



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

BALANCE DE NUTRIENTES Y RESPUESTA  
PRODUCTIVA DE *Litopenaeus vannamei* EN  
MESOCOSMOS CON CERO RECAMBIO DE AGUA Y  
SUSTRATOS ARTIFICIALES

TESIS

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales  
( Orientación Acuicultura )

P r e s e n t a

**Juan Manuel Audelo Naranjo**

La Paz, Baja California Sur, Septiembre de 2011

**ACTA DE LIBERACION DE TESIS**

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 13:00 horas del día 8 del mes de junio del 2011, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

**"BALANCE DE NUTRIENTES Y RESPUESTA PRODUCTIVA DE *Litopenaeus vannamei* EN MESOCOSMOS CON CERO RECAMBIO DE AGUA Y SUSTRATOS ARTIFICIALES"**

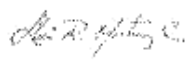
Presentada por el alumno:

**Juan Manuel Audelo Naranjo**

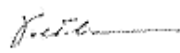
Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN ACUICULTURA.

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

**LA COMISION REVISORA**



DR. LUIS RAFAEL MARTÍNEZ CÓRDOVA  
CO-DIRECTOR DE TESIS



DR. DOMENICO VOLTOLINA  
CO-DIRECTOR DE TESIS



DR. FRANCISCO JAVIER MAGALLÓN BARAJAS  
CO-TUTOR



DR. HUMBERTO VILLARREAL COLMENARES  
CO-TUTOR

DR. EUGENIO ALBERTO ARAGÓN NORIEGA  
CO-TUTOR

DRA. ELISA BÉRVIERE ZARAGOZA,  
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO



El presente trabajo fue co-dirigido por:

Dr. Domenico Voltolina CIBNOR

Dr. Luis Rafael Martínez Córdova UNISON

Comité Tutorial

Dr. Luis Rafael Martínez Córdova UNISON

Dr. Domenico Voltolina CIBNOR

Dr. Humberto Villarreal Colmenares CIBNOR

Dr. Eugenio Alberto Aragón Noriega CIBNOR

Dr. Francisco Javier Magallón Barajas CIBNOR

Comité Revisor de Tesis

Dr. Luis Rafael Martínez Córdova UNISON

Dr. Domenico Voltolina CIBNOR

Dr. Humberto Villarreal Colmenares CIBNOR

Dr. Eugenio Alberto Aragón Noriega CIBNOR

Dr. Francisco Javier Magallón Barajas CIBNOR

Jurado del Examen de Grado

Dr. Luis Rafael Martínez Córdova UNISON

Dr. Domenico Voltolina CIBNOR

Dr. Humberto Villarreal Colmenares CIBNOR

Dr. Eugenio Alberto Aragón Noriega CIBNOR

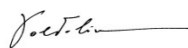
Dr. Francisco Javier Magallón Barajas CIBNOR

Dr. Edilmar Cortés Jacinto (Suplente) CIBNOR

## RESUMEN

Se realizaron dos experimentos de cultivo con el fin de evaluar el efecto de sustratos artificiales sobre el balance de masas de nutrientes, la calidad del agua, el crecimiento, la producción y la condición nutricional de juveniles de *L. vannamei*, confinados en tanques circulares de 1000 L, con duración de 30 días cada uno y sin recambio de agua. En el primer experimento se utilizó un diseño experimental simple, con biomasa inicial de 440 g, comparando el desempeño de cuatro cultivos que recibieron alimento balanceado suministrado según demanda, con el que se obtuvo en cuatro cultivos similares y con el mismo alimento, además de la productividad natural de la biopelícula establecida en sustratos artificiales (Aquamats). En el segundo experimento se empleó un diseño factorial por bloques completamente aleatorizado 2x2, contrastando los mismos tratamientos de alimentación, en presencia o ausencia de sustrato artificial, pero en cultivos con 600 y 800 g de biomasa inicial. En el primer experimento, el peso individual, la biomasa y la supervivencia final del tratamiento con incremento de sustrato superaron en 4.3, 13.0 y 8.5% los valores registrados en los cultivos control y además resultaron 17.8 y 22.2% mejores los valores medios de los factores de conversión alimenticia y económica, respectivamente ( $P < 0.05$ ). En el segundo experimento las diferencias resultaron más importantes con ambos niveles de biomasa: los pesos fueron superiores en 12.6 y 19.7%, la biomasa en 29.9 y 42.3%, la supervivencia en 15.1 y 22.0%, asimismo la conversión alimenticia y económica fueron cerca del 32.0 y 43.0% menores, respectivamente. No se observaron diferencias en los niveles de proteína en la hemolinfa, sin embargo el contenido de proteína en el músculo fue cerca del 21% mayor en los tratamientos con respecto a los controles. Además, en este segundo experimento la concentración de nitrógeno amoniacal resultó significativamente menor en los cultivos con Aquamats ( $0.51 \pm 0.03$  y  $0.05 \pm 0.01$  mg L<sup>-1</sup>) respecto a los controles ( $0.80 \pm 0.01$  y  $1.28 \pm 0.01$  mg L<sup>-1</sup>, correspondientemente). En el balance de masas de nutrientes el alimento balanceado representó el ingreso principal de nitrógeno y fósforo. El agua efluente representó un egreso de nutrientes notablemente menor de los porcentajes indicados en literatura para cultivos con recambios de agua, y además se observaron egresos significativamente menores de nutrientes en el agua de los cultivos con sustrato añadido, en los cuales además fue mayor la recuperación de nitrógeno y fósforo como biomasa de camarón. La acumulación de nutrientes en el sedimento alcanzaron niveles significativamente más altos en los cultivos control ( $45.1$  y  $53.9$  g m<sup>-3</sup> N;  $15.0$  y  $19.0$  g m<sup>-3</sup> P) que en los tratamientos con sustrato añadidos ( $19.0$  y  $20.3$  g m<sup>-3</sup> N;  $11.0$  y  $12.0$  g m<sup>-3</sup> P, respectivamente), en los cuales cerca del 16.0%, y del 5.2 al 21.0% de los ingresos de nitrógeno y fósforo fueron retenidos en la biopelícula adherida a los sustratos artificiales. La presencia de la microbiota presente en la biopelícula, representada por un conjunto de organismos autótrofos y heterótrofos, favoreció la respuesta productiva y la condición fisiológica del camarón, así como la calidad del agua durante el proceso de engorda.

Palabras clave: *L. vannamei*, Balance de nitrógeno, Balance de fósforo, Biopelícula.



Dr. Domenico Voltolina



Dr. Luis Rafael Martínez Córdova

## ABSTRACT

*Litopenaeus vannamei* juveniles were grown in 1000 L circular tanks in two separate 30 days experiments with zero water exchange, aiming to evaluate the effect of artificial substrates on the nutrient mass budgets, on water quality, as well as on growth, biomass yields and nutritional condition. For the first experiment we used a simple experimental design with an initial biomass of 440 g, and compared the results obtained in four tanks fed a formulated diet supplied on demand, to those of four similar cultures fed with the same diet and regime, but with the added natural food growing on artificial substrates (Aquamats). For the second experiment we used the same treatments in a 2x2 completely randomized block experimental design, with two levels of initial biomass (600 y 800 g). The production variables were better in the treatments than in the control cultures in both experiments: in the first, individual weight, final yield and survival were 4.3, 13.0 and 8.5% higher in the cultures with added substrate than in the controls, and the food and economic conversion ratios were also better by 17.8 and 22.2%, respectively. At the end of the second experiment the differences were significantly higher with both values of initial biomass: final weights were better by 12.6 and 19.7%, biomass yields by 29.9 and 42.3%, and survival by 15.1 and 22.0%. In addition, the food and economic conversion ratios were lower by close to 32.0 y 43.0%. There were no differences between the protein concentrations of the hemolymph, whereas the protein content of the shrimp muscles were close to 21% higher in the cultures with Aquamats. Additionally, the water of the cultures with Aquamats had the lower concentrations of dissolved ammonia nitrogen. The highest inputs of nitrogen and phosphorus were those of formulated food, followed by the initial biomass of juvenile shrimp. The amounts of nutrients discharged with the effluent water were lower than those given in literature for open cultures, and were significantly lower in the cultures with Aquamats. In these, the percentages of nutrients recovered as shrimp biomass were higher than in the control cultures. The amounts of nutrients retained in the sediments were significantly higher in the control cultures than in those with artificial substrates, in which close to 16.0% of the nitrogen and from 5.2 to 21.0% of the phosphorus inputs were retained as biofilm on the artificial substrates. The presence of the community of autotrophic and heterotrophic organisms of the biofilm of the artificial substrates had a positive effect on the productive response of the cultures, on shrimp growth and on its physiological condition, as well as on water quality during the production process.

Key words: Closed cultures, *L. vannamei*, Nitrogen budget, Phosphorous budget, Periphyton.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Registro 213331, CVU 204060), y al Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP/103.5/07/1941), por los apoyos otorgados para realizar los estudios de doctorado.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. por la oportunidad de desarrollar mi actividad de investigación como tesista del Programa de Doctorado en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de Recursos Naturales, con orientación en Acuicultura. Se agradece el apoyo parcial del proyecto AC0.38 del CIBNOR.

A Domenico Voltolina por su paciente y escrutadora dirección, por su buena disponibilidad al trabajo en todo momento, por su acuciosa visión para resaltar lo importante, por su capacidad para elaborar artículos de calidad, y por sublimar los regaños.

A Martínez Córdova por animarme a ingresar al programa de doctorado, por la atinada selección del tema de investigación y cuidadosa dirección, y por su habilidad para orientar las publicaciones.

A Alberto Aragón Noriega por su apoyo a mi ingreso y permanencia en el programa de doctorado, por su entusiasmo demostrado a lo largo de este proceso, y por las diversas tareas en común como colegas.

A Magallón Barajas y Villarreal Colmenares por sus valiosas aportaciones y comentarios de apoyo en el incipiente anteproyecto y luego en el desarrollo de la tesis que fueron decisivas en el avance y culminación del presente trabajo.

Al Dr. Ilie Racotta y Dr. Córdova Murueta por sus observaciones y sugerencias para orientar las actividades del difuso planteamiento inicial, y por las acotaciones en los seminarios de tesis.

A la Dra. Elisa Serviere, Lic. Osvelia Ibarra, Lic. Leticia González, Claudia Olachea, Tania Nuñez y Horacio Sandoval por sus apoyos y orientaciones en los diversos trámites, gestiones administrativas y académicas, apoyos estudiantiles y de cómputo, por su disposición a ayudar y trato siempre amable y cordial.

A mis compañeros de generación y equipo de colaboradores Jorge, Susana, Antalia y Gabriela.

A la Dra. Silvia Gómez Jiménez (Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Hermosillo), por el apoyo en los muestreos de campo y análisis de laboratorio de metabolitos en hemolinfa, en conjunto con Alonso A. López y demás colaboradores.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa y la Representación de PROMEP por los apoyos y facilidades otorgados durante el proceso de estudios de doctorado.

A los integrantes y colaboradores del Cuerpo Académico Camaronicultura y Piscicultura, Víctor Nuñez Martínez, Olga Zamudio Armenta, José Luis Madero Pérez, Benito Mejía Sarmiento; Emilio Romero Beltrán, José Luis Guevara Osuna, Pedro Medina Osuna, Vicente Hernández Covarrubias (Dirección Gral. de Investigaciones Pesqueras del Pacífico Norte, CRIP-Mazatlán) por la colaboración en los muestreos de campo y análisis de laboratorio. A Rafael Solís Ibarra por las múltiples asesorías en estadística y amistad. A los estudiantes Omar, Luis José Ángel, Álvaro de Jesús, Roberto, Lupita y Ana.

De antemano pido disculpas por omisiones involuntarias.

## DEDICATORIA

A mis padres (Nicolás<sup>†</sup> y Lupita).

Por impulsarme a estudiar siempre y por su cariño.

A mis hermanos y sobrinos.

Por su aliento y apoyo.

A mi esposa Olga, mis hijos: Dulce Estefanía, Juan Manuel-Legna:  
*y Amy Giselle.*

Con el deseo de estimular su espíritu de superación, y por su amor.



## ÍNDICE

	Pág.
Acta de revisión de examen.....	i
Conformación de comités.....	ii
Resumen.....	iii
Abstract.....	iv
1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	7
2.1. Empleo de sustratos, inducción de alimento natural y calidad de agua	7
2.2. Estado fisiológico de los camarones.....	9
2.3. Balance de masas de nutrientes.....	9
3. Justificación.....	11
4. Objetivos.....	12
4.1. Objetivo general.....	12
4.2. Objetivos particulares.....	12
5. Hipótesis de trabajo.....	13
6. Materiales y métodos.....	14
6.1. Área de estudio y obtención de los organismos experimentales.....	14
6.2. Diseño experimental.....	14
6.3. Registro de variables ambientales.....	16
6.4. Indicadores de crecimiento y de producción.....	17
6.5. Identificación y abundancia de organismos en la biopelícula.....	17
6.6. Condición nutricional de los camarones: proteínas en hemolinfa y músculo.	18
6.7. Balance de masas de nutrientes.....	18
6.8. Análisis de los datos.....	19
7. Resultados.....	20
7.1. Primer Experimento.....	20
7.1.1. Temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y pH.....	20
7.1.2. Compuestos nitrogenados.....	21

7.1.3.	Compuestos fosforados.....	23
7.1.4.	Índices de producción.....	24
7.1.4.1	Supervivencia.....	24
7.1.4.2	Crecimiento.....	25
7.1.4.3	Biomasa cosechada y tasas de conversión alimenticia y económica.....	26
7.1.5.	Composición y biomasa de la biopelícula.....	27
7.1.6.	Concentración de proteína en hemolinfa y músculo de camarón.....	28
7.1.7.	Balance de masa de nitrógeno.....	28
7.1.8.	Balance de masa de fósforo.....	29
7.2.	Segundo Experimento.....	31
7.2.1.	Temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y pH.....	31
7.2.2.	Compuestos nitrogenados.....	32
7.2.3.	Compuestos fosforados.....	34
7.2.4.	Índices de producción.....	35
7.2.4.1	Supervivencia.....	35
7.2.4.2	Crecimiento.....	35
7.2.4.3	Biomasa cosechada y tasas de conversión alimenticia y económica.....	37
7.2.5.	Composición y biomasa de la biopelícula.....	38
7.2.6.	Concentración de proteína en hemolinfa y músculo de camarón.....	38
7.2.7.	Balance de masa de nitrógeno.....	39
7.2.8.	Balance de masa de fósforo.....	41
8.	Discusión.....	43
9.	Conclusiones.....	55
10.	Literatura citada.....	56
11.	Anexos	
11.1.	Anexo 1. Experimento 1. Figuras.	
11.2.	Anexo 1. Experimento 2. Figuras.	
11.3.	Anexo 2. Artículo publicado	
11.4.	Anexo 3. Artículo en prensa	

## ÍNDICE DE FIGURAS

1	Valores medios $\pm$ desviación estándar de la supervivencia (%) calculados semanalmente para los cultivos control (T1) y con Aquamats (T2).	25
2	Pesos medios individuales (g) $\pm$ desviación estándar calculado semanalmente para los cultivos control (T1) y con Aquamats (T2).	26
3	Valores medios $\pm$ desviación estándar de la supervivencia (%) calculados semanalmente para los cultivo control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4).	36
4	Valores medios y desviación estándar del crecimiento en peso (g) calculado semanalmente para los cultivo control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4).	36

## ÍNDICE DE TABLAS

I	Valores medios $\pm$ desviación estándar de las variables de calidad del agua registradas en las unidades experimentales del control y con Aquamats durante el primer experimento.	21
II	Valores medios $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de compuestos nitrogenados ( $\text{mg L}^{-1}$ ) registrados al final del primer experimento en las unidades experimentales control y con Aquamats.	23
III	Valores medios $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de compuestos de fósforo ( $\text{mg L}^{-1}$ ) registradas en los cultivos control y con Aquamats al final del primer experimento.	24
IV	Valores medios $\pm$ desviación estándar de crecimiento y supervivencia registrados en los cultivos control y con Aquamats en el primer experimento.	26
V	Valores medios $\pm$ desviación estándar de las variables de producción del primer experimento.	27
VI	Balance de nitrógeno en los cultivos control y con Aquamats en el primer experimento. Se reportan los valores medios y desviación estándar de los diferentes ingresos y egresos ( $\text{g m}^{-3}$ ).	29
VII	Balance de fósforo en los cultivos control y con Aquamats en el primer experimento. Se reportan los valores medios y desviación estándar de los diferentes ingresos y egresos ( $\text{g m}^{-3}$ ).	30
VIII	Valores medios $\pm$ desviación estándar de las variables de calidad del agua registradas en los cultivo control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) durante el segundo experimento.	32
IX	Concentraciones medias $\pm$ desviación estándar de los compuestos nitrogenados ( $\text{mg L}^{-1}$ en todos los casos) registradas al final del experimento en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) durante el segundo experimento.	34

X	Valores medios $\pm$ desviación estándar de las concentraciones de compuestos de fósforo ( $\text{mg L}^{-1}$ en todos los casos) registradas en los recipientes de cultivo control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) durante el segundo experimento.	35
XI	Valores medios $\pm$ desviación estándar de las variables de crecimiento y supervivencia en los recipientes de cultivo control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) al final del segundo experimento.	37
XII	Valores medios $\pm$ desviación estándar de las variables de producción en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) al final del segundo experimento.	38
XIII	Balance de nitrógeno en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) en el segundo experimento.	40
XIV	Balance de fósforo en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) en el segundo experimento.	42

## **1. INTRODUCCIÓN**

Se ha calculado que al final de la próxima década se consumirán aproximadamente  $130 \times 10^6$  toneladas de productos pesqueros y que, en vista de que la producción de las pesquerías de captura se ha mantenido prácticamente estable, o por lo menos con tasas de incremento inferiores al 30% del aumento de la demanda (Tidwell y Allan, 2001), más del 40% de la disponibilidad de productos pesqueros procederá de la acuicultura, que ha mantenido un ritmo de crecimiento de casi 9 % anual en las últimas cuatro décadas (Gravningen, 2007; FAO, 2008). Entre los sectores de la acuicultura que han demostrado tasas de crecimiento más elevadas, destaca el cultivo de crustáceos, principalmente de camarones peneidos, posiblemente a causa de su alta demanda y de los atractivos precios que estos productos devengan en los mercados internacionales (FAO, 2009).

Otro de los factores que ha contribuido al crecimiento de la camaronicultura, es el conocimiento cada vez mayor que se ha adquirido sobre la biología de las especies que se cultivan. Esto ha permitido entender mejor el desempeño de estos organismos en condiciones de cultivo, lo que de alguna manera hace posible sustituir los cultivos tradicionales de tipo extensivo o semi-intensivo por cultivos de mayor intensificación, mediante los cuales se obtienen densidades altas de productos de valor comercial alto, logrando de esta manera el máximo aprovechamiento posible de los recursos tierra y agua (Stewart, 1997).

Los avances logrados en este contexto generaron el interés de inversionistas, que causó un incremento de las inversiones y de las áreas dedicadas a la camaronicultura, la cual se ha desarrollado principalmente en los países de las zonas tropicales y subtropicales, ello ha propiciado el desarrollo de las economías nacionales, regionales y locales (Tidwell y Allan, 2001; Hishamunda y Ridler, 2002).

Por otra parte, si bien la camaronicultura genera ingresos económicos y bienestar, produce también impactos en las comunidades locales, ya que actúan como ambientes artificiales que intervienen en diversos procesos en la zona costera y que compiten por bienes y servicios ambientales con otras actividades en ambientes de elevada productividad natural, que además proporcionan ingresos y servicios para una población mayor y más diversa que

la que normalmente se beneficia con la producción controlada de camarón (Miranda-Baeza, 2004).

En efecto, no obstante sus beneficios, el desarrollo de esta actividad ha sido cuestionado por sus impactos tanto sociales como ambientales (Páez-Osuna, 2001a; Martínez-Córdova *et al.*, 2009). Entre los primeros, se mencionan principalmente los conflictos por el uso y la tenencia de la tierra y del agua, además de la interferencia de la camaronicultura con otras actividades económicas importantes en las zonas costeras.

Los impactos ambientales se refieren en especial a la devastación de manglares y humedales y a la eutrofización y nutrificación de las áreas costeras, que son causadas por materia orgánica y nutrientes residuales, derivados de alimentos y fertilizantes que se utilizan en las granjas acuícolas. Otros aspectos a considerar como impactos negativos, son la introducción de enfermedades y de organismos patógenos resistentes a los tratamientos convencionales, lo cual ha motivado que la acuicultura se considere socialmente indeseable por ser fuente de estos tipos de desequilibrios ambientales (Primavera, 1997; Naylor *et al.*, 2000; Moss *et al.*, 2001).

Una de las fuentes importantes de eutrofización son los alimentos balanceados, en especial cuando son utilizados inadecuadamente; esto es además uno de los principales problemas para los productores, ya que el alimento balanceado representa uno de los costos operativos más altos en el cultivo del camarón. Esto se debe principalmente a la inclusión de proteína animal, la cual es uno de los ingredientes de mayor costo de estos alimentos (Chamberlain, 1995; Tacon, 2002). Por este motivo es preciso que su manejo sea eficiente, con el fin de optimizar el rendimiento del alimento y aumentar la rentabilidad del cultivo (Burford y Williams, 2001; Samocha *et al.*, 2004).

Está suficientemente documentado que el manejo inadecuado del alimento suplementario ocasiona la degradación de la calidad del agua en los estanques acuícolas en general y camaronícolas en particular, a través de la acumulación de compuestos nitrogenados tóxicos que pueden afectar la salud de los peces y camarones (Hargreaves, 1998; Tacon y Forster, 2003), por lo cual es necesario evaluar la capacidad de asimilación de nutrientes tanto de los sistemas de cultivo, como y principalmente de los cuerpos de agua costeros que reciben los efluentes de estos sistemas (Eisma, 1993; Magallón-Barajas, 2006b).

La capacidad ambiental es un nivel cuantificable de un bien o servicio que un medio ambiente delimitado puede proveer a poblaciones o actividades, sin impactos inaceptables en su habilidad de sostenerlos en una escala intergeneracional, o sea, sin comprometer la viabilidad actual o futura de los recursos que se explotan (Portmann y Lloyd, 1986; Telfor y Robinson, 2003; Magallón-Barajas, 2009). En el caso de la camaronicultura, esto implica que las aguas que se descargan para mantener condiciones adecuadas en los estanques no deben causar impactos inaceptables en los cuerpos de agua receptores.

En los sistemas acuáticos en general y en particular en los estanques dedicados al cultivo de camarones, los microorganismos bentónicos (bacterias y microfitobentos) contribuyen a la fijación y reciclamiento de nutrientes y aportan energía a los demás eslabones de la trama trófica, particularmente al meiobentos y mesobentos, que pueden ser importantes fuentes de alimento para los camarones en cultivo (Focken *et al.*, 1998; Martínez-Córdova *et al.*, 1998; Nunes y Parsons, 2000). Este proceso conocido como “reciclamiento o iteración microbiana”, juega un rol importantísimo en la cadena trófica de estanques acuícolas (Ballester *et al.*, 2010).

La información sobre la cantidad de biomasa de organismos bentónicos que es deseable promover y mantener en los estanques de cultivo es limitada. Además, resulta difícil mantener densidades adecuadas, debido a que la intensidad de la depredación aumenta en paralelo con el incremento de la biomasa de los organismos en cultivo (Martínez-Córdova y Enriquez-Ocaña, 2007). Por ello resulta necesario promover la productividad natural a través de diversos mecanismos, entre los cuales se pueden incluir la fertilización orgánica e inorgánica. La cual, incentiva el crecimiento de fitoplancton y bacterioplancton, y a partir de éstos, el de otras comunidades como zooplancton y bentos que sirven de alimento natural a los organismos cultivados (Porchas-Cornejo *et al.*, 2010).

En condiciones naturales, la biota presente en el estanque abastece a los camarones de compuesto dietéticos esenciales para el crecimiento y la reproducción. Se ha observado que cuando se dispone de suficiente biomasa de alimento natural en los estanques de engorda, ésta puede contribuir de manera importante al crecimiento de los camarones (Parker *et al.*, 1989; Robertson *et al.*, 1993; Martínez-Córdova *et al.*, 1998, 2009; Molina-Poveda *et al.*, 2007; Porchas-Cornejo *et al.*, 2010).

Se ha demostrado que el crecimiento de los camarones mejora cuando el agua contiene microalimento vivo compuesto por bacterias y microalgas, además de detritus colonizado por microorganismos, ya que aportan proteínas y vitaminas adicionales a los contenidos en las dietas artificiales que se suministran para la engorda (Leber y Pruder, 1988; Otsoshi *et al.*, 2001). Adicionalmente, el alimento vivo parece causar un aumento de la actividad de las enzimas digestivas, y consecuentemente mejora la asimilación del alimento (Kumlu y Jones, 1995; Nair *et al.*, 1995). Además de la fertilización orgánica e inorgánica para promover la producción natural, otra práctica poco convencional consiste en el cultivo, trasplante y propagación de poliquetos o microcrustáceos bentónicos.

Una estrategia que se ha empleado con éxito, es la incorporación de sustratos artificiales dentro de las unidades de cultivo, los cuales pueden consistir de redes pesqueras u otros materiales en el fondo de los estanques, o bien sustratos comerciales. Ambos fomentan la adhesión de materia orgánica particulada y disuelta y el establecimiento de biopelículas formadas por comunidades de bacterias, fitobentos y zoobentos. Estas comunidades incrementan la disponibilidad de alimento natural y además mejoran la calidad del agua, ya que funcionan como biofiltros, debido a que los microorganismos asociados utilizan la materia orgánica y los nutrientes disueltos o suspendidos en el agua (Barón-Sevilla *et al.*, 2004; Azim *et al.*, 2005; Martínez-Córdova y Porchas-Cornejo, 2009).

En la actualidad se han desarrollado algunos sustratos artificiales específicamente diseñados para ambas finalidades, que se conocen comercialmente como Aquamats® (Meridian Applied Technology Systems). Estos sustratos consisten en una matriz de fibras poliméricas de polietileno que, debido a su alta porosidad, cumplen la función de biofiltros con una eficiencia mayor que otros materiales utilizados para la misma finalidad, por lo cual su utilización permite soportar densidades de siembra más altas y reducir canibalismo y depredación (Bratvold y Browdy, 2001; Moss y Moss, 2004; Crab *et al.*, 2007).

Las biopelículas que también se definen como perifiton, aunque este término implica una naturaleza exclusivamente vegetal, son conjuntos de organismos pertenecientes a diferentes reinos, géneros y especies, asociados a una superficie viva o inerte (Characklis y Marshall, 1990; Azim y Asaeda, 2005). Las biopelículas están constituidas por varios tipos de organismos unicelulares y multicelulares, tanto autótrofos como heterótrofos, que



constituyen una red trófica compleja en la cual participan también, como consumidores finales, los peces o los camarones presentes en los sistemas acuáticos, estanques u otras unidades de cultivo (Milstein *et al.*, 2003; Wetzel, 2005).

En un sustrato sumergido, tanto natural como artificial, se presenta una sucesión ecológica que inicia al momento de la inmersión, con la adhesión por atracción electrostática de las sustancias orgánicas presentes en solución, que conforman el film primario. Este sirve como sustrato para la posterior colonización de bacterias, protozoos y microalgas bentónicas (principalmente diatomeas) (Hoagland *et al.*, 1982; Christensen, 1989; Allison y Gilbert, 1994), seguidos posteriormente por varias especies de metazoos que utilizan el biofilm como refugio o como alimento (Wellnitz y Rader, 2003; Khatoon *et al.*, 2007a).

Debido a la actividad de bacterias y microalgas, estos sustratos actúan como biofiltros, por lo cual se han empleado para la biorremediación de efluentes de diversas industrias (James *et al.*, 2001; Bender y Phillips, 2004). En particular, en acuicultura los filtros biológicos son importantes para la reducción, a través del proceso de nitrificación bacteriana, de metabolitos tóxicos del nitrógeno como amonio y nitritos (Ling y Chen, 2005; Summerfelt, 2006; Crab *et al.*, 2007; Zamora-Castro *et al.*, 2008).

La intensificación de la acuicultura está limitada por factores importantes como los costos de producción y la calidad del agua, debido a que la intensificación permite por un lado un mejor uso de los estanques, pero por otro, causa una menor eficiencia de conversión del alimento suplementario, que como ya se mencionó es uno de los costos de producción más importantes de esta actividad (Tacon, 2002). A su vez, esta menor eficiencia causa un decremento de la calidad del agua a causa de la acumulación de residuos de alimento no utilizado o mal digerido, de sustancias orgánicas y de compuestos nitrogenados, que tradicionalmente se remedia mediante el incremento de la tasa de recambio del agua (Funge-Smith y Briggs, 1998; Jackson *et al.*, 2003).

Una solución más eficiente es la reutilización de estos residuos mediante el uso de diversas estrategias. Una de ellas es la adición de sustratos ya que, al favorecer la proliferación de biopelículas y de las bacterias asociadas, los nutrientes del alimento no utilizado son transformados en biomasa disponible para los organismos en cultivo, con la ventaja adicional de una mejora en la calidad del agua (Scott y McNeil, 2001; Ronney *et al.*, 2002).

En este estudio se evaluó el efecto del uso de sustratos artificiales sobre la calidad del agua y sobre el balance de masas de nutrientes, se consideró además la condición fisiológica y los parámetros de producción (supervivencia, crecimiento, biomasa cosechable y conversión alimenticia) del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, en condiciones de cultivo intensivo y sin recambio de agua.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Empleo de sustratos, inducción de alimento natural y calidad de agua

Resultados obtenidos por otros autores indican que el alimento natural de los estanques tiene una importancia significativa en la alimentación del camarón y que es necesario realizar más investigaciones enfocadas a la promoción del desarrollo de las comunidades naturales en los estanques, para que sirvan como alimento para los camarones en cultivo (Anderson *et al.*, 1987; Jory, 1995; Martínez-Córdova *et al.*, 1998, 2009; Molina-Poveda *et al.*, 2007; Porchas-Cornejo *et al.* 2010; Ballester *et al.*, 2010).

La fuente de alimento de los camarones varía durante su ciclo de vida. Durante las primeras fases de su desarrollo larvario son consumidores primarios o secundarios y se alimentan de fitoplancton y/o zooplancton (Yúfera *et al.*, 1984), mientras que en las etapas juvenil y adulta son demersales, se distribuyen sobre sustratos con alto contenido de detritus orgánico, microfauna y meiofauna, los cuales constituyen una parte importante de su dieta (Dall, 1967; Moriarty, 1977; Bailey-Brock y Moss, 1992; Rothlisberg, 1998).

Sin embargo, los hábitos de alimentación pueden variar para las diferentes especies, las cuales por su historia de vida y su consecuente equipo enzimático, pueden tener diferentes requerimientos: por ejemplo, *L. vannamei* es omnívoro y requiere alimentos con un contenido de proteína animal menor que *L. stylirostris*, que tiende a ser más carnívoro (Akiyama *et al.*, 1992; Tacon y Forster, 2003).

Existen varias estrategias para fomentar la respuesta productiva del camarón en cultivo y mejorar la calidad del agua, varias de las cuales se refieren al manejo de los estanques de cultivo, principalmente a los protocolos de alimentación y de recambio del agua (Martínez-Córdova, 2002; Coman *et al.*, 2006; Casillas-Hernández *et al.*, 2007).

Otras técnicas prometedoras, tanto económica como ecológicamente, son las que sugieren un incremento de las superficies sumergidas, mediante el uso de materiales orgánicos naturales como hojas de coco, postes de bambú o bagazo de caña (Azim *et al.*, 2001; Azim *et al.*, 2004; Asaduzzaman *et al.*, 2008), o inertes como tubos de PVC, redes, mallas de mosquitero, malla sombra, láminas de plástico, entre otros (Tidwell *et al.*, 1998; Azim *et al.*, 2001; Barón-Sevilla *et al.*, 2004; Erler *et al.*, 2004).

En ambos casos, el incremento de la superficie sumergida tiene el efecto de incrementar no solo el área disponible para los organismos cultivados, sino además la disponibilidad de alimento y de mantener a la vez una mejor calidad del agua (Tidwell *et al.*, 1998; Keshavanath *et al.*, 2001). Existen varios ejemplos de los efectos positivos de esta estrategia. Moss y Moss (2004) encontraron diferencias marcadas en el peso final y en el factor de conversión del alimento de postlarvas del camarón blanco *L. vannamei* cultivadas en presencia o en ausencia de un sustrato artificial.

En otros estudios, dirigidos a evaluar la contribución del perifiton en cultivos de tilapia, Milstein y Omri (2004) y Milstein *et al.* (2005) no encontraron diferencias en el crecimiento de tilapia cultivada a baja densidad con el uso de sustratos artificiales sin suministrar alimento o con raciones menores, en comparación con las alimentadas con dietas balanceadas, por lo cual sugieren que este tipo de acuicultura, que denominan acuicultura orgánica, es una opción viable ecológica y económicamente. Burford *et al.* (2004) emplearon isótopos estables de N para cuantificar la contribución de las epifitas asociadas a diversos sustratos artificiales en la alimentación de postlarvas de *Penaes esculentus*, y encontraron que la biota natural contribuye a la incorporación de productos nitrogenados con entre el 39 y el 51%. Arnold *et al.* (2005 y 2006a y b) cultivaron juveniles de *P. esculentus* y de *P. monodon* a baja y alta densidad con Aquamats como sustrato adicional, y observaron una relación inversa entre crecimiento somático y densidad de siembra. Adicionalmente confirmaron el efecto positivo de la mayor disponibilidad de sustrato y de alimento natural sobre la supervivencia y el crecimiento individual de *P. monodon*. Abreu *et al.* (2007) evaluaron mediante la aplicación de isótopos estables de  $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$  la contribución del alimento natural y del alimento formulado sobre el crecimiento del camarón rosado *Farfantepaneus paulensis* a una densidad de cultivo de 20 organismos  $\text{m}^{-2}$ . De acuerdo a sus resultados, la biopelícula, compuesta por diatomeas, cianobacterias, ciliados y nematodos incrementó el peso final de los camarones en un 150%. Khatoon *et al.* (2009) evaluaron la contribución del perifiton compuesto por *Amphora*, *Navicula* y *Cymbella*, creciendo en sustratos artificiales, como suplemento alimenticio de postlarvas de *P. monodon*, y concluyen que mejora el crecimiento y supervivencia de los camarones.

## **2.2. Estado fisiológico de los camarones**

Una nutrición adecuada favorece la salud de los organismos, y en este contexto es importante la participación de presas naturales cuya calidad dietética complementa los alimentos balanceados que se suministran a los organismos en cultivo (Tacon *et al.*, 2002; Prieto *et al.*, 2006).

Para evaluar el estado fisiológico y nutricional de organismos acuícolas, se han utilizado diversos indicadores, entre ellos la concentración de varios metabolitos sanguíneos. Pascual *et al.* (2003a) encontraron que juveniles de *L. vannamei* alimentados con una dieta balanceada y cultivados al exterior tenían un nivel de proteínas sanguíneas significativamente mayor, que aquellos cultivados con las mismas dietas pero en laboratorio, lo que atribuyeron a la disponibilidad de alimento natural en los estanques al exterior.

## **2.3. Balance de masas de nutrientes**

Una herramienta útil y efectiva tanto para determinar la eficiencia de un sistema productivo, como para evaluar su potencial como fuente de impacto ambiental son los balances de masas, que consisten en contabilizar las cantidades de los materiales introducidos en un proceso o sistema de producción, y de los productos acumulados en el sistema, o que salen del mismo en forma de productos, subproductos y residuos (Martínez-Delgadillo, 2005; Chacón, 2006).

En camaronicultura, los balances de masas pueden servir como guía para mejorar el manejo de los estanques de cultivo y optimizar el uso de los recursos (fertilizantes, alimento, tasa de recambio de agua), además son útiles para evaluar el impacto de las descargas de las granjas sobre el ambiente y para comparar la eficiencia y el impacto potencial de sistemas productivos con características similares (Qi *et al.*, 2001; Casillas-Hernández *et al.*, 2006; Miranda-Baeza *et al.*, 2007).

Los nutrientes que se agregan a los estanques de cultivo están contenidos en los alimentos y en los fertilizantes, además de los que se encuentran disueltos o particulados en el agua que se utiliza para el llenado y los recambios diarios. De acuerdo a la literatura, solo una parte de los nutrientes agregados está contenida en la biomasa de camarón que se cosecha, mientras que la mayor parte es retenida en los sedimentos, o se descarga en diferentes

formas con los efluentes (Funge-Smith y Briggs, 1998; Burford y Williams, 2001; Browdy *et al.*, 2001). Jackson *et al.* (2003) encontraron que en un cultivo intensivo, solamente el 22% del nitrógeno entrante se incorporó a la biomasa del camarón, el 14% quedó en el sedimento, mientras que el 57% se descargó con los efluentes. Thakur y Lin (2003) reportaron que en un cultivo intensivo sin recambios de agua, el camarón asimiló solamente entre el 23 y el 31% y entre el 10-13% de los ingresos totales de nitrógeno y de fósforo, respectivamente.

Se ha estimado que en 1998 la camaronicultura de Sinaloa aportaba aproximadamente el 3.5% del nitrógeno y el 1.2% del fósforo descargados a las aguas del Golfo de California, mientras que en el caso de Sonora los respectivos porcentajes eran el 0.6 y el 1.2% (Páez-Osuna, 2001b). En un estudio más reciente, posiblemente debido tanto a la intensificación como al incremento de la superficie explotada, Miranda-Baeza *et al.* (2009) estimaron que las sumas de las aportaciones de los dos estados alcanzaron valores cercanos al 10.1% de N y al 3.3% de P.

Si se considera la necesidad de incrementar la rentabilidad de la camaronicultura a través de un mejoramiento de la eficiencia de utilización de los alimentos balanceados y de la reducción del impacto de sus descargas, resulta importante evaluar la efectividad del uso de sustratos adicionales mediante el cálculo de los balances de masas, que permiten evaluar las cantidades de los materiales introducidos, comparándolos con los producidos, los acumulados en el sistema de cultivo y los egresados del mismo (Páez-Osuna *et al.*, 2007).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Los conocimientos generados por este proyecto pueden repercutir en la rentabilidad de la industria camaronícola y además pueden contribuir a que esta actividad sea ecológica y socialmente sustentable.

En vista de que el contenido de proteínas es el componente de mayor precio del alimento balanceado y que la eficiencia pobre en su uso representa un factor negativo para la industria camaronícola, tanto desde el punto de vista de rentabilidad económica como de sustentabilidad ecológica, por su impacto sobre los ecosistemas costeros, el presente trabajo, puede contribuir a optimizar el uso de alimento balanceado, y minimizar a la vez el impacto de sus descargas en los cuerpos de agua receptores.

Es por ello que la fase experimental se desarrolló con el fin de contestar las interrogantes siguientes:

¿Es posible mejorar la eficiencia de utilización de los compuestos nitrogenados y fosforados contenidos en los alimentos balanceados? ¿Cómo se puede aumentar la superficie disponible para el establecimiento de comunidades de perifiton? ¿La biopelícula promovida por sustratos artificiales puede contribuir en el reciclaje de los nutrientes en un sistema de cultivo intensivo cerrado, sin perjuicio de la calidad del agua?

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto de la inclusión de sustratos sumergidos artificiales sobre la calidad del agua, los parámetros de producción, el balance de nutrientes y la condición nutricional de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en un sistema de engorda intensiva sin recambio de agua.

### **4.2. Objetivos particulares**

1. Determinar y comparar las variables ambientales (temperatura, oxígeno disuelto, salinidad y pH) en todos los cultivos experimentales.
2. Verificar si la adición de sustratos artificiales es fuente de diferencias significativas en las concentraciones de los nitritos, nitratos, nitrógeno amoniacal total (NAT) y ortofosfatos.
3. Comparar el crecimiento, la supervivencia, la biomasa, y la conversión alimenticia y económica que se obtienen en cultivos intensivos de *L. vannamei* en estanques con cero recambio, con y sin sustrato artificial, a diferentes densidades de siembra.
4. Determinar si la disponibilidad del alimento natural presente en los sustratos artificiales causa cambios en el nivel de proteínas de la hemolinfa y del músculo de los organismos cultivados.
5. Calcular el balance de masas de nitrógeno y fósforo en los cultivos adicionados y no adicionados con sustratos artificiales.



## 5. HIPÓTESIS DE TRABAJO

- a). La actividad de fijación y reciclamiento de nutrientes por las bacterias y microalgas presentes en la biopelícula promovida por los sustratos artificiales contribuirá a mejorar la calidad del agua por su función como biofiltros durante el proceso de engorda del camarón blanco *L. vannamei*.
- b). El crecimiento de las bacterias y microalgas presentes en la biopelícula causa un incremento de la disponibilidad de alimento natural, y el pastoreo de los camarones sobre esta microbiota tendrán un efecto significativo en el balance de masas de nitrógeno y fósforo promoviendo una mayor incorporación de ambos nutrientes a la biomasa de camarón, por lo cual contribuirá a mejorar el crecimiento, la supervivencia, y el factor de conversión del alimento artificial.
- c). Los organismos alimentados con alimento comercial complementado con el alimento natural representado por el perifiton desarrollado sobre el sustrato sintético presentarán una mejor condición nutricional a causa del aporte dietético adicional.

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1. Área de estudio y obtención de los organismos experimentales**

Se realizaron dos experimentos de aproximadamente un mes de duración cada uno, el primero en otoño 2008 y el segundo en primavera-verano 2009, se utilizaron en ambos casos las facilidades de una granja de producción comercial ubicada en el sistema lagunar Urías-La Sirena, Mazatlán, Sinaloa (23° 25' N - 106° 22' W). En ambos casos, los experimentos terminaron en la fecha en las cuales iniciaron las operaciones de cosecha en la granja.

Los juveniles de *L. vannamei*, con un peso aproximado de  $3.0 \pm 0.18$  g para el primer experimento y de  $2.7 \pm 0.19$  g para el segundo, se obtuvieron de un estanque de la misma granja después de verificar en los laboratorios del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo y del Centro de Investigaciones Pesqueras del Instituto Nacional de la Pesca, Unidad Mazatlán, que al inicio de los dos experimentos los camarones enviados a ambos laboratorios no eran portadores del virus de la mancha blanca y de bacterias del género *Vibrio*.

### **6.2. Diseño experimental**

Los dos experimentos se realizaron a cielo abierto y a nivel de mesocosmos, mediante el uso de tanques circulares de polietileno de alta densidad de 1.15 m de altura y  $0.95 \text{ m}^2$  de área de fondo, con  $1.1 \text{ m}^3$  de capacidad y  $1 \text{ m}^3$  de agua. En el primer experimento, que tuvo 33 días de duración (3 de octubre a 4 de noviembre 2008), se utilizaron ocho unidades experimentales sembradas con una biomasa inicial de  $440 \text{ g m}^{-3}$  (aproximadamente 145 camarones en cada unidad experimental y  $153 \text{ organismos m}^{-2}$ ). Se trabajó con un diseño experimental simple en un arreglo completamente al azar con dos tratamientos (presencia y ausencia de sustrato artificial), cada uno con cuatro repeticiones.

En vista que en este primer experimento las diferencias entre los resultados obtenidos con los dos tratamientos resultaron significativas, pero fueron cuantitativamente poco importantes, se decidió verificar si era posible demostrar la efectividad de los sustratos artificiales mediante el uso de biomásas iniciales mayores, que permitiera verificar si era posible obtener el mismo efecto de las superficies sumergidas con una mayor carga biológica.

Con esta finalidad se modificó el diseño experimental, mediante el incremento de la biomasa inicial hasta 600 y 800 g por unidad experimental (aproximadamente 222 y 296 organismos, y 234 y 312 organismos  $m^{-2}$ ). En este caso el diseño experimental fue factorial 2x2 (dos tratamientos, cada uno con dos niveles, con tres réplicas por tratamiento). Como en el caso anterior, el arreglo fue completamente al azar. Este experimento se desarrolló del 26 de mayo al 23 de junio de 2009, con una duración de 29 días.

Se utilizó alimento comercial con 35% de proteína cruda (Camaronina 35, Agribrands Purina Mexico<sup>®</sup>, Cuautitlán, Estado de México), que se suministró por demanda dos veces al día (08:00 y 18:00 horas). La ración diaria se modificó de acuerdo a las indicaciones de bandejas alimentadoras de 36 cm de diámetro con borde de 2.5 cm y fondo de malla mosquitera (Clifford, 1997).

Los sustratos se dispusieron verticalmente en cada unidad experimental de los tratamientos correspondientes, en un arreglo circular y a una distancia de aproximadamente 10 cm de la pared de los recipientes. Con este arreglo se incrementó un 150% el área de superficie total (Arnold *et al.*, 2006b) (superficie del recipiente, que incluye paredes y fondo = 4.8  $m^2$ , superficie de sustratos artificiales = 7.2  $m^2$ ).

Para simular las condiciones naturales de un cultivo comercial, una semana antes del inicio del experimento se adicionó en el fondo de cada recipiente una capa de 10 cm del sedimento superficial (primeros 5 cm) de un estanque camaronero adyacente; esta capa se cubrió con 50 cm de agua filtrada con malla de 300  $\mu m$  que se obtuvo por bombeo directo del estero de Urías. Después de dos días de sedimentación de las partículas en suspensión, se procedió al llenado completo de las unidades experimentales con agua del estero.

No se utilizaron recambios de agua, aunque se repuso semanalmente el agua evaporada de cada unidad experimental con agua del mismo estero (promedio semanal, 5% del volumen total), después de obtener una muestra del agua usada para la reposición, con el fin de determinar las concentraciones de nutrientes disueltos y particulados agregados al sistema.

Con el fin de evitar la estratificación vertical y promover el recambio del agua en contacto con las paredes de las unidades y con la superficie de los Aquamats, se suministró aireación continua mediante un soplador (Sweetwater, 1 HP), distribuida con mangueras y con una piedra difusora por cada unidad experimental.

Antes del inicio del primer experimento, los sustratos artificiales se dejaron sumergidos durante cinco días en un estanque en operación con el fin de permitir la colonización de la microbiota (Burford *et al.*, 2004). Para el segundo experimento, el tiempo de maduración se incrementó a 24 días (Arnold *et al.*, 2006b). En ambos experimentos los recipientes se cubrieron con red de polietileno transparente de 5 mm de luz de malla, para evitar o por lo menos minimizar el escape de los camarones.

### **6.3. Registro de variables ambientales**

El registro de las variables ambientales se realizó con la frecuencia sugerida por Clifford (1997): la temperatura y el oxígeno disuelto se registraron dos veces al día, a las 8:00 y a las 18:00 horas, con un oxímetro YSI modelo 57; la salinidad y el pH se determinaron una vez al día (12:00 horas) con un refractómetro y un potenciómetro de campo, respectivamente.

La concentración de los nutrientes disueltos se determinó una vez por semana antes de la reposición del volumen de agua perdido por evaporación. Con esta finalidad se tomaron muestras de agua de un litro con botellas de plástico, que se rotularon, se guardaron en una hielera y se transportaron al laboratorio donde se mantuvieron en un congelador a  $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

Las concentraciones de amonio, nitritos, nitratos y fosfatos reactivos disueltos se determinaron en muestras de agua filtrada a través de un filtro de fibra de vidrio Whatman GF/C, y la aplicación de la metodología descrita en Strickland y Parsons (1972). El porcentaje y la concentración del amonio no ionizado ( $\text{NH}_3$ ) se calcularon de acuerdo a las ecuaciones de Khoo *et al.* (1977) sugeridas por Spotte y Adams (1983), mediante el uso de los valores de pH, temperatura y salinidad determinados durante el muestreo.

El nitrógeno orgánico disuelto y particulado se determinaron según Holm-Hansen (1968) y Rosales-Hoz (1979), respectivamente, después de separar las dos fracciones por filtración con filtros Whatman GF-C. La concentración del fósforo soluble no reactivo se determinó con el método descrito en Rosales-Hoz (1979) y para el fósforo particulado retenido en los filtros se utilizó la técnica de Solorzano y Sharp (1980).

En cada experimento se determinó el contenido de nitrógeno y fósforo del alimento en cuatro muestras obtenidas en fechas diversas. Al inicio y al final del experimento, se

evaluaron también estos nutrientes en muestras de sedimento, de la biomasa de camarón sembrada y cosechada y de la biopelícula.

Para la determinación del fósforo total presente en estas muestras se utilizó la técnica de digestión descrita en el manual para análisis de suelos de Jackson (1982) y el nitrógeno total se determinó con el método Kjeldhal, de acuerdo al protocolo 940.25 descrito en AOAC (2005).

#### **6.4. Indicadores de crecimiento y de producción**

La estimación del peso medio de los camarones en cultivo se realizó con una frecuencia semanal, se pesaron en forma individual con una balanza digital ( $200 \pm 0.01$  g), 40 organismos de cada unidad experimental. Al final del experimento se calculó la tasa de crecimiento específica (TCE) de cada repetición de los tratamientos, mediante el uso de la siguiente fórmula;

$$TCE = (Pf - Pi) t^{-1} \quad (2)$$

Donde: Pf = Peso final individual, Pi = Peso medio inicial y t = duración en días del experimento.

Para determinar la supervivencia y la biomasa finales, al término del estudio se contaron y pesaron todos los organismos sobrevivientes (Treece, 2000). Los factores de conversión alimenticia y de conversión económica del alimento se calcularon según Lawrence y Houston (1993), que en el primer caso corresponde al número de kilogramos de alimento necesario para la producción de un kilogramo de camarón, mientras que el segundo al costo del alimento suministrado para obtener la misma cantidad de biomasa (precio medio para 2009:  $14.2$  \$  $\text{kg}^{-1}$  de alimento). Con los factores anteriores y el precio medio del camarón vigente al tiempo de las cosechas ( $32$  \$  $\text{kg}^{-1}$  de camarón entero a pié de granja), es posible calcular la ventaja económica representada por el uso de los Aquamats.

#### **6.5. Identificación y abundancia de organismos en la biopelícula**

Al inicio y al final del experimento se obtuvieron muestras de la biota asociada a los sustratos mediante un raspado de un área de  $20 \text{ cm}^2$  (Burford *et al.*, 2004). Las muestras obtenidas se fijaron en alcohol al 70% y se usaron para la identificación de los organismos

a nivel de grupo. Para la estimación de la biomasa se utilizaron submuestras que se secaron en una estufa a 60 °C hasta peso constante.

### **6.6. Condición nutricional de los camarones: proteínas en hemolinfa y músculo**

Al final del experimento se obtuvieron muestras de músculo y de 200 µL de hemolinfa de 10 camarones por cada tratamiento, mediante el uso, en el segundo caso, de una jeringa (1 ml pretratada con anticoagulante de solución isotónica de crustáceos SIC-EDTA) insertada en la base del quinto par de pereiópodos (Pascual *et al.*, 2003b).

El contenido de proteínas del músculo en base seca se determinó con el método Kjeldhal (AOAC, 2005) y para la concentración de proteínas totales en la hemolinfa se utilizó el método del ácido bicinconínico (Smith *et al.*, 1985) mediante un kit comercial (Pierce, cat. #23225).

### **6.7. Balance de masas de nutrientes**

La suma de las masas de los materiales que entran a los estanques debe ser necesariamente igual al total de los egresos, por lo cual el balance de nutrientes de un sistema de cultivo puede ser representado mediante un modelo de caja simple, el cual incluye las posibles rutas de ingreso y de egreso, según la ecuación:

$$F + f + I + S = R + H + M + O \quad (1)$$

Donde los ingresos son: F=alimento balanceado, f=fertilización, I=nutrientes disueltos y particulados presentes en el agua de ingreso, S=postlarvas sembradas; mientras que los egresos son representados por: R=acumulación sedimentaria (que incluye meio- y microbiota asociados a los sedimentos), H=biomasa cosechada, M=macrofauna asociada y O=agua de egreso (Hopkins *et al.*, 1993). En el caso de este estudio, la microbiota presente en los sustratos artificiales se consideró entre los egresos.

En el caso del alimento balanceado (F), se multiplicaron los contenidos medios de nitrógeno (N) y de fósforo (P) determinados en las muestras analizadas en el transcurso del experimento por la cantidad de alimento agregado a cada uno de los recipientes durante el periodo de cultivo.

Para los nutrientes en el agua se consideraron como fuente de ingreso (I) el agua del estero usada inicialmente para el llenado de los estanques y los volúmenes usados para reponer el

agua perdida por evaporación, mientras que para el egreso (O) se consideró exclusivamente el volumen descargado al final de los dos experimentos.

El contenido de nutrientes de la biomasa sembrada y cosechada y de la biopelícula se multiplicó por las biomásas correspondientes. No se detectó la presencia de macrofauna asociada (M), mientras que el contenido de N y P de la micro- y meiofauna asociada a los sedimentos se evaluó conjuntamente con la acumulación sedimentaria, y se relacionó el volumen total de lodo con la proporción inicial y final de los dos nutrientes.

### **6.8. Análisis de los datos**

Los datos de calidad de agua recabados con frecuencia semanal en el transcurso del primer ensayo se compararon mediante pruebas t para datos pareados, y la equivalente prueba no paramétrica de Wilcoxon cuando las pruebas de Lilliefors y F de Fisher demostraron que los datos no eran normales y/u homoscedásticos.

Los datos medios finales de las concentraciones de nutrientes, de peso, de tasa de crecimiento, de biomasa cosechada y de conversión del alimento se compararon mediante pruebas de t o U de Mann Whitney, después de transformación a raíz cuadrada del arcoseno en el caso de los porcentajes de supervivencia (Zar, 1996).

En el segundo experimento, los datos semanales de calidad del agua se compararon mediante pruebas de análisis de varianza de dos vías para observaciones repetidas, después de transformación logarítmica cuando, de acuerdo a los resultados de las pruebas de Lilliefors y de Bartlett, los datos no resultaron normales y/u homoscedásticos.

Cuando fue el caso, el mismo tipo de transformación se utilizó para las pruebas de ANOVA de dos vías que se aplicaron para comparar los valores finales, con la excepción de los porcentajes de supervivencia que se transformaron a las respectivas raíces cuadradas del arcoseno.

Para este experimento las diferencias entre medias se verificaron mediante pruebas t de Holm-Sidak (Cardillo, 2006) y para todas las pruebas se empleó un nivel de significancia de  $\alpha=0.05$ .

## **7. RESULTADOS**

### **7.1. Primer Experimento.**

#### **7.1.1. Temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y pH**

Los valores promedio  $\pm$  la desviación estándar de estos parámetros de la calidad del agua, son presentados en la Tabla I.

En el transcurso del primer experimento, la temperatura mostró tendencias similares en los dos tratamientos, tanto en las lecturas de la mañana como en las de la tarde. Los valores extremos fueron 25.4 y 39.9 °C, y los valores medios semanales registrados en la mañana variaron entre 28 y 30 °C, y en la tarde de 32 a 33 °C. No se encontraron diferencias entre tratamientos ya que, si se toman en cuenta todos los datos registrados en el transcurso del experimento, las medias globales fueron 28.6 y 28.7 °C en la mañana para los cultivos control y con sustratos artificiales, mientras que las respectivas medias de la tarde fueron 31.8 y 31.9 °C.

Con pocas excepciones, las concentraciones de oxígeno variaron entre 3 y 4 mg L<sup>-1</sup> (Tabla I). Las medias calculadas con las lecturas de la mañana fueron 4.1 $\pm$ 0.8 y 3.8 $\pm$ 0.9 mg L<sup>-1</sup> en el control y tratamiento con Aquamats, respectivamente, y los valores medios de la tarde fueron de 3.7 $\pm$ 0.7 y 3.5 $\pm$ 0.7 mg L<sup>-1</sup>. En ambos casos, las diferencias entre los dos tratamientos no resultaron significativas.

Con la excepción de la fecha inicial, los valores medios semanales de pH se mantuvieron entre 7.8 y 8.2 y variaron con la misma tendencia en los dos tratamientos. Las medias calculadas con los registros diarios de todo el experimento fueron en promedio 7.8, sin diferencias significativas entre los cultivos control y los adicionados con Aquamats.

En todos los cultivos la salinidad presentó la misma tendencia, con valores iniciales cercanos a 35. Durante el experimento los valores medios semanales variaron entre 34 y 36 y aumentaron hasta aproximadamente 40 en el transcurso de la semana final. Las medias globales fueron similares y cercanas a 35.



Tabla I. Valores medios  $\pm$  desviación estándar de las variables de calidad del agua registradas en las unidades experimentales del control y con Aquamats durante el primer experimento.

Variable	Control	Aquamats
T °C a.m.	28.6 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>	28.7 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>
T °C p.m	31.8 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>	31.9 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>
OD a.m. (mg L <sup>-1</sup> )	4.1 $\pm$ 0.8 <sup>a</sup>	3.8 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>
OD p.m. (mg L <sup>-1</sup> )	3.7 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	3.5 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>
pH	7.8 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	7.8 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>
Salinidad	35.6 $\pm$ 2.4 <sup>a</sup>	35.4 $\pm$ 2.5 <sup>a</sup>

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas (Pruebas t para datos pareados,  $\alpha=0.05$ ). (T: temperatura. OD: oxígeno disuelto).

### 7.1.2. Compuestos nitrogenados

Las concentraciones de amonio total (NAT) registradas durante este primer experimento demostraron tendencias diferentes: a partir de valores iniciales cercanos a 0.3 mg L<sup>-1</sup>, se registraron después de la primera semana concentraciones medias de aproximadamente 2 y 3 mg L<sup>-1</sup> en las unidades experimentales del tratamiento control y con sustratos artificiales, respectivamente.

Posteriormente, en el cultivo con Aquamats los valores disminuyeron y se mantuvieron con poca variación a partir de la tercera semana, con concentraciones variables entre 0.7 y 0.5 mg L<sup>-1</sup>, mientras que en el cultivo control el amonio disminuyó hasta cerca de 1.6 mg L<sup>-1</sup> al final de la segunda semana, para aumentar posteriormente en forma progresiva hasta 2.8-3.0 mg L<sup>-1</sup> en la parte final del experimento. El análisis estadístico demostró diferencias significativas tanto entre las concentraciones medias semanales como entre las concentraciones finales de los dos tratamientos (Anexo 1, Figura A1 y Tabla II).

La similitud en los resultados de temperatura, salinidad y pH para ambos tratamientos, que son las variables que determinan el equilibrio entre las especies iónica y molecular de este compuesto, se reflejó en valores medios de amonio no ionizado (NH<sub>3</sub>) mayores en los cultivos control, y en efecto, como para el amonio total (NAT), el análisis estadístico

demostró diferencias significativas tanto entre las concentraciones medias semanales como en las concentraciones finales.

En este caso, las diferentes tendencias de las concentraciones de nitrógeno amoniacal dieron como resultado que las concentraciones medias finales en las unidades experimentales con Aquamats fueron aproximadamente cinco veces menores que las registradas en los cultivos control (Tabla II).

Los valores de nitrito registrados durante el periodo de muestreo presentaron una tendencia a valores mayores en los cultivos control (Anexo 1, Figura A2). Los valores medios calculados con todos los datos registrados en el transcurso del experimento fueron  $0.08 \pm 0.07$  y  $0.05 \pm 0.03$  mg L<sup>-1</sup> en los controles y en los cultivos con sustratos artificiales, respectivamente y aunque la prueba t para datos pareados no encontró una diferencia significativa entre los dos tratamientos, la concentración media final resultó significativamente menor en los cultivos con Aquamats (Tabla II).

A partir de valores iniciales, cercanos a 0.1 mg L<sup>-1</sup>, las concentraciones de nitrato aumentaron en forma progresiva durante las dos primeras semanas, hasta niveles de 0.2-0.7 mg L<sup>-1</sup>, para aumentar abruptamente hasta cerca de 2 mg L<sup>-1</sup> durante la semana siguiente (Anexo 1, Figura A3). Los valores medios globales calculados con todos los datos registrados en el control y tratamiento con Aquamats fueron 1.12 y 1.29 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, y no se registraron diferencias significativas tanto en las medias globales como en las concentraciones finales (Tabla II).

En el transcurso del experimento, el nitrógeno orgánico disuelto aumentó en forma progresiva en los dos tratamientos, aunque con una mayor irregularidad en los cultivos con Aquamats, con valores finales de  $2.65 \pm 0.96$  y  $3.08 \pm 0.19$  mg L<sup>-1</sup> en los cultivos control y con sustratos artificiales, respectivamente. Debido a la irregularidad mencionada, no se encontraron diferencias significativas entre los dos tratamientos (Tabla II).

De igual manera, el valor medio del nitrógeno disuelto total calculado con todos los datos fue aproximadamente 5 mg L<sup>-1</sup> y resultó similar para los cultivos control y con Aquamats aunque, debido a la diferencia entre las concentraciones de amonio, se encontró una diferencia significativa entre los valores medio finales.

Por su parte el nitrógeno particulado aumentó notablemente solo en la fase final de esta prueba. Las concentraciones medias calculadas con todos los datos fueron  $0.68 \pm 0.29$  y  $1.23 \pm 0.42$  mg L<sup>-1</sup> en los controles y con Aquamats, los correspondientes valores finales fueron  $3.14 \pm 1.12$  y  $2.78 \pm 0.48$  mg L<sup>-1</sup>, en ambos casos sin diferencias significativas entre los dos tratamientos (Tabla II; Anexo 1, Figura A4).

Tabla II. Valores medios  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de compuestos nitrogenados (mg L<sup>-1</sup>) registrados al final del primer experimento en las unidades experimentales control y con Aquamats.

Variable	Control	Aquamats
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	2.64 $\pm$ 1.32 <sup>b</sup>	0.53 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>
NH <sub>3</sub>	0.20 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	0.01 $\pm$ 0.001 <sup>a</sup>
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0.07 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	2.13 $\pm$ 0.63 <sup>a</sup>	2.23 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>
NOD	2.65 $\pm$ 0.96 <sup>a</sup>	3.08 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>
NDT	7.20 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	5.85 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>
NP	3.14 $\pm$ 1.12 <sup>a</sup>	2.78 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas entre tratamientos (Pruebas t,  $\alpha=0.05$ , a<b). (NOD: nitrógeno orgánico disuelto. NDT: nitrógeno disuelto total. NP: nitrógeno particulado).

### 7.1.3. Compuestos fosforados

La concentración media de los fosfatos reactivos disueltos calculada con todos los datos fue  $0.50 \pm 0.04$  mg L<sup>-1</sup> en los cultivos control, similar a la registrada con Aquamats, que fue  $0.52 \pm 0.03$  mg L<sup>-1</sup>. Los valores medios finales fueron cercanos a  $0.7$  mg L<sup>-1</sup> en ambos casos, y no se encontraron diferencias significativas entre los dos tratamientos (Tabla III; Anexo 1, Figura A5).

Las formas no reactivas del fósforo disuelto resultaron presentes en concentraciones inferiores al 5% de las determinadas para los fosfatos reactivos, con valores significativamente mayores en los cultivos con Aquamats.

Por otra parte, en vista de las bajas concentraciones de estos compuestos, las tendencias del fósforo disuelto total fueron similares para los dos tratamientos. Las concentraciones del

fósforo particulado fueron cercanas a  $0.01 \text{ mg L}^{-1}$  en los dos tratamientos, y no se encontraron diferencias significativas tanto entre los valores medios calculados con todos los datos, como entre las concentraciones medias finales (Tabla III; Anexo 1, Figura A6).

Tabla III. Valores medios  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de compuestos de fósforo ( $\text{mg L}^{-1}$ ) registradas en los cultivos control y con Aquamats al final del primer experimento.

Variable	Control	Aquamats
$\text{PO}_4^{3-}$	$0.68 \pm 0.05^a$	$0.73 \pm 0.01^a$
PNR	$0.01 \pm 0.01^a$	$0.03 \pm 0.01^b$
PDT	$0.69 \pm 0.05^a$	$0.76 \pm 0.01^b$
PP	$0.01 \pm 0.004^a$	$0.02 \pm 0.01^a$

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas entre los dos tratamientos (Pruebas t,  $\alpha=0.05$ ,  $a < b$ ). ( $\text{PO}_4^{3-}$ : fosfato reactivo; PNR: fósforo disuelto no reactivo. PDT: fósforo disuelto total. PP: fósforo particulado).

#### 7.1.4. Índices de producción

##### 7.1.4.1. Supervivencia

Los porcentajes medios de supervivencia presentaron una tendencia similar en los dos tratamientos, con valores menores en los cultivos control, los cuales tuvieron tasas medias de mortalidad semanal cercanas al 1% desde el primero hasta el cuarto muestreo. La mortalidad aumentó de manera aguda en el transcurso de la última semana, hasta llegar a valores de supervivencia media de  $75.0 \pm 3.6$  y  $81.4 \pm 1.2\%$  en los cultivos control y con sustratos, respectivamente (Fig. 1, tabla IV). Tanto la prueba t para datos pareados como la comparación entre los valores finales demostraron diferencias significativas entre los dos tratamientos.

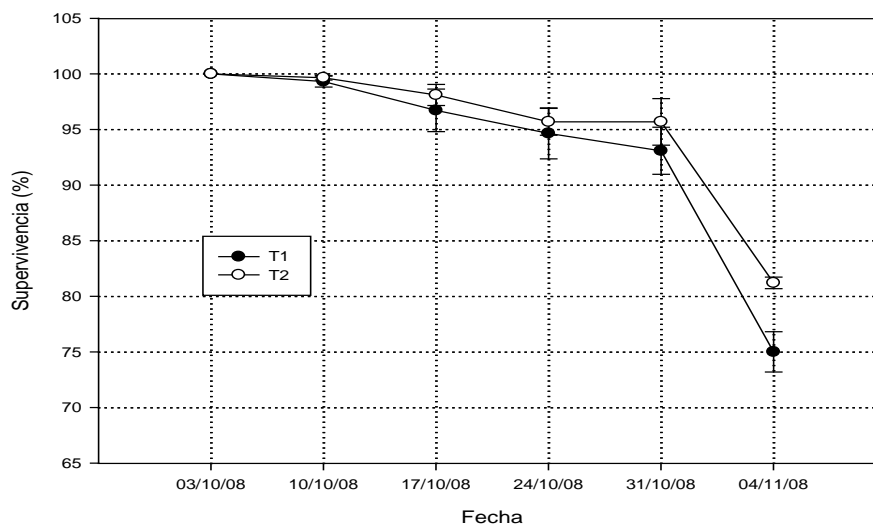


Figura 1. Valores medios  $\pm$  desviación estándar de la supervivencia (%) calculados semanalmente para los cultivos control (T1) y con Aquamats (T2).

#### 7.1.4.2. Crecimiento

A partir del muestreo de la segunda semana, los pesos medios individuales resultaron constantemente mayores en los cultivos con sustratos artificiales que en los cultivos control (Fig. 2). Los respectivos valores promedio del peso fresco final fueron  $8.1 \pm 0.1$  y  $7.7 \pm 0.2$  g y resultaron significativamente mayores en el tratamiento con Aquamats que en el tratamiento control. El contenido total de humedad, verificado en triplicado en muestras de camarón con cabeza fue el 68.6%, con el 11.4% de proteínas (en base seca) para los dos tratamientos.

Con base en estos valores, las tasas de crecimiento específicas (TCE) respectivas fueron  $0.142 \pm 0.006$  y  $0.153 \pm 0.003$  g día<sup>-1</sup> y, como en el caso anterior, la prueba t demostró una diferencia significativa entre los dos tratamientos (tabla IV).

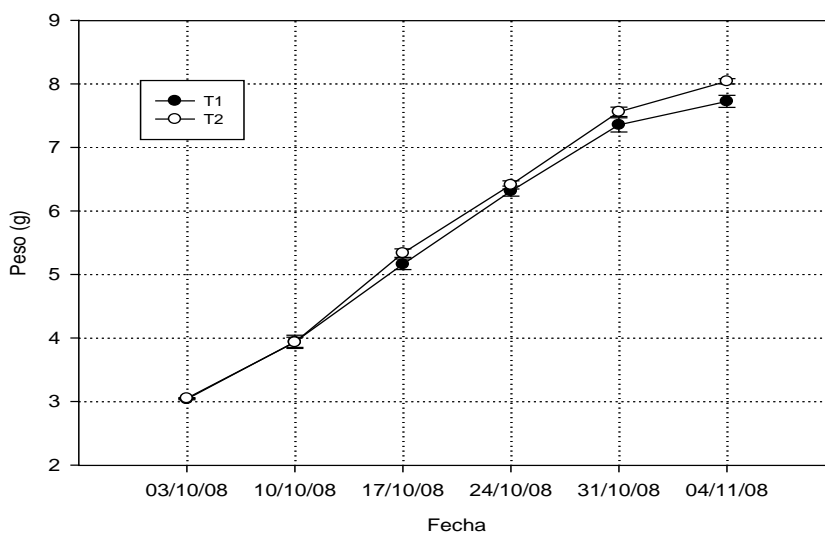


Figura 2. Pesos medios individuales (g)  $\pm$  desviación estándar calculado semanalmente para los cultivos control (T1) y con Aquamats (T2).

Tabla IV. Valores medios  $\pm$  desviación estándar de crecimiento y supervivencia registrados en los cultivos control y con Aquamats en el primer experimento.

Variable	Control	Aquamats
Supervivencia (%)	75.0 $\pm$ 3.6 <sup>a</sup>	81.4 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup>
Peso (g)	7.7 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	8.1 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>
TCE (g día <sup>-1</sup> )	0.14 $\pm$ 0.006 <sup>a</sup>	0.15 $\pm$ 0.003 <sup>b</sup>

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas entre los valores medios finales ( $\alpha=0.05$ ,  $a < b$ ).

#### 7.1.4.3. Biomasa cosechada y tasas de conversión alimenticia y económica

En vista de la mejor supervivencia y del mayor crecimiento, la biomasa final fue significativamente mayor en los cultivos con sustratos artificiales; a partir de una biomasa media inicial de  $440.1 \pm 3.0$  g por unidad experimental, los valores promedio finales para el tratamiento control y con Aquamats, fueron 1144 y 1302 g (Tabla V), con ganancias totales de 702 y 859 g, respectivamente (Tabla V).

En promedio, se suministraron en los dos tratamientos entre 1344 y 1368 g de alimento balanceado, sin diferencia significativa entre los dos tratamientos. Con base en los registros individuales del alimento suministrado a cada cultivo y los valores de biomasa inicial y final de cada caso, se calculó que los valores medios del factor de conversión alimenticia fueron  $1.9 \pm 0.2$  y  $1.6 \pm 0.1$ , para el cultivo control y con Aquamats, respectivamente y, en vista de la falta de diferencia entre alimento suministrado y de la biomasa significativamente menor en los cultivos control, el análisis estadístico demostró una diferencia significativa entre los dos tratamientos.

Los factores de conversión económica del alimento respectivos fueron 26.98 y 22.72 (\$ gastados en alimento  $\text{Kg}^{-1}$  de camarón cosechado). Por tanto, el costo del alimento representó el 80 y el 60% del precio de venta, y ambos resultaron significativamente mejores en el caso de los cultivos con sustratos artificiales (Tabla V).

Tabla V. Valores medios  $\pm$  desviación estándar de las variables de producción del primer experimento.

Variable	Control	Aquamats
Biomasa final (g)	$1144 \pm 106^a$	$1302 \pm 16^b$
CAS (g)	$1344.0 \pm 87.4^a$	$1368.0 \pm 52.6^a$
FCA	$1.9 \pm 0.2^b$	$1.6 \pm 0.1^a$
FCE	$0.8 \pm 0.1^b$	$0.6 \pm 0.1^a$

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas entre los valores medios finales ( $\alpha=0.05$ ,  $a < b$ ). (CAS: cantidad de alimento suministrado. FCA: factor de conversión alimenticia. FCE: factor de conversión económica del alimento).

### 7.1.5. Composición y biomasa de la biopelícula

Al final del experimento se observaron en las biopelículas 9 grupos de organismos: bacterias, diatomeas, copépodos, rotíferos, ciliados, algas verdes filamentosas, flagelados, rizópodos y gastrotricos. El valor medio final de la biomasa seca fue  $16.0 \pm 0.7 \text{ mg cm}^{-2}$ , que resultó significativamente mayor de los  $13.6 \pm 0.6 \text{ mg cm}^{-2}$  de la biomasa inicial.

### **7.1.6. Concentración de proteína en hemolinfa y músculo de camarón**

El contenido de proteína en el músculo del camarón cosechado en los cultivos control fue  $18.7 \pm 1.1\%$ , que resultó ser significativamente menor de lo que se registró en los cultivos con Aquamats ( $22.7 \pm 1.3\%$ ). En la hemolinfa la concentración de proteína fue similar en los dos tratamientos, y resultó en ambos casos cercana a los  $50 \text{ mg ml}^{-1}$ .

### **7.1.7. Balance de masa de nitrógeno**

El nitrógeno total contenido en el agua usada para el llenado inicial y para la reposición de las pérdidas por evaporación fue  $1.7 \pm 0.1 \text{ g m}^{-3}$ , mientras que el alimento comercial, con un contenido en base seca de 5.7% de N, aportó en promedio entre 74 y 75.0 g en los dos tratamientos. El contenido de nitrógeno de los camarones utilizados para la siembra (11.4% de N, en base seca) significó un ingreso de  $15.8 \text{ g m}^{-3}$  de nitrógeno y los demás ingresos fueron  $1.5 \text{ g m}^{-3}$  contenidos en el sedimento adicionado al inicio del experimento a todos los mesocosmos y los  $0.7 \pm 0.2 \text{ g m}^{-3}$  de la biopelícula en el caso de las unidades con Aquamats.

La biomasa de camarón cosechada ( $1144 \pm 106 \text{ g}$  y  $1302 \pm 16 \text{ g}$  en los cultivos control y con sustratos artificiales; 40.5 y 46.7 g de nitrógeno  $\text{m}^{-3}$ , respectivamente) representó el 43.4 y el 48.7% del total de los egresos, y resultó significativamente mayor en el tratamiento con Aquamats.

La diferencia más importante entre los dos tratamientos fue el contenido de nitrógeno del sedimento y de la meiofauna y microfauna asociadas, con un promedio de  $40.8 \text{ g.m}^{-3}$  (equivalente al 43.8% del total de los ingresos en los cultivos control), en comparación con los  $23.4 \text{ g m}^{-3}$  (24.4% de los ingresos) que se determinaron para el sedimento de los cultivos con sustratos artificiales añadidos, en los cuales el nitrógeno de la biopelícula ( $16 \text{ g m}^{-3}$ ; 16.7% de los ingresos) representó la mayor parte de la diferencia entre tratamiento y control. En ambos casos se registraron algunos escapes, cuyo contenido de nitrógeno representó entre el 0.7 y el 1% de los ingresos, mientras que el agua que se descargó el día final del experimento representó el 11.1 y el 9.0% de los ingresos de los cultivos control y con Aquamats, respectivamente, con resultados significativamente mayores en el caso de los cultivos control (Tabla VI).



Tabla VI. Balance de nitrógeno en los cultivos control y con Aquamats en el primer experimento. Se reportan los valores medios y desviación estándar de los diferentes ingresos y egresos ( $\text{g m}^{-3}$ ).

INGRESO	Control		Aquamats	
	$\text{g m}^{-3}$	%	$\text{g m}^{-3}$	%
Alimento	74.2±6.9 <sup>a</sup>	79.6	75.1±4.5 <sup>a</sup>	78.4
Biomasa sembrada	15.8±0.1 <sup>a</sup>	16.9	15.8±0.1 <sup>a</sup>	16.4
Agua de ingreso	1.7±0.1 <sup>a</sup>	1.9	1.7±0.1 <sup>a</sup>	1.8
Biopelícula	-		1.7±0.2	1.7
Sedimento	1.5±0.1 <sup>a</sup>	1.6	1.5±0.1 <sup>a</sup>	1.6
Total	93.2	100.0	95.8	100.0
<b>EGRESO</b>				
Biomasa cosechada	40.5±4.4 <sup>a</sup>	43.4	46.6±0.7 <sup>b</sup>	48.7
Sedimento	40.8±2.9 <sup>b</sup>	43.8	23.4±5.0 <sup>a</sup>	24.4
Biopelícula	-		16.0±4.7	16.7
Agua de egreso	10.3±1.2 <sup>b</sup>	11.1	8.6±0.8 <sup>a</sup>	9.0
Escape	0.9	1.0	0.7	0.7
Total	92.5	99.3	95.3	99.5
Diferencia	0.6	0.7	0.5	0.5

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ,  $a < b$ ).

### 7.1.8. Balance de masa de fósforo

En promedio, el total de fósforo que se adicionó con el alimento fue 13.7 y 13.3  $\text{g m}^{-3}$  para el cultivo control y con Aquamats, respectivamente, y representó el 72% y el 66.5% del total de los ingresos. El sedimento agregado (4.0  $\text{g m}^{-3}$ ) representó el 21 y el 19.9% y la biomasa inicial de camarón (1.8  $\text{g m}^{-3}$ ) aportó entre el 9.0 y el 9.5%. El contenido de la biopelícula (0.8  $\text{g m}^{-3}$ ) representó el 4.2% de los ingresos en los cultivos con Aquamats y el agua usada para el llenado y reposición de la evaporación (0.1  $\text{g m}^{-3}$ ) fue la menor aportación, lo que representa entre el 0.4 y el 0.5% del total de los ingresos.

En comparación con el nitrógeno, el fósforo recuperado como biomasa de camarón (4.6 a 5.3  $\text{g m}^{-3}$ ) representó un porcentaje notablemente menor de los ingresos, correspondiente al

24.4 y al 26.6% del total en los cultivos control y con Aquamats, respectivamente. Un 5.2% adicional estaba en las biopelículas adheridas a los Aquamats, mientras que el agua de egreso y escapes sumaron 1.1 g m<sup>-3</sup> en los dos tratamientos, por lo cual la mayor parte de los ingresos permaneció en los sedimentos (68.8 y 60.3%). No obstante la diferencia entre el fósforo recuperado en la biomasa y la cantidad presente en la biopelícula, no se encontró una diferencia significativa entre la cantidad de fósforo presente en los sedimentos de los cultivos control y con Aquamats (Tabla VII).

Tabla VII. Balance de fósforo en los cultivos control y con Aquamats en el primer experimento. Se reportan los valores medios y desviación estándar de los diferentes ingresos y egresos (g m<sup>-3</sup>).

INGRESO	Control		Aquamats	
	g m <sup>-3</sup>	%	g m <sup>-3</sup>	%
Alimento	13.7±1.2 <sup>a</sup>	72.0	13.3±0.8 <sup>a</sup>	66.5
Biomasa sembrada	1.8±0.01 <sup>a</sup>	9.5	1.8±0.01 <sup>a</sup>	9.0
Agua de ingreso	0.1±0.001 <sup>a</sup>	0.5	0.1±0.001 <sup>a</sup>	0.4
Biopelícula	-		0.8±0.2	4.2
Sedimento	4.0±0.6 <sup>a</sup>	21.0	4.0±0.6 <sup>a</sup>	19.9
Total	19.0	100.0	20.0	100.0
EGRESO				
Biomasa cosechada	4.6±0.5 <sup>a</sup>	24.4	5.3±0.1 <sup>b</sup>	26.6
Sedimento	13.0±1.0 <sup>a</sup>	68.8	12.0±0.1 <sup>a</sup>	60.3
Biopelícula	-		1.0±0.1	5.2
Agua de egreso	0.7±0.1 <sup>a</sup>	3.7	0.8±0.01 <sup>a</sup>	3.9
Escape	0.4	2.1	0.3	1.5
Total	18.8	98.9	19.5	97.6
Diferencia	0.2	1.1	0.5	2.4

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ,  $a < b$ ).

## **7.2. Segundo Experimento**

### **7.2.1. Temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y pH**

Los registros diarios de temperatura de los cultivos variaron entre aproximadamente 28 y 33 °C, y mostraron una tendencia similar en todos los tratamientos. Los valores medios de todos los datos registrados durante el experimento en los muestreos de la mañana fueron cercanos a los 29 °C en los tratamientos uno a cuatro. Los valores correspondientes de la tarde fueron cercanos a 32 °C y, tanto en la mañana como en la tarde, no se encontraron diferencias significativas entre los cuatro tratamientos (Tabla VIII).

En todos los tratamientos, las concentraciones medias de oxígeno disuelto registradas en la mañana en la primera parte de experimento variaron entre 4.0 y 4.2 mg L<sup>-1</sup>, y los correspondientes valores de la tarde fueron de 4.4 a 4.6 mg L<sup>-1</sup>. A partir de la parte final de la segunda semana de muestreo se observó una tendencia a valores progresivamente menores, aunque en todos los casos las concentraciones se mantuvieron en niveles superiores a 3.0 mg L<sup>-1</sup>, con valores medios cercanos a 3.5 - 3.7 mg L<sup>-1</sup>. Como en el caso anterior, no se encontraron diferencias significativas entre los cuatro tratamientos (Tabla VIII).

En el transcurso del experimento, el pH varió entre 7.0 y 7.9 unidades. El valor medio de los cultivos control con la mayor densidad de siembra fue de 7.4±0.1 unidades y resultó significativamente menor al del tratamiento con la misma densidad y con Aquamats (7.6±0.2 unidades) (Tabla VIII).

En vista de la falta de recambios de agua, que causó pérdidas semanales por evaporación cercanas al 5% del volumen total (que se reemplazó con agua del estero de Urías, cuya salinidad también estaba aumentando), en el transcurso del experimento la salinidad aumentó progresivamente desde valores iniciales de aproximadamente 39 hasta cerca de 45 en las últimas fechas de muestreo. Los valores medios de los registros diarios de salinidad variaron entre 42.7 y 42.9 y no se encontraron diferencias entre los cultivos control y los dos tratamientos con Aquamats (Tabla VIII).

Tabla VIII. Valores medios  $\pm$  desviación estándar de las variables de calidad del agua registradas en los cultivo control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) durante el segundo experimento.

Variable	T1	T2	T3	T4
T °C a.m.	28.6 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>	28.9 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>	28.8 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	28.9 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>
T °C p.m.	31.6 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	31.9 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	31.8 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	31.8 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>
OD a.m. (mg L <sup>-1</sup> )	4.2 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	4.2 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	4.0 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	4.3 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>
OD p.m. (mg L <sup>-1</sup> )	4.6 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	4.5 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	4.4 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	4.6 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>
pH	7.5 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	7.5 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	7.4 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	7.6 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>
Salinidad	42.9 $\pm$ 2.1 <sup>a</sup>	42.7 $\pm$ 2.2 <sup>a</sup>	42.7 $\pm$ 2.3 <sup>a</sup>	42.9 $\pm$ 2.1 <sup>a</sup>

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas entre los valores medios de los tratamientos (Análisis se varianza de dos vías para observaciones repetidas,  $\alpha=0.05$  a<b). (T: temperatura. OD: oxígeno disuelto).

### 7.2.2. Compuestos nitrogenados

Los valores mínimos de amonio total, cercanos a 0.5 mg L<sup>-1</sup>, se registraron en la fecha inicial y aumentaron durante la primera semana, al final de la cual se alcanzaron los concentraciones más elevadas registradas durante el experimento (entre 4.5 a 7 mg L<sup>-1</sup>, aproximadamente), para mantenerse en valores similares durante la semana siguiente. Al final de la tercera semana disminuyeron nuevamente y permanecieron en valores cercanos o menores a 1.0 mg L<sup>-1</sup> hasta el final del experimento.

Las concentraciones medias calculadas con todos los datos fueron 2.83 $\pm$ 0.29, 1.93 $\pm$ 0.28, 3.13 $\pm$ 0.40 y 2.82 $\pm$  0.47 mg L<sup>-1</sup>, para los tratamientos 1 a 4, respectivamente, con diferencias significativas entre todos ellos (Anexo 1, Figura A7). También las concentraciones medias finales resultaron diferentes y, en vista de estas diferencias y de los valores similares de temperatura, salinidad y pH, las concentraciones de amonio no ionizado (NH<sub>3</sub>) presentaron diferencias similares a las mencionadas para el amonio total (Tabla IX).

A partir de concentraciones iniciales de 0.02 mg L<sup>-1</sup>, los nitritos aumentaron hasta el final de la tercera semana, aunque disminuyeron en el transcurso de la semana siguiente. Tanto

las medias calculadas con todos los datos como las concentraciones medias finales fueron similares en los cultivos control con las dos densidades de siembra, y ambas fueron significativamente menores de las calculadas para los cultivos con Aquamats. Entre estos, los valores mayores fueron los registrados con la mayor densidad inicial (Tabla IX; Anexo 1, Figura A8).

En la primera semana, las concentraciones de nitratos se mantuvieron entre  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$  y valores un poco superiores al límite de detección ( $0.8 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ , aproximadamente), y aumentaron rápidamente hasta niveles de  $0.55\text{-}0.65 \text{ mg L}^{-1}$  en el transcurso de la semana siguiente. Después de una disminución hasta  $0.20\text{-}0.45 \text{ mg L}^{-1}$  entre el tercero y el cuarto muestreo, alcanzaron los valores más elevados al final del experimento.

Los valores medios calculados con todos los datos variaron entre  $0.13 \pm 0.02$  y  $0.37 \pm 0.09 \text{ mg L}^{-1}$  y el análisis estadístico indicó que las concentraciones medias en los cultivos control con la mayor densidad inicial resultaron significativamente menores a las registradas en los demás tratamientos (Tabla IX; Anexo 1, Figura A9).

El nitrógeno orgánico disuelto presentó variaciones irregulares en el transcurso de las dos primeras semanas, para aumentar abruptamente en la semana siguiente hasta valores de entre  $2.2$  y  $3 \text{ mg L}^{-1}$  y disminuir posteriormente a valores entre  $0.5$  y  $1.2 \text{ mg L}^{-1}$ . El análisis de varianza para observaciones repetidas no encontró diferencias entre los tratamientos, aunque la menor concentración media final fue la calculada para los cultivos control con la mayor densidad inicial (Tabla IX; Anexo 1, Figura A10).

Todas las concentraciones disminuyeron en las dos semanas siguientes hasta valores finales muy similares y sin diferencias significativas entre controles y cultivos con Aquamats (Tabla IX).

Por su parte, la fracción de nitrógeno particulado varió sin una clara tendencia entre  $0.24$  y hasta  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  para los cultivos con Aquamats y sus respectivos controles. Aunque cuando se compararon todos los datos (ANOVA para observaciones repetidas) no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, las concentraciones finales resultaron significativamente mayores en los cultivos control con la mayor densidad inicial (Tabla IX; Anexo 1, Figura A10).

Tabla IX. Concentraciones medias  $\pm$  desviación estándar de los compuestos nitrogenados ( $\text{mg L}^{-1}$  en todos los casos) registradas al final del experimento en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) durante el segundo experimento.

Variable	T1	T2	T3	T4
$\text{NH}_4^+$	$0.80 \pm 0.01^c$	$0.51 \pm 0.03^b$	$1.28 \pm 0.01^d$	$0.05 \pm 0.01^a$
$\text{NH}_3$	$0.01 \pm 0.002^c$	$0.01 \pm 0.001^b$	$0.03 \pm 0.003^d$	$0.001 \pm 0.0001^a$
$\text{NO}_2^-$	$0.09 \pm 0.01^a$	$0.29 \pm 0.04^b$	$0.13 \pm 0.08^a$	$0.52 \pm 0.21^c$
$\text{NO}_3^-$	$0.71 \pm 0.01^b$	$0.74 \pm 0.02^b$	$0.62 \pm 0.07^a$	$0.77 \pm 0.01^b$
NOD	$1.05 \pm 0.02^b$	$0.96 \pm 0.04^b$	$0.51 \pm 0.05^a$	$1.19 \pm 0.44^b$
NP	$0.15 \pm 0.01^a$	$0.09 \pm 0.01^a$	$0.64 \pm 0.04^b$	$0.31 \pm 0.35^a$

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas (Análisis de varianza de dos vías,  $\alpha=0.05$  a<b). a<b<c<d). (NOD: nitrógeno orgánico disuelto. NDT: nitrógeno disuelto total. NP: nitrógeno particulado).

### 7.2.3. Compuestos fosforados

Los fosfatos reactivos aumentaron con una tendencia lineal en todos los casos, y variaron entre un nivel mínimo de  $0.06 \text{ mg L}^{-1}$  hasta una concentración máxima de  $0.98 \text{ mg L}^{-1}$ . Las concentraciones promedio calculadas mediante el uso de los valores registrados durante todo el estudio fueron de  $0.52 \pm 0.01$  y  $0.54 \pm 0.02 \text{ mg L}^{-1}$  en los tratamiento 2 y 4, y de  $0.46 \pm 0.01$  y  $0.52 \pm 0.04 \text{ mg L}^{-1}$ , en los respectivos controles y no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla X; Anexo 1, Figura A11).

Las concentraciones promedio del fósforo no reactivo disuelto variaron entre  $0.03$  y  $0.33 \text{ mg L}^{-1}$ , lo que representa entre el 20 y el 30% del fósforo disuelto total, que por consecuencia varió entre  $0.09$  y  $1.3 \text{ mg L}^{-1}$ . La fracción particulada osciló entre  $0.10$  y  $0.17 \text{ mg L}^{-1}$ , y en todos los casos las pruebas de ANOVA para observaciones repetidas no encontraron diferencias significativas entre las medias calculadas cuando se incluyeron todos los datos recabados en las cinco fechas de muestreo, aunque se observaron diferencias entre las medias finales, con valores generalmente mayores en el caso de los cultivos con Aquamats (Tabla X; Anexo 1, Figura A12).

Tabla X. Valores medios  $\pm$  desviación estándar de las concentraciones de compuestos de fósforo ( $\text{mg L}^{-1}$  en todos los casos) registradas en los recipientes de cultivo control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) durante el segundo experimento.

Variable	T1	T2	T3	T4
$\text{PO}_4^{3-}$	$0.96 \pm 0.01^a$	$0.97 \pm 0.01^a$	$0.95 \pm 0.03^a$	$0.98 \pm 0.01^a$
PNR	$0.03 \pm 0.02^a$	$0.03 \pm 0.02^a$	$0.33 \pm 0.05^b$	$0.07 \pm 0.05^a$
PDT	$0.99 \pm 0.03^a$	$1.00 \pm 0.03^a$	$1.28 \pm 0.01^b$	$1.05 \pm 0.05^a$
PP	$0.12 \pm 0.04^a$	$0.20 \pm 0.03^b$	$0.06 \pm 0.01^a$	$0.15 \pm 0.05^b$

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas entre los valores medios de los tratamientos (Análisis de varianza de dos vías para observaciones repetidas,  $\alpha=0.05$  a<b). ( $\text{PO}_4^{3-}$ : fosfato reactivo; PNR: fósforo disuelto no reactivo. PDT: fósforo disuelto total. PP: fósforo particulado).

## 7.2.4. Índices de producción

### 7.2.4.1. Supervivencia

Los porcentajes de la supervivencia estimada presentaron una tendencia similar en las diferentes fechas de muestreo, aunque los porcentajes fueron constantemente menores en los cultivos control. Esta tendencia quedó confirmada en el transcurso de la última semana, ya que la tasa de mortalidad aumentó abruptamente en los cultivos control con ambas densidades de siembra. Los valores finales fueron  $84.0 \pm 7.5$  y  $74.5 \pm 9.5\%$  en los cultivos control, en comparación con  $96.7 \pm 2.3$  y  $90.9 \pm 2.8\%$  en los cultivos con Aquamats, entre los cuales los iniciados con 600 g de biomasa resultaron significativamente mayores a los valores finales de los demás tratamientos (Fig. 3 y Tabla XI).

### 7.2.4.2. Crecimiento

A partir de un peso medio inicial de  $2.7 \pm 0.19$  g, los valores medios de los pesos finales fueron  $8.9 \pm 1.6$ ,  $8.5 \pm 1.3$  g en los tratamientos con Aquamats con 600 y 800 g de biomasa inicial, con tasas de crecimiento específico (TCE) de  $0.21 \pm 0.02$  y  $0.20 \pm 0.01$   $\text{g día}^{-1}$ , en comparación con  $7.9 \pm 0.14$  y  $7.1 \pm 1.6$  g y  $0.18 \pm 0.01$  y  $0.15 \pm 0.02$   $\text{g día}^{-1}$  encontrados en los respectivos controles.

El análisis de varianza de los pesos finales y de las tasas de crecimiento diarias encontró diferencias significativas entre los cultivos control y con Aquamats, en ambos casos sin

diferencias relacionadas con la biomasa inicial o con la interacción entre tipo de cultivo y densidad de siembra (Fig. 4, tabla XI).

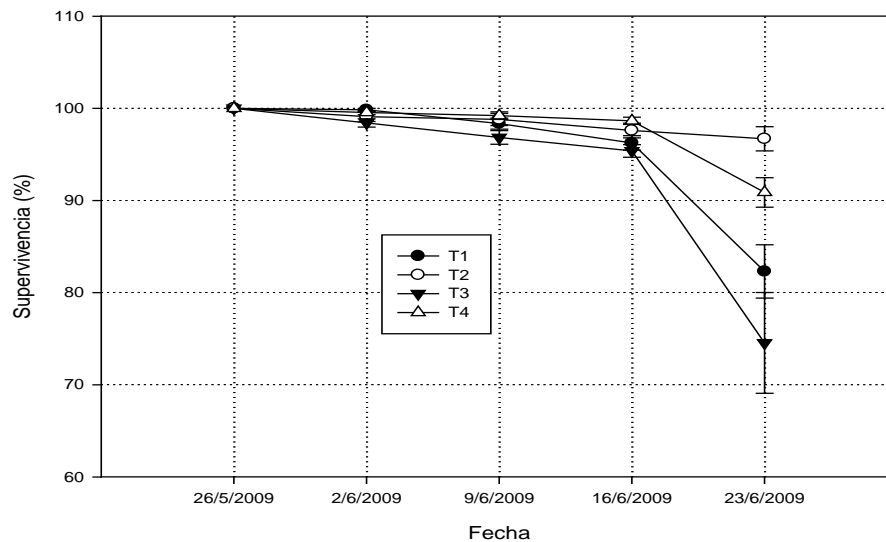


Figura 3. Valores medios  $\pm$  desviación estándar de la supervivencia (%) calculados semanalmente para los cultivo control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4).

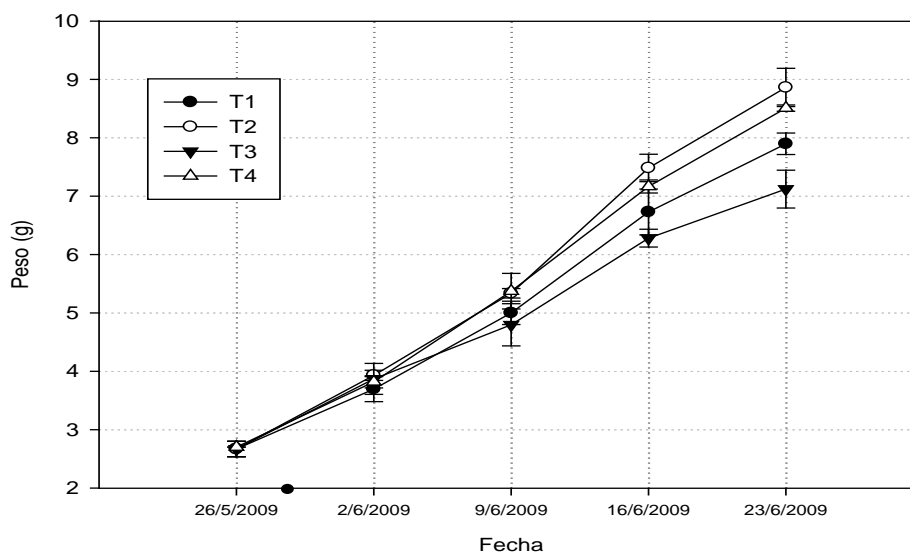


Figura 4. Valores medios y desviación estándar del crecimiento en peso (g) calculado semanalmente para los cultivo control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4).



Tabla XI. Valores medios  $\pm$  desviación estándar de las variables de crecimiento y supervivencia en los recipientes de cultivo control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) al final del segundo experimento.

Variable	T1	T2	T3	T4
Supervivencia (%)	84.0 $\pm$ 7.5 <sup>a</sup>	96.7 $\pm$ 2.3 <sup>b</sup>	74.5 $\pm$ 9.5 <sup>a</sup>	90.9 $\pm$ 2.8 <sup>a</sup>
Peso (g)	7.9 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	8.9 $\pm$ 1.6 <sup>b</sup>	7.1 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>	8.5 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup>
TCE (g día <sup>-1</sup> )	0.18 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.21 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.15 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.20 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas entre los valores medios finales (Análisis de varianza de dos vías,  $\alpha=0.05$ ,  $a < b$ ). (TCE: tasa de crecimiento específico).

#### 7.2.4.3. Biomasa cosechada y tasas de conversión alimenticia y económica

A partir del nivel inicial de 600 y de 800 g para los tratamientos se obtuvieron cosechas promedio finales de 1516.0 $\pm$ 101.9 y 1560.8 $\pm$ 76.3 en los cultivos control, ambos significativamente menores de los que se obtuvieron en las unidades experimentales con Aquamats, que redituaron 1969.6 $\pm$ 75.9 y 2221.6 $\pm$ 44.5 g para las biomásas iniciales de 600 y 800 g, respectivamente, en este caso con diferencias significativas relacionadas con la biomasa inicial. La ganancia total fue de 915 y 760 g en los cultivos control, y 1369 y 1421 g en aquellos con Aquamats (Tabla XII).

En promedio, se suministraron 1759 y 1986 g de alimento en los cultivos control, que no resultaron diferentes de la cantidad suministrada a cultivos con Aquamats con biomasa inicial de 600 g (1791 g). En los cultivos con Aquamats con biomasa inicial de 800 g el suministro promedio fue 2191 g, que resultó significativamente mayor de la cantidad suministrada en los demás tratamientos (Tabla XII).

En vista de las diferencias entre las ganancias en biomasa, los valores promedio y las respectivas desviaciones estándar del factor de conversión alimenticia fueron 1.3 $\pm$ 0.03 y 1.5 $\pm$ 0.02 para los tratamientos con Aquamats con 600 y 800 g de biomasa inicial, respectivamente, en comparación con 1.9 $\pm$ 0.2 y 2.6 $\pm$ 0.1 calculados para los respectivos controles. En este caso, se encontraron diferencias significativas entre todos los tratamientos.

La conversión económica del alimento fue menor en los tratamientos con Aquamats (18.46 y 21.3 \$ kg<sup>-1</sup> de camarón cosechado, en comparación con los respectivos testigos, que dieron 26.98 y 36.92 \$ kg<sup>-1</sup> para los cultivos iniciados con 600 y 800 g, respectivamente) (Tabla XII), por lo cual los costos de alimentación representaron el 50 y 60% con Aquamats y el 80 y 100% del valor comercial de la cosecha en el caso de los cultivos control.

Tabla XII. Valores medios  $\pm$  desviación estándar de las variables de producción en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) al final del segundo experimento.

Variable	T1	T2	T3	T4
Biomasa (g)	1516.0 $\pm$ 101.9 <sup>a</sup>	1969.6 $\pm$ 75.9 <sup>b</sup>	1560.8 $\pm$ 76.3 <sup>a</sup>	2221.6 $\pm$ 44.5 <sup>c</sup>
CAS (g)	1759.3 $\pm$ 20.2 <sup>a</sup>	1791.3 $\pm$ 53.1 <sup>a</sup>	1986.0 $\pm$ 140.1 <sup>a</sup>	2191.3 $\pm$ 54.2 <sup>b</sup>
FCA	1.9 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	1.3 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	2.6 $\pm$ 0.1 <sup>d</sup>	1.5 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
FCE	0.8 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	0.5 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	1.0 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	0.6 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas (Análisis de varianza de dos vías,  $\alpha=0.05$ ,  $a < b < c < d$ ). (CAS: cantidad de alimento suministrado. FCA: factor de conversión alimenticia. FCE: factor de conversión económica del alimento).

### 7.2.5. Composición y biomasa de la biopelícula

Se encontraron grupos similares al primer bioensayo con una biomasa seca inicial de aproximadamente 17.0 mg cm<sup>-2</sup>, con valores finales de 25.9 $\pm$ 0.7 y 29.6 $\pm$ 1.8 mg cm<sup>-2</sup>, en los tratamientos con 600 y 800 g de biomasa inicial, aunque sin diferencias significativas entre los dos tratamientos.

### 7.2.6. Concentración de proteína en hemolinfa y músculo de camarón

En el músculo el nivel de proteína varió de 16.0 $\pm$ 0.4 a 21.6 $\pm$ 0.1% con diferencias significativas entre todos los tratamientos. Los dos valores menores se registraron en los cultivos con la mayor biomasa inicial.

Los valores registrados para la concentración en hemolinfa presentaron un nivel mínimo de 83.0  $\pm$  21.3 mg ml<sup>-1</sup> y un máximo de 93.9  $\pm$  30.5 mg ml<sup>-1</sup>, sin diferencias entre tratamientos o densidades de siembra.

### 7.2.7. Balance de masa de nitrógeno

El alimento comercial aportó entre 95.4 y 117.3 g m<sup>-3</sup> de nitrógeno en los cultivos control, y 100.0 y 112.8 g m<sup>-3</sup> en los tratamientos con Aquamats que, de acuerdo con los ingresos totales, representan porcentajes de entre 75.9 a 78.8%. Las demás fuentes de ingreso fueron las diferentes formas de nitrógeno contenidas en el agua usada para el llenado inicial y para la reposición de las pérdidas por evaporación que sumaron 2.8 g m<sup>-3</sup> (entre 1.9 y 2.3%).

La biomasa sembrada de camarón representó un ingreso de 21.5 y 28.7 g m<sup>-3</sup> de nitrógeno para los niveles de biomasa de 600 y 800 g, respectivamente, que corresponden a valores cercanos a 17 y 19% del ingreso total, y con aportaciones menores al 3% fueron la biomasa inicial de la biota presente en la biopelícula de los sustratos (2.9 y 3.5 g m<sup>-3</sup>) y el contenido inicial de nitrógeno en el sedimento, que fue de 1.4 g m<sup>-3</sup> (Tabla XIII).

En los egresos, el contenido de nitrógeno total en el agua efluente fue 2.8 y 3.2 g m<sup>-3</sup> en los dos niveles de cultivo control, y 2.6 y 2.8 g m<sup>-3</sup>, en los respectivos cultivos con sustrato, que en todos los casos representaron menos del 3 % de los ingresos totales.

Destacan las diferencias en los contenidos de nitrógeno de la biomasa cosechada, que alcanzaron valores de 54.3 y 55.9 g m<sup>-3</sup> (equivalente al 44.8 y 37.2 %, respectivamente) para los dos niveles de cultivo control, mientras que en los respectivos tratamientos con Aquamats se registraron egresos de 70.5 y 82.0 g m<sup>-3</sup> para los tratamientos con 600 y 800 g de biomasa inicial (54.6 y 55.2 %, respectivamente), que en ambos casos resultaron significativamente mayores de los valores registrados en los cultivos control.

Los valores medios de nitrógeno en el sedimento de los cultivos control (45.1 y 53.9 g m<sup>-3</sup> para los tratamientos con 600 y 800 g de biomasa inicial, respectivamente) resultaron significativamente diferentes entre sí, y en ambos casos fueron mayores de los registrados en los cultivos con Aquamats (19.0 y 20.3 g m<sup>-3</sup>). Las pérdidas por escape representaron entre el 4 y 11.4 %, mientras que las diferencias entre ingresos y egresos variaron entre 5.9 y 13.4% del ingreso total.

Tabla XIII. Balance de nitrógeno en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) en el segundo experimento.

<b>INGRESO</b>	T1	T2	T3	T4
Agua de Ingreso	2.8±0.1 <sup>a</sup> (2.3)	2.8±0.1 <sup>a</sup> (2.2)	2.8±0.1 <sup>a</sup> (1.9)	2.8±0.1 <sup>a</sup> (1.9)
Alimento	95.4±1.1 <sup>a</sup> (78.8)	100.0±3.0 <sup>a</sup> (77.4)	117.3±2.4 <sup>b</sup> (78.2)	112.8±3.1 <sup>b</sup> (75.9)
Biomasa sembrada	21.5±0.1 <sup>a</sup> (17.9)	21.5±0.1 <sup>a</sup> (16.7)	28.7±0.1 <sup>b</sup> (19.1)	28.7±0.1 <sup>b</sup> (19.3)
Biopelícula	-	3.5±0.4 <sup>a</sup> (2.7)	-	2.9±0.9 <sup>a</sup> (2.0)
Sedimento	1.4±0.1 <sup>a</sup> (1.1)	1.4±0.1 <sup>a</sup> (1.1)	1.4±0.1 <sup>a</sup> (0.9)	1.4±0.1 <sup>a</sup> (0.9)
Total	121.0 (100.0)	129.1 (100.0)	150.4 (100.0)	148.5 (100.0)
<b>EGRESO</b>				
Agua de Egreso	2.8±0.2 <sup>b</sup> (2.3)	2.6±0.1 <sup>a</sup> (2.0)	3.2±0.2 <sup>c</sup> (2.3)	2.8±0.2 <sup>ab</sup> (1.8)
Biomasa cosechada	54.3±3.6 <sup>a</sup> (44.8)	70.5±2.7 <sup>b</sup> (54.6)	55.9±2.7 <sup>a</sup> (37.2)	82.0±1.6 <sup>b</sup> (55.2)
Biopelícula	-	20.5±0.5 <sup>a</sup> (15.9)	-	23.8±0.1 <sup>a</sup> (16.0)
Sedimento	45.1±0.6 <sup>b</sup> (37.3)	19.0±0.7 <sup>a</sup> (14.7)	53.9±0.1 <sup>c</sup> (35.9)	20.3±0.6 <sup>a</sup> (13.6)
Escape	7.7 (6.4)	9.0 (7.0)	17.2 (11.4)	6.0 (4.0)
Total	109.8 (90.7)	121.6 (94.1)	130.2 (86.6)	134.9 (90.8)
Diferencia	11.2 (9.3)	7.6 (5.9)	19.8 (13.4)	13.0 (9.2)

Se reportan los valores medios y desviación estándar de los diferentes ingresos y egresos ( $\text{g m}^{-3}$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas (Análisis de varianza de dos vías,  $\alpha=0.05$ ,  $a < b < c$ ).

### 7.2.8. Balance de masa de fósforo

Los ingresos del fósforo total presente en el agua usada para el llenado inicial y para la reposición de las pérdidas por evaporación fueron  $0.14 \text{ g m}^{-3}$ , equivalentes al 0.5 - 0.6% de los ingresos totales. En el caso de la contribución del alimento, las aportaciones fueron de  $16.2 \text{ g m}^{-3}$  (ambos tratamientos con 600 g de biomasa inicial). Estos resultaron significativamente menores de los entre  $19.1$  y  $19.3 \text{ g m}^{-3}$  suministrados a los cultivos con la mayor biomasa inicial. En términos de porcentaje, el alimento contribuyó con entre el 63.6 y el 70.4% de los ingresos totales (Tabla XIV).

La biomasa sembrada de camarón representó un ingreso de  $2.5$  y  $3.3 \text{ g m}^{-3}$  de fósforo, para el nivel de biomasa de 600 y 800 g, respectivamente, mientras que la biopelícula significó  $2.4 \text{ g m}^{-3}$  en los tratamientos con sustrato, equivalentes al 8.0 - 9.1 % del ingreso total. En el sedimento los valores iniciales fueron de  $4.7 \text{ g m}^{-3}$ , que representan entre 16 y 20% respecto al total de ingresos (Tabla XIV).

Los egresos de fósforo en agua variaron de  $1.1$  a  $1.3 \text{ g m}^{-3}$ , en ambos casos en los cultivos control, con valores intermedios ( $1.2 \text{ g m}^{-3}$ ) en los tratamientos con Aquamats, que corresponden a cerca del 5% del ingreso global.

En el total de los egresos destaca el fósforo contenido en la biomasa de camarón cosechada, que varió de  $6.2$  a  $6.4 \text{ g m}^{-3}$  en los dos niveles de cultivo control, ambos significativamente menores de los registrados con Aquamats y con 600 y 800 g de biomasa inicial ( $8.0$  y  $9.4 \text{ g m}^{-3}$ , respectivamente). A su vez, estos resultaron significativamente diferentes entre sí, con porcentajes equivalentes a entre 26.4 y 23.3%, y de 30.2 y 31.7%, respectivamente (Tabla XIV).

En los tratamientos con Aquamats, el contenido de fósforo en la biopelícula final fue  $5.6$  y  $6.2 \text{ g m}^{-3}$  (aproximadamente el 21%), sin diferencia significativa relacionada con la biomasa inicial, y finalmente el fósforo contenido en los sedimentos de los cultivos con Aquamats ( $11.0$  y  $12.0 \text{ g m}^{-3}$  para los cultivos iniciados con 600 y 800 g, 41.3 y 40.6 %, respectivamente) resultó significativamente menor de los respectivos valores que se registraron en los correspondientes cultivos control ( $15.0$  y  $19.0 \text{ g m}^{-3}$ , 64.0 y 69.5%).

Las pérdidas de fósforo por escape de los organismos representó valores menores al 1.5 % en los cuatro tratamientos y las cantidades faltantes fueron en todos los casos menores a  $1.0 \text{ g m}^{-3}$  (Tabla XIV).

Tabla XIV. Balance de fósforo en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4) en el segundo experimento.

<b>INGRESO</b>	T1	T2	T3	T4
Agua de ingreso	0.14±0.001 <sup>a</sup> (0.6)	0.14±0.001 <sup>a</sup> (0.5)	0.14±0.001 <sup>a</sup> (0.5)	0.14±0.001 <sup>a</sup> (0.5)
Alimento	16.2±0.2 <sup>a</sup> (68.9)	16.2±0.5 <sup>a</sup> (63.6)	19.3±1.0 <sup>b</sup> (70.4)	19.1±0.5 <sup>b</sup> (64.6)
Biomasa sembrada	2.5±0.01 <sup>a</sup> (10.5)	2.5±0.01 <sup>a</sup> (9.2)	3.3±0.01 <sup>b</sup> (11.9)	3.3±0.01 <sup>b</sup> (11.1)
Sedimento	4.7±0.3 <sup>a</sup> (20.0)	4.7±0.3 <sup>a</sup> (17.6)	4.7±0.3 <sup>a</sup> (17.2)	4.7±0.3 <sup>a</sup> (15.9)
Biopelícula	-	2.4±0.1 <sup>a</sup> (9.1)	-	2.4±0.2 <sup>a</sup> (8.0)
Total	23.4 (100.0)	26.6 (100.0)	27.4 (100.0)	29.6 (100.0)
<b>EGRESO</b>				
Agua de egreso	1.1±0.01 <sup>a</sup> (4.8)	1.2±0.01 <sup>b</sup> (4.5)	1.3±0.01 <sup>c</sup> (4.9)	1.2±0.01 <sup>b</sup> (4.1)
Biomasa cosechada	6.2±0.4 <sup>a</sup> (26.4)	8.0±0.3 <sup>b</sup> (30.2)	6.4±0.3 <sup>a</sup> (23.3)	9.4±0.2 <sup>c</sup> (31.7)
Biopelícula	-	5.6±0.5 <sup>a</sup> (21.1)	-	6.2±0.4 <sup>a</sup> (20.9)
Sedimento	15.0±0.5 <sup>c</sup> (64.0)	11.0±1.7 <sup>a</sup> (41.3)	19.0±1.5 <sup>d</sup> (69.5)	12.0±0.4 <sup>b</sup> (40.6)
Escape	0.3 (1.3)	0.3 (1.1)	0.2 (0.7)	0.3 (1.0)
Total	22.6 (96.4)	26.2 (98.2)	26.9 (98.4)	29.0 (98.2)
Diferencia	0.8 (3.6)	0.5 (1.8)	0.4 (1.6)	0.5 (1.8)

Se reportan los valores medios y desviación estándar de los diferentes ingresos y egresos ( $\text{g m}^{-3}$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas (Análisis de varianza de dos vías,  $\alpha=0.05$ ,  $a < b < c < d$ ).

## 8. DISCUSIÓN

Durante un ciclo de cultivo, las condiciones apropiadas de calidad del agua dependen de la especie objetivo; en particular, *L. vannamei* es una especie que tolera la variabilidad de las condiciones ambientales con buen rendimiento y crecimiento. La literatura menciona que una de las principales variables que afectan el rendimiento del cultivo de esta especie es la temperatura, que está relacionada con todas las funciones metabólicas, las tasas de alimentación y de consumo de oxígeno (Villarreal *et al.*, 1994; Yan *et al.*, 2007).

Por este motivo, estos organismos deben mantenerse en un intervalo térmico adecuado, que está entre los 23 y 30 °C, con concentraciones de oxígeno disuelto superiores a 3.0 mg L<sup>-1</sup>. Por ser de ámbitos eurihalinos los camarones soportan variaciones amplias de salinidad, sin embargo se recomienda mantener un intervalo entre los 15 y 45, con un pH de entre 7 y 9 unidades (Wyban *et al.*, 1995; Ponce-Palafox *et al.*, 1997; Treece, 2000). Con base en estos criterios, se puede considerar que durante los dos experimentos las condiciones ambientales fueron adecuadas para el crecimiento de *L. vannamei*.

El nitrógeno amoniacal es el principal producto nitrogenado de desecho de los crustáceos, y es excretado a través del epitelio permeable de las branquias (Dall *et al.*, 1990). La mayor toxicidad del nitrógeno amoniacal en los organismos acuáticos se ha atribuido a la forma no-ionizada (NH<sub>3</sub> o amoniaco), mientras que la forma ionizada NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (ión amonio o amonio ionizado) se considera significativamente menos tóxica (Hargreaves, 1998).

Esta mayor toxicidad del amonio a altos valores de pH se debe a que el mecanismo de excreción de los residuos del metabolismo nitrogenado consiste en la eliminación del amoniaco por difusión a través del epitelio branquial (Chen y Kou, 1991, 1993), ya que la concentración interna es superior a la externa, mientras que el pH externo es elevado causa un incremento de la concentración externa de NH<sub>3</sub>, por lo cual el proceso de difusión se puede revertir. Esto causa un aumento de la concentración de NH<sub>3</sub> en la hemolinfa y un incremento de su toxicidad (Colt y Armstrong, 1981).

En soluciones acuosas el amoniaco existe en equilibrio con el ión amonio y la concentración relativa de la más tóxica de las dos especies (NH<sub>3</sub>) está directamente relacionada con el pH y con la temperatura e inversamente con la salinidad (Bower y Bidwell, 1978). Por tanto, el nitrógeno amoniacal es más tóxico a pH y temperaturas

elevadas, debido a que el equilibrio de disociación se desplaza hacia la forma tóxica no-ionizada.

Es de resaltar que el riesgo del amonio no-ionizado es mayor en aguas pobremente amortiguadas y en las últimas horas de la tarde, cuando el balance de la respiración-fotosíntesis acoplado con el sistema carbonatos-bicarbonatos-CO<sub>2</sub> produce los valores de pH más elevados y por tanto más críticos en los estanques de cultivo (Frías-Espericueta y Páez-Osuna, 2001; Magallón-Barajas, 2006b).

Además, los niveles de amonio tienden a incrementarse con la biomasa presente y con la etapa del cultivo, con la disminución del recambio de agua, con el mayor contenido de proteína en el alimento y con los procesos de mezcla turbulenta, que causan la resuspensión de los sedimentos, entre otros factores (Burford y Longmore, 2001; Burford y Williams, 2001; Browdy *et al.*, 2001); lo anterior es importante en sistemas de cultivo intensivo de recirculación cerrada, en los cuales las concentraciones de metabolitos pueden alcanzar valores críticos (Chen *et al.*, 1986; Burford y Lorenzen, 2004).

Por ejemplo, en algunas granjas intensivas con densidades de 50 a 100 organismos m<sup>-2</sup> se han registrado hasta 4.0 y 10.0 mg L<sup>-1</sup> de amonio total, aunque sin que se reportaran problemas relacionados con la toxicidad de este compuesto (Boyd y Clay, 2002; Samocha *et al.*, 2004; Burford y Lorenzen, 2004). En este trabajo se las densidades de siembra iniciales fueron notablemente mayores tanto en el primero como en el segundo experimento, pero solamente en dos fechas del segundo experimento se observaron niveles similares a los mencionados (6.5-7 mg L<sup>-1</sup>).

Por otra parte, en ambas fechas los valores medios de temperatura, salinidad y pH (29-30 °C, 41-42 y 7.5-7.6 unidades) permiten calcular que el porcentaje de la forma no ionizada representaba aproximadamente el 2% del nitrógeno amoniacal total, equivalente a menos de 0.14 mg L<sup>-1</sup>. Si bien este valor es superior al nivel de seguridad (0.049 mg L<sup>-1</sup>) sugerido por Frías-Espericueta *et al.* (2000) para postlarvas de esta especie, es cercano al límite de seguridad reportado para juveniles con un peso individual de 3.8 g (0.13 mg L<sup>-1</sup>; Frías-Espericueta *et al.*, 1999).

Lin y Chen (2001) encontraron que con una salinidad de 35, la concentración letal (CL<sub>50</sub>) a 96 h para juveniles de 2.2 cm de *L. vannamei* es 1.6 mg L<sup>-1</sup> de NH<sub>3</sub> por lo cual, si se



considera que los efectos tóxicos decrecen en paralelo con el incremento de la salinidad y de la talla de los organismos (Frías-Espéricueta *et al.*, 1999), y que el nivel de seguridad que se sugiere para sustancias tóxicas no bioacumulables o persistentes es equivalente al 10% de la  $CL_{50}$  a 96 h (Castillo-Morales, 2004), se puede calcular que los valores determinados en esas fechas son inferiores a los límites de seguridad y que por tanto no son susceptibles de causar efectos nocivos permanentes a los camarones en cultivo.

La disminución de la concentración de amonio total en la parte final de los experimentos, que se hizo particularmente evidente en los tratamientos con sustrato añadido, confirman que cuando las condiciones son adecuadas (turbulencia originada por el burbujeo con aire y buena iluminación), el amonio disponible es asimilado rápidamente por la comunidad fitoplanctónica y por el perifiton presentes en la columna de agua y en el sedimento o sustratos.

En este caso, la disponibilidad de una mayor superficie en los tratamientos con Aquamats, tuvo como consecuencia una reutilización de nutrientes notablemente mejor en vista de la mayor cantidad de biomasa de perifiton, no obstante la actividad de alimentación de los camarones, que dio como resultado una diferencia significativa en la concentración de nitrógeno amoniacal (Milstein *et al.*, 2003 y 2005; Erler *et al.*, 2004; Avnimelech, 2006; Abreu *et al.*, 2007).

Esta relación entre pH y toxicidad del amonio fue confirmada por Magallón-Barajas *et al.* (2006a), los cuales además mencionaron que, aún con una concentración de  $7 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{NH}_4^+$ , no registraron efectos tóxicos de este compuesto con valores de pH menores a 8 unidades, que corresponde a la situación registrada en este trabajo. Esto confirma que en ningún caso se excedieron los límites de seguridad, en especial si se considera que los experimentos de Magallón-Barajas *et al.* (2006a), se realizaron con postlarvas de *L. vannamei*, y que la susceptibilidad a este compuesto disminuye en paralelo con el avance del desarrollo.

En ambientes oxidantes, como la columna de agua de los mesocosmos usados en este trabajo, los nitritos son el resultado del paso intermedio del proceso de nitrificación por oxidación del amonio a nitrato, en este caso mediado por bacterias aeróbicas quimioautotróficas como *Nitrosomonas* sp. o por Archaea (Francis *et al.*, 2005, 2007;

Caffrey *et al.*, 2007). Por otra parte, la acumulación de detritus orgánico en el fondo puede generar condiciones de escasa oxigenación, las cuales disminuyen las tasas de mineralización de los compuestos nitrogenados, con liberación de amonio y nitritos.

En particular, cuando los nitritos están presentes en concentraciones elevadas pueden interferir con el proceso de respiración ya que, de acuerdo a Wickins (1976), el  $\text{NO}_2^-$  pudiera reducir la afinidad para el  $\text{O}_2$  del pigmento respiratorio de los crustáceos, la hemocianina de manera similar al efecto que tiene sobre la hemoglobina.

Acorde a esto, Chen y Cheng (1995) y Chen y Lee (1997) observaron una reducción significativa de la concentración de oxihemocianina en presencia de nitritos, tanto en *Penaeus japonicus* como en *Macrobrachium rosenbergii*, lo cual indica una disminución de la habilidad del transporte de oxígeno de la hemocianina.

Además, los nitritos interfieren con los procesos osmoregulatorios, como fue demostrado por Cheng y Chen (1998), los cuales observaron en la hemolinfa de *Penaeus japonicus* expuestos a nitrito una reducción de la concentración de  $\text{Cl}^-$  y el  $\text{Na}^+$ , que puede provocar desajustes en el equilibrio osmótico de los organismos expuestos.

Frías-Espéricueta y Páez-Osuna (2001) resumieron los valores de  $\text{CL}_{50}$  a 96 horas de los nitritos observados por varios autores para postlarvas de diferentes edades de algunas especies de peneidos que varían, en dependencia de la edad y de la especie, entre 23.7 y 65.2  $\text{mg L}^{-1}$ , mientras que de acuerdo con los autores mencionados los juveniles tienen una mayor tolerancia que en los estadios de larva.

En concordancia con lo anterior, Lin y Chen (2003) experimentaron con juveniles de *L. vannamei* en condiciones de salinidad de 35, pH de 8.02 y temperatura de 18°C, y encontraron una  $\text{CL}_{50}$  a 96 h de 321.7  $\text{mg L}^{-1}$ , con un nivel de seguridad de 25.7  $\text{mg L}^{-1}$ , y una relación inversa entre toxicidad y salinidad.

Varios autores mencionan un efecto negativo de los nitritos sobre la tasa de crecimiento tanto de peces (Wedemeyer y Yasutane, 1978; Colt *et al.*, 1981; Kamstra *et al.*, 1996) como de crustáceos (Armstrong *et al.*, 1976; Wickins, 1976; Chen *et al.*, 1990; Chen y Chen, 1992). En ambos ensayos de este trabajo los nitritos se mantuvieron en niveles por lo menos dos órdenes de magnitud inferiores a los mencionados por esos autores, por lo cual se concluye que no representaron ningún problema para el desarrollo de *L. vannamei*.

Contrariamente a lo que se observó para el amonio, en este trabajo se registró una tendencia a mayores concentraciones de nitritos en los tratamientos con Aquamats, que coincide con los resultados de Bratvold y Browdy (2001) y Erler *et al.* (2004), los cuales atribuyeron esta diferencia a una mayor tasa del proceso de nitrificación asociada con la comunidad bacteriana presente en los sustratos añadidos.

Los nitratos son el producto final de la nitrificación aeróbica realizado por las bacterias *Nitrobacter* sp., y es el compuesto nitrogenado inorgánico menos tóxico; la nitrificación es favorecida por buenos niveles de oxígeno disuelto, temperaturas elevadas, disponibilidad de sustrato para aumentar el área superficial de contacto (Hargreaves, 1998; Bender y Phillips, 2004). En sistemas acuícolas los nitratos son considerados como un problema ocasional, debido a que sus concentraciones raramente alcanzan niveles tóxicos (Boyd, 1990; Boyd y Tucker, 1998; Treece, 2000) ya que, de acuerdo con Wickins (1976), el valor de la  $CL_{50}$  a 96 h para organismos acuáticos varía de 1000 hasta 3000 mg L<sup>-1</sup> de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Para juveniles de *P. monodon* a una salinidad de 35, Tsai y Chen (2002) estimaron una  $CL_{50}$  a 96 h de 2316 mg L<sup>-1</sup> y un nivel de seguridad de 232 mg L<sup>-1</sup>, con una mayor susceptibilidad a menor salinidad. Si se consideran los datos anteriores, los niveles promedio del presente trabajo se mantuvieron dentro del intervalo adecuado para la especie. En ambos experimentos se observó una tendencia a concentraciones de nitrógeno disuelto progresivamente mayores, y a una sucesión de los máximos de amonio, nitritos y nitratos. Una dinámica similar de sucesión de las especies químicas del nitrógeno y del proceso aditivo fue observado por Arnold *et al.* (2006b). El proceso acumulativo resulta del ingreso continuo de nutrientes en el alimento, y la acumulación de nitratos indica que la comunidad bacteriana realizó una activa oxidación del nitrógeno amoniacal y del nitrito.

El fósforo es considerado un nutriente metabólico clave en la ecología de un sistema de cultivo acuático (Kutty, 1987; Boyd y Tucker, 1998), aunque difícilmente puede ser limitante para la productividad de un estanque acuícola, ya que en general su disponibilidad es adecuada debido al contenido de fósforo relativamente elevado en las dietas formuladas para camarones y peces (Tacon, 1989).

En general, en estanques acuícolas se observa un proceso acumulativo del fósforo en la columna de agua, el cual es debido básicamente a la mineralización de la materia orgánica

particulada proveniente de las excretas de los organismos y a la lixiviación del alimento balanceado (Briggs y Funge-Smith, 1994; Burford y Williams, 2001). Esto se verificó en este trabajo, ya que en ambos experimentos se observó un incremento lineal de las concentraciones de fósforo disuelto reactivo y total.

En el primer experimento, el peso individual, la biomasa y la supervivencia final del tratamiento con incremento de área de cultivo, por la inclusión de sustratos artificiales, superaron en 4.3, 13.0 y 8.5% los valores registrados en los cultivos control. Asimismo, los valores medios de los factores de conversión alimenticia y económica de los cultivos con Aquamats, fueron el 17.8% menores de los calculados para el control. Por otra parte, se consideró necesario comprobar en un segundo experimento, la eficiencia de la adición de estos sustratos mediante el incremento de la carga biológica en las unidades experimentales.

En el segundo experimento, en ambos niveles de biomasa inicial los pesos finales en los tratamientos en los cuales se incrementó el área de cultivo mediante sustratos artificiales, fueron significativamente superiores (12.6 y 19.7%), respecto a los testigos, y la biomasa final fue mayor en 29.9 y 42.3%, para ambas densidades. De igual manera, los porcentajes de supervivencia fueron 15.1 y 22.0% mejores en los tratamientos en comparación con los testigos, y además se observó que la conversión del alimento y económica fueron menores en cerca del 32.0 y 43.0%.

Los pesos finales obtenidos en el segundo bioensayo coinciden con los resultados de Moss y Moss (2004) y Otoshi *et al.* (2006), quienes encontraron diferencias de entre 26 y 34.5%, en el peso final en los tanques de cultivo con sustrato sintético adicional y señalaron que el incremento de sustrato mitiga el efecto negativo de la alta densidad de cultivo, lo cual se confirmó con los resultados del segundo experimento.

Sin embargo, aunque en todos los experimentos de cultivo con diseño similar al usado en este trabajo se menciona el efecto positivo de una mayor disponibilidad de sustrato, otros autores observaron que su incremento no elimina la relación negativa entre tasa de crecimiento y densidad de siembra (Arnold *et al.*, 2005, 2006a,b; Zarain-Herberg *et al.*, 2006).

En el segundo bioensayo el incremento de la biomasa (29.9 y 42.3%) en los tratamientos con superficie añadida es mayor a lo reportado por Domingos y Vinatea (2008) en un cultivo de camarón blanco en condiciones semi-intensivas y con incrementos de área superficial de hasta el 45%. En este trabajo el incremento de superficie fue de aproximadamente el 150%, que es la explicación más probable de la diferencia.

Esto coincide también con los resultados de Zhang *et al.* (2010), quienes incrementaron mediante sustratos artificiales la superficie disponible para postlarvas de *L. vannamei* en aproximadamente el 40, 120 y 200% y observaron incrementos progresivos y significativos del crecimiento, con pesos finales que, en el caso del tercer tratamiento, superaron los 13.6 g, en comparación con los 5.5 g obtenidos en los cultivos control.

Aunque resultó significativamente mejor en los cultivos con Aquamats, el factor de conversión alimenticia del primer experimento resultó todavía relativamente elevado respecto a los valores de 1.3-1.4:1 obtenidos en cultivos cerrados de nivel intensivo y con el uso de sustratos artificiales (Boyd y Clay, 2002). Por otra parte, mientras en el primer experimento los Aquamats se usaron después de cinco días de maduración (Burford *et al.*, 2004), en el segundo el periodo de maduración se incrementó a 24 días (Arnold *et al.*, 2006b), lo que permitió una colonización de microbiota significativamente más abundante, como resulta evidente por la notable diferencia entre los valores de los contenidos iniciales de nitrógeno y fósforo de la biopelícula.

Se observó además una diferencia relativamente importante en la biomasa final de la biopelícula en la temporada de primavera-verano (segundo experimento) respecto a la registrada en otoño-invierno, que pudiera ser debida a las diferentes condiciones ambientales, aunque también pudiera haber contribuido la intensidad de alimentación de los camarones, cuya densidad en este caso fue mayor. Esto es un factor que favorece el incremento de biomasa de la biopelícula (Milstein *et al.*, 2003. 2005; Arnold *et al.*, 2006b), debido a que mantiene el crecimiento exponencial de los microorganismos (Morrison y White, 1980; Pearson, 2002).

Posiblemente por ambos motivos, tanto por la mayor cantidad de biomasa inicial, como por el mejor crecimiento de la microbiota, los factores de conversión de alimento mejoraron

sustancialmente en el segundo experimento. En ambos casos la diferencia resultó superior al 30%, aunque se acercó al 40% en los cultivos con la mayor densidad inicial.

Estas diferencias representan una notable disminución de los costos de producción, como comentaron diferentes autores como Bratvold y Browdy (2001) y Arnold *et al.* (2006b), los cuales obtuvieron conversiones menores con el uso de sustratos añadidos, que atribuyeron la actividad de alimentación de los camarones sobre los organismos presentes en la biopelícula. Sin embargo se requiere un análisis detallado del costo-beneficio para determinar la factibilidad del uso de éstos sustratos a escala comercial. Las mejoras en la respuesta productiva están relacionadas también con la mayor disponibilidad de superficies lo cual propicia una distribución más homogénea de los organismos cultivados y un menor estrés. Esto fue observado por Zhang *et al.* (2010), quienes registraron una distribución similar de los camarones en las superficies suspendidas y en el fondo, mientras que en los cultivos sin sustratos agregados no se observaron organismos en las paredes de los recipientes y todos los camarones estaban concentrados en el fondo.

Aparte de la posibilidad de una mejor alimentación y por tanto de un mejor crecimiento, varios autores coinciden en indicar que el empleo de estos sustratos aumenta la supervivencia de los organismos, que encuentran en estos sustratos una mayor área disponible y refugio. En este trabajo la supervivencia final presentó diferencias significativas, obteniéndose desde 8.5 hasta 22.0% más camarones en los tratamiento con presencia de sustratos con respecto a los cultivos testigo. Estos resultados son similares a los documentados por Arnold *et al.* (2005 y 2006b) y Ballester *et al.* (2007).

Las observaciones sobre la composición de la biopelícula confirman los resultados reportados por otros autores (Arnold *et al.*, 2005; Abreu *et al.*, 2007; Domingos y Vinatea, 2008) sobre la presencia de diatomeas bentónicas, bacterias, ciliados y copépodos. Los resultados de crecimiento, de producción de biomasa cosechable y de factores de conversión de alimento coinciden con lo encontrado por varios autores, en el sentido de que los sustratos artificiales no solo incrementa la disponibilidad de alimento natural, sino que éste es utilizado con éxito por los organismos en cultivo (Tidwell *et al.*, 1998; Keshavanath *et al.*, 2001; Erler *et al.*, 2004; Milstein *et al.*, 2005; Khatoon *et al.*, 2007a,b).

La composición bioquímica del alimento vivo es importante para el cultivo de peces, moluscos y crustáceos, ya que los organismos vivos contienen la mayoría de los elementos nutritivos que favorecen el desarrollo y el crecimiento (Treece, 1984; Tidwell *et al.*, 1997; Prieto *et al.*, 2006; Campaña-Torres *et al.*, 2010). Entre las dietas vivas, las microalgas aportan ácidos grasos altamente insaturados que son esenciales para todos los organismos animales (Brown *et al.*, 1997; Brown, 2002). Por su parte, los copépodos y rotíferos se caracterizan por su buen perfil de aminoácidos, y son además una buena fuente de ácidos grasos esenciales (Delbare *et al.*, 1996; Rajkumar y Kumaraguru-Vasagam, 2006). En efecto, está ampliamente documentado que cuando el alimento formulado es complementado con dietas vivas, se obtienen mejores resultados tanto en supervivencia como en crecimiento (Rosenlund *et al.*, 1997; Aristizábal y Suárez, 2006; Porchas-Cornejo *et al.*, 2010).

En este caso aparentemente, la microbiota adherida en las estructuras añadidas contribuyó con alta eficiencia al éxito de los cultivos, tanto por la biomasa como por su calidad en el contenido de proteína muscular, ya que se ha demostrado que el perifiton y otra biota asociada, puede contribuir sustancialmente a satisfacer los requerimientos dietéticos, tanto cualitativos como cuantitativos, del camarón (Burford *et al.*, 2004; Ballester *et al.* 2007; Khatoon *et al.*, 2009).

Racotta y Palacios (1998) reportan que los valores normales de la concentración de proteínas plasmáticas de juveniles de camarón se encuentran entre aproximadamente 90 y 130 mg ml<sup>-1</sup> y que no varían significativamente bajo situaciones de estrés. Por otra parte, de acuerdo a Pascual *et al.* (2003a), este intervalo se refiere a juveniles mantenidos en condiciones de laboratorio, mientras que en estanques exteriores la variabilidad es más elevada (entre más de 200 a aproximadamente 50-60 mg ml<sup>-1</sup>), y el nivel de proteínas en la hemolinfa depende en gran parte de la alimentación.

En este trabajo, los valores encontrados en el primer experimento resultaron cercanos a los que indican una alimentación basada en dietas frescas congeladas, las cuales se consideran relativamente pobre (Nair *et al.*, 1995). Esto pudiera ser debido a una escasa disponibilidad de alimento natural, que coincide por lo menos en parte con la menor biomasa inicial y con el menor crecimiento de la biopelícula durante el primer experimento. Por otra parte, los

valores de proteínas en la hemolinfa encontrados en el segundo experimento resultaron cercanos a los que, de acuerdo a Racotta y Palacios (1998) y Pascual *et al.* (2003a) parecen indicar la ausencia de un estado de estrés o deficiencias nutricionales.

Sin embargo, la variabilidad de la concentración de proteínas en la hemolinfa está asociada también con otros factores entre los cuales están por ejemplo, los estadios de muda (Chan *et al.*, 1988; Cheng *et al.*, 2002; Sreenivasa-Rao *et al.*, 2008), que pudiera ser otro motivo por la discrepancia con los valores de referencia, ya que al momento de la cosecha entre el 20 y 35% del total de organismos se encontraba en el estadio de postmuda.

Por otra parte, el contenido de proteína del músculo fue aproximadamente un 21.0% más alto en los cultivos con Aquamats. Esta mejor condición nutricional de los camarones de los cultivos con Aquamats parece indicar la disponibilidad de alimento de mejor calidad, que coincide con los resultados reportados por otros autores (Burford *et al.*, 2004; Milstein *et al.*, 2005; Khatoon *et al.*, 2007a).

Esto es probablemente debido al alto nivel de proteínas de la biota asociada a los sustratos, que varía entre el 12 y el 30% (Lopes-Thompson *et al.*, 2002; Fernandes da Silva *et al.*, 2008), y sugiere una incorporación de proteínas en los tejidos del camarón significativamente mayor en los cultivos con Aquamats, que en efecto fue comprobado experimentalmente por Khatoon *et al.* (2009).

La biota de las paredes y del fondo de los recipientes de cultivo está compuesta por un conjunto de organismos autótrofos y heterótrofos, entre los cuales las bacterias heterótrofas utilizan la materia orgánica y la transforman en sustancias inorgánicas disueltas como CO<sub>2</sub>, y compuestos inorgánicos nitrogenados y fosforados, que son asimilados por las bacterias autótrofas y por el fitoplancton y perifiton, lo que favorece el flujo de materia y energía a través de la cadena alimenticia (Azam *et al.*, 1983; Milstein *et al.*, 2003; Florencio de Araujo y Soares da Costa, 2007).

Con la adición de sustratos y la consecuente mayor biomasa de organismos asociados a ellos, el reciclamiento de los nutrientes disueltos procedentes del metabolismo de los organismos en cultivo y del alimento no utilizado se hace más eficiente y se favorece la recuperación de los mismos en la biomasa de los organismos cultivados (Lopes-Thompson *et al.*, 2002; Azim *et al.*, 2004). En este estudio, los beneficios mencionados se vieron



reflejados tanto en los mejores parámetros de producción de biomasa cosechable de camarón, como en una mayor eficiencia de recuperación de los nutrientes contenidos en el alimento balanceado en los tratamientos con Aquamats.

Del total de nitrógeno, fósforo y carbono que ingresa a un sistema de cultivo tradicional, con recambios diarios de agua, la proporción que se incorpora al tejido de camarón y a otros organismos del plancton y bentos representa en general menos de la tercera parte, una fracción similar permanece en los depósitos del fondo y el resto es descargado a través de los efluentes (Páez-Osuna *et al.*, 1997; Boyd y Tucker, 1998; Casillas-Hernández *et al.*, 2006, 2007), que es uno de los problemas relacionados con el impacto negativo de la camaronicultura sobre el medio ambiente (Martínez-Córdova *et al.*, 2009).

En el presente trabajo se observó que la exportación neta de nutrientes en el agua de descarga representó entre el 9 y el 11% del total de los ingresos de nitrógeno en el caso del primer experimento, y en todos los casos resultó menor al 3% en el segundo, que coincide con el mayor porcentaje de nitrógeno recuperado como biomasa final de camarón.

En ambos experimentos, el nitrógeno presente en la biopelícula representó aproximadamente el 15-16% de los egresos totales, con una notable reducción del nitrógeno retenido en los sedimentos, que son una fuente adicional de impacto ambiental.

En el caso del fósforo, el porcentaje descargado con el efluente en la fecha de la cosecha final resultó en todos los casos inferior al 5% de los ingresos, lo que representa una notable disminución con respecto a los porcentajes de 58-68% reportados por Teichert-Coddington *et al.* (2000) y Miranda-Baeza (2005) para sistemas semi-intensivos o del 10% calculado para sistemas intensivos por Briggs y Funge-Smith (1994), en los cuales por otra parte la cantidad contenida en los sedimentos representa más del 80% del total de los ingresos.

En comparación, en el presente estudio, los porcentajes del fósforo retenido en los sedimentos y recuperado como biomasa cosechable de camarón variaron entre el 64 y el 69.5% y del 23.3 al 26.4%, respectivamente, en los cultivos control, mientras que en los tratamientos con Aquamats los sedimentos retuvieron entre el 40.6 y el 60.3% y los recuperados como biomasa de camarón variaron entre 26.6 hasta 31.7%. Los porcentajes mejores (menores para sedimentos y mayores para biomasa) fueron los registrados en los cultivos con la mayor densidad inicial.

Otros estudios han demostrado la factibilidad de mantener cultivos intensivos totalmente cerrados y sin recirculación, sin perjuicio de la calidad del agua de los estanques, y además coinciden en indicar que el incremento de la densidad de siembra permite incrementar la eficiencia de incorporación de los nutrientes del alimento en la biomasa de camarón (Piedrahita, 2003; Thakur y Lin, 2003).

Con base en estas consideraciones y dado que, no obstante la elevada biomasa tanto inicial (equivalente a entre 4.4 y 8.0 ton ha<sup>-1</sup>) como final (11 a 15 ton ha<sup>-1</sup> sin Aquamats y 13 a 22 ton ha<sup>-1</sup> con Aquamats), la calidad ambiental de los estanques no se vio significativamente afectada por la falta de recambios de agua, resulta evidente la ventaja de continuar el proceso de verificación de la factibilidad de cultivos a mayor escala, con el fin de determinar la capacidad máxima que pueden soportar sistemas de cultivo totalmente cerrados, que presentan varias ventajas sobre los cultivos tradicionales, ya que permiten la máxima utilización de los recursos tierra y agua, incrementan notablemente la eficiencia de utilización del alimento y permiten además minimizar el impacto negativo sobre la calidad ambiental de los sistemas acuáticos colindantes.

## 9. CONCLUSIONES

A la luz de los resultados del presente estudio se puede concluir que:

La incorporación de sustratos artificiales en el cultivo intensivo de *L. vannamei*, tuvo un efecto significativo y positivo tanto en la calidad del agua del sistema, como en la respuesta productiva y condición nutricional de los organismos cultivados.

Los balances de nitrógeno y fósforo indican sin lugar a dudas que la estrategia probada permite un uso más eficiente de los nutrientes en el sistema, ya que promueve su mayor incorporación a la biomasa de los organismos cultivados y una consecuente disminución de su concentración en la columna de agua, efluentes y sedimento.

Los factores de conversión alimenticia y económica obtenidos sobre todo en la segunda corrida, sugieren que la incorporación de sustratos artificiales abona en beneficio de una camaronicultura más sustentable, es decir económicamente más rentable y ecológicamente más amigable.

## 10. LITERATURA CITADA

- Abreu, P.C., E.L.C. Ballester, C. Odebrecht, W. Wasielesky, R.O. Cavalli, W. Granéli, A.M. Anesio. 2007. Importance of biofilm as food source for shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*) evaluated by stable isotopes ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 347:88-96.
- Akiyama, D.M., W.G. Dominy, A.L. Lawrence. 1992. Penaeid shrimp nutrition. En: Fast, A.W., L.J. Lester (eds.) Marine Shrimp Culture: Principles and Practices. Elsevier, New York. 535-568 p.
- Allison, D.G., P. Gilbert. 1994. Bacterial biofilms. Sci. Prog. 76:305-321.
- Anderson, R.K., L.P. Parker, A. Lawrence. 1987. A  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  tracer study of the utilization of presented feed by a commercial important shrimp *Penaeus vannamei* in pond growout system. J. World Aquac. Soc. 18:148-155.
- AOAC. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) & Water Environment Federation (WEF). 21st Ed. Washington, D.C. 1368 p.
- Aristizábal, E.O., J. Suárez. 2006. Efficiency of co-feeding red porgy (*Pagrus pagrus* L.) larvae with live and compound diet. Rev. Biol. Mar. Oceanogr. 41:203-208.
- Armstrong, D.A., J.J. Stephenson, A. Knight. 1976. Acute toxicity of nitrite to larvae of the giant Malasyan prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture, 9: 39-46.
- Arnold, S.J., M.J. Sellar, P.J. Crocos, G.J. Coman. 2005. Response of juvenile brown tiger shrimp (*Penaeus esculentus*) to intensive culture conditions in a flow through tank system with three-dimensional artificial substrate. Aquaculture 246:231-238.
- Arnold, S.J., J.S. Melony, P.J. Crocos, G.J. Coman. 2006a. An evaluation of stocking density on the intensive production of juvenile brown tiger shrimp (*Penaeus esculentus*). Aquaculture 256:174-179.
- Arnold, S.J., M.J. Sellar, P.J. Crocos, G.J. Coman. 2006b. Intensive production of juvenile brown tiger shrimp *Penaeus monodon*: an evaluation of stocking density and artificial substrates. Aquaculture 261:890-896.

- Asaduzzaman, M., M.A. Wahab, M.C.J. Verdegem, S. Huque, M.A. Salam, M.E. Azim. 2008. Effects of C/N ratio and substrate addition on natural food communities in freshwater prawn monoculture ponds. *Aquaculture* 280:117-123.
- Avnimelech, Y. 2006. Bio-filters: The need for a new comprehensive approach. *Aquacult. Eng.* 34:172-178.
- Azam, F., T. Fenchel, J.G. Field, J.S Gray, L.A Meyer-Reil, F. Thingstad. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 10:257-263.
- Azim, M.E., T. Asaeda. 2005. Periphyton structure, diversity and colonization. En: Azim, M.E., M.C.J. Verdegem, A.A. van Dam, M. Beveridge (eds.) *Periphyton: ecology, exploitation and management*. CABI Publishing Co., Wallingford. 15-34 p.
- Azim, M.E., M.C.J. Verdegem, M.A. Wahab, A.A. van Dam, M C.M. Beveridge. 2001. Periphyton boosts production in pond aquaculture systems. *World Aquac.* 32(4):57-61.
- Azim, M.E., M.A. Wahab, P. K. Biswas, T. Asaeda, T. Fujino, M.C.J. Verdegem. 2004. The effect of periphyton substrate density on production in freshwater polyculture ponds. *Aquaculture* 232:441-453.
- Azim, M.E., M.C.J. Verdegem, A.A. van Dam, M.C.M. Beveridge. (eds.). 2005. *Periphyton: ecology, exploitation and management*. CABI Publishing Co., Wallingford. 352 p.
- Bailey-Brock, J.H., S.M. Moss. 1992. Penaeid taxonomy, biology and zoogeography. En: Fast, A.W., L.J. Lester (eds.) *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier, New York. 9-27 p.
- Ballester, E.L.C., W.Jr. Wasielelesky, R.O. Cavalli, P.C. Abreu. 2007. Nursery of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* in cages with artificial substrates: biofilm composition and shrimp performance. *Aquaculture* 269:355-362.
- Ballester, E.L.C., P.C. Abreu, R.O. Cavalli, M. Emerenciano, L. De Abreu, W. Wasielelesky Jr. 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. *Aquacult. Nutr.* 16:163-172.

- Barón-Sevilla, B., L.F. Bückle-Ramírez, M. Hernández-Rodríguez. 2004. Intensive culture of *Litopenaeus vannamei* Boone 1931, in a recirculating seawater system. *Ciencias Marinas* 30(1B):178-188.
- Bender, J., P. Phillips. 2004. Microbial mats for multiple applications in aquaculture and bioremediation. *Biores. Technol.* 94:229-235.
- Bower, C.E., J.P. Bidwell. 1978. Ionization of ammonia in seawater, effect of temperature, pH and salinity. *J. Fish Res. Bd. Can.* 35:1012-1016.
- Boyd, C.E. 1990. *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama Univ. Press, Auburn. 444 p.
- Boyd, C.E., C.S. Tucker. 1998. *Pond aquaculture water quality management*. Kluwert Academic Publishers, Boston. 707 p.
- Boyd, C. E., J.W. Clay. 2002. Evaluation of Belize Aquaculture, Ltd: A Superintensive Shrimp Aquaculture System. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment. 17 p.
- Bratvold, D., C.L. Browdy, 2001. Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMats™) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. *Aquaculture* 195:81-94.
- Briggs, M.R., S.J. Funge-Smith. 1994. A nutrient budget of some intensive marine shrimp ponds in Thailand. *Aquac. Fish. Manag.* 25:789-811.
- Browdy, C.L., D. Bratvold, A.D. Stokes, P. McIntosh. 2001. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. En: Browdy, L.C., D.E. Jory (eds.) *The New Wave, Proceedings of Special Session on Sustainable Shrimp Culture*. *Aquaculture 2001*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, 20-34 p.
- Brown, M.R. 2002. Nutritional value of microalgae for aquaculture. En: Cruz-Suárez, L.E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M.G. Gaxiola-Cortés, N. Simoes (eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Mem. VI Simp. Internac. Nutrición Acuícola*, Cancún. 281-292 p.
- Brown, M.R., S. Jeffrey, J.K. Volkman, G.A. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151:315-331.
- Burford, M.A., A.R. Longmore. 2001. High ammonium production from sediments in

- hypereutrophic shrimp ponds. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 224:187-195.
- Burford, M.A., K.C. Williams. 2001. The fate of nitrogenous waste from shrimp feeding. *Aquaculture* 198:79-93.
- Burford, M.A., K. Lorenzen. 2004. Modeling nitrogen dynamics in intensive shrimp ponds: the role of sediment remineralization. *Aquaculture* 229:129-145.
- Burford, M.A., M.J. Sellars, S.J. Arnold, P.J. Crocos, N.P. Preston. 2004. Contribution of natural biota associated with substrates to the nutritional requirements of the post-larval shrimp, *P. esculentus* (Haswell) in high-density rearing systems. *Aquac. Res.* 35:508-515.
- Caffrey, J.M., N. Bano, K. Kalanetra, J.T. Hollibaugh. 2007. Ammonia oxidation and ammonia-oxidizing bacteria and archaea from estuaries with differing histories of hypoxia. *Int. Soc. Microb. Ecol. J.* 1:660-662.
- Campaña-Torres, A., L.R. Martínez-Córdova, H. Villarreal-Colmenares, E. Cortés-Jacinto. 2010. Evaluation of different concentrations of adult live *Artemia* (*Artemia franciscana*, Kellogs 1906) as natural exogenous feed on the water quality and production parameters of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) pre-grown intensively. *Aquac. Res.* 42:40-46.
- Cardillo, G. 2006. Holm-Sidak t-test: a routine for multiple t-test comparisons. Disponible en Matlab Central, en la página de la Red Mundial: <http://www.mathworks.de/matlabcentral/fileexchange/12786> (Consultado el 22 de Noviembre 2009).
- Casillas-Hernández, R., F. Magallón-Barajas, G. Portillo-Clarck, F. Páez-Osuna. 2006. Nutrient mass balances in semi-intensive shrimp ponds from Sonora, Mexico using two feeding strategies: trays and mechanical dispersal. *Aquaculture* 258:289-298.
- Casillas-Hernández, R., H. Nolasco-Soria, T. García-Galano, O. Carrillo-Farnes, F. Páez-Osuna. 2007. Water quality, chemical fluxes and production in semi-intensive Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture ponds utilizing two different feeding strategies. *Aquacult. Eng.* 36:105-114.
- Castillo-Morales, G. (Ed.). 2004. *Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas. Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones.*

- Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, Ottawa. 189 pp. También disponible online en: <http://www.idrc.ca/openebooks/147-7/>
- Chacón, S.A. 2006. Guía técnica para balance de masa y otras variables en la industria frutícola. Ministerio de Agricultura y Ganadería de El Salvador, Programa Nacional de Frutas, Santa Tecla. 32 p.
- Chamberlain, G.W. 1995. Frontiers in shrimp nutrition research. En: Browdy C.L., S. Hopkins (eds.) *Swimming through Troubled Water*. The World Aquaculture Society. Baton Rouge. 108-117 p.
- Chan, S-M., S.M. Rankin, L.L. Keeley. 1988. Characterization of the molt stages in *Penaeus vannamei*: setogenesis and hemolymph levels of total protein, ecdysteroids, and glucose. *Biol. Bull.* 175:185-192.
- Characklis, W.G., K.C. Marshall. 1990. *Biofilms: A basis for an interdisciplinary approach*. En: W.G. Characklis, K.C. Marshall (eds.) *Biofilms*. Wiley-Interscience, New York. 3-16 p.
- Chen, J.C., S.F. Chen. 1992. Effects of nitrite on growth and molting of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquaculture*, 109: 177-185.
- Chen, J.C., S.Y. Cheng. 1995. Changes of oxyhemocyanin and protein levels in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient nitrite. *Aquat. Toxicol.* 33:215-226.
- Chen, J.C., Y. Lee. 1997. Effects of nitrite on mortality, ion regulation and acid-base balance of *Macrobrachium rosenbergii* at different external chloride concentration. *Aquat. Toxicol.* 39: 291-305.
- Chen, J.C., Y.Z. Kou. 1991. Accumulation of ammonia in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. *Dis. Aquat. Org.* 11:187-191.
- Chen, J.C., Y.Z. Kou. 1993. Accumulation of ammonia in the haemolymph of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquaculture* 109:177-185.
- Chen, J.C., T.C. Chin, C.K. Lee. 1986. Effects of ammonia and nitrite on larval development of the shrimp (*Penaeus monodon*). En: MacLean J.L, L.B. Dizon, L.V. Hosillos (eds.) *The First Asian Fisheries Forum*. The Asian Fisheries Society, Manila. 657-662 p.



- Chen, J.C., S.C. Lei, P.C. Liu. 1990. Effect of ammonia and nitrite on *Penaeus monodon* juveniles. En: Hirano, Y., C. Hanyu, (eds.) The Second Asian Fisheries Forum. Tokyo. 65-68 p.
- Cheng, S.Y., J.C. Chen. 1998. Effects of nitrite exposure on the hemolymph electrolyte, respiratory protein and free amino acid levels and water content of *Penaeus japonicus*. *Aquat. Toxicol.* 44:129-139.
- Cheng, W., C-H. Liu, D-F. Yan, J-C. Chen. 2002. Hemolymph oxyhemocyanin, protein, osmolality and electrolyte levels of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* in relation to size and molt stage. *Aquaculture* 211:325-339.
- Christensen, B.E. 1989. The role of extracellular polysaccharides in biofilms. *J. Biotechnol.* 10:181-202.
- Clifford, H.C. 1997. Manual de operaciones para el manejo de Super Shrimp en estanques. Super Shrimp, S.A. de C.V. División de Servicios. Mazatlán. 105 p.
- Colt, J.E., D.A. Armstrong. 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs. *Proc. Bio-Eng. Symp. Fish Culture. Fish Culture Section of the American Fisheries Society (FCS Publ. 1):34-47.*
- Colt, J., R. Ludwig, G. Tchobanoglous, J.J. Jr Cech. 1981. The effects of nitrite on the short-term growth and survival of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture* 24:111-122.
- Coman, E., R.M. Connolly, N.P. Preston. 2006. Effects of water exchange and abiotic factors on zooplankton and epibenthic fauna in shrimp ponds. *Aquac. Res.* 37:1387-1389.
- Crab, R., Y. Avnimelech, T. Defoirdt, P. Bossier, W. Verstraete. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture* 270:1-14.
- Dall, W. 1967. Food and feeding of some Australian penaeid shrimp. *FAO Fish. Rep.* 57(2):251-258.
- Dall, W., B.J. Hill, P.C. Rothlisberg, D.J. Sharples. 1990. The biology of Penaeidae. *Adv. Mar. Biol.* 27:213-250.

- Delbare, D., P. Dhert, P. Lavens. 1996. Zooplankton. En: Lavens, P., P. Sorgeloos. (eds.) Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fish. Tech. Pap. 361. 252-282 pp.
- Delgado, C.L., N. Wada, M.W. Rosegrant, M.S. Meijer, M. Ahmed. 2003. Fish to 2020. Supply and Demand in Changing Global Markets. International Food Policy Research Institute, Washington and WorldFish Center, Penang. 226 p.
- Domingos, J.A.S., L. Vinatea. 2008. Efeito do uso de diferentes quantidades de substratos artificiais na engorda do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), em sistema de cultivo semi-intensivo. Bol. Inst. Pesca, São Paulo 34:141-150.
- Eisma, D. 1993. Suspended matter in the aquatic environment. Springer Verlag, Berlin. 420 p.
- Erler, D., P. Pollard, P. Duncan, W. Knibb. 2004. Treatment of shrimp farm effluent with omnivorous finfish and artificial substrates. Aquacult. Res. 35:816-827.
- FAO, 2008. FAO Fisheries Department, Fishery Information, Data and Statistics Unit. Fishstat Plus: Universal software for fishery statistical time series. Aquaculture production: quantities 1950–2006, Aquaculture production: values 1984–2006; Capture production: 1950–2006; Commodities production and trade: 1950–2006; Vers. 2.30.
- FAO. 2009. El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma. 196 pp. También disponible en línea en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0250s/i0250s.pdf>
- Fernandes da Silva, C., E. Ballester, J. Monserrat, L. Geracitano, W. Jr. Wasielesky, P. C. Abreu. 2008. Contribution of microorganisms to the biofilm nutritional quality: protein and lipid contents. Aquacult. Nutr. 14:507-514.
- Florencio de Araujo, M.F., I.A. Soares da Costa. 2007. Comunidades microbianas (bacterioplâncton e protozooplâncton) em reservatórios do semi-árido brasileiro. Oecol. Bras. 11:422-432.
- Focken, U., A. Groth, R. Coloso, K. Becker. 1998. Contribution of natural food and supplemental feed to the gut content of *Penaeus monodon* Fabricius in semi-intensive pond system in the Philippines. Aquaculture 164:105-116.

- Francis, C.A., K.J. Roberts, J.M. Beman, A.E. Santoro, B.B. Oakley. 2005. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 102:14683-14688.
- Francis, C.A., J.M. Beman, M.M.M. Kuypers. 2007. New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation. *Int. Soc. Microb. Ecol. J.* 1:19-27.
- Frías-Espericueta, M.G., F. Páez-Osuna. 2001. Toxicidad de los compuestos del nitrógeno en camarones. En: F. Páez Osuna (ed.) *Camaronicultura y Medio Ambiente*. ICMyL-UNAM, PUA-UNAM, El Colegio de Sinaloa, México, D.F. 224-242 p.
- Frías-Espericueta, M.G., M. Harfush-Melendez, J.I. Osuna-López, F. Páez-Osuna. 1999. Acute toxicity of ammonia to juvenile shrimp *Penaeus vannamei* Boone. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 62:646-652.
- Frías-Espericueta, M.G., M. Harfush-Melendez, F. Páez-Osuna. 2000. Effects of ammonia on mortality and feeding of postlarvae shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 65:98-103.
- Funge-Smith, S.J., M.R.P. Briggs. 1998. Nutrient budgets in intensive shrimp ponds: Implications for sustainability. *Aquaculture* 164:117-134.
- Gravningen, K. 2007. Driving forces for aquaculture-different scenarios towards 2030. 19-26. En: Arthur, R. y J. Nierentz (Eds.). *Global trade conference on aquaculture*. FAO Fishery Proceedings 9. FAO, Roma.
- Hargreaves, J.A. 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture* 166:181-212.
- Hishamunda, N., N.B. Ridler. 2002. Macro policies to promote sustainable commercial aquaculture. *Aquacult. Int.* 10:491-505.
- Hoagland, K.D., S.C. Roemer, J.R. Rosowski. 1982. Colonization and community structure of two periphyton assemblages, with emphasis on the diatoms (Bacillariophyceae). *Am. J. Botany* 69:188-213.
- Holm-Hansen, L. 1968. Determination of particulate organic nitrogen. *Limnol. Oceanogr.* 13:175-178.
- Hopkins, J.S., D.R. Hamilton, P.A. Sandifer, L.C. Browdy, A.D. Stokes. 1993. Effect of

- water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. *J. World Aquac. Soc.* 24:305-320.
- Jackson, M.L. 1982. *Análisis químico de suelos*. 4<sup>a</sup> ed. Ediciones Omega, S.A., Barcelona. 55 p.
- Jackson, C., N. Preston, P.J. Thompson, M. Burford. 2003. Nitrogen budget and effluent nitrogen components at an intensive shrimp farm. *Aquaculture* 218:397-411.
- James, R., G. Allison, F. Stagnitti, R.J. Hill, S. Salzman. 2001. The use of artificial biofilms to strip nutrients from an industrial smelter's wastewater under conditions of low temperature and high pH. *J. Environ. Hydrol.* 9:1-7.
- Jory, D.E. 1995. Management of natural productivity in marine shrimp semi-intensive ponds. *Aquacult. Mag.* 21:90-100.
- Kamstra, A., J.A. Span, J.H. van Weerd. 1996. The acute toxicity and sublethal effects of nitrite on growth and feed utilization of European eel, *Anguilla anguilla* (L.). *Aquacult. Res.* 27:903-911.
- Keshavanath, P., B. Gangadhar, T.J. Ramesh, J.M. van Rooij, M.C.M. Beveridge, D.J. Baird, M.C.J. Verdegem, A.A. van Dam. 2001. Use of artificial substrates to enhance production of freshwater herbivorous fish culture. *Aquacult. Res.* 32:189-197.
- Khatoon, H., F.M. Yusoff, S. Banerjee, M. Shariff, J.S. Bujang. 2007a. Formation of periphyton biofilm and subsequent biofouling on different substrates in nutrient enriched brackishwater shrimp ponds. *Aquaculture* 273:470-477.
- Khatoon, H., F.M. Yusoff, S. Banerjee, M. Shariff, S. Mohamed. 2007b. Use of periphytic cyanobacterium and mixed diatoms coated substrate for improving water quality, survival and growth of *Penaeus monodon* Fabricius postlarvae. *Aquaculture* 271:196-205.
- Khatoon, H., S. Banerjee, F.M. Yusoff, M. Shariff. 2009. Evaluation of indigenous marine periphytic *Amphora*, *Navicula* and *Cymbella* grown on substrate as feed supplement in *Penaeus monodon* postlarval hatchery system. *Aquacult. Nutr.* 15:186-193.
- Khoo, K.H., C.H. Culberson, R.G. Bates. 1977. Thermodynamics of the dissociation of ammonia ion in seawater from 5 to 40 °C. *J. Solut. Chem.* 6:281-290.

- Kumlu, M., D.A. Jones. 1995. The effect of live and artificial diets on growth, survival, and trypsin activity in larvae of *Penaeus indicus*. J. World Aquac. Soc. 26:406-415.
- Kutty, M.N. 1987. Site selection for aquaculture: chemical features of water. FAO Fisheries Project Reports 12(9). 40 p. También disponible online en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AC175E/AC175E00.htm>
- Lawrence, A.L., D.M. Houston. 1993. Nutritional response of juvenile *Penaeus setiferus* and *Penaeus vannamei* to different quality feeds in presence and absence of natural productivity. En: Collie M.R., J.P. Mcvey (eds.) Proc. XX U.S.-Japan Symp. Aquacult. Nutrition, Newport, Oregon. 113-124 p.
- Leber K.M., Pruder G.D. 1988. Using experimental microcosms in shrimp research: the growth-enhancing effect of shrimp pond water. J. World Aquac. Soc. 19:197-203.
- Lin, Y., J. Chen. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 259:109-119.
- Lin, Y., J. Chen. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. Aquaculture 224:193-201.
- Ling, J., S. Chen. 2005. Impact of organic carbon on nitrification performance of different biofilters. Aquac. Eng. 33:150-162.
- Lopes-Thompson, F., P.C. Abreu, W. Wasielesky. 2002. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. Aquaculture 203:263-278.
- Magallón-Barajas, F.J. 2006b. Desarrollo y aplicación de una metodología, para evaluar la variabilidad de la capacidad de carga de la acuicultura de camarón, en la región del Golfo de California. Tesis de Doctorado. Centro de Investigaciones Marinas de la Universidad de La Habana, Cuba y CIBNOR, S.C., La Paz, México. 207 p.
- Magallón-Barajas, F.J., R. Servin-Villegas, G. Portillo-Clarck, M.B. López. 2006a. *Litopenaeus vannamei* (Boone) postlarval survival related to age, temperature, pH, and ammonium concentration. Aquacult. Res. 37:492-499.
- Magallón-Barajas, F. J. 2009. Capacidad ambiental de los ecosistemas, eco-eficiencia y capacidad de carga de la actividad acuícola de camarones. En: Lodeiros C., Alió J., Gonzalez N., Guerra A., Rey-Mendez M (eds). II Foro Iberoamericano de los

- Recursos Marinos y la Acuicultura. Fondo Editorial Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela, 171-191 p.
- Martínez-Córdova, L.R. 2002. Manejo sustentable de producción camaronícola. En: Martínez-Córdova, L.R. (ed.) Camaronicultura. Avances y Tendencias. AGT Editor, S. A. México, D. F. 1-22 p.
- Martínez-Córdova, L.R., L.F. Enríquez-Ocaña. 2007. Study of benthic fauna in the discharge lagoon of a shrimp farm with special emphasis on the polychaetes. OnLine J. Biol. Sci. 7(1):12-17.
- Martínez-Córdova, L.R., M. Porchas-Cornejo. 2009. Manejo del alimento y la alimentación en estanques camaronícolas: una estrategia de acuicultura sustentable. En: Martínez-Córdova, L.R. (ed.) Camaronicultura Sustentable. Manejo y Evaluación. Trillas. México, D.F. 81-124 p.
- Martínez-Córdova, L.R., M. Porchas-Cornejo, H. Villareal-Colmenares. 1998. Efecto de tres diferentes estrategias de alimentación sobre el fitoplancton, zooplancton y bentos en estanques de cultivo de camarón café *Penaeus californiensis* (Holmes, 1900). Ciencias Marinas 24:267-281.
- Martínez-Córdova, L.R., M. Martínez-Porchas, E. Cortés-Jacinto. 2009. Camaronicultura mexicana y mundial: ¿Actividad sustentable o industria contaminante? Rev. Int. Contam. Ambient. 25(3):181-196.
- Martínez-Delgado, S.A. 2005. Tratamiento de aguas residuales con Matlab. Reverté, Barcelona. 239 p.
- Milstein, A., L. Omri. 2004. Organic tilapia culture in Israel. En: Proc. 6<sup>th</sup> Int. Symp. on Tilapia in Aquaculture. Manila. 659-660 p.
- Milstein, A., M.E. Azim, M.A. Wahab, M.C.J. Verdegem. 2003. The effects of periphyton, fish and fertilizer dose on biological processes affecting water quality in earthen fish ponds. Environ. Biol. Fish. 68:247-260.
- Milstein, A., D. Joseph, Y. Peretz, S. Harpatz. 2005. Evaluation of organic tilapia culture in periphyton-based ponds. Israeli J. of Aquac. Bamidgeh 57:143-155.

- Miranda-Baeza, A. 2004 La acuicultura y su entorno productivo, ambiental, socioeconómico y normativo. CICESE. Departamento de Acuicultura, Monografía 17239. Ensenada, B.C., México. 140 p.
- Miranda-Baeza, A. 2005. Remoción de materia particulada en efluentes de estanquería de camarón con *Anadara tuberculosa* (Pelecypoda:Arcidae) (Sowerby, 1833). Tesis de Doctorado. CICESE, Ensenada, México. 136 p.
- Miranda-Baeza, A., D. Voltolina, M.A. Brambilla-Gámez, M.G. Frías-Espericueta, J. Simental. 2007. Effluent characteristics and nutrient loading of a semi-intensive shrimp farm in NW Mexico. *Vie et Milieu*. 57:21-27.
- Miranda-Baeza, A., D. Voltolina, M.G. Frías-Espericueta, G. Izaguirre-Fierro, M.E. Rivas-Vega. 2009. Nutrient budget and nutrient discharges to the Gulf of California of a semi-intensive shrimp farm (NW Mexico). *Hidrobiológica* 19:43-48.
- Molina-Poveda, C., L.R. Martínez-Córdova, W. Quadros-Seiffert. 2007. Alimentación y Manejo de la Productividad Natural. Capítulo III. En: Rosas, C., Carrillo, O. Wilson, R. y Andreatta, E. (eds). Estado Actual y Perspectivas de la Nutrición de los Camarones Peneidos Cultivados en Iberoamérica. CYTED. México, D.F. 12 p.
- Moriarty, D.J.W. 1977. Quantification of carbon, nitrogen and bacterial biomass in the food of some penaeid prawns. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.* 28:113-118.
- Morrison, S.J., D.C. White. 1980. Effects of grazing by estuarine gammaridean amphipods on the microbiota of allochthonous detritus. *Appl. Environ. Microbiol.* 40:659-671.
- Moss, K.R.K., S.M. Moss. 2004. Effects of artificial substrate and stocking density on the nursery production of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquac. Soc.* 35:536-542.
- Moss, S.M., S.M. Arce, B.J. Argue, C.A. Ootshi, F.R.O Calderon, A.G.J. Tacon. 2001. Greening of the blue revolution: Efforts toward environmentally responsible shrimp culture. En: Browdy, C.L., D.E. Jory (eds.) *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture*. Aquaculture 2001. The World Aquaculture Society, Baton Rouge. 1-18 p.

- Nair, S.R.S., C T. Achuthankutty, J P. Royan. 1995. Comparison of live adult *Artemia* and squid meat on the growth of penaeid shrimp *Metapenaeus dobsoni* (Miers). Proc. Indian Nat. Sci. Acad. B61(6):419-422.
- Naylor, R.L., R.J. Goldberg, J.H Primavera, N. Kautsky, M.C.M. Beveridge, J. Clay, C. Folke, J. Lubchenco, H. Mooney, M. Troell. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. Nature 405:1017-1024.
- Nunes, A.J.P., G.J. Parsons. 2000. Effects of the southern brown shrimp, *Penaeus subtilis* predation and artificial feeding on the population dynamics of benthic polychaetes in tropical pond enclosures. Aquaculture 183:125-147.
- Otoshi, C.A., A.D. Montgomery, A.M. Look, S.M. Moss. 2001. Effects of diet and water source on the nursery production of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. J. World Aquac. Soc. 32:243-249.
- Otoshi, C.A., A.D. Montgomery, A.M. Look, S.M. Moss. 2006. Effects of artificial substrate and water source on the growth of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. J. World Aquac. Soc. 37:210-213.
- Páez-Osuna, F. 2001a. The environmental impact of shrimp aquaculture: causes, effects, and mitigating alternatives. Env. Manag. 28:131-140.
- Páez-Osuna, F. 2001b. Descarga de nutrientes procedente de la camaronicultura, agricultura y las aguas municipales en la zona costera del Golfo de California. En: Páez-Osuna, F. (ed.) Camaronicultura y Medio Ambiente Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología y El Colegio de Sinaloa, México, D.F. 193-222 p.
- Páez-Osuna, F., S.R. Guerrero-Galván, A.C. Ruiz-Fernández, R. Espinoza-Angulo. 1997. Fluxes and mass balances of nutrients in a semi-intensive shrimp farm in North-West México. Mar. Pollut. Bull. 34:290-297.
- Páez-Osuna, F., G. Ramírez-Reséndiz, A.C. Ruiz-Fernández, M.F. Soto-Jiménez. 2007. La contaminación por nitrógeno y fósforo en Sinaloa: Flujos, fuentes, efectos y opciones de manejo. Serie Lagunas Costeras de Sinaloa. ICMYL-UNAM. Méx., D.F. 304 p.
- Parker, P.L., R.K. Anderson, A. Lawrence. 1989. A  $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$  tracer study of nutrition in aquaculture: *Penaeus vannamei* in a pond growout system. En: Rundel P.W., J.R.



- Ehleringer, K.A. Nagy (eds.) Stable Isotopes in Ecological Research. Springer-Verlag, New York. 289-303 p.
- Pascual, C., G. Gaxiola, C. Rosas. 2003a. Blood metabolites and hemocyanin of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: the effect of culture conditions and a comparison with other crustacean species. Mar. Biol. 142:735-745.
- Pascual, C., A. Sánchez, C. Rosas. 2003b. Manual de métodos para la evaluación de componentes sanguíneos de camarones peneidos. Lab. Ecol. Biol. Mar. Exp., Facultad de Ciencias, UNAM, Cd. del Carmen. 26 p.
- Pearson, D. 2002. Biofilm substrates in integrated biofiltration. En: Warburton, K. (ed.) Integrated Biosystems for Sustainable Development. Proc. InFoRM 2000 National Workshop on Integrated Food Production and Resource Management. RIRDC Publication No 01/174. p. 130 (Abstract).
- Piedrahita, R.H. 2003. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. Aquaculture 226:35-44.
- Ponce-Palafox, J., C.A. Martínez-Palacios, L.G. Gross. 1997. The effects of salinity and temperature on the growth and survival of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. Aquaculture 157:107-115.
- Porchas-Cornejo, M.A., L.R. Martínez-Córdova, L. Ramos-Trujillo, J. Hernández-López, M. Martínez-Porchas, F. Mendoza-Cano. 2010. Effect of promoted natural feed on the production, nutritional, and immunological parameters of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) semi-intensively farmed. Aquac. Nutr. En prensa DOI: 10.1111/j.1365-2095.2010.00809
- Portmann, J.E., R. Lloyd. 1986. Safe use of the assimilative capacity of the marine environment for waste disposal-It is feasible? Water Sci. Technol. 18:233-244.
- Prieto, M., F. Castaño, J. Sierra, P. Logato, J. Botero. 2006. Alimento vivo en larvicultura de peces marinos: copépodos y mesocosmos. Rev. MVZ Córdoba 11:30-36.
- Primavera, J.H. 1997. Socio-economic impacts of shrimp culture. Aquacult. Res. 28:815-827.
- Qi, Z.X., D.S. Li, M.P. Zhang, S.L. Dhong. 2001. Comparative studies on nitrogen budgets of closed shrimp polyculture systems. Chinese J. Oceanol. Limnol. 19:233-242.

- Racotta, I.S., E. Palacios. 1998. Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Penaeus vannamei*. J. World Aquac. Soc. 29:351-356.
- Rajkumar, M., K.P. Kumaraguru-Vasagam. 2006. Suitability of the copepod, *Acartia clausi* as a live feed for seabass larvae (*Lates calcarifer* Bloch) compared to traditional live-food organisms, with special emphasis on the nutritional value. Aquaculture 261:649-658.
- Robertson, L., A.L. Lawrence, F.L. Castille. 1993. Effect of feed quality on growth of the Gulf of México white shrimp *Penaeus setiferus* in pond pens. Texas J. Sci. 45:69-76.
- Ronney, E.A., M.D. Routledge, E.J. Wagner, R.F. Mellenthin. 2002. The use of Aquamats to enhance growth and improve fin condition among raceway culture rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquac. Res. 33:359-367.
- Rosales-Hoz, L. 1979. Manual de laboratorio de oceanografía química. UNAM-ICMyL. México, D.F. 178 p.
- Rosenlund, G., J. Stoss, C. Talbot. 1997. Co-feeding marine fish larvae with inert and live diets. Aquaculture 155:183-191.
- Rothlisberg, P.C. 1998. Aspects of penaeid biology and ecology of relevance to aquaculture: a review. Aquaculture 164:49-65.
- Samocha, T.M., I.M. Lopez, E.R. Jones, S. Jackson, A.L. Lawrence, V.K. Sharma. 2004. Characterization of intake and effluent waters from intensive and semi-intensive shrimp farms in Texas. Aquacult. Res. 35:321-339.
- Scott, S., R. McNeil. 2001. Aquamats: How to provide habitat, feed, and biofiltration for hatchery and nursery tanks. Hatchery International 2:19-21.
- Solorzano, L., J. Sharp. 1980. Determination of total dissolved phosphorus and particulate phosphorus in natural waters. Limnol. Oceanogr. 25:754-758.
- Spotte, S., G. Adams. 1983. Estimation of the allowed upper limited of ammonia in saline waters. Mar. Ecol. Prog. Ser. 10:207-210.
- Sreenivasa-Rao, M., B. Rajitha, E. Pavitra, N. Anjaneyulu. 2008. Changes of copper and protein profiles in hepatopancreas and hemolymph tissues during different molt stages of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Biotechnology 7:153-156.

- Stewart, J. 1997. Environmental impact of aquaculture. *World Aquaculture* 28(1):47-52.
- Strickland, J.D., J.R. Parsons. 1972. A practical handbook of seawater analysis (2nd Ed.) Fisheries Res. Bd. Canada Bulletin 169:1-310.
- Summerfelt, S.T. 2006. Design and management of conventional fluidized-sand biofilters. *Aquac. Eng.* 34, 275–302.
- Tacon, A.G.J. 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. FAO. CGP/RLA/102ITA. 173 p.
- Tacon, A.G.J. 2002. Thematic review of feeds and feed management practices in shrimp aquaculture. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment. Work in Progress for Public Discussion. Published by the Consortium. 69 p. También disponible online en: <http://library.enaca.org/Shrimp/Case/Thematic/FinalFeed.pdf>
- Tacon, A.G.J., I.P. Forster, 2003. Aquafeeds and the environment: policy implications. *Aquaculture* 226:181-189.
- Tacon, A.G.J., J.J. Cody, L.D. Conquest, S. Divakaran, I.P. Forster, O.E. Decamp. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquacult. Nutr.* 8:121-139.
- Teichert-Coddington, D.R., D. Martinez, E. Ramírez. 2000. Partial nutrients budgets for semi-intensive shrimp farms in Honduras. *Aquaculture* 190:139-154.
- Telfor, T., K. Robinson. 2003. Environmental quality and carrying capacity for aquaculture in Mulroy Bay Co. Donegal. University of Stirling, Marine Environment and Health Series. No. 9. 99 p. También disponible online en: <http://www.marine.ie/information+services/library+services/marine+institute+publications/marine+environment+and+health+services/index.htm>
- Thakur, D.P., C.K. Lin. 2003. Water quality and nutrient budget in closed shrimp (*Penaeus monodon*) culture systems. *Aquacult. Eng.* 27:159-176.
- Tidwell, J.H., G.L. Allan. 2001. Fish as food: aquaculture's contribution. Ecological and economic impacts and contributions of fish farming and capture fisheries. EMBO Rep. 21:958-963.

- Tidwell, J.H., G. Shulmeister, C. Mahl, S. Coyle. 1997. Growth, survival, and biochemical composition of freshwater prawns *Macrobrachium rosebergii* fed natural food organism under controlled conditions. *J. World Aquac. Soc.* 28:123-132.
- Tidwell, J. H., S.D. Coyle, G. Schulmeister. 1998. Effects of added substrate on the production and population characteristics of freshwater prawn *Macrobrachium rosebergii* in ponds. *J. World Aquac. Soc.* 29:227-242.
- Treece, G.D. 1984. Larval rearing technology. En: Chamberlain, G.M., M.G. Haby, R.J. Miget (eds.) *Texas Shrimp Farming Manual: an Update on Current Technology.* Texas Agricultural Extension Service, Texas A & M University, Corpus Christi, 43-64 p.
- Treece, G.D. 2000. Shrimp culture. En: Stickney, R.R. (ed.) *Encyclopedia of Aquaculture.* J. Wiley and Sons, Inc. NY. 798-865 p.
- Tsai, S-J., J-C. Chen. 2002. Acute toxicity of nitrate on *Penaeus monodon* juveniles at different salinity levels. *Aquaculture* 213:163-170.
- Villarreal, H., P. Hinojosa, J. Naranjo. 1994. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus vannamei* postlarvae. *Comp. Biochem. Physiol.* 108A:331-336.
- Wedemeyer, G., W.T. Yasutane. 1978. Prevention and treatment of nitrite toxicity in juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Bd. Canada.* 35:822-827.
- Wellnitz, T., R.B. Rader. 2003. Mechanisms influencing community composition and succession in mountain stream periphyton: interaction between scouring history. Grazing and irradiance. *J. North Am. Benthol. Soc.* 22:528-541.
- Wetzel, R.G. 2005. Periphyton in the aquatic ecosystems and food webs. En: Azim, M.E., M. Verdegem, A. van Dam, M. Beveridge (eds.) *Periphyton: ecology, exploitation and management.* CABI Publishing Co., Wallingford. 51-69 p.
- Wickins, J.F. 1976. The tolerance of warm-water prawns to recirculated water. *Aquaculture* 9:19-37.
- Wyban, J., W.A. Walsh, D.M. Godin. 1995. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* 138:267-279.

- Yan, B., X. Wang, M. Cao. 2007. Effects of salinity and temperature on survival, growth, and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei*. J. Shellfish Res. 26:141-146.
- Yúfera, M., A. Rodriguez, L.M. Lubián. 1984. Zooplankton ingestion and feeding behavior of *Penaeus kerathurus* larvae reared on the laboratory. Aquaculture 42(3-4):217-224.
- Zamora-Castro, J., J. Paniagua-Michel, C. Lezama-Cervantes. 2008. A novel approach for bioremediation of a coastal marine wastewater effluent based on artificial microbial mats. Mar. Biotechnol. 10:181-189.
- Zar, J.H. 1996. Biostatistical Analysis. 3<sup>rd</sup> Ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs. 620 p.
- Zarain-Herzberg, M., A.I. Campa-Córdova, R.O. Cavalli. 2006. Biological viability of producing white shrimp *Litopenaeus vannamei* in seawater floating cages. Aquaculture 259:283-289.
- Zhang, B., W. Lin, J. Huang, Y. Wang, R. Xu. 2010. Effects of artificial substrates on the growth, survival and spatial distribution of *Litopenaeus vannamei* in the intensive culture condition- Iranian J. Fish. Sci. 9:293-304.

## ANEXOS

## Anexo 1. Experimento 1. Figuras.

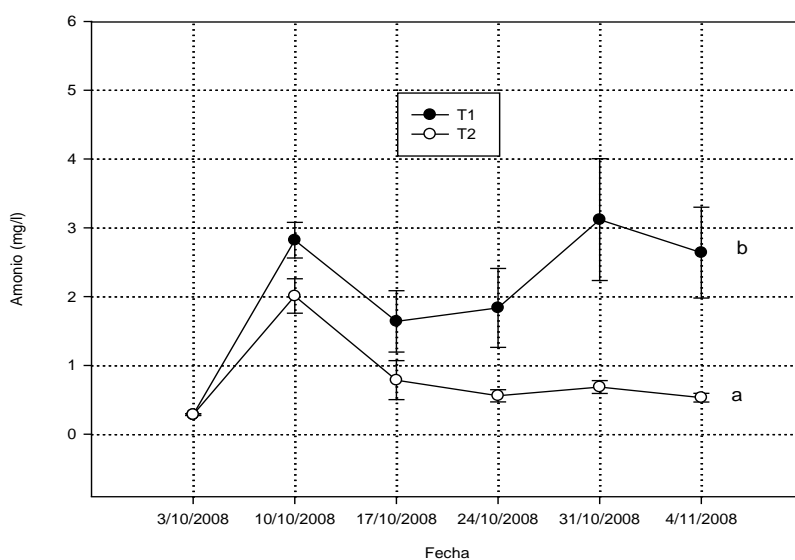


Figura A1. Valores medios y desviación estándar del amonio ( $\text{mg L}^{-1}$ ) determinados semanalmente durante el primer experimento en los cultivos control (T1) y con Aquamats (T2). Las letras diferentes indican diferencias significativas (prueba t para datos pareados,  $\alpha=0.05$ ).

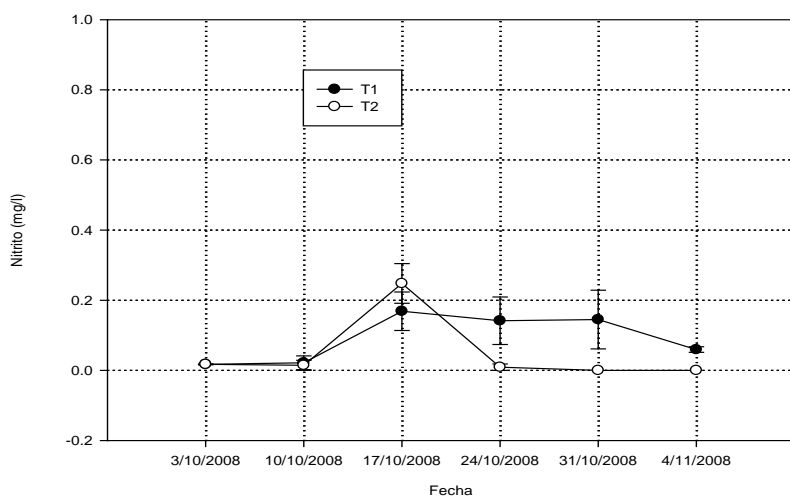


Figura A2. Valores medios y desviación estándar de los nitritos ( $\text{mg L}^{-1}$ ) determinados semanalmente durante el primer experimento en los cultivos control (T1) y con Aquamats (T2).

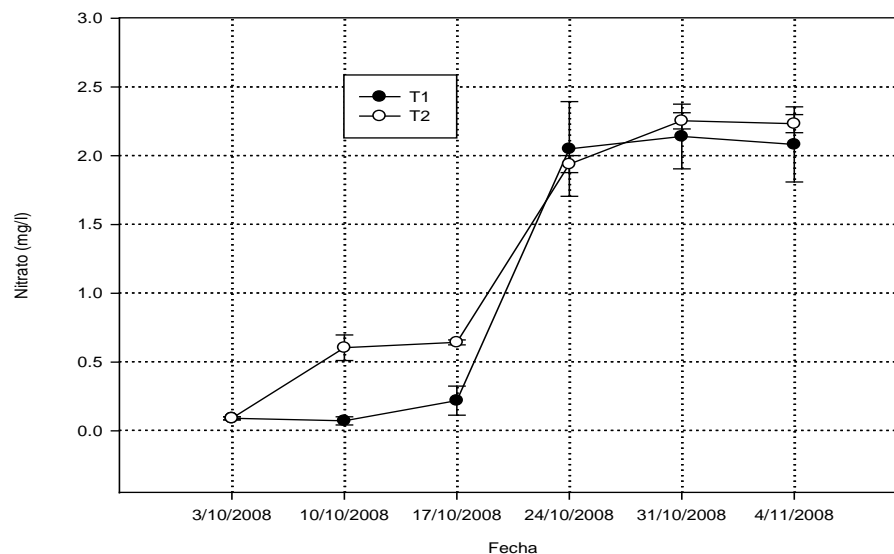


Figura A3. Valores medios y desviación estándar de los nitratos ( $\text{mg L}^{-1}$ ) determinados semanalmente durante el primer experimento en los cultivos control (T1) y con Aquamats (T2).

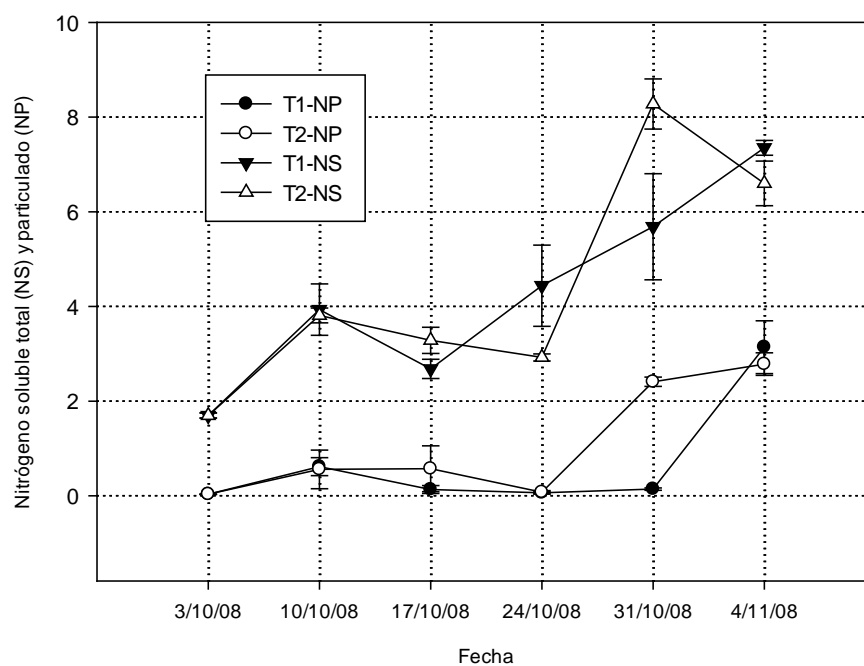


Figura A4. Valores medios y desviación estándar del nitrógeno disuelto total (NS) y particulado (NP, ambos en  $\text{mg L}^{-1}$ ) determinados semanalmente durante el primer experimento en los cultivos control (T1) y con Aquamats (T2).

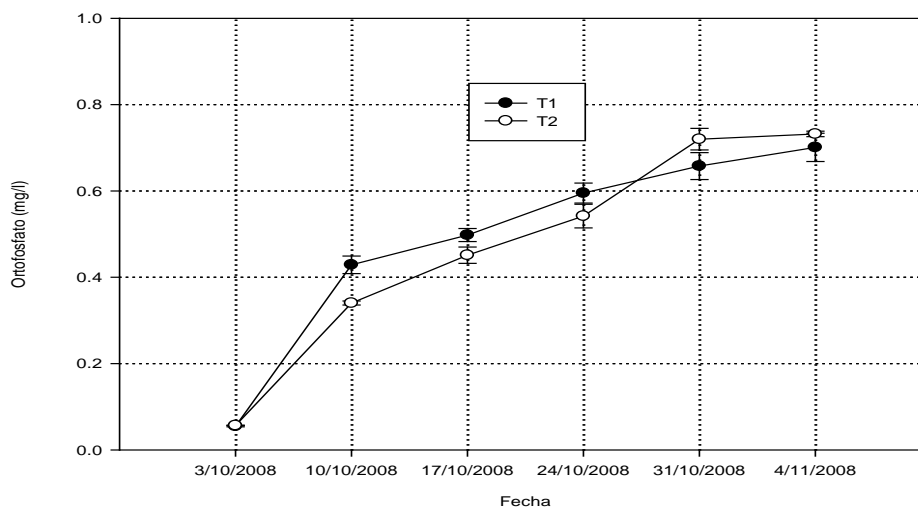


Figura A5. Valores medios y desviación estándar de fosfato reactivo disuelto ( $\text{mg L}^{-1}$ ) determinados semanalmente durante el primer experimento en los cultivos control (T1) y con Aquamats (T2).

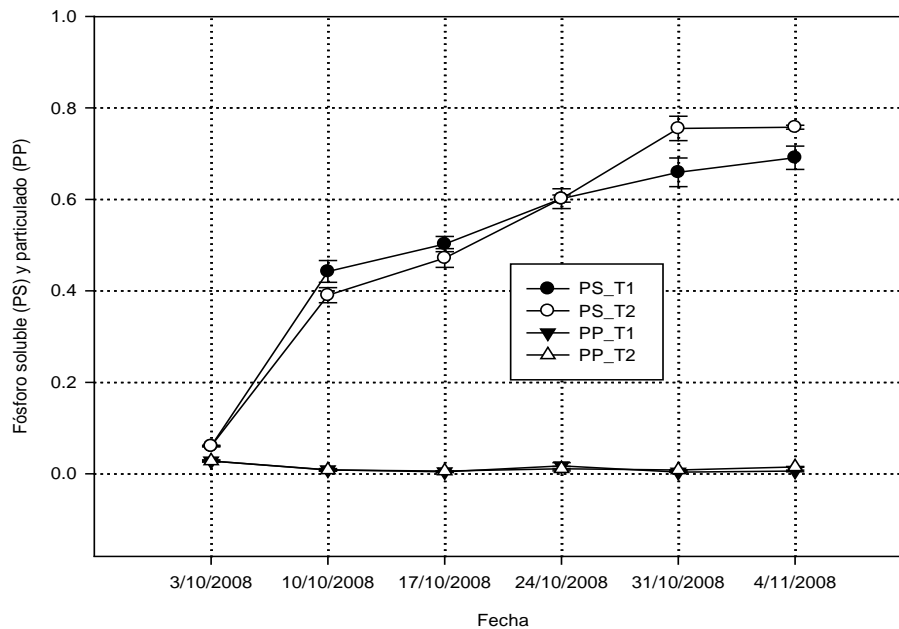


Figura A6. Valores medios y desviación estándar de fósforo soluble total (PS) y particulado (PP, ambos en  $\text{mg L}^{-1}$ ) determinados semanalmente durante el primer experimento en los cultivos control (T1) y con Aquamats (T2).



## Anexo 1. Experimento 2. Figuras

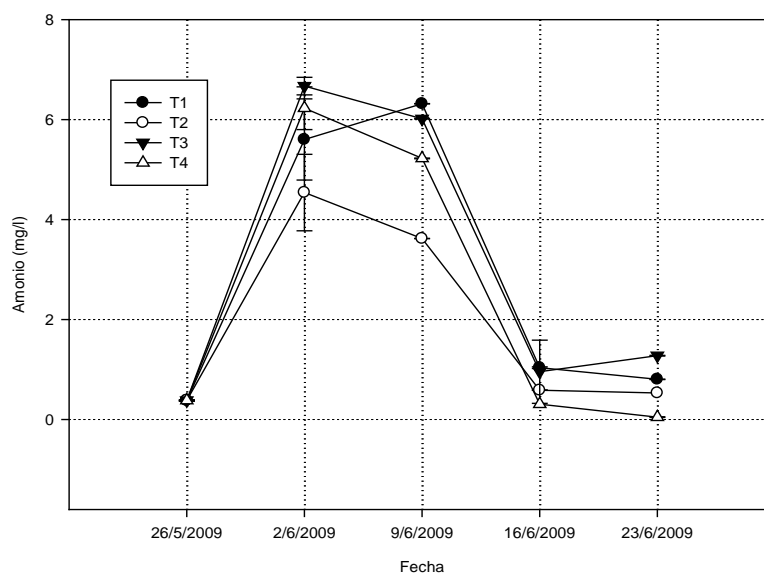


Figura A7. Valores medios y desviación estándar del amonio ( $\text{mg L}^{-1}$ ) calculados semanalmente en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4).

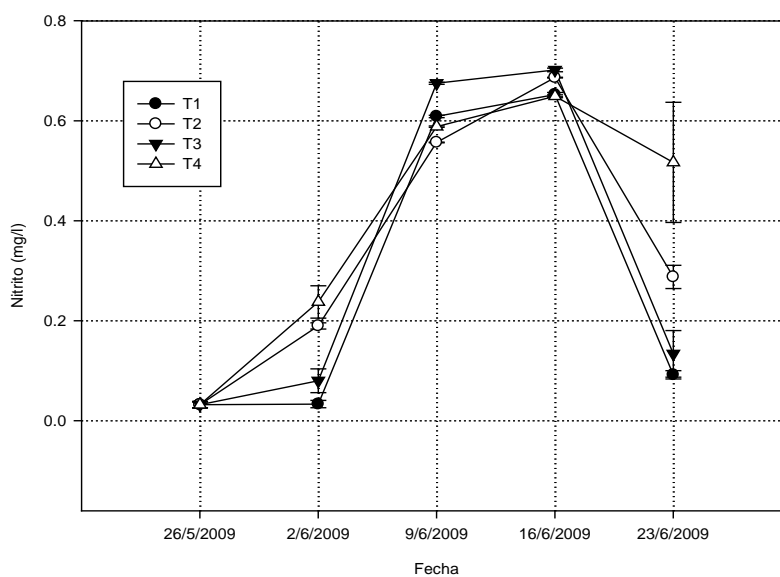


Figura A8. Valores medios y desviación estándar de los nitritos ( $\text{mg L}^{-1}$ ) calculados semanalmente en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4).

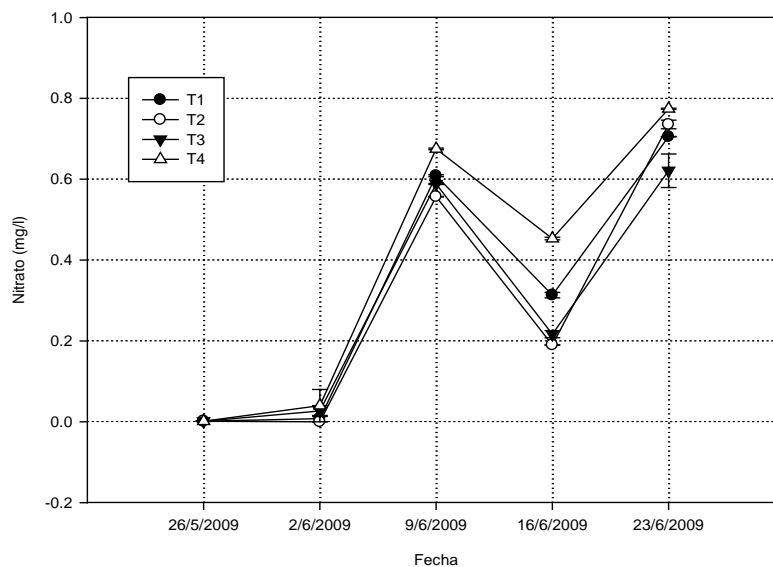


Figura A9. Valores medios y desviación estándar de los nitratos ( $\text{mg L}^{-1}$ ) calculados semanalmente en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4).

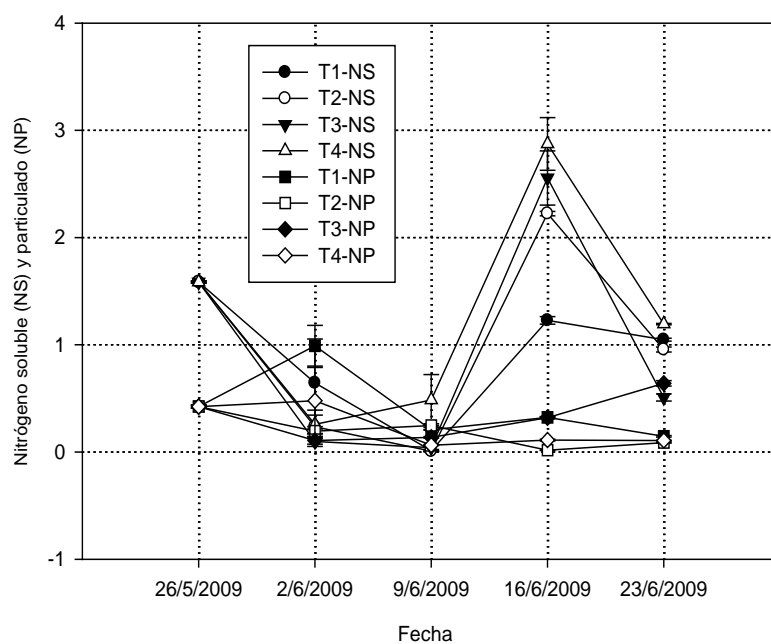


Figura A10. Valores medios y desviación estándar de nitrógeno orgánico disuelto (NS) y particulado (NP), ambos en  $\text{mg L}^{-1}$ , calculados semanalmente en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4).

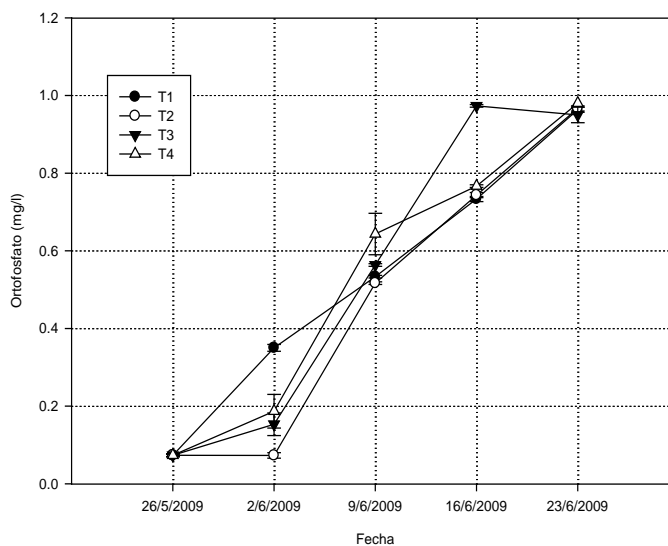


Figura A11. Valores medios y desviación estándar del ortofosfato ( $\text{mg L}^{-1}$ ) calculados semanalmente en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4).

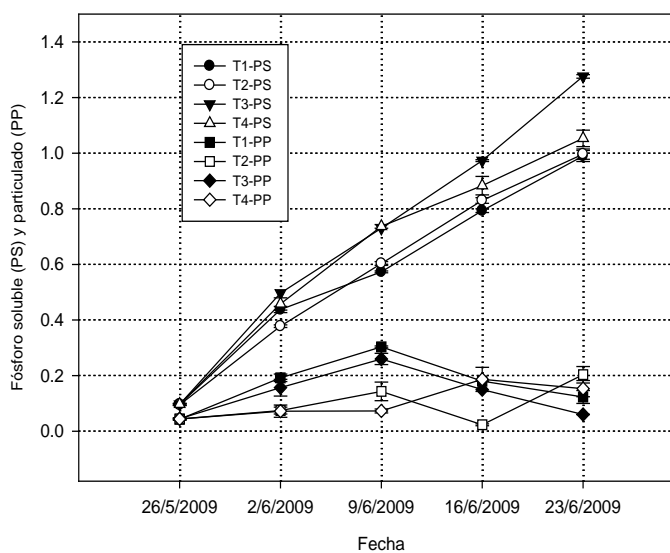


Figura A12. Valores medios y desviación estándar de fósforo soluble total y particulado ( $\text{mg L}^{-1}$ ) calculados semanalmente en los cultivos control con 600 y 800 g iniciales (T1 y T3) y en los respectivos tratamientos con Aquamats (T2 y T4).