*, 51(2), 63–68. <https://doi.org/10.55230/mabjournal.v51i2.2259>
- Monroy-Dosta, M. D. C., Lara-Andrade, D., Castro-Mejía, J., Castro-Mejía, G., & Coelho-Emerenciano, M. G. (2013). Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de tilapia. *Revista de biología marina y oceanografía*, 48(3), 511-520. <https://doi.org/10.4067/s0718-19572013000300009>
- Moreno-Figueroa, L. D. (2017). *Cultivo intensivo foto-heterotrófico del camarón blanco Litopenaeus vannamei (Boone, 1931) en alta salinidad con reposición mínima de agua* [Tesis de Doctorado, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C] <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/2365>
- Mugwanya, M., Dawood, M. A., Kimera, F., & Sewilam, H. (2021). Biofloc systems for sustainable production of economically important aquatic species: A review. *Sustainability*, 13(13), 7255. <https://doi.org/10.3390/su13137255>
- Naylor R., Goldberg R.J.H., Primavera J.H., Kautsky N., Beveridge M.C.M., Clay J., Folke C., Lubchenco J., Mooney H. & Troell M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405, 1017-1024. <https://doi.org/10.1038/35016500>
- Newcombe, C. P., & MacDonald, D. D. (1991). Effects of suspended sediments on aquatic ecosystems. *North American journal of fisheries management*, 11(1), 72-82. [https://doi.org/10.1577/1548-8675\(1991\)011%3C0072:eossoa%3E2.3.co;2](https://doi.org/10.1577/1548-8675(1991)011%3C0072:eossoa%3E2.3.co;2)
- Noguera-Muñoz, F. A., García B., Ponce-Palafox, J. T., Wicab-Gutierrez, O., Castillo-Vargasmachuca, S., y García, J. (2021). Sustainability Assessment of White Shrimp (*Penaeus vannamei*) Production in Super-Intensive System in the Municipality of San Blas, Nayarit, Mexico. *Water*, 13(3), 304. <https://doi.org/10.3390/w13030304>
- Otoshi, C.A., Naguwa, S.S., Falesch, F.C. & Moss, S.M. (2007). Commercial-scale RAS trial yields record shrimp production for Oceanic Institute. *Global Aquaculture Advocate*, 10(6), 74–76. <https://www.globalseafood.org/advocate/commercial-scale-ras-trial-yields-record-shrimp-production/>
- Páez-Osuna F. (2001). The environmental impact of shrimp aquaculture: Causes, effects, and mitigating alternatives. *Environmental Management*, 28, 131-140. <https://doi.org/10.1007/s002670010212>
- Páez-Osuna F. (2005). Retos y perspectivas de la camaronicultura en la zona costera. *Revista latinoamericana de recursos naturales*, 1, 21–31. <https://biblat.unam.mx/hevila/Revistalatinamericanaderecursosnaturales/2005/vol1/no1/2.pdf>
- Palmonari, A., Cavallini, D., Sniffen, C. J., Fernandes, L., Holder, P., Fagioli, L., Fusaro I., Biagi, G., Formigoni, A., Mammi, L. (2020). Characterization of molasses chemical composition. *Journal of dairy science*, 103(7), 6244-6249. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17644>

- Pande, S. V., Khan, R. P. & Venkitasubramanian, T. A. (1963). Microdetermination of lipids and serum total fatty acids. *Analytical Biochemistry*, 6(5), 415-423. doi: [10.1016/0003-2697\(63\)90094-0](https://doi.org/10.1016/0003-2697(63)90094-0)
- Panigrahi, Akshaya; Sundaram, Mani; Chakrapani, Saranya; Rajasekar, Satishkumar; Syama Dayal, Jagabattula & Chavali, G. (2018). Effect of carbon and nitrogen ratio (C:N) manipulation on the production performance and immunity of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in a biofloc-based rearing system. *Aquaculture Research*, 50(1), -. doi:[10.1111/are.13857](https://doi.org/10.1111/are.13857)
- Pedroza-Islas, R. & Durán, C. 1990. Aerobic treatment of maize-processing wastewater in a 50 liter rotating biological reactor. *Biological wastes*, 32(1), 17-27. [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(90\)90069-5](https://doi.org/10.1016/0269-7483(90)90069-5)
- Pérez-Pérez, N.C. (2012). *Potencial del concentrado de nejayote pre-tratado como sustrato para la producción de bioetanol* [Tesis de Maestría, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.]. <http://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1006/245>
- Pflugfelder, R. L., Rooney, L. W. y Waniska, R. D. (1988). Dry matter losses in commercial corn masa production. *Cereal Chem*, 65(2): 127-132. [https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1988/documents/65\\_127.pdf](https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1988/documents/65_127.pdf)
- Ponce-Palafox, J.P. Martínez-Palacios, C. A. y Ross, L. G. (1997). The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture*, 157(1-2):107-115. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(97\)00148-8](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(97)00148-8)
- Pulido-Pérez, R. & Escárcega-Pliego, C. A. (1986). *Modelo cinético para reactores biológicos rotatorios usados en el tratamiento aerobio de efluentes líquidos de la industria del maíz* [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. <https://repositorio.unam.mx/contenidos/3513241>
- Rajkumar, M., Pandey, P.K., Aravind, R., Vennila, A., Bharti, V., & Purushothaman, C.S. (2015). Effect of different biofloc system on water quality, biofloc composition and growth performance in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture Research*, 47, 3432-3444. <https://doi.org/10.1111/are.12792>
- Ramírez-Romero, G., Reyes-Velazquez, M. & Cruz-Guerrero, A. (2013). Estudio del Nejayote como medio de crecimiento de probióticos y producción de bacteriocinas. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12(2), 463-471. <https://www.redalyc.org/pdf/620/62029966009.pdf>
- Ramos-Sotelo, H. (2021). *Evaluación del Cultivo Integrado Camarón – Hortalizas sobre la Producción y Parámetros de Calidad de Tomate, Albahaca y Lechuga* [Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de Sinaloa]. [https://prbdoc.uas.edu.mx/wp-content/uploads/2021/10/2021.TESIS\\_HUMB\\_RAMOS\\_SOTELO.pdf](https://prbdoc.uas.edu.mx/wp-content/uploads/2021/10/2021.TESIS_HUMB_RAMOS_SOTELO.pdf)
- Ray, A. J., Lewis, B. L., Browdy, C. L., & Leffler, J. W. (2010). Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. *Aquaculture*, 299(1-4), 89-98. doi:[10.1016/j.aquaculture.2009.11.021](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.11.021)
- Ren, W., Wu, H., Guo, C., Xue, B., Long, H., Zhang, X., Cai, X., Huang, A. & Xie, Z. (2021). Multi-strain tropical *Bacillus* spp. as a potential probiotic biocontrol agent for large-scale enhancement of mariculture water quality. *Frontiers in Microbiology*, 12 (699378). doi: [10.3389/fmicb.2021.699378](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.699378)

- Rosentrater, K. A. (2006). A review of corn masa processing residues: Generation, properties, and potential utilization. *Waste Management*, 26(3), 284–292. [doi:10.1016/j.wasman.2005.03.010](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2005.03.010)
- Salmerón-Alcocer, A., Rodríguez-Mendoza, N., Pineda-Santiago, V., Cristiani-Urbina, E., Juárez-Ramírez, C., Ruiz-Ordaz, N., & Galíndez-Mayer, J. (2003). Aerobic treatment of maize-processing wastewater (nejayote) in a single-stream multi-stage bioreactor. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 2(5), 401–406. [doi:10.1139/s03-046](https://doi.org/10.1139/s03-046)
- Samocha, T. M. (2019). *Sustainable Biofloc Systems for Marine Shrimp*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-02628-6>
- Sánchez-González, M., Blanco-Gámez, A., Escalante, A., Valladares, A. G., Olvera, C., & Parra, R. (2011). Isolation and characterization of new facultative alkaliphilic *Bacillus flexus* strains from maize processing waste water (nejayote). *Letters in Applied Microbiology*, 54(4), 1-7. [doi:10.1111/j.1472-765X.2011.03021.x](https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03021.x)
- Sánchez-Muros, M. J., Renteria, P., Vizcaino, A., & Barroso, F. G. (2020). Innovative protein sources in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) feeding. *Reviews in Aquaculture*, 12(1), 186-203. <https://doi.org/10.1111/raq.12312>
- Sá, M. V. D. C., Cavalcante, D. D. H. & Lima, F. R. D. S. (2019). Dissolution rates of hydrated lime, Ca (OH) 2 in fresh, oligohaline, mesohaline and euhaline waters and its significance for liming of shrimp culture ponds. *Aquaculture Research*, 50(6), 1618-1625. <https://doi.org/10.1111/are.14039>
- Schneider, O., Sereti, V., Eding, E. H., & Verreth, J. A. J. (2006). Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. *Aquacultural engineering*, 32(3-4), 379-401.
- Schweitzer, R., Arantes, R., Costódio, P.F.S., do Espírito Santo, C.M., Arana, L.V., Seiffert, W.Q. & Andreatta, E.R. (2013). Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. *Aquaculture Engineering*, 56, 59-70. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaeng.2013.04.006>
- Schweitzer, R., Baccarat, R. F. C., Gaona, C. A. P., Wasielesky Jr, W., & Arantes, R. (2024). Concentration of suspended solids in superintensive culture of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* with biofloc technology (BFT): A review. *Reviews in Aquaculture*, 16(2), 785-795. [doi:10.1111/raq.12867](https://doi.org/10.1111/raq.12867)
- Sitanggang, L. P., & Amanda, L. (2019). Analisa kualitas air alkalinitas dan kesadahan (hardness) pada pembesaran udang putih (*Litopenaeus vannamei*) di Laboratorium Animal Health Service binaan PT. Central Proteina Prima Tbk. Medan. *TAPIAN NAULI: Jurnal Penelitian Terapan Perikanan dan Kelautan*, 1(1), 29-35. [https://www.stpsibolga.ac.id/ojs/index.php/TAPIAN\\_NAULI/article/view/19](https://www.stpsibolga.ac.id/ojs/index.php/TAPIAN_NAULI/article/view/19)
- Sjölin, M., Thuvander, J., Wallberg, O., & Lipnizki, F. (2019). Purification of sucrose in sugar beet molasses by utilizing ceramic nanofiltration and ultrafiltration membranes. *Membranes*, 10(1), 5. <https://doi.org/10.3390/membranes10010005>
- Skinner, K., & Hales, J. (1995). Dosages for Adjusting Alkalinity. *Journal of the Swimming Pool and Spa Industry*, 1(1), 14-20. [https://cpo.training/wp-content/uploads/2022/03/ob\\_jspsi\\_v1n1\\_14-20\\_dosages.pdf](https://cpo.training/wp-content/uploads/2022/03/ob_jspsi_v1n1_14-20_dosages.pdf)

- Solorzano, L. (1969). Determination of ammonia in natural waters by the phenolphthorite method. *Limnology and oceanography*, 14(5), 799-801. <https://doi.org/10.4319/lo.1969.14.5.0799>
- Sotelo, Á., Mendoza, J., & Argote, R. M. (2002). Contenido de ácido fítico en algunos alimentos crudos y procesados: Validación de un método colorimétrico. *Revista de la Sociedad Química de México*, 46(4), 301-306. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S058376932002000400002&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S058376932002000400002&lng=es&tlng=es).
- Surawut S, Suntara K, Puckdee W, Kunsook C, Kanjanavas P, Kompatiparn A. & Leeruksakiat P. (2023). Decreased Severity of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease in White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by Mixed Culture of *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* and *Bacillus megaterium*. *Tropical Life Sciences Research*, 34(1), 85. [doi: 10.21315/tlsr2023.34.1.6](https://doi.org/10.21315/tlsr2023.34.1.6).
- Téllez Pérez, V. (2017). *Aplicación foliar y edáfica de nejayote en el cultivo de maíz azul criollo en Amozoc de Mota, Puebla* [Tesis de Maestría, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/server/api/core/bitstreams/c41977bf-60b4-4dc6-b695-0a2af3742aa6/content>
- Téllez-Pérez, V., López-Olguín, J. F., Aragón, A., y Zayas-Pérez, M. T. (2018). Residual sludge from “nejayote” as substrates for the germination of native blue maize seeds. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 34(3), 395-404. <https://doi.org/10.20937/rica.2018.34.03.03>
- Timmons, M. B. & Vinci, B. J. (2022). *Recirculating aquaculture* (5th Ed). Cayuga Aqua Ventures.
- Tinh, T. H., Kokou, F., Hai, T. N., Verreth, J. A., & Verdegem, M. C. (2023). Effects of feed, carbohydrate addition and stocking density on Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production. *Aquacultural Engineering*, 101(102325). <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2023.102325>
- Tinh, T. H., Koppenol, T., Hai, T. N., Verreth, J. A., & Verdegem, M. C. (2021). Effects of carbohydrate sources on a biofloc nursery system for whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 531(735795). <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735795>
- Trejo-González, A., Fera-Morales, A. y Wild-Altamirano., C. (1982). The Role of Lime in the Alkaline Treatment of Corn for Tortilla Preparation. *Modification of Proteins*, 198(9). 245-263. [doi:10.1021/ba-1982-0198.ch009](https://doi.org/10.1021/ba-1982-0198.ch009)
- Tsikis, D. (2005). Review Methods of quantitative analysis of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in human biological fluids. *Free radical research*, 39(8), 797-815. <https://doi.org/10.1080/10715760500053651>
- Unzueta-Bustamante, Marco Linné, Silveira-Cofficny, Raquel, Prieto, Adela A., Aguirre-Guzmán, Gabriel, & Vázquez-Juárez, Ricardo. (2004). Susceptibilidad de *Litopenaeus schmitti* y *Cherax quadricarinatus* al virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV). *Ciencias Marinas*, 30(4), 537-545. <https://www.redalyc.org/pdf/480/48030404.pdf>
- Valderrama-Bravo, C., Gutiérrez-Cortez, E., Contreras-Padilla, M., Rojas-Molina, I., Mosquera, J. C., Rojas-Molina, A., Beristain, F. & Rodríguez-García, M. E. (2012). Constant pressure filtration of lime water

- (nejayote) used to cook kernels in maize processing. *Journal of Food Engineering*, 110(3), 478-486. [doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.12.018](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.12.018)
- Valenzuela-Vázquez, U., Contreras-Jácquez, V., Camacho-Ruiz, R.M., Assaff-Torres, A. L., Mateos-Díaz y J.C., Arellano-Plaza, M. (2017). Obtención de carbohidratos fermentables a partir de residuos de la industria de nixtamalización. *Memorias*. [Archivo PDF]. [https://www.researchgate.net/publication/331134506\\_Obtencion\\_de\\_carbohidratos\\_fermentables\\_a\\_partir\\_de\\_residuos\\_de\\_la\\_industria\\_de\\_la\\_nixtamalizacion](https://www.researchgate.net/publication/331134506_Obtencion_de_carbohidratos_fermentables_a_partir_de_residuos_de_la_industria_de_la_nixtamalizacion)
- Van Huis, J. Van Herbeeck, H. Klunder, E. Mertens, A. Halloran, G. Muir & P. Vantomme. (2013). Edible insects: future prospects for food and feed security. Forestry Paper no 171. FAO. <https://www.fao.org/4/i3253e/i3253e.pdf>
- Van Wyk, P., Davis-Hodgkins, M., Laramore, R., Main, K. L., Mountain, J., & Scarpa, J. (1999). *Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems*. Harbor Branch Oceanographic Institution. [Archivo PDF]. [https://www.researchgate.net/profile/John-Scarpa/publication/242621708\\_Farming\\_Marine\\_Shrimp\\_in\\_Recirculating\\_Fresh\\_Water\\_Systems/links/574c4f0508ae8d6e6a7b678c/Farming-Marine-Shrimp-in-Recirculating-Fresh-Water-Systems.pdf](https://www.researchgate.net/profile/John-Scarpa/publication/242621708_Farming_Marine_Shrimp_in_Recirculating_Fresh_Water_Systems/links/574c4f0508ae8d6e6a7b678c/Farming-Marine-Shrimp-in-Recirculating-Fresh-Water-Systems.pdf)
- Velasco-Martinez, M., Angulo, O., Vazquez-Couturier, D. L., Arroyo-Lara, A., & Monroy-Rivera, J. A. (1997). Effect of dried solids of nejayote on broiler growth. *Poultry science*, 76(11), 1531-1534. [doi:10.1093/ps/76.11.1531](https://doi.org/10.1093/ps/76.11.1531)
- Vinatea, L., Gálvez, A.O., Browdy, C.L., Stokes, A., Venero, J., Haveman, J., Lewis, B.L., Lawson, A., Shuler, A., & Leffler, J. W. (2010). Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: interaction of water quality variables. *Aquacultural Engineering*, 42(1), 17-24. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2009.09.001>
- Vinatea, L. (2006). *Principios Químicos de Calidad de Agua en Acuicultura. Una revisión para peces y camarones*. Segunda edición. [Archivo PDF]. [https://www.academia.edu/50857947/Libro\\_de\\_Luis\\_Vinatea\\_Principios\\_Quimicos\\_Calidad\\_de\\_Agua\\_en\\_Acuicultura\\_Espa%C3%B1ol\\_2\\_edici%C3%B3n](https://www.academia.edu/50857947/Libro_de_Luis_Vinatea_Principios_Quimicos_Calidad_de_Agua_en_Acuicultura_Espa%C3%B1ol_2_edici%C3%B3n)
- 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(1-4), 396-403. [doi:10.1016/j.aquaculture.2006.04.030](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.030)
- Whyte, J. N. (1987). Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. *Aquaculture*, 60(3-4), 231-241. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(87\)90290-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90290-0)
- Xu, W. J., Morris, T. C., & Samocha, T. M. (2016). Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. *Aquaculture*, 453, 169-175. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.021>
- Yong-Chin, L. & Jiann-Chu, C. (2001). Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 259(1), 109-119. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(01\)00227-1](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(01)00227-1)

Zar, J.H. (2010) *Biostatistical Analysis* (5th Ed.). Prentice-Hall/Pearson.

Zemor, J. C., Wasielesky, W., F6es, G. K., & Poersch, L. H. (2019). The use of clarifiers to remove and control the total suspended solids in large-scale ponds for production of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc system. *Aquacultural Engineering*, 85, 74-79. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2019.03.001>

Zhou, J. L., Song, S., Huang, Z. X., Yang, L., Jiao, A. G., Liu, Y., & Wang, S. X. (2018). Cultivation of *Pleurotus ostreatus*, a potential candidate for biogas residues degradation. *BioResources*, 13(3), 5432-5449. <https://bioresources.cnr.ncsu.edu/resources/cultivation-of-pleurotus-ostreatus-a-potential-candidate-for-biogas-residues-degradation/>

Zhukova, N. V., & Kharlamenko, V. I. (1999). Sources of essential fatty acids in the marine microbial loop. *Aquatic Microbial Ecology*, 17(2), 153-157. [doi:10.3354/ame017153](https://doi.org/10.3354/ame017153)