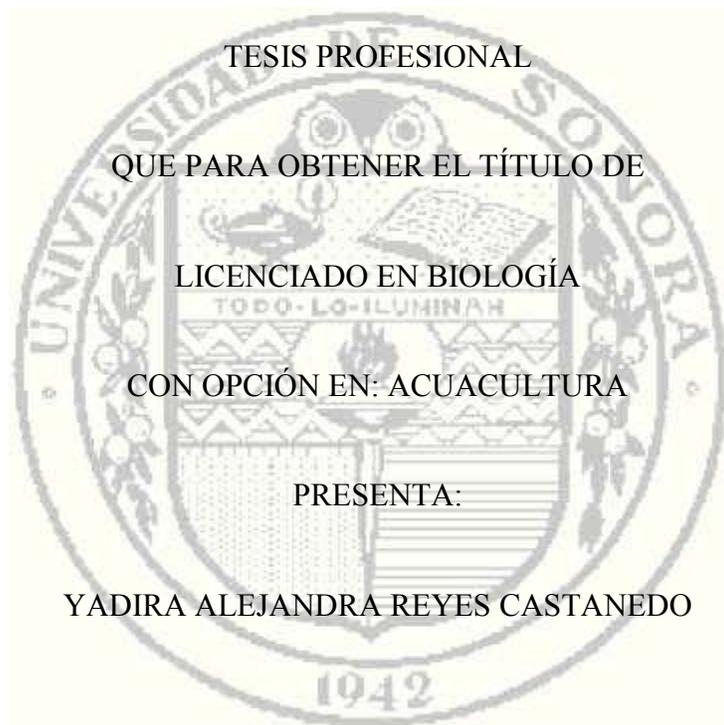


UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

EFFECTO DE DIFERENTES NIVELES DIETARIOS DE UN PREBIÓTICO Y DE PROTEÍNA SOBRE PARÁMETROS DE PRODUCCIÓN DE CAMARÓN BLANCO DEL PACÍFICO, *Litopenaeus vannamei*, CULTIVADO EN UN SISTEMA DE CERO RECAMBIO DE AGUA Y EN UNO DE RECIRCULACIÓN.



TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

CON OPCIÓN EN: ACUACULTURA

PRESENTA:

YADIRA ALEJANDRA REYES CASTANEDO

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMATO DE APROBACIÓN

Los miembros del Comité de Tesis designado para revisar la Tesis de Yadira Alejandra Reyes Castanedo la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito para obtener el Título de Licenciado en Biología con Opción en acuicultura.

Dr. Martín Pérez Velázquez
Director de Tesis

Dra. Mayra Lizett González Félix
Sinodal Secretario

Dr. Marco Antonio López Torres
Sinodal

M.C. Gerardina Nubes Ortiz
Suplente

DEDICATORIA

A mis padres, Manuel Reyes y Carlota Castanedo por el apoyo que me brindaron, a lo largo de esta etapa de mi vida. Con amor a mis hermanos, José, Francisco y Melissa como muestra de mi compromiso por ser una mejor persona cada día y un ejemplo para ustedes.

A mis abuelos y tías que me brindaron su apoyo cuando fue necesario, muy especialmente a la familia Arballo Olivas y Frida Alonso Maldonado por su invaluable apoyo.

Con cariño a Diana, Gema y Doris Ayala por ser una parte indispensable en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A la universidad de Sonora y al Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (DICTUS) por su compromiso en brindar educación de calidad y por darme la oportunidad de formarme profesionalmente en la Licenciatura en Biología.

A mi director de tesis, Dr. Martin Pérez Velázquez, por brindarme su apoyo incondicional, consejos, enseñanzas y especialmente por su paciencia durante la realización de este proyecto, de igual manera quiero agradecerle por su compromiso en ofrecer una educación de la mejor calidad como maestro en la carrera en Biología.

A la Dra. Mayra L. González Félix, por el apoyo que me brindó durante la realización de este proyecto. Por sus consejos y por estar dispuesta siempre a orientarme y motivarme, quiero agradecerle por el compromiso que tiene con sus estudiantes, motivándonos para que nuestro trabajo sea siempre de gran calidad.

Al Dr. Marco Antonio López Torres, por su apoyo y adecuados consejos, la revisión del escrito y pertinentes recomendaciones para hacer de esta tesis un trabajo de calidad. De igual manera agradecer por su instrucción durante el transcurso de la Licenciatura.

A la M.C. Gerardina Nubes Ortiz, por su apoyo y consejos, por sus observaciones y recomendaciones, por la revisión del escrito y por su característico entusiasmo y disponibilidad al aconsejar a sus alumnos. Por su compromiso en transmitir conocimientos teóricos y prácticos que todo Biólogo debe tener.

A mis compañeros de laboratorio, el M.C. Christian Minjarez Osorio, y la M.C. Perla Urquidez Bejarano, por el apoyo que me brindaron para la realización de este proyecto, así como por su responsabilidad característica.

Al técnico Oscar Acosta y al personal de vigilancia de la unidad experimental Kino (UEK) por el apoyo que me brindaron para la realización de la parte experimental del presente estudio.

CONTENIDO

	Página
FORMATO DE APROBACIÓN	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
CONTENIDO	iv
LISTA DE TABLAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	4
II.1. Definición del Término Prebiótico	4
II.2. Fundamentos	5
II.3. Prebióticos en Acuicultura	5
II.4. Prebióticos en Camaronicultura	7
II.5. Fructooligosacáridos	8
II.6. Recambio de Agua	8
II.7. Inclusión de Proteína en la Dieta	10
III. JUSTIFICACIÓN	11
IV. HIPÓTESIS	12
V. OBJETIVO	13
V.1. General	13
V.2. Específicos	13
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	14
VI.1. Obtención y Recepción de Organismos	14
VI.2. Aclimatación	14
VI.3. Descripción de los Sistemas de Cultivo	15
VI.4. Siembra de Organismos Experimentales	16
VI.5. Tratamientos Experimentales	17
VI.6. Elaboración de Dietas Experimentales	17
VI.6.1. Determinación de la composición proximal de dietas experimentales	19

VI.7. Asignación de Tratamientos Experimentales a Tanques de Cultivo	21
VI.8. Medición de Parámetros Físico-químicos de Calidad del Agua de Cultivo	22
VI.9. Medición de Parámetros Biológicos de Cultivo	22
VI.10. Análisis Bacteriológicos	23
VI.11. Análisis Estadístico	23
VII. RESULTADOS	25
VII.1. Medición de Parámetros Físico-químicos de Calidad del Agua de Cultivo	25
VII.1.1. Oxígeno disuelto	25
VII.1.2. Temperatura	29
VII.1.3. Salinidad	30
VII.1.4. pH	32
VII.1.5. Nitrógeno amoniacal total	33
VII.1.6. Nitritos	35
VII.2. Medición de Parámetros Biológicos de Cultivo	36
VII.2.1. Peso inicial	36
VII.2.2. Peso final	36
VII.2.3. Peso ganado	37
VII.2.4. Tasa instantánea de crecimiento	40
VII.2.5. Factor de conversión de alimento	41
VII.2.6. Supervivencia	41
VII.3. Análisis Bacteriológicos	42
VIII. DISCUSIÓN	46
VIII.1. Medición de Parámetros Físico-químicos de Calidad del Agua de cultivo	46
VIII.2. Medición de Parámetros Biológicos de Cultivo	48
VIII.3. Análisis Bacteriológicos	51
IX. CONCLUSIONES	53
X. RECOMENDACIONES	54
XI. LITERATURA CITADA	55

LISTA DE TABLAS

		Página
I	Ingredientes (% del peso seco de la dieta) de las premezclas experimentales con contenidos de proteína cruda de 23 y 35% suministradas a juveniles de <i>L. vannamei</i> en el presente estudio.	18
II	Niveles de inclusión (% del peso seco de la dieta) de proteína cruda y prebiótico en dietas experimentales para <i>L. vannamei</i> .	19
III	Composición proximal (% del peso seco de la dieta) de las dietas experimentales suministradas a juveniles de <i>L. vannamei</i> en el presente estudio.	20
IV	Promedio (\pm d. e.) y ANOVA de mediciones repetidas de valores de oxígeno disuelto (mg/L), temperatura ($^{\circ}$ C), nitrógeno amoniacal total (mg/L), nitritos (mg/L), pH y salinidad ($\%$) de sistemas de cultivo experimental de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentado con diferentes niveles dietarios de un prebiótico y de proteína.	26
V	Promedio (\pm d. e.) y ANOVA de peso inicial, peso final y peso ganado (expresado en gramos y como porcentaje del peso inicial) de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentado con diferentes niveles dietarios de un prebiótico y de proteína y cultivado en un sistema de cero recambio de agua y en uno de recirculación.	38
VI	Promedio (\pm d. e.) y ANOVA de las estimaciones de tasa instantánea de crecimiento, factor de conversión alimenticia y supervivencia de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentado con diferentes niveles dietarios de un prebiótico y de proteína y cultivado en un sistema de cero recambio de agua y en uno de recirculación.	42
VII	Análisis de varianza (ANOVA) de mediciones de Unidades Formadoras de Colonias <i>Vibrio</i> amarillas y verdes (UFC/g, Promedios \pm d. e.) en tejido (tracto digestivo + hepatopáncreas) de <i>Litopenaeus vannamei</i> en dos sistemas de cultivo experimental y alimentado con diferentes niveles dietarios de un prebiótico y de proteína.	44
VIII	Promedios de Unidades Formadoras de Colonias amarillas y verdes <i>Vibrio</i> spp. (UFC/g) en tejido (tracto digestivo + hepatopáncreas) de <i>Litopenaeus vannamei</i> bajo distintas combinaciones de cultivo en dos sistemas de cultivo experimental y alimentado con diferentes niveles dietarios de un prebiótico y de proteína.	45

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Sistemas de cultivo experimental de recirculación (S1) y de cero recambio de agua (S2) utilizados en el presente estudio.	16
Figura 2	Asignación de tratamientos experimentales a los tanques de cultivo en los sistemas de recirculación y cero recambio de agua. Los rectángulos representan los tanques de cultivo. El número de tanque se muestra en la esquina superior derecha. Los colores ilustran las distintas combinaciones dietarias de proteína cruda y prebiótico	21
Figura 3	Concentración de oxígeno disuelto (mg/L) en el sistema de cultivo de recirculación (S1) durante el experimento.	28
Figura 4	Concentración de oxígeno (mg/L) en el sistema de cultivo de cero recambio (S2) durante el experimento.	28
Figura 5	Temperatura °C en el sistema de cultivo de recirculación (S1) durante el experimento.	29
Figura 6	Temperatura °C en el sistema de cultivo de cero recambio (S2) durante el experimento.	30
Figura 7	Salinidad (‰) en el sistema de cultivo de recirculación (S1) durante el experimento.	31
Figura 8	Salinidad (‰) en el sistema de cultivo de cero recambio (S2) durante el experimento.	31
Figura 9	pH en el sistema de cultivo de recirculación (S1) durante el experimento.	32
Figura 10	pH en el sistema de cultivo de cero recambios (S2) durante el experimento.	33
Figura 11	Concentración de nitrógeno amoniacal total (mg/L) en el sistema de cultivo de recirculación (S1) durante el experimento.	34
Figura 12	Concentración de nitrógeno amoniacal total (mg/L) en el sistema de cultivo de cero recambio (S2) durante el experimento.	34
Figura 13	Concentración de nitritos (mg/L) en el sistema de cultivo de recirculación (S1) durante el experimento.	35
Figura 14	Concentración de nitritos (mg/L) en el sistema de cultivo de cero recambio (S2) durante el experimento.	36
Figura 15	Peso ganado (g), interacción entre los efectos del sistema de cultivo y el nivel de inclusión de proteína	39
Figura 16	Peso ganado (%), interacción entre los efectos del sistema de cultivo y el nivel de inclusión de proteína	39
Figura 17	Tasa Instantánea de crecimiento (%/d), interacción entre los efectos del sistema de cultivo y el nivel de inclusión de proteína	40

RESUMEN

La problemática sanitaria que enfrenta actualmente la camaronicultura en el noroeste de México ha despertado el interés en productos y técnicas de cultivo, tales como los prebióticos y el cultivo de cero recambio. En el presente estudio se llevó a cabo un experimento factorial 5 x 2 x 2 para evaluar el efecto de diferentes niveles dietarios de inclusión (% del peso seco de la dieta) de un prebiótico (0.00, 0.04, 0.08, 0.16, y 0.32%) y de proteína (23 y 35%), así como de dos sistemas de cultivo, uno de recirculación y otro de cero recambio de agua, sobre el desempeño biológico de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* a una densidad de 57 organismos/m², durante 8 semanas de experimento. El estudio se llevó a cabo bajo condiciones adecuadas de calidad del agua de cultivo. El crecimiento de *L. vannamei* fue influenciado significativamente por los factores sistema de cultivo (mayor crecimiento en el sistema de cero recambio de agua) y nivel dietario de proteína (mayor con el nivel de 35%), pero no por el nivel de inclusión de prebiótico. Se observó una interacción de los factores sistema de cultivo y nivel dietario de proteína, en la que la combinación sistema de cultivo de cero recambio de agua + nivel dietario de proteína de 35%, resultó en un crecimiento mayor que el producido por los niveles de estos factores por separado. La inclusión del prebiótico ejerció un efecto significativo sobre la abundancia de bacterias del género *Vibrio* spp. en tejidos (tracto digestivo + hepatopáncreas) Sin embargo, los conteos de unidades formadoras de colonias de estas bacterias fueron bajos para todos los tratamientos, sin representar riesgo para los organismos. No se observó una relación entre la reducción de la abundancia de bacterias a medida que se incrementó el nivel de adición del prebiótico.

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente la acuicultura no solo representa una importante actividad económica, se ha convertido además en una fuente necesaria de alimento de origen acuático para la población y esto se puede ver reflejado en las estadísticas de producción de los últimos años. En 2011 la producción acuícola mundial alcanzó 63.6 millones de toneladas (Food and Agriculture Organization, 2012). Dentro de la acuicultura se distingue la camaronicultura por haberse posicionado como una actividad de gran relevancia. En la última década, el cultivo de camarón se ha desarrollado de manera exponencial en todo el mundo, logrando expandirse más que cualquier otro sector productivo pecuario (Allsopp et al., 2008). En México la camaronicultura se ha desarrollado aceleradamente y esto se debe a diferentes factores. Entre ellos, a que cuenta con litorales tanto en el Océano Pacífico como en el Golfo de México, además de tener un clima propicio para esta actividad (Páez-Osuna, 2001). La producción de camarón se centra principalmente en el noroeste del país, en los estados de Sonora y Sinaloa.

Al igual que en el cultivo de otras especies acuáticas, la camaronicultura concentra un determinado número de organismos para su crecimiento en cautiverio en densidades mayores a las que normalmente se encuentran en su medio natural. Por ello, los organismos en cultivo están sometidos a factores negativos como el estrés y son más vulnerables al ataque de organismos patógenos como bacterias y virus. De hecho, las enfermedades causadas por patógenos tales como protozoarios, bacterias, hongos y virus han constituido un factor limitante en el desarrollo del cultivo de camarón y de la acuicultura en general (Moriarty, 1999; Páez-Osuna, 2001; Kesarcodi-Watson et al., 2008). El estado de Sonora en México constituye un claro y muy reciente ejemplo de lo anterior, ya que la aparición de enfermedades causadas tanto por el virus de la mancha blanca (White Spot Syndrome Virus o WSSV, por sus siglas en inglés) (Rosales-Leija, 2012) como por *Vibrio parahaemolyticus* (Early Mortality Syndrome o EMS, por sus siglas en inglés) (Gómez-Gil y Soto Rodríguez, 2014), han llevado a la camaronicultura prácticamente al colapso, reduciendo la producción de 81,422.8 toneladas, obtenidas en 2009 a menos de 11,000 toneladas en 2013, existiendo actualmente

una alerta sanitaria para tratar de erradicar estos problemas Comité de Sanidad Acuícola del Estado de Sonora (COESAES), 2014. Por la misma razón, a pesar de que los antibióticos fueron uno de los productos más comunes para combatir algunas enfermedades, hoy en día se sabe que el uso de antibióticos puede ocasionar complicaciones como la acumulación en los tejidos, inmunosupresión, desarrollo de resistencia a los mismos y destrucción de la flora microbiana del medio ambiente (Yousefian y Amiri, 2009). Por otro lado, el uso de antibióticos en cultivo suele ser una actividad muy costosa y no siempre se encuentra disponible para algunas especies. Es por ello que actualmente existe un gran interés en el desarrollo de alternativas a los medios tradicionales de lucha contra las enfermedades, principalmente encaminadas a la prevención y tratamiento, incrementándose la búsqueda de aditivos en alimentos que puedan influir en la inmunidad y la resistencia a las enfermedades de las especies acuáticas de interés comercial.

Aunque el concepto de alimentos funcionales es relativamente nuevo en la industria acuícola, sin duda alguna uno de los retos que enfrenta la industria del cultivo de camarón es formular y utilizar dietas que ayuden a mejorar la salud y la resistencia al estrés y a organismos causantes de enfermedades (Gatlin y Peredo, 2012). Para esta finalidad existen algunos aditivos que influyen en la microbiota del tracto gastrointestinal y cuyo uso se ha investigado en organismos terrestres y acuáticos, cobrando un papel de suma importancia en la actualidad. Por una parte se encuentran los probióticos, cuyo término originado de las palabras griegas "pro" y "bios" simplemente significa "de por vida" (Gismondo et al., 1999). Una de las acepciones más utilizadas para referirse a un probiótico es la de Fuller (1989), quien los definió como "microorganismos vivos utilizados como suplementos alimenticios que afectan benéficamente al animal hospedero al mejorar su balance intestinal". Algunas investigaciones recientes con probióticos apuntan que ciertos componentes no microbianos también benefician a los organismos y por lo tanto, el beneficio de los probióticos no está limitado a la región intestinal del hospedero (Salminen et al., 1999).

Por otro lado están los prebióticos que, a diferencia de los probióticos, no son organismos vivos y tienen menos influencia sobre el entorno natural. Pueden definirse como ingredientes no digeribles de los alimentos que promueven el crecimiento y actividad de bacterias benéficas o probióticas que benefician la salud del huésped. Las bacterias cuyo

desarrollo es promovido por los prebióticos generalmente son de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacter* spp. (Gatlin y Peredo, 2012). En general, se considera que los prebióticos afectan positivamente al huésped, teniendo la función de aumentar la tasa de crecimiento, mejorar el sistema inmunológico, así como la de cambiar la comunidad de bacteriana en el tracto gastrointestinal. (Yousefian y Amiri, 2009).

Como se ha mencionado, la situación del cultivo de camarón en el noroeste del país es preocupante. La producción ha descendido drásticamente, incluso sin incluir las estadísticas más recientes donde las enfermedades emergentes limitaron aún más la producción, creando situaciones devastadoras. Todo esto ha despertado el interés en productos y técnicas como los prebióticos y los cultivos con cero recambios de agua.

Por otra parte y de forma concomitante con el uso de prebióticos en camaronicultura, ha resurgido el interés en los sistemas de cultivo que limitan el recambio diario de agua hasta llegar al cero recambio, por tratarse de sistemas que permiten excluir de forma eficiente los agentes infecciosos que puedan comprometer la salud de los organismos (McIntosh 1999; Avnimelech 2000; McNeil 2000). Es decir, se busca la implementación de sistemas de cultivo bioseguros que permitan obtener altas tasas de crecimiento y supervivencia. Basado en observaciones que indican que los camarones pueden hacer uso del alimento natural hallado en sistemas de cultivo con cero recambio (Tacon et al., 2002), esta modalidad de cultivo ofrece la posibilidad adicional de reducir el nivel proteico del alimento balanceado, lo que tiene implicaciones importantes para reducir los costos de producción tomando en consideración que el alimento balanceado representa un alto porcentaje (de 30 al 40%) del costo de producción en una granja de cultivo comercial de camarón (Wasielesky et al., 2006). Con base en lo anterior, el efecto de diferentes niveles dietarios de prebióticos y proteína en sistemas de cultivo con cero recambio y en recirculación sobre el desempeño biológico de camarón, constituye un aspecto de gran interés actual que debe ser evaluado.

II. ANTECEDENTES

II.1. Definición del Término “Prebiótico”

Los prebióticos se definen como ingredientes no digeribles de los alimentos que afectan beneficiosamente al huésped mediante una estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de una o un limitado grupo de bacterias. (Gibson y Roberfroid, 1995). La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization o FAO, por sus siglas en inglés) propuso en 2007 una nueva definición para los prebióticos: “los prebióticos son ingredientes fermentables selectivamente que producen cambios específicos, tanto en la composición como en la actividad de la flora intestinal, confiriendo beneficios, bienestar y salud al huésped”. El efecto prebiótico se ha atribuido a muchos componentes en los alimentos, a veces sin la debida consideración de los criterios requeridos. Por lo tanto, surgió la necesidad de establecer normas claras para clasificar un ingrediente alimenticio como prebiótico, definiendo entonces como criterios para definir a un prebiótico los siguientes.

- 1) No son digeribles por el intestino del huésped.
- 2) Son fermentados por los microorganismos intestinales
- 3) Estimulan selectivamente el crecimiento o la actividad de los microorganismos beneficiosos en el intestino.

Actualmente, sólo 3 tipos de compuestos cumplen con estos criterios, los Fructooligosacáridos (FOS), los Galactooligosacáridos y la Lactulosa (Roberfroid, 2007). Los FOS, prebióticos de interés en el presente estudio, son monómeros de fructosa que se encuentran en la cebada y el trigo (Henry y Saini, 1989; Gibson y Roberfroid, 1995). Estos compuestos no son digeridos por las enzimas del intestino delgado, pero sí son fermentados en el intestino grueso para estimular selectivamente el crecimiento de bacterias probióticas que forman parte de la microflora intestinal del huésped (Salminen et al 1998; Macfarlane y Cummings 1999).

II.2. Fundamentos

Las investigaciones sobre probióticos y prebióticos se encuentran en una etapa temprana de desarrollo, especialmente las de los prebióticos (Gullian et al., 2004). Por ser hidratos de carbono, los prebióticos se pueden clasificar de acuerdo a su tamaño molecular o grado de polimerización (número de unidades de monosacáridos), en monosacáridos, oligosacáridos o polisacáridos, de acuerdo con la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés). Se derivan de diversas plantas o componentes de la pared celular de levaduras. Algunos de los prebióticos más comunes establecidos hasta la fecha incluyen los FOS, transgalactooligosacáridos (TOS) y la inulina (Vulevic et al., 2004).

Los diversos compuestos prebióticos generalmente no se alteran por el procesamiento de la dieta y requieren una aprobación regulatoria mínima, haciendo de su uso algo mucho más simple que el uso de fármacos o agentes terapéuticos químicos. Las bacterias promotoras de la salud que son favorecidas por los prebióticos incluyen comúnmente a las del género *Lactobacillus* y *Bifidobacter* spp, que tienden a limitar la presencia de bacterias dañinas como *E. coli*, *Salmonella* y *Listeria* en diversos animales terrestres (Manning y Gibson, 2004).

Algunos estudios han reportado que los prebióticos son capaces de influir favorablemente en diversas especies. Se ha comprobado que la microbiota favorecida por los prebióticos ha mejorado numerosos procesos del organismo huésped, tales como el crecimiento, la digestión, la inmunidad y la resistencia a enfermedades, como se demuestra en las aves de corral (Patterson y Burkholder, 2003). Sin embargo, hasta este momento, la aplicación de los prebióticos en acuicultura ha sido bastante limitada, pero tiene un potencial considerable (Gatlin et al., 2006).

II.3 Prebióticos en Acuicultura

El primer trabajo sobre prebióticos en acuicultura se realizó en 1995 (Hanley et al., 1995). Desde entonces, se han llevado a cabo estudios con diferentes especies de importancia

comercial, principalmente en peces. Al igual que los prebióticos, los probióticos han captado mucha de la atención de los investigadores del área y han sido objetos de numerosos estudios. Sin embargo, las dificultades para la aplicación a gran escala de los mismos han limitado su uso. Alternativamente, parece más práctico manipular la microbiota del tracto gastrointestinal de los animales acuáticos mediante el uso de prebióticos, que pueden favorecer la presencia de ciertas especies bacterianas que mejoran la eficiencia en crecimiento y reducen la susceptibilidad a enfermedades en el organismo hospedero (Gatlin 2002; Burr et al., 2005; Nicolas et al., 2007). El utilizar prebióticos en los cultivos ha traído como respuesta evidentes mejoras en el estado de salud de los organismos acuáticos además de eficientizar los procesos de producción, haciéndolos más sostenibles. Sin embargo, aún existen vacíos dentro del conocimiento del uso y aplicación de los prebióticos (Gibson y Roberfroid 1995; Williams et al., 2001; Bauer et al., 2006). Ya se ha demostrado que al suplementar la dieta con FOS se han logrado mejoras en la tasa de crecimiento de animales acuáticos, como tortugas de caparazón blando *Trionyx sinensis* (Ji G, et al., 2004) y larvas del rodaballo *Psetta máxima* (Mahious et al., 2006).

Aunque los informes sobre el efecto de prebióticos sobre los parámetros de crecimiento de los peces no son totalmente concluyentes (Yousefian y Amiri, 2009), las investigaciones realizadas con FOS en otros animales acuáticos demuestran que este prebiótico puede ofrecer diversas mejoras (Ringo et al., 2010). Una reciente publicación sobre el efectos de dos suplementos dietéticos y fructooligosacáridos sobre el crecimiento y resistencia a las enfermedades del pepino de mar, *Apostichopus japonicus*, reveló que una dieta suplementada con FOS a un nivel de 0.8% aumentó significativamente la tasa de crecimiento específico para dicha especie (Sun et al., 2012). En comparación con la información disponible para otras especies, la información sobre suplementación con prebióticos para camarón es todavía limitada, pero los trabajos realizados hasta el día de hoy son alentadores.

II.4 Prebióticos en Camaronicultura

Las constantes pérdidas causadas por enfermedades que han afectado a la camaronicultura han puesto a los prebióticos bajo la mira de los investigadores, con la finalidad de saber si estos realmente ofrecen una alternativa viable. La implementación del uso de prebióticos, incluyendo los FOS, ha demostrado que confieren beneficios en la utilización de nutrientes, crecimiento y la resistencia a enfermedades de diversas especies animales a través de la mejora de la microbiota intestinal. Sin embargo, no se han definido los usos potenciales de los prebióticos para camarón (Li et al., 2007).

Se han investigado los efectos que tiene la inulina sobre los factores de crecimiento y supervivencia de larvas y postlarvas de *Fenneropenaeus indicus*, observándose que la supervivencia de postlarvas, alimentadas con *Artemia* sp. y enriquecidas con un producto comercial además de inulina, resultó significativamente mayor que la de grupos control (Hoseinifar, 2011). En otro estudio con inulina, se observó que aumentó la productividad de la enzima fenoloxidasa en *Litopenaeus vannamei*, demostrando que este prebiótico reduce la prevalencia del virus de la mancha blanca (WSSV) (Luna-González, 2012).

Recientemente se reportaron los resultados de un experimento en el que se investigaron los efectos de la administración de probióticos (*Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis*) en combinación con isomaltooligosacaridos como prebiótico, sobre la microbiota intestinal y los parámetros inmunológicos de *Marsupenaeus japonicus* y su resistencia contra *Vibrio alginolyticus*. Los resultados indicaron que la cantidad de *Vibrio* disminuyó significativamente en el intestino de los camarones, es decir, que la administración oral de probióticos y prebióticos tienen efectos positivos sobre las bacterias del intestino de *M. japonicus* y pueden activar la inmunidad del camarón (Zhang et al., 2011).

II.5. Fructooligosacáridos

Los fructooligosacáridos (FOS) son uno de los inmunoestimulantes más ampliamente estudiados en los vertebrados terrestres y se utilizan comúnmente como prebiótico para promover el crecimiento sano e inmunoregulación (Dong y Wang, 2012). Los FOS pueden ser fermentados por ciertas bacterias tales como lactobacilos y bifidobacterias (Manning y Gibson 2004).

En cuanto a su actividad inmunoestimulante, existen reportes recientes que indican que los FOS inducen eficazmente las respuestas inmunes innatas del cangrejo rojo, dependiendo de la dosis, y que podrían ser utilizados como potencial inmunoestimulante en crustáceos (Dong y Wang, 2012). Dados estos resultados, se ha intentado esclarecer los posibles efectos que podrían tener en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.

Zhingang y colaboradores (2007) reportaron que se logró promover el crecimiento y la conversión alimenticia de juveniles de camarón blanco (*L. vannamei*) alimentados con una dieta que incluía FOS.

II.6. Recambio de Agua

En acuicultura existen diferentes estrategias de manejo del agua de cultivo. En general, se dividen en dos tipos de cultivo: sistemas abiertos, que permiten el ingreso constante de agua a lo largo del cultivo y sistemas cerrados, en los que no se realizan recambios de agua a lo largo del cultivo, conservando únicamente el agua con la que se inició, reponiendo pérdidas por filtración o evaporación. A su vez, los sistemas cerrados suelen dividirse en sistemas cerrados con recirculación, donde el agua se hace recircular a través del sistema que además

cuenta con un reservorio de almacenamiento, y sistemas cerrados estáticos, en los que el agua no recircula en el sistema (Laurette et al., 2003). Tradicionalmente en los cultivos de camarón se realizan grandes recambios diarios de agua de entre 5 y 30% o más, dependiendo de la intensidad del cultivo. Esto se realiza con la finalidad de diluir o eliminar posibles compuestos tóxicos y elevar las concentraciones de oxígeno. Sin embargo, tras la grave problemática sanitaria que enfrenta actualmente el cultivo de camarón y tras la presión de aumentar la bioseguridad y el control de los efluentes como medidas para el control de las enfermedades, ha surgido una tendencia para el desarrollo de sistemas de producción de camarón bioseguros, entre los que se encuentran los sistemas con cero recambio, ya que estos sistemas pueden ser usados para controlar la entrada de agentes no deseados en el cultivo (Jory et al., 2001, Tacon et al., 2002). Los estudios para evaluar los sistemas de producción con recambio de agua limitado se iniciaron en Estados Unidos en 1985 en el Centro de Maricultura de Waddell de, en Carolina del Sur, EUA. La clave para que estos sistemas sean efectivos es el manejo de la alimentación, aireación, recirculación, productividad natural y los procesos del ciclo del carbono, que en conjunto determinarán la calidad de agua de cultivo (Samocho et al., 2006). En estos sistemas de cultivo cerrados se forma material particulado constituido por bacterias, algas, hongos y detritus, llamado bioflóculos, que sirven como fuente alternativa de alimento rico en proteínas y que puede ser utilizado tanto en cultivo de peces como de camarón. A este respecto, son particularmente importantes los hallazgos de Tacon y colaboradores (2002), quienes reportaron un peso final 2.8 veces mayor y crecimiento semanal 3.4 veces mayor, así como un promedio de crecimiento semanal de 2.16 g para *L. vannamei* cultivado en un sistema con cero recambio, en comparación con organismos cultivados en un sistema con recambio de agua, atribuyendo estos resultados a que los camarones cultivados bajo cero recambio recibieron una porción substancial de su nutrición a partir de los bioflóculos desarrollados en el agua de cultivo y demostrando que es posible cultivar camarón bajo condiciones de cero recambio de agua y obtener buenos e incluso mejores resultados que en sistemas tradicionales de cultivo con recambio de agua. Hoy en día se realizan grandes esfuerzos para perfeccionar sistemas de cultivo super-intensivo de camarón con cero recambio de agua en raceways, con impresionantes producciones por cosecha que alcanzan los 8.1 kg de camarón/m³, es decir, el equivalente a 81 toneladas/ha (Castro et al., 2014).

II.7. Inclusión de Proteína en la Dieta

En camaronicultura, así como en el cultivo comercial de peces y otros organismos acuáticos, el insumo más costoso en el proceso de producción es el alimento balanceado. A su vez, la proteína es el mayor y más costoso componente para la elaboración de los mismos, siendo además el nutriente más determinante para el crecimiento (Kureshy y Davis, 2002), y por ello, es relevante llevar a cabo estudios sobre los requerimientos proteicos de las especies en cultivo.

El estudio del requerimiento óptimo de proteína de *L. vannamei* ya ha sido abordado por diferentes autores. Sin embargo, los niveles dietarios de proteína reportados como óptimos varían ampliamente, desde 15 % hasta más de 40% (Smith et al., 1985; Cousin et al., 1991; Aranyakananda y Lawrence, 1993; Teichert-Coddington y Rodriguez, 1995; Velasco et al., 2000), lo que probablemente se debe a las condiciones de cada experimento realizado. Es aquí donde el papel de los sistemas de cultivo de cero recambio cobra especial relevancia, ya que los bioflóculos formados en el agua de cultivo no solo pueden aportar una fuente significativa de la nutrición de los organismos en cultivo (Tacon et al., 2002), sino que como fue demostrado por Wasielesky et al. (2006), esta fuente adicional de proteína permite la reducción de la densidad proteica de los alimentos balanceados, teniendo una implicación muy importante en la reducción del costo de los alimentos balanceados utilizados bajo esta modalidad de cultivo.

III. JUSTIFICACIÓN

La enorme problemática que enfrenta actualmente la camaronicultura en el noroeste de México, causada por enfermedades virales y bacterianas, las cuales han limitado el desarrollo del cultivo del camarón en los últimos años y la han llevado prácticamente al colapso, ha despertado un gran interés en productos y técnicas de cultivo tales como los prebióticos y el cultivo con cero recambio de agua, que coadyuven a la obtención de cultivos con altas tasas de crecimiento y supervivencia. Por ello, el presente estudio propone determinar los efectos de un prebiótico dietario sobre el desempeño biológico de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* producido en un sistema de cultivo con cero recambio de agua y otro de recirculación y alimentado con diferentes niveles de proteína.

IV. HIPÓTESIS

Se espera observar efectos favorables sobre el desempeño biológico del camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, al suministrarle un prebiótico dietético y al cultivarse en un sistema con cero recambio de agua. Así mismo, se espera observar una reducción del nivel proteico requerido en el alimento balanceado en el sistema cultivo de cero recambio de agua, comparativamente con aquel del sistema de recirculación.

V. OBJETIVO

V.1. General

Evaluar los efectos de diferentes niveles dietarios de un prebiótico y de proteína sobre parámetros de producción de camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, cultivado en un sistema de cero recambio de agua y en uno de recirculación.

V.2. Específicos

Evaluar parámetros físico-químicos de calidad del agua de cultivo: temperatura, oxígeno disuelto, salinidad, pH y concentración de nitrógeno amoniacal en ambos sistemas de cultivo.

Determinar los parámetros biológicos de cultivo: peso inicial, peso final, peso ganado, tasa instantánea de crecimiento (TIC), factor de conversión de alimento (FCA) y supervivencia

Determinar la abundancia de bacterias del género *Vibrio* spp. presentes en los tejidos de los organismos.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un experimento con duración de 8 semanas (del 18 de julio al 12 de septiembre de 2013) con ejemplares de *Litopenaeus vannamei* en el Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola de la Unidad Experimental Kino (UEK), Universidad de Sonora, ubicada en Bahía Kino, Sonora, México.

VI.1. Obtención y Recepción de Organismos

Los organismos utilizados en el presente trabajo fueron obtenidos del laboratorio comercial de producción de postlarvas Maricultura del Pacífico S. A. de C. V., localizado en Bahía Kino, Sonora. El transporte se realizó por vía terrestre, los organismos se colocaron en bolsas de plástico que contenían agua de mar oxigenada. Dada la cercanía entre el lugar de procedencia y su destino, no fue necesario bajar la temperatura del agua para reducir el metabolismo de los organismos. Tras el traslado de aproximadamente 15 minutos, se procedió a su aclimatación.

VI.2. Aclimatación

Una vez en la UEK, las bolsas con los organismos se colocaron en un tanque de fibra de vidrio con capacidad de 10 m³ que contenía agua de mar y suministro de aireación constante. Para realizar la aclimatación, las bolsas se colocaron dentro del tanque de recepción. Transcurridos 15 minutos, se agregó un litro de agua del tanque a la bolsa. Sucesivamente y a intervalos de 10 minutos, la cantidad agregada se fue duplicando hasta que ésta rebozó de las bolsas, liberando en este momento a los organismos. Los organismos se mantuvieron en este tanque durante un periodo de aproximadamente 3 semanas, recibiendo un

alimento balanceado comercial (Camaronina, Agribands Purina®, Ciudad Obregón, Sonora, México) con un contenido de proteína de 40% hasta el inicio del experimento. Así mismo, durante este tiempo se monitorearon los parámetros fisicoquímicos del agua de cultivo.

VI.3. Descripción de los Sistemas de Cultivo

Se utilizaron dos sistemas de cultivo experimental idénticos, cada sistema compuesto por cincuenta tanques circulares de polietileno de 30 cm de diámetro (área inferior de 0.07 m² y de 19 l de capacidad), un tanque reservorio de 1,100 l, un biofiltro, un filtro de arena de 19" (marca Jacuzzi, modelo L-190 -7, Little Rock, Arkansas, EUA), una bomba de 1.5 HP (marca Jacuzzi, modelo 150MF-T, Little Rock, Arkansas, EUA), un filtro de cartucho de tamaño de poro de 20 µm (marca Pentek, modelo Big Blue PL5010BB, Sheboygan, Wisconsin, EUA), una cámara de luz ultravioleta de 120 W (marca Rainbow Lifeguard, modelo UV97, El Monte, California, EUA), un calentador en línea de 1500 Watts (Aquatic Ecosystems, modelo DE-6115, Apopka, Florida, EUA) y un enfriador en línea de ½ HP (Aquatic Ecosystems, modelo AE62B, Apopka, Florida, EUA). Los sistemas de cultivo experimentales S1 y S2 se muestran en la figura 1. La aireación para ambos sistemas de cultivo fue suministrada por medio de un soplador de 1.0 HP (marca Fuji, modelo VFC40, Saddle Brook, Nueva Jersey, EUA). Uno de los sistemas de cultivo experimental (S1) se hizo funcionar en modo de recirculación, donde el agua de mar fue bombeada de forma constante a través de los diversos componentes del sistema de cultivo, fluyendo al interior de cada tanque de cultivo a una tasa de 1,9l/min, equivalentes a una renovación de 14,400% de su volumen en 24 h. Adicionalmente, 10% del volumen total de agua del sistema de cultivo fue reemplazado diariamente con agua de mar nueva, limpia y previamente filtrada. El otro sistema de cultivo experimental (S2) se hizo funcionar bajo la modalidad de cero recambios de agua, es decir, en ningún momento se reemplazó el agua de cultivo con agua de mar nueva y limpia ni se hizo recircular a través de los tanques o los diversos componentes del sistema. Únicamente se suministró aireación a los tanques de cultivo y sólo se adicionó agua dulce semanalmente con la finalidad de compensar las pérdidas por evaporación y así mantener una salinidad constante.



Figura 1. Sistemas de cultivo experimental de recirculación (S1) y de cero recambio de agua (S2) utilizados en el presente estudio.

VI.4. Siembra de Organismos Experimentales

Con la ayuda de una red de cuchara se tomaron los organismos del tanque de recepción y se pesaron en una balanza digital en grupos de 4 individuos, mismos que fueron colocados en los tanques experimentales a una densidad de siembra de $57 \text{ organismos/m}^2$.

VI.5. Tratamientos Experimentales

Se llevó a cabo un experimento factorial 5 x 2 x 2 en el Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola de la UEK utilizando 5 niveles del prebiótico dietario scFOS (0.00, 0.04, 0.08, 0.16, y 0.32% del peso seco de la dieta), dos niveles de proteína dietaria (25 y 32% del peso seco de la dieta) y los dos sistemas de cultivo descritos anteriormente (de recirculación y de cero recambio de agua).

VI.6. Elaboración de Dietas Experimentales

Utilizando dos formulaciones de premezclas experimentales con contenidos de proteína cruda (PC) de 23 y 35% y cuya composición de ingredientes se muestra en la Tabla I, se agregó el prebiótico dietario comercial scFOS, a expensas del almidón de trigo, a niveles de inclusión de 0, 0.04, 0.08, 0.16 y 0.32% del peso seco de la dieta, para dar lugar a 10 dietas experimentales, como se describe en la Tabla II.

Tabla I. Ingredientes (% del peso seco de la dieta) de las premezclas experimentales con contenidos de proteína cruda de 23 y 35% suministradas a juveniles de *L. vannamei* en el presente estudio.

Ingrediente	Nivel de proteína (%)	
	23	35
Harina de músculo de calamar ¹	30.0	21.70
Almidón de trigo ²	29.5	42.50
Harina de pescado ¹	8.00	8.00
Proteína de soya aislada ²	5.70	-
Fosfato dicálcico ³	4.20	4.60
Lecitina de soya 95% ⁴	4.00	2.00
Tierra de diatomeas ²	3.80	3.70
Celulosa ²	3.20	3.20
Carbonato de calcio ³	2.50	2.20
Alginato (Manucol DM) ⁴	2.00	2.00
Cloruro de potasio ³	1.90	2.00
Óxido de magnesio ³	1.60	1.60
Hexametáfosfato de sodio ³	1.00	1.10
Cloruro de sodio ²	0.70	0.90
Aceite de pescado Menhaden ⁵	0.60	1.10
Aceite de soya ²	0.60	0.70
Premezcla de minerales/vitaminas #1 ⁶	0.25	0.21
Premezcla de minerales/vitaminas #2 ⁶	0.21	0.20
Colesterol ²	0.20	0.20
Vitamina C (Stay C) ⁷	0.04	0.04
Metionina DL ²	0.00	0.10
	100.00	100.00

Procedencia de los ingredientes de la premezcla:

¹ Inual, Santiago, Chile.

² ICN Pharmaceutical, Inc., Costa Mesa, California, EUA.

³ Fisher Scientific, Fair Lawn, New Jersey, EUA.

⁴ Kelco, San Diego, California, EUA.

⁵ Omega Protein Inc., Reedville, Virginia, EUA.

⁶ Dawes Laboratories, Arlington Heights, Illinois, EUA.

⁷ Stay C® (L-ascorbyl-2-polyphosphate 35% Active C), Roche Vitamins Inc., Parsippany, New Jersey, EUA.

Tabla II. Niveles de inclusión (% del peso seco de la dieta) de proteína cruda y prebiótico en dietas experimentales para *L. vannamei*.

Dieta	Proteína Cruda	Prebiótico scFOS
1	23	0.00
2	23	0.04
3	23	0.08
4	23	0.16
5	23	0.32
6	35	0.00
7	35	0.04
8	35	0.08
9	35	0.16
10	35	0.32

Las dietas experimentales se prepararon mediante la técnica de extrusión en frío, utilizando una mezcladora (marca Hobart, modelo A-200, Troy, Ohio, EUA), secándolas durante 24 h mediante una corriente constante de aire a 45°C. Las dietas se molieron al tamaño adecuado y se mantuvieron en congelación hasta el momento de su suministro. Las dietas experimentales se proporcionaron a los organismos en exceso moderado, dividiendo la ración diaria en tres porciones iguales, suministradas a las 09:00, 13:00 y 19:00 horas. Únicamente en el sistema de cultivo de recirculación se retiraron diariamente de los tanques las heces, el alimento no consumido y las exuvias mediante sifoneo.

VI.6.1. Determinación de la composición proximal de dietas experimentales

La composición proximal de las dietas experimentales se determinó de acuerdo con los métodos estandarizados 984.13, 920.85, 962.09, 925.09 y 923.03 de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1999), correspondientes a la determinación de proteína cruda, grasa cruda, fibra cruda, humedad y cenizas, respectivamente (Tabla III).

Tabla III. Composición proximal de las dietas (% del peso seco de la dieta) experimentales suministradas a juveniles de *L. vannamei* en el presente estudio.

Componente	Nivel de proteína (%)	
	23	35
Humedad	7.17	8.13
Materia Seca	92.83	91.87
Proteína Cruda	22.50	36.30
Grasa Cruda	6.88	6.13
Fibra Cruda	1.12	3.70
Cenizas	17.80	17.10

VI.7. Asignación de Tratamientos Experimentales a Tanques de Cultivo

Dentro de cada sistema de cultivo, cada tratamiento experimental se asignó completamente al azar a 5 tanques de cultivo. Una representación esquemática de este procedimiento se muestra en la Figura 2.

S2		S1	
26 P35; FOS0.32	1 P23; FOS0.00	26 P35; FOS0.32	1 P23; FOS0.00
27 P35; FOS0.16	2 P23; FOS0.08	27 P35; FOS0.16	2 P23; FOS0.08
28 P35; FOS0.32	3 P35; FOS0.04	28 P35; FOS0.32	3 P35; FOS0.04
29 P35; FOS0.00	4 P23; FOS0.16	29 P35; FOS0.00	4 P23; FOS0.16
30 P23; FOS0.04	5 P23; FOS0.00	30 P23; FOS0.04	5 P23; FOS0.00
31 P23; FOS0.32	6 P35; FOS0.16	31 P23; FOS0.32	6 P35; FOS0.16
32 P35; FOS0.04	7 P35; FOS0.08	32 P35; FOS0.04	7 P35; FOS0.08
33 P23; FOS0.00	8 P23; FOS0.08	33 P23; FOS0.00	8 P23; FOS0.08
34 P35; FOS0.04	9 P35; FOS0.00	34 P35; FOS0.04	9 P35; FOS0.00
35 P35; FOS0.16	10 P23; FOS0.04	35 P35; FOS0.16	10 P23; FOS0.04
36 P23; FOS0.08	11 P35; FOS0.32	36 P23; FOS0.08	11 P35; FOS0.32
37 P35; FOS0.08	12 P23; FOS0.16	37 P35; FOS0.08	12 P23; FOS0.16
38 P23; FOS0.16	13 P35; FOS0.00	38 P23; FOS0.16	13 P35; FOS0.00
39 P23; FOS0.04	14 P23; FOS0.32	39 P23; FOS0.04	14 P23; FOS0.32
40 P35; FOS0.16	15 P35; FOS0.00	40 P35; FOS0.16	15 P35; FOS0.00
41 P35; FOS0.04	16 P35; FOS0.08	41 P35; FOS0.04	16 P35; FOS0.08
42 P23; FOS0.32	17 P23; FOS0.00	42 P23; FOS0.32	17 P23; FOS0.00
43 P23; FOS0.08	18 P35; FOS0.16	43 P23; FOS0.08	18 P35; FOS0.16
44 P35; FOS0.08	19 P23; FOS0.16	44 P35; FOS0.08	19 P23; FOS0.16
45 P35; FOS0.32	20 P35; FOS0.32	45 P35; FOS0.32	20 P35; FOS0.32
46 P23; FOS0.04	21 P23; FOS0.32	46 P23; FOS0.04	21 P23; FOS0.32
47 P35; FOS0.00	22 P35; FOS0.08	47 P35; FOS0.00	22 P35; FOS0.08
48 P23; FOS0.16	23 P35; FOS0.04	48 P23; FOS0.16	23 P35; FOS0.04
49 P23; FOS0.00	24 P23; FOS0.32	49 P23; FOS0.00	24 P23; FOS0.32
50 P23; FOS0.04	25 P23; FOS0.08	50 P23; FOS0.04	25 P23; FOS0.08

Figura 2. Asignación de tratamientos experimentales a los tanques de cultivo en los sistemas de recirculación y cero recambio de agua. Los rectángulos representan los tanques de cultivo. El número de tanque se muestra en la esquina superior derecha. Los colores ilustran las distintas combinaciones dietarias de proteína cruda y prebiótico.

VI.8. Medición de Parámetros Físico-Químicos de Calidad del Agua de Cultivo

Durante el experimento se realizaron mediciones diarias de temperatura (°C), oxígeno disuelto (mg/L) y salinidad (‰) utilizando un oxímetro multi-función (marca YSI, modelo YSI85, Yellow Springs, Ohio, EUA); mientras que el pH se midió semanalmente con un potenciómetro manual Pint-Point con precisión de 0.1 (marca Oakton®, modelo Double Junction pH Test 1, Vernon Hills, Illinois, EUA). Además, se tomaron muestras de agua aleatoriamente de cada uno de los sistemas experimentales para determinar la concentración de nitrógeno amoniacal total (NH₄-N) y nitritos-N (NO₂-N) con ayuda de un medidor Thermo Scientific Orion ISE (Modelo 4-Star pH/ISE Meter, Beverly, Maryland, EUA), utilizando los electrodos selectivos de iones 9512BNWP para nitrógeno amoniacal y 9546BN para nitritos.

VI.9. Medición de Parámetros Biológicos de Cultivo

Concluidas las 8 semanas de cultivo, se retiraron los organismos de los tanques de cultivo con una red de cuchara, registrando el peso grupal y número de organismos sobrevivientes para evaluar los siguientes parámetros biológicos de cultivo: peso final, peso ganado (g) = peso final – peso inicial, porcentaje de peso ganado = [(peso final – peso inicial) / peso inicial] * 100, tasa instantánea de crecimiento (TIC) = [(ln peso final – ln peso inicial) / tiempo (días)] * 100, supervivencia = (número final de organismos * 100) / número inicial de organismos y factor de conversión de alimento (FCA) = peso del alimento ofrecido (g) / peso ganado (g). Los organismos de cada tanque se colocaron en bolsas de plástico zip-loc debidamente etiquetada y se colocaron en una hielera con abundante hielo para ser trasladados de inmediato al Laboratorio de Nutrición Acuícola del DICTUS campus Hermosillo y proceder con los Análisis Bacteriológicos correspondientes, como se describe a continuación.

VI.10. Análisis Bacteriológicos

Una vez en el Laboratorio de Nutrición Acuícola, los organismos se lavaron con alcohol 90% y posteriormente se enjuagaron con agua destilada. Enseguida se extirparon el intestino y hepatopáncreas de entre 4 y 6 organismos para obtener una muestra conjunta de 1g de tejido. Mediante este procedimiento se reunieron 3 muestras conjuntas por cada tratamiento experimental. Cada muestra se colocó en un tubo de ensaye estéril + 9 ml de solución salina (NaCl 35‰), se agitó manualmente para tomar una alícuota de 0.1ml utilizando una micropipeta, misma que se sembró en una caja de Petri con agar tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa (TCBS), de acuerdo con un procedimiento estandarizado (Food and Drug Administration, 1992). Cada muestra fue sembrada por triplicado, colocando las cajas de Petri en una incubadora a 36°C durante 24 h para finalmente contar las unidades formadoras de colonias (UFC) verdes y amarillas por separado.

VI.11. Análisis Estadístico

Considerando a los sistemas de cultivo como un factor, se analizaron las mediciones de parámetros biológicos de cultivo, *i.e.*, crecimiento, peso final, peso ganado (g), porcentaje de peso ganado (%), Tasa instantánea de crecimiento (TIC), supervivencia y Factor de conversión de alimento (FCA), así como la abundancia de bacterias del genero *Vibrio* spp. mediante Análisis de Varianza (ANDEVA) de tres vías con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$. Adicionalmente, las mediciones de los parámetros físico-químicos de calidad de agua de cultivo, *i.e.*, temperatura, oxígeno disuelto, salinidad, pH, concentración de nitrógeno amoniacal y nitritos, se analizaron mediante ANDEVA de mediciones repetidas

(ANDEVARM). Las mediciones de porcentaje de supervivencia y los conteos de bacterias del genero *Vibrio* spp se transformaron por el arcoseno y log10, respectivamente, antes de su análisis estadístico, pero se presentan los datos reales. Se utilizó el método de separación de promedios de Duncan para identificar diferencias entre tratamientos. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el programa “Statistical Analysis System software” (SAS Institute, 1999-2000, Software Release 8.1, Cary, Carolina del Norte, EUA).

VII. RESULTADOS

VII.1. Medición de Parámetros Físico-Químicos de Calidad del Agua de Cultivo

Los parámetros físico-químicos de calidad del agua de cultivo analizados en el presente estudio fueron oxígeno disuelto, temperatura, salinidad, pH, concentración de nitrógeno amoniacal y nitritos en ambos sistemas de cultivo.

VII.1.1. Oxígeno disuelto

De acuerdo con el análisis de promedios de la concentración de oxígeno para cada uno de los factores estudiados (denominado “Efectos principales” de la Tabla IV), el valor promedio de la concentración de oxígeno disuelto para el sistema de cultivo de recirculación (S1) fue de 5.6 ± 0.3 mg/L. (Tabla IV). El valor mínimo se presentó en el día 37 donde alcanzó un valor de 5.1 mg/l, mientras que el valor máximo se presentó los días 38 y 50 con un valor de 6.2 mg/L (Figura 3). En el sistema de cultivo de cero recambio de agua (S2) el valor promedio de la concentración de oxígeno disuelto fue de 5.7 ± 0.3 mg/L (Tabla IV). El valor mínimo se presentó en el día 37 con un valor de 5.0 mg/L; mientras que el valor máximo se presentó el día 20 con 6.2 mg/L (Figura 4). La prueba estadística de ANOVA de mediciones repetidas (ANDEVAMR) detectó diferencias significativas entre los promedios de las concentraciones de los dos sistemas de cultivo, siendo estadísticamente mayor el promedio del sistema de cultivo de cero recambio (5.7 ± 0.3 mg/L), con respecto al del sistema de recirculación (5.6 ± 0.3 mg/L) (Tabla IV). No se detectaron diferencias significativas de los factores prebiótico o nivel de proteína, o de sus posibles interacciones, sobre este parámetro (“Efectos entre-sujetos” de la Tabla IV). Con respecto a las variaciones de la temperatura con el tiempo de cultivo, se observaron efectos significativos solamente del factor tiempo y su interacciones con el sistema de cultivo y el nivel de proteína (“Efectos intra-sujetos” de la Tabla IV).

Tabla IV. Promedio (\pm d. e.) y ANOVA de mediciones repetidas de valores de oxígeno disuelto (mg/L), temperatura ($^{\circ}$ C), nitrógeno amoniacal total (mg/L), nitritos (mg/L), pH y salinidad (%) de sistemas de cultivo experimental de *Litopenaeus vannamei* alimentado con diferentes niveles dietarios de un prebiótico y de proteína.

Efectos principales	Oxígeno disuelto (mg/L)	Temperatura ($^{\circ}$ C)	Salinidad (%)	pH	Nitritos (mg/L)	Nitrógeno amoniacal (mg/L)
Sistema de cultivo						
Recirculación (S1)	5.6 \pm 0.3 ^b	33.2 \pm 1.3 ^a	39.9 \pm 1.8 ^b	7.3 \pm 0.4 ^b	0.036 \pm 0.037	0.191 \pm 0.337
Cero recambio (S2)	5.7 \pm 0.3 ^a	30.6 \pm 0.6 ^b	41.9 \pm 1.5 ^a	7.7 \pm 0.3 ^a	0.055 \pm 0.031	0.114 \pm 0.193
Prebiótico (%)						
0.00	5.7 \pm 0.2	31.0 \pm 0.6	41.9 \pm 1.4	7.7 \pm 0.3	0.041 \pm 0.024	0.116 \pm 0.205
0.04	5.8 \pm 0.2	31.0 \pm 0.7	41.7 \pm 1.1	7.7 \pm 0.3	0.033 \pm 0.035	0.102 \pm 0.171
0.08	5.8 \pm 0.2	31.1 \pm 0.6	41.3 \pm 1.3	7.7 \pm 0.3	0.065 \pm 0.035	0.115 \pm 0.218
0.16	5.7 \pm 0.2	30.0 \pm 0.6	41.9 \pm 1.8	7.7 \pm 0.3	0.040 \pm 0.014	0.107 \pm 0.196
0.32	5.8 \pm 0.2	30.5 \pm 3.9	41.4 \pm 1.4	7.6 \pm 0.3	0.042 \pm 0.022	0.087 \pm 0.138
Proteína (%)						
23	5.8 \pm 0.2	31.07 \pm 0.6 ^a	41.6 \pm 1.3	7.6 \pm 0.3	0.046 \pm 0.021	0.095 \pm 0.162
35	5.8 \pm 0.3	31.04 \pm 0.6 ^b	41.6 \pm 1.5	7.7 \pm 0.3	0.147 \pm 0.254	0.116 \pm 0.212
ANDEVAMR ($P > F$) Efectos entre-sujetos						
Sistema de cultivo						
Prebiótico	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.1868	0.0681
Proteína	0.9685	0.9587	0.9487	0.6702	0.8461	0.9385
Sist. Cult. x Prebiótico						
Sist. Cult. x Proteína	0.8343	< 0.0001	0.4453	< 0.0001	0.4126	0.4233
Sist. Cult. x Proteína						
Prebiótico x Proteína	0.9685	0.9857	0.8757	0.7923	0.8628	0.9466
Sist. Cult. x Preb. x Proteína						
Prebiótico x Proteína	0.7469	< 0.0001	0.4316	0.0003	0.6159	0.4051
Sist. Cult. x Preb. x Proteína	0.9367	0.9859	0.9085	0.7522	0.9968	0.8669
Sist. Cult. x Preb. x Proteína	0.9367	0.9859	0.8633	0.6600	0.8697	0.8717

Tabla IV. (Continuación) Promedio (\pm d. e.) y ANOVA de mediciones repetidas de valores de oxígeno disuelto (mg/L), temperatura ($^{\circ}$ C), nitrógeno amoniacal total (mg/L), nitritos (mg/L), pH y salinidad ($\%$) de sistemas de cultivo experimental de *Litopenaeus vannamei* alimentado con diferentes niveles dietarios de un prebiótico y de proteína.

	Oxígeno disuelto (mg/L)	Temperatura ($^{\circ}$ C)	Salinidad ($\%$)	pH	Nitritos (mg/L)	Nitrógeno amoniacal (mg/L)
Efectos intra-sujetos (Wilks' Lambda)						
Tiempo	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.6610	< 0.0001
Tiempo x Sist. Cult.	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.0429	0.6570
Tiempo x Prebiótico	1.0000	0.9996	1.0000	0.9681	1.0000	0.9999
Tiempo x Proteína	0.0113	< 0.0001	0.3678	< 0.0001	0.5881	0.7032
Tiempo x Sist. Cult x Prebiótico	1.0000	0.9996	0.9998	0.9893	0.5964	0.9999
Tiempo x Sist. Cult. X Proteína	0.0080	0.9996	0.2224	< 0.0001	0.5964	0.7113
Tiempo x Prebiótico x Proteína	1.0000	0.9991	0.8225	0.9644	0.9974	0.9834
Tiempo x Sist. Cult. X Prebiótico x Proteína	1.0000	0.9991	0.9996	0.9998	0.9874	0.9831

*Los valores son promedios \pm desviación estándar de 5 réplicas por tratamiento.

*Superíndices distintos indican diferencias significativas entre tratamientos.



Figura 3. Concentración de oxígeno disuelto (mg/L) en el sistema de cultivo de recirculación (S1) durante el experimento. Max = valor máximo; Min = valor mínimo.

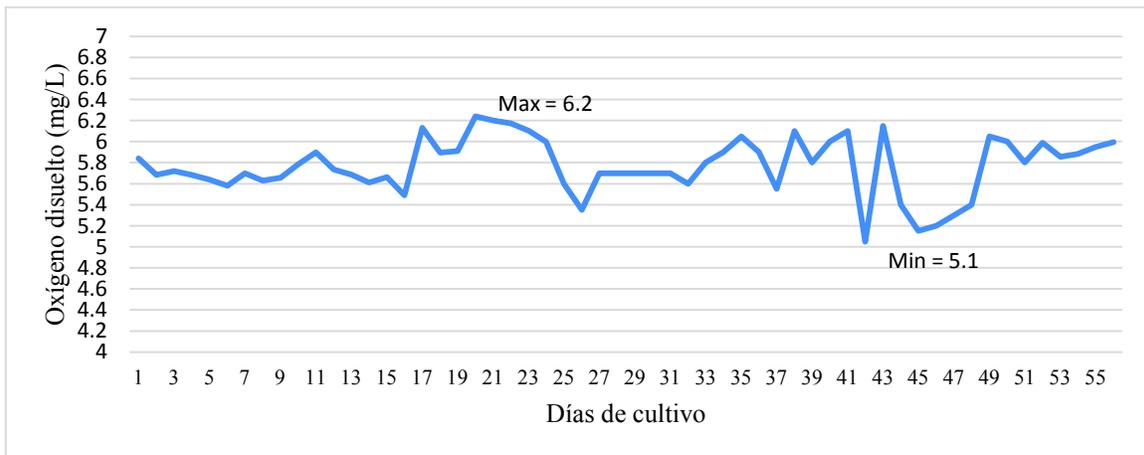


Figura 4. Concentración de oxígeno disuelto (mg/L) en el sistema de cultivo de cero recambio (S2) durante el experimento. Max = valor máximo; Min = valor mínimo.

VII.1.2. Temperatura

El valor promedio de la temperatura para el sistema de cultivo de recirculación (S1) fue de $33.2 \pm 1.3^{\circ}\text{C}$ (Tabla IV). El valor mínimo se presentó el día 10 con 29.9°C , mientras que el valor máximo se presentó en el día 40 con 35.3°C (Figura 5). En el sistema de cultivo de cero recambio de agua (S2), el valor promedio de la temperatura fue de $30.6 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$ (Tabla IV). El valor mínimo se presentó en el día 10 con 29.5°C , mientras que la temperatura máxima se presentó el día 28 cuando alcanzó 32.8°C (Figura 6). Se detectaron efectos significativos de los factores sistema de cultivo y nivel de proteína, así como de su interacción, en donde la temperatura promedio del agua de cultivo en el sistema de recirculación ($33.2 \pm 1.4^{\circ}\text{C}$) fue estadísticamente superior a aquella del sistema de cultivo de cero recambio de agua ($30.6 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$) (“Efectos entre-sujetos”, Tabla IV). Por otra parte, las mediciones de temperatura del agua variaron significativamente con el tiempo de cultivo, así como en función de la interacción entre el tiempo y el sistema de cultivo y el nivel de proteína (“Efectos intra-sujetos”, Tabla IV).

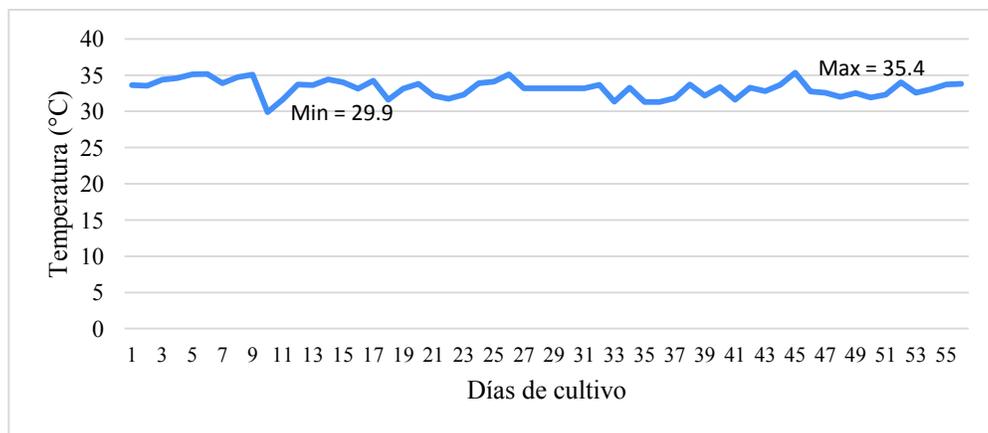


Figura 5. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) en el sistema de cultivo de recirculación (S1) durante el experimento. Max = valor máximo; Min = valor mínimo.

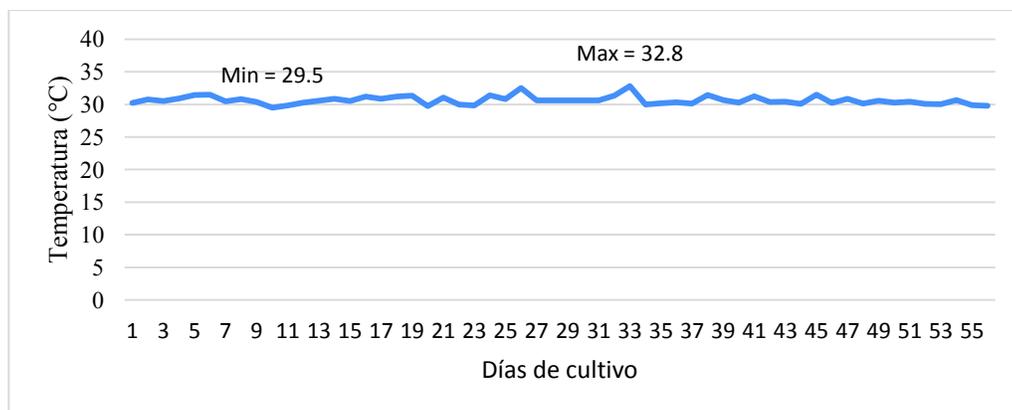


Figura 6. Temperatura (°C) en el sistema de cultivo de cero recambio (S2) durante el experimento. Max = valor máximo; Min = valor mínimo.

VII.1.3. Salinidad

En el caso de la salinidad del agua de cultivo, el valor promedio fue de $39.9 \pm 1.8\%$ para el sistema de cultivo de recirculación (S1) (Tabla IV), registrándose el valor mínimo (38.0%) en las semanas 3 y 5 de cultivo; y el máximo (43.5%) en las semana 1 de cultivo (Figura 7). En el sistema de cultivo de cero recambio de agua (S2), el valor promedio de la salinidad fue de $42.0 \pm 1.5\%$ (Tabla IV), alcanzándose los valores mínimo (39.6%) y máximo (43.3%) en las semanas 1 de cultivo, respectivamente (Figura 8). De acuerdo con el análisis estadístico, la salinidad del sistema de cultivo de recirculación ($39.9 \pm 1.8\%$) fue significativamente menor que la del sistema de cero recambio de agua ($41.9 \pm 1.5\%$), sin encontrarse efectos significativos adicionales de los factores nivel dietético de prebiótico o proteína (“Efectos entre-sujetos”, Tabla IV), pero sí detectándose una interacción significativa entre el tiempo de cultivo y el sistema de cultivo (“Efectos intra-sujetos”, Tabla IV).

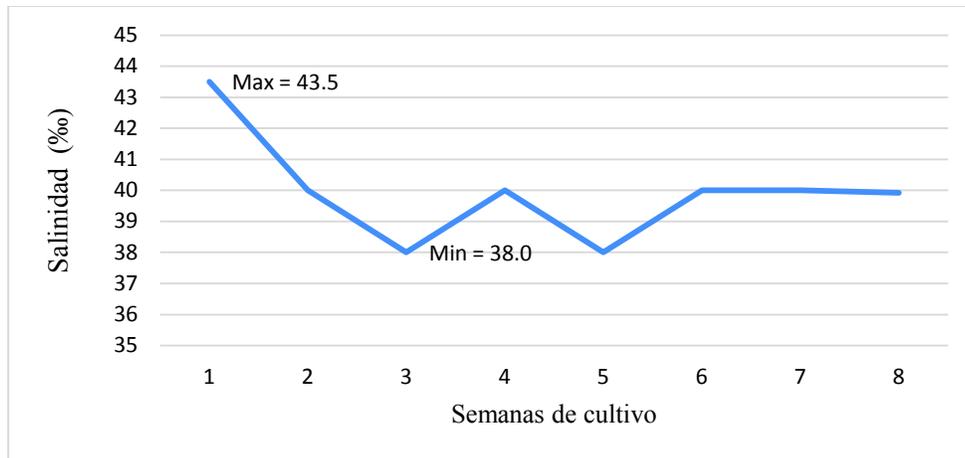


Figura 7. Salinidad (‰) en el sistema de cultivo de recirculación (S1) durante el experimento. Max = valor máximo; Min = valor mínimo.

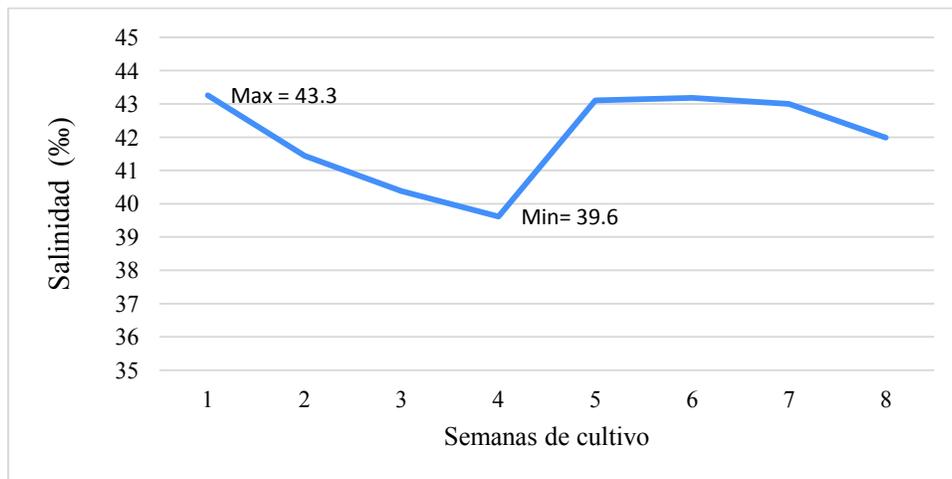


Figura 8. Salinidad (‰) en el sistema de cultivo de cero recambio (S2) durante el experimento. Max = valor máximo; Min = valor mínimo.

VII.1.4. pH

En el sistema de cultivo de recirculación (S1), el valor promedio del pH fue de 7.4 ± 0.4 (Tabla IV). El valor mínimo (6.9) y máximo (8.0) se registraron en las semanas 2 y 7 de cultivo, respectivamente (Figura 9). En el sistema de cultivo de cero recambio de agua (S2), el valor promedio del pH fue de 7.7 ± 0.3 (Tabla IV), alcanzándose los valores mínimo (7.1) y máximo (8.1) en las semanas 6 y 2 de cultivo, respectivamente (Figura 10). De acuerdo con el análisis estadístico, el valor promedio del pH del sistema de cultivo de recirculación (7.4 ± 0.4) fue significativamente menor que el del sistema de cero recambio de agua (7.8 ± 0.3) (“Efectos entre-sujetos”, Tabla IV). De forma similar, el valor promedio del pH fue influenciado significativamente por el nivel de proteína dietaria, siendo menor, aunque se trata de promedios numéricamente iguales, para el nivel de 23% (7.7 ± 0.3), con respecto al nivel de 35% (7.7 ± 0.3) (“Efectos entre-sujetos”, Tabla IV). Se observaron efectos significativos adicionales para la interacción entre el sistema de cultivo y el nivel de proteína dietaria (“Efectos entre-sujetos”, Tabla IV). Así mismo, el pH del agua varió significativamente con el tiempo de cultivo y también como resultado de la interacción entre éste y otros factores tales como el sistema de cultivo y el nivel de proteína dietaria (“Efectos intra-sujetos”, Tabla IV).

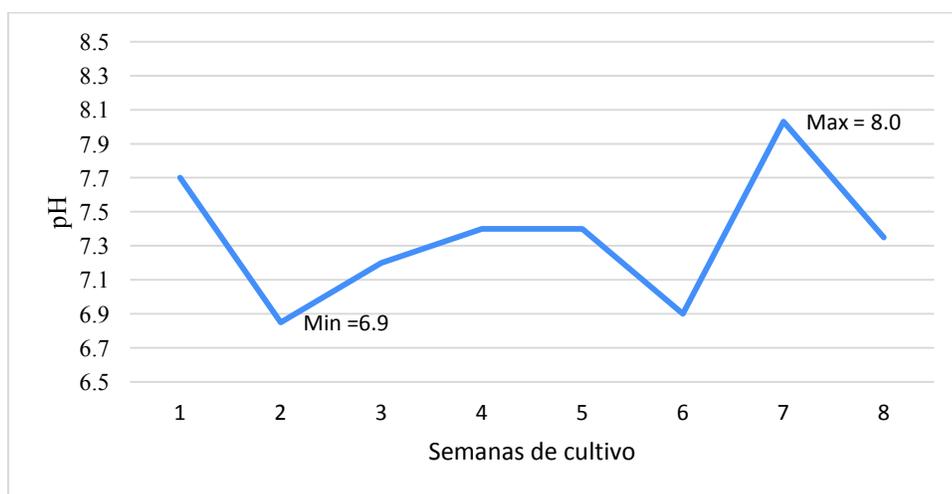


Figura 9. pH en el sistema de cultivo de recirculación (S1) durante el experimento. Max = valor máximo; Min = valor mínimo.

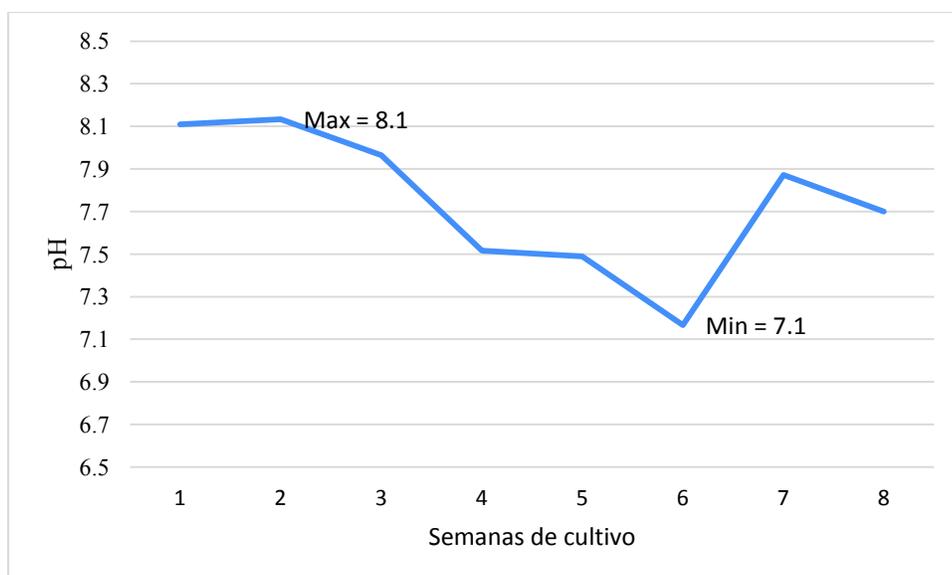


Figura 10. pH en el sistema de cultivo de cero recambio (S2) durante el experimento. Max = valor máximo; Min = valor mínimo.

VII.1.5. Nitrógeno amoniacal total

El valor promedio de la concentración de nitrógeno amoniacal total en el sistema de cultivo de recirculación (S1) fue de 0.191 ± 0.337 mg/L (Tabla IV). El valor mínimo se registró en la semana 7 de cultivo, donde alcanzó un valor de 0.008 mg/L, mientras que el valor máximo se presentó en la semana 2, con un valor de 0.850 mg/L (Figura 11). En el sistema de cultivo de cero recambio de agua (S2), el valor promedio de la concentración de nitrógeno amoniacal total fue de 0.114 ± 0.193 mg/L (Tabla IV). El valor mínimo se presentó en la semana 5 con un valor de 0.006 mg/l, mientras que el máximo se presentó en la semana 4 con un valor de 0.526 mg/L (Figura 12). No se detectaron efectos significativos de ninguno los factores estudiados ni de su interacción sobre este parámetro (“Efectos entre-sujetos”, Tabla IV). Sin embargo, la concentración de este compuesto varió significativamente con el tiempo de cultivo, pero no como resultado de la interacción entre el tiempo y los demás factores (“Efectos intra-sujetos”, Tabla IV).

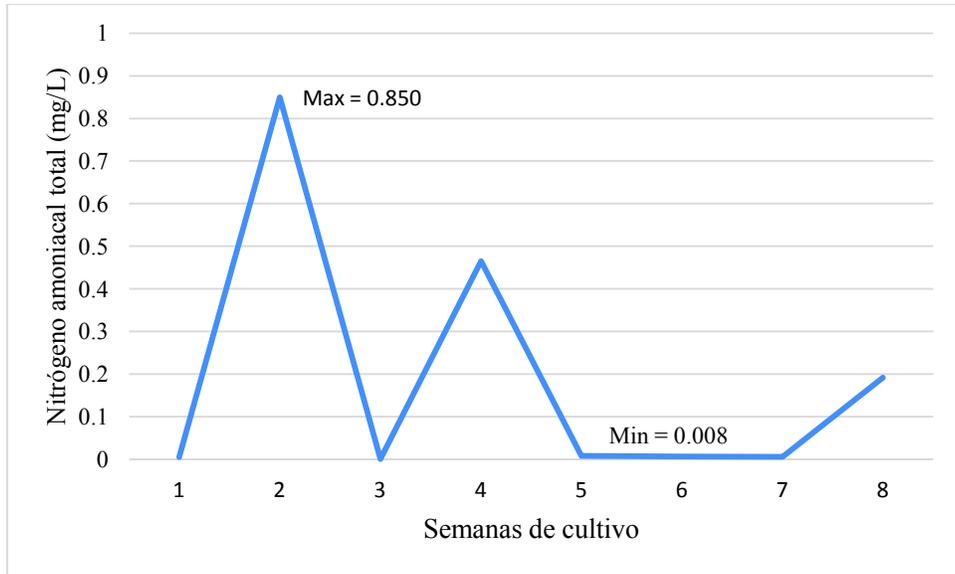


Figura 11. Concentración de nitrógeno amoniaco total (mg/L) en el sistema de cultivo de recirculación (S1) durante el experimento. Max = valor máximo; Min = valor mínimo.

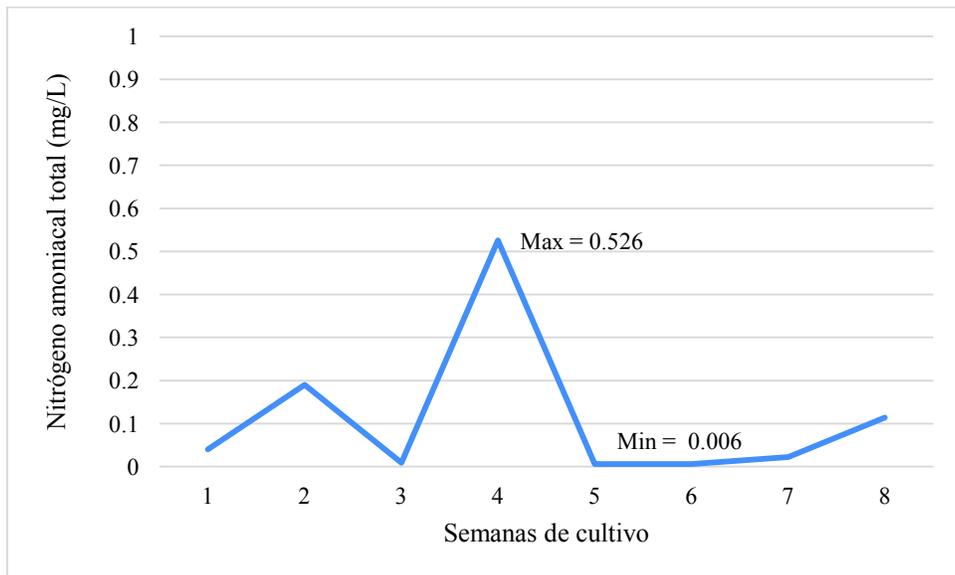


Figura 12. Concentración de nitrógeno amoniaco total (mg/L) en el sistema de cultivo de cero recambio (S2) durante el experimento. Max = valor máximo; Min = valor mínimo.

VII.1.6. Nitritos

El valor promedio de la concentración de nitritos en el sistema de cultivo de recirculación (S1) fue de 0.036 ± 0.037 mg/L (Tabla IV). El valor mínimo ocurrió en la semana 3 de cultivo, cuando alcanzó un valor de 0.004 mg/L, mientras que el valor máximo se presentó en la semana 7, con un valor de 0.095 mg/L (Figura 13). En el sistema de cultivo de cero recambio de agua (S2), el valor promedio de la concentración de nitritos fue de 0.055 ± 0.031 mg/L (Tabla IV). El valor mínimo se registró en la semana 3 con un valor de 0.025 mg/L, en tanto que valor máximo se presentó en la semana 1 con un valor de 0.104 mg/L (Figura 14). No se observaron efectos significativos sobre las concentraciones de este compuesto por efecto de los sistemas de cultivo, ni por efecto de los niveles de prebiótico o de proteína empleados, así como tampoco por efecto de sus interacciones (“Efectos entre-sujetos”, Tabla IV). En cuanto al efecto del tiempo de cultivo sobre las concentraciones de este compuesto, únicamente se detectó un efecto significativo para la interacción entre el tiempo y el sistema de cultivo (“Efectos intra-sujetos”, Tabla IV).

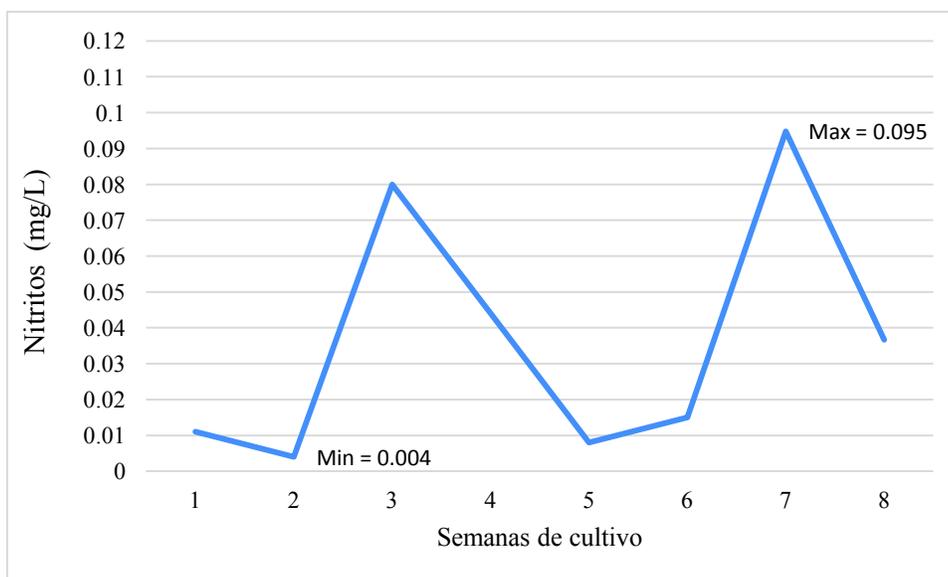


Figura 13. Concentración de nitritos (mg/L) en el sistema de cultivo de recirculación (S1) durante el experimento. Max = valor máximo; Min = valor mínimo.

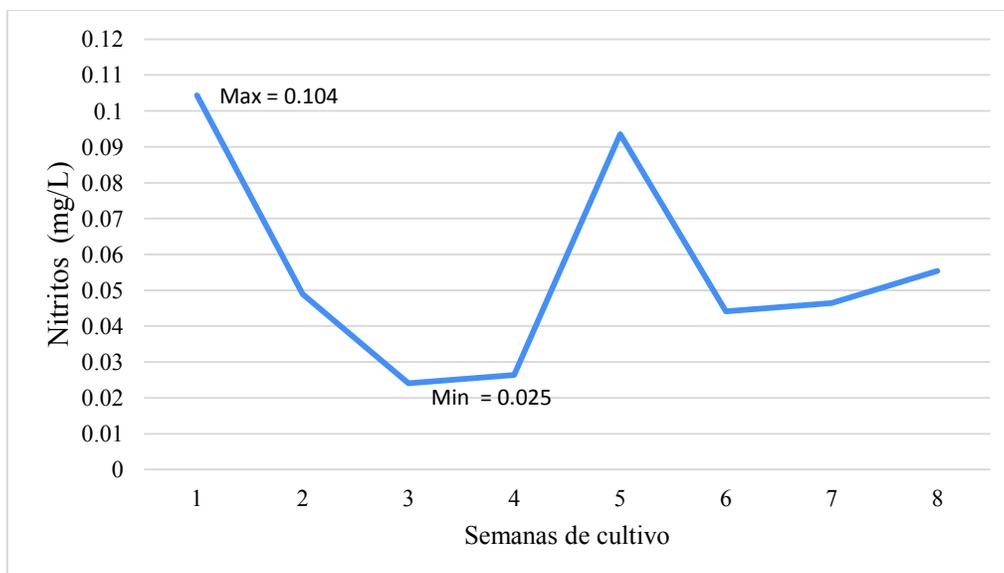


Figura 14. Concentración de nitritos (mg/L) en el sistema de cultivo de cero recambio (S2) durante el experimento. Max = valor máximo; Min = valor mínimo.

VII.2. Medición de Parámetros Biológicos de Cultivo

VII.2.1. Peso inicial

El peso individual promedio de los organismos al inicio del experimento fue homogéneo, sin diferencias significativas entre tratamientos. (Tabla V).

VII.2.2. Peso final

El peso individual final de los organismos fue influenciado significativamente tanto por el sistema de cultivo como por el nivel de proteína dietaria. En el primer caso, el promedio de peso individual final de los organismos del sistema de cultivo de cero recambio de agua (S2) (5.5 ± 1.7 g) fue significativamente mayor que el de aquellos mantenidos en el sistema de

cultivo de recirculación (4.2 ± 1.1 g) (promedios de los “Efectos principales”, Tabla V). En el segundo caso, el peso individual final fue mayor para los organismos alimentados con un nivel de proteína dietaria de 35% (5.6 ± 1.7 g), en comparación con aquellos que recibieron un nivel de proteína dietaria de 23% (4.0 ± 1.0 g) (promedios de los “Efectos principales”, Tabla V). Además de lo anterior, se observó un efecto significativo de la interacción entre los efectos del sistema de cultivo y el nivel de inclusión de proteína en la dieta, ilustrado en la figura 15, donde puede observarse que, para cada sistema de cultivo, el incremento en el nivel de proteína dietaria resultó en un mayor peso final, pero adicionalmente se observa que el cultivo de organismos bajo la combinación sistema de cultivo de cero recambio y nivel de proteína dietaria de 35% produjo el mayor valor de peso final observado (6.6 g). No se observó un efecto significativo del nivel de inclusión del prebiótico ni efectos significativos adicionales (Tabla V).

VII.2.3. Peso ganado

Exactamente el mismo patrón de diferencias significativas detectadas para los datos de peso final se observó para los resultados de peso ganado, expresados tanto en gramos como en porcentaje del peso inicial, siendo los factores sistema de cultivo y nivel de proteína dietaria los únicos que influenciaron significativamente el peso ganado de los organismos, mayor para aquellos mantenidos en el sistema de cultivo de cero recambio de agua (5.2 ± 1.7 g, $1,873.0 \pm 666.9\%$), en comparación con aquellos mantenidos en el sistema de cultivo de recirculación (3.9 ± 1.1 g, $1,383.3 \pm 333.1\%$); y mayor en organismos alimentados con 35% de proteína dietaria (5.3 ± 1.7 g, $1,911.1 \pm 643.1\%$) vs. organismos alimentados con 23% de proteína dietaria (3.8 ± 1.0 g, $1,345.2 \pm 318.0\%$) (promedios de los “Efectos principales”, Tabla V). Así mismo, al igual que lo observado en los datos de peso final, las Figuras 15 y 16 ilustran la misma interacción significativa entre los efectos del sistema de cultivo y el nivel de inclusión de proteína, observándose que los mayores valores de peso ganado (6.3 g, Figura 15; 2,304.2%, Figura 16) correspondieron a organismos mantenidos bajo la combinación sistema de cultivo de cero recambio y nivel de proteína dietaria de 35%.

Tabla V. Promedio (\pm d. e.) y ANOVA de peso inicial, peso final y peso ganado (expresado en gramos y como porcentaje del peso inicial) de *Litopenaeus vannamei* alimentado con diferentes niveles dietarios de un prebiótico y de proteína y cultivado en un sistema de cero recambio de agua y en uno de recirculación.

	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Peso ganado (g)	Peso ganado (%)
Efectos principales				
Sistema de cultivo				
Recirculación	0.29 \pm 0.03	4.2 \pm 1.1 ^b	3.9 \pm 1.1 ^b	1383.3 \pm 333.1 ^b
Cero recambio	0.30 \pm 0.02	5.5 \pm 1.7 ^a	5.2 \pm 1.7 ^a	1873.0 \pm 666.9 ^a
Prebiótico (%)				
0.00	0.31 \pm 0.02	4.9 \pm 1.5	4.6 \pm 1.5	1574.3 \pm 513.3
0.04	0.29 \pm 0.04	4.8 \pm 1.4	4.5 \pm 1.4	1613.4 \pm 467.9
0.08	0.30 \pm 0.02	5.0 \pm 2.3	4.7 \pm 2.3	1688.5 \pm 895.5
0.16	0.30 \pm 0.02	4.7 \pm 1.2	4.4 \pm 1.2	1597.5 \pm 373.3
0.32	0.30 \pm 0.02	4.9 \pm 1.4	4.6 \pm 1.4	1667.1 \pm 561.3
Proteína (%)				
23	0.30 \pm 0.02	4.0 \pm 1.0 ^b	3.8 \pm 1.0 ^b	1345.2 \pm 318.0 ^b
35	0.30 \pm 0.02	5.6 \pm 1.7 ^a	5.3 \pm 1.7 ^a	1911.1 \pm 643.1 ^a
ANDEVA $P > F$				
Sistema de cultivo	0.1064	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Prebiótico	0.1305	0.9600	0.9641	0.9093
Proteína	0.4166	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Sist. Cult. x Prebiótico	0.9547	0.2260	0.2259	0.2575
Sist. Cult. x Proteína	0.4166	0.0060	0.0044	0.0009
Prebiótico x Proteína	0.6170	0.6805	0.6605	0.4768
Sist. Cult. x Preb. x Proteína	0.6170	0.8448	0.8382	0.7011

*Los valores son promedios \pm desviación estándar de 5 réplicas por tratamiento. ($P \leq 0.05$)

*Superíndices distintos indican diferencias significativas entre tratamientos.

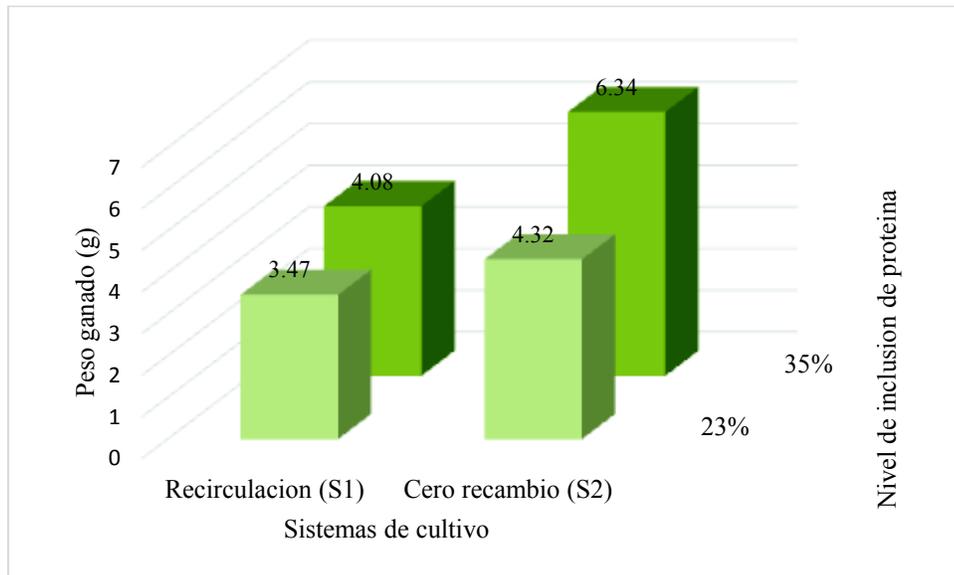


Figura 15. Peso ganado (g), interacción entre los efectos del sistema de cultivo y el nivel de inclusión de proteína.

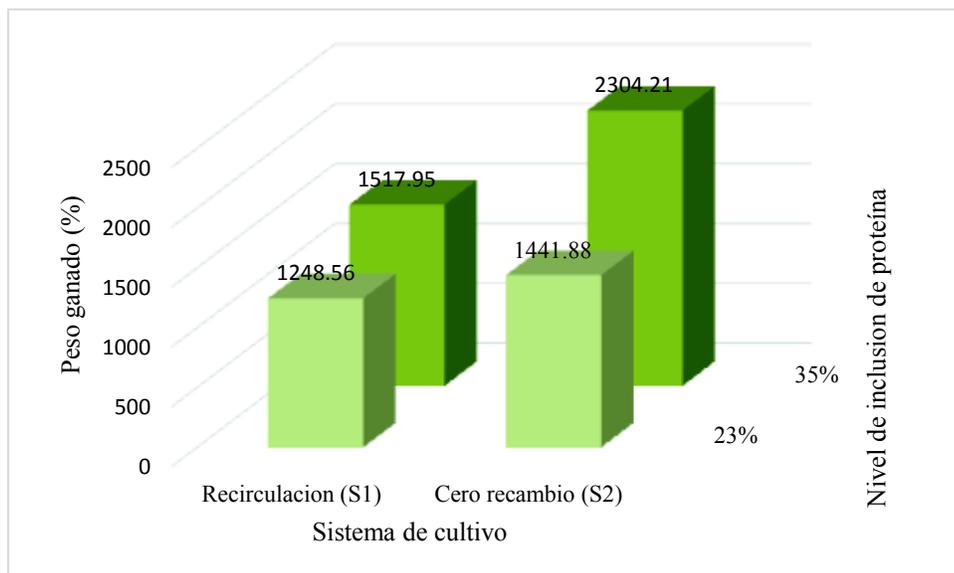


Figura 16. Peso ganado (%), interacción entre los efectos del sistema de cultivo y el nivel de inclusión de proteína.

VII.2.4. Tasa instantánea de crecimiento

Los valores de la tasa instantánea de crecimiento (TIC) fueron de 4.1 ± 0.4 y 4.5 ± 0.7 %/d para los organismos mantenidos en los sistemas de cultivo de recirculación y de cero recambio de agua, respectivamente (Tabla VI). Además de observarse efectos significativos de los factores sistema de cultivo y nivel de proteína, se detectó una interacción significativa entre dichos factores, ilustrada en la Figura 17, donde se muestra un mayor valor de TIC en organismos cultivados en el sistema de cero recambio de agua y alimentados con un nivel de 35% de proteína. Adicionalmente, se observó un efecto significativo de la interacción entre los efectos del nivel de inclusión del prebiótico y del nivel de inclusión de proteína en la dieta (Tabla VI).

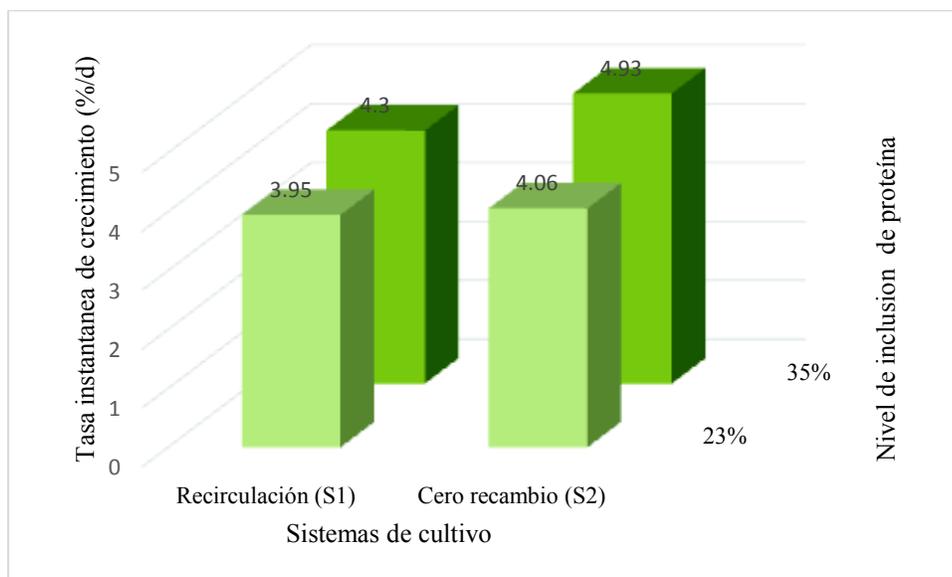


Figura 17. Tasa Instantánea de crecimiento (%/d), interacción entre los efectos del sistema de cultivo y el nivel de inclusión de proteína.

VII.2.5. Factor de conversión de alimento

En el caso de los resultados del factor de conversión alimenticia (FCA), nuevamente se observaron efectos significativos tanto del sistema de cultivo como del nivel de proteína dietaria, pero no de la interacción entre estos factores. El promedio del FCA de los organismos del sistema de cultivo de cero recambio de agua fue de 1.4 ± 0.4 , significativamente menor que el de aquellos mantenidos en el sistema de cultivo de recirculación (1.8 ± 0.5) (promedios de los “Efectos principales”, Tabla VI). Por su parte, el promedio del FCA fue menor para los organismos alimentados con un nivel de proteína dietaria de 35% (1.4 ± 0.4), en comparación con aquellos que recibieron un nivel de proteína dietaria de 23% (1.9 ± 0.5) (promedios de los “Efectos principales”, Tabla VI). No se observaron efectos significativos del nivel de inclusión del prebiótico ni de las posibles interacciones entre factores (Tabla VI).

VII.2.6. Supervivencia

Se encontraron valores similares de los promedios de supervivencia de los organismos en los distintos tratamientos, que oscilaron de 72.5 a 80.0% (77.5 ± 20.4 y 73.5 ± 21.1 para los sistemas de recirculación y cero recambio) sin detectarse efectos significativos ni del sistema de cultivo, ni de los niveles de inclusión del prebiótico o de la proteína en la dieta. Así mismo, tampoco se detectaron interacciones significativas entre los distintos factores (Tabla VI).

Tabla VI. Promedio (\pm d. e.) y ANOVA de las estimaciones de tasa instantánea de crecimiento, factor de conversión de alimento (FCA) y supervivencia de *Litopenaeus vannamei* alimentado con diferentes niveles dietarios de un prebiótico y de proteína y cultivado en un sistema de cero recambio de agua y en uno de recirculación.

	TIC(%/d)	FCA	Supervivencia (%)
Efectos principales			
Sistema de cultivo			
Recirculación	4.1 \pm 0.4 ^b	1.8 \pm 0.5 ^a	77.5 \pm 20.4
Cero recambio	4.5 \pm 0.7 ^a	1.4 \pm 0.4 ^b	73.5 \pm 21.1
Prebiótico (%)			
0.00	4.2 \pm 0.5	1.6 \pm 0.5	72.5 \pm 21.3
0.04	4.4 \pm 0.5	1.6 \pm 0.5	78.8 \pm 16.8
0.08	4.2 \pm 0.7	1.6 \pm 0.6	72.5 \pm 24.2
0.16	4.2 \pm 0.8	1.6 \pm 0.5	73.8 \pm 22.2
0.32	4.5 \pm 0.6	1.6 \pm 0.5	80.0 \pm 19.2
Proteína (%)			
23	4.0 \pm 0.6 ^b	1.9 \pm 0.5 ^a	75.5 \pm 22.9
35	4.6 \pm 0.5 ^a	1.4 \pm 0.4 ^b	75.5 \pm 18.6
ANDEVA $P > F$			
Sistema de cultivo	0.0002	< 0.0001	0.3503
Prebiótico	0.2335	0.9912	0.6834
Proteína	< 0.0001	< 0.0001	1.0000
Sist. Cult. x Prebiótico	0.5649	0.6240	0.4581
Sist. Cult. x Proteína	0.0070	0.5123	0.8149
Prebiótico x Proteína	0.0398	0.8035	0.2864
Sist. Cult. x Preb. x Proteína	0.4003	0.8336	0.7833

*Los valores son promedios \pm desviación estándar de 5 réplicas por tratamiento. ($P \leq 0.05$)

*Superíndices distintos indican diferencias significativas entre tratamientos.

VII.3. Análisis Bacteriológicos

Los conteos de bacterias del género *Vibrio* spp. en tejido de los organismos indicaron que, con respecto al efecto del sistema de cultivo, la mayor concentración de UFC amarillas se encontró en aquellos del sistema de cultivo de recirculación, con $1.1 \times 10^4 \pm 3.3 \times 10^4$ UFC/g, cifra significativamente mayor a la encontrada en los organismos del sistema de cero recambio de

agua, con $1.8 \times 10^3 \pm 1.4 \times 10^3$ UFC/g (Tabla VII). También se encontró una mayor cantidad de UFC verdes en camarones del sistema de cultivo de recirculación, con $8.3 \times 10^2 \pm 1.1 \times 10^3$ UFC/g, en contraste con los organismos del sistema de cero recambio de agua, donde el conteo arrojó una cifra significativamente menor, de tan solo 11.0 ± 3.6 UFC/g. (Tabla VII). Por primera ocasión en el presente estudio, el nivel de prebiótico dietario ejerció, por sí solo, un efecto significativo sobre una variable de respuesta, en este caso los conteos de UFC amarillas y verdes. Con respecto a los conteos de UFC amarillas, el nivel de inclusión de prebiótico de 0.04% de la dieta produjo el mayor valor promedio ($2.8 \times 10^4 \pm 4.9 \times 10^4$), que fue significativamente superior a los observados en todos los demás niveles. En orden decreciente y con diferencias significativas entre todos ellos, le siguen los promedios registrados para los niveles 0.32% ($1.7 \times 10^3 \pm 2.8 \times 10^3$) > 0.16% ($1.6 \times 10^3 \pm 5.1 \times 10^2$) > 0.0% ($9.2 \times 10^2 \pm 8.5 \times 10^2$) > 0.08% ($8.7 \times 10^2 \pm 5.114 \times 10^2$) (Tabla VII). En cuanto a los conteos de UFC verdes, nuevamente el nivel de inclusión de prebiótico de 0.04% produjo el valor promedio más alto ($7.0 \times 10^2 \pm 1.2 \times 10^3$), significativamente superior al de los demás tratamientos, observándose también diferencias significativas entre todos los tratamientos restantes, pero sin seguir exactamente la misma tendencia: 0.08% ($6.6 \times 10^2 \pm 1.1 \times 10^3$) > 0.00% ($6.3 \times 10^2 \pm 8.5 \times 10^2$) > 0.32% ($9.0 \times 10^1 \pm 8.6 \times 10^1$) > 0.16% ($1.0 \times 10^1 \pm 0$) (Tabla VII). Con respecto al efecto del nivel de proteína dietaria, los organismos alimentados con 23% tuvieron un conteo promedio de UFC amarillas ($1.1 \times 10^4 \pm 3.3 \times 10^4$) significativamente mayor que los camarones que recibieron 35% ($1.5 \times 10^3 \pm 1.5 \times 10^3$), pero tuvieron un conteo promedio significativamente menor de UFC verdes ($2.3 \times 10^2 \pm 6.0 \times 10^2$ vs $6.1 \times 10^2 \pm 1.0 \times 10^3$ para el nivel de proteína de 35%) (Tabla VII). Adicionalmente, se detectaron interacciones estadísticamente significativas entre las diferentes combinaciones de los factores estudiados, e.g., sistema de cultivo y nivel de prebiótico dietario, sistema de cultivo y nivel de proteína dietaria, etc, pero como lo ilustra la Tabla VIII sin existir tendencias claras en cuanto a los valores promedio resultantes de estas interacciones.

Tabla VII. Análisis de varianza (ANOVA) de mediciones de Unidades Formadoras de Colonias *Vibrio* spp. amarillas y verdes. (UFC/g, Promedios \pm d. e.) en tejido (tracto digestivo + hepatopáncreas) de *Litopenaeus vannamei* en dos sistemas de cultivo experimental y alimentado con diferentes niveles dietarios de un prebiótico y de proteína

	UFC Amarillas <i>Vibrio</i> spp.	UFC Verdes <i>Vibrio</i> spp.
Efectos principales		
Sistema de cultivo		
Recirculación	$1.1 \times 10^4 \pm 3.3 \times 10^4$ ^a	$8.3 \times 10^2 \pm 1.1 \times 10^3$ ^a
Cero recambio	$1.8 \times 10^3 \pm 1.4 \times 10^3$ ^b	$1.1 \times 10^1 \pm 3.6 \times 10^0$ ^b
Prebiótico (%)		
0.00	$9.2 \times 10^2 \pm 8.5 \times 10^2$ ^d	$6.3 \times 10^2 \pm 8.5 \times 10^2$ ^c
0.04	$2.8 \times 10^4 \pm 4.9 \times 10^4$ ^a	$7.0 \times 10^2 \pm 1.2 \times 10^3$ ^a
0.08	$8.7 \times 10^2 \pm 5.1 \times 10^2$ ^e	$6.6 \times 10^2 \pm 1.1 \times 10^2$ ^b
0.16	$1.6 \times 10^3 \pm 5.1 \times 10^2$ ^c	$1.0 \times 10^1 \pm 0$ ^e
0.32	$1.7 \times 10^3 \pm 2.8 \times 10^3$ ^b	$9.0 \times 10^1 \pm 8.6 \times 10^1$ ^d
Proteína (%)		
23	$1.1 \times 10^4 \pm 3.3 \times 10^4$ ^a	$2.3 \times 10^2 \pm 6.0 \times 10^2$ ^b
35	$1.5 \times 10^2 \pm 1.5 \times 10^3$ ^b	$6.1 \times 10^2 \pm 1.0 \times 10^3$ ^a
ANDEVA ($P > F$)		
Sistema de cultivo	<.0001	<.0001
Prebiótico	<.0001	<.0001
Proteína	<.0001	<.0001
Sist. Cult. x Prebiótico	<.0001	<.0001
Sist. Cult. x Proteína	<.0001	<.0001
Prebiótico x Proteína	<.0001	<.0001
Sist. Cult. x Preb. x Proteína	<.0001	<.0001

*Los valores son promedios \pm desviación estándar. ($P \leq 0.05$)

*Superíndices distintos indican diferencias significativas entre tratamientos.

Tabla VIII. Promedios de Unidades Formadoras de Colonias amarillas y verdes *Vibrio* spp. (UFC/g) en tejido (tracto digestivo + hepatopáncreas) de *Litopenaeus vannamei* bajo distintas combinaciones de cultivo en dos sistemas de cultivo experimental y alimentado con diferentes niveles dietarios de un prebiótico y de proteína

Sistema de cultivo	Nivel de inclusión de proteína	Nivel de inclusión del prebiótico	UFC Amarillas <i>Vibrio</i> spp.	UFC Verdes <i>Vibrio</i> spp.	UFC <i>Vibrio</i> spp Totales
1	23	0.0	6.4x10 ²	2.0x10 ³	2.6x10 ³
1	23	0.04	1.1x10 ⁴	1.0x10 ¹	1.10x10 ⁵
1	23	0.08	2.5x10 ¹	3.0x10 ¹	2.8x10 ²
1	23	0.16	2.1x10 ³	1.0x10 ⁰	2.11x10 ³
1	23	0.32	2.x10 ²	2.0x10 ²	4.0x10 ²
1	35	0.0	1.5x10 ²	5.0x10 ²	6.50x10 ³
1	35	0.04	1.0x10 ²	2.8x10 ³	2.90x10 ³
1	35	0.08	1.3x10 ³	2.6x10 ³	3.9x10 ³
1	35	0.16	1.9x10 ³	1.0x10 ¹	1.91x10 ³
1	35	0.32	7.40x10 ²	1.4x10 ²	8.80x10 ²
2	23	0.0	5.9x10 ²	1.0x10 ¹	6.0x10 ²
2	23	0.04	2.3x10 ³	1.0x10 ¹	2.3x10 ³
2	23	0.08	1.4x10 ³	1.0x10 ¹	1.4x10 ³
2	23	0.16	1.7x10 ³	1.0x10 ¹	1.71x10 ³
2	23	0.32	4.9x10 ²	1.0x10 ¹	5.0x10 ²
2	35	0.0	2.3x10 ³	1.0x10 ¹	2.3x10 ³
2	35	0.04	2.5x10 ³	1.0x10 ¹	2.51x10 ³
2	35	0.08	5.40x10 ²	1.0x10 ¹	5.50x10 ²
2	35	0.16	8.2x10 ²	1.0x10 ¹	8.30x10 ²
2	35	0.32	5.5x10 ³	1.0x10 ¹	5.51x10 ³

Los valores son promedios ± desviación estándar. ($P \leq 0.05$)

*Superíndices distintos indican diferencias significativas entre tratamientos.

VIII. DISCUSIÓN

VIII.1. Medición de Parámetros Físico-Químicos de Calidad del Agua de Cultivo

Los parámetros fisicoquímicos de calidad de agua desempeñan un papel fundamental en el cultivo de camarón, pues son precisamente éstos los que más afectan al camarón en cultivo (Boyd y Gross, 1998). En el presente estudio, los valores observados de dichos parámetros en ambos sistemas de cultivo se comportaron dentro de los intervalos típicamente recomendados para el cultivo de camarón (SENASICA, 2003; Cañez-Figueroa, 2011). Por ejemplo, los valores de la concentración de oxígeno disuelto, que para el sistema de cultivo de recirculación oscilaron de 5.1 a 6.2 mg/L (Figura 3) y de 5.0 a 6.2 mg/L para el sistema de cultivo de cero recambio de agua (Figura 4), pueden considerarse como niveles altos, alejados de los niveles bajos críticos reportados para *L. vannamei* y otras especies de camarones peneidos (Seidman y Lawrence; 1985; Rosas et al., 1999). En este sentido, es pertinente señalar que las diferencias significativas detectadas entre los promedios de las concentraciones de oxígeno disuelto de los dos sistemas de cultivo, 5.6 ± 0.3 mg/L vs. 5.7 ± 0.3 mg/L para los sistemas de cultivo de recirculación y de cero recambio de agua, respectivamente (Tabla IV), son en realidad mínimas y sin repercusiones biológicas, ya que en ningún momento la concentración de oxígeno fue un factor limitante para el bienestar de los organismos. De hecho, con el fin de mantener altas concentraciones de oxígeno disuelto, se proveyó a propósito de aireación vigorosa y constante a los sistemas de cultivo basados en la recomendación de que éste es un factor clave para favorecer el desarrollo de las comunidades naturales microbianas típicas de los sistemas de cultivo de cero recambio (Samocho et al., 2006). A su vez, los valores son similares a los reportados por Barón-Sevilla et al. (2004), con concentraciones de oxígeno disuelto de 5.3 a 7.5mg/l, en un experimento con *L. vannamei* mantenido en un sistema de cultivo de recirculación.

En cuanto a la temperatura observada, que para el sistema de cultivo de recirculación osciló de 29.9°C a 35.3°C (Figura 5) y de 29.5°C a 32.8°C para el sistema de cultivo de cero recambio de agua (Figura 6), estas variaciones se encuentran dentro del intervalo de

temperatura que se presenta comúnmente en estanques de cultivo comercial de camarón en el noroeste de México (Rosales-Leija., 2012).

Por su parte, los registros de salinidad, con valores mínimo-máximo de 38.0-43.5‰) y de 39.6-43.1‰) para los sistemas de recirculación y de cero recambio de agua, respectivamente (Figuras 7 y 8), también se encuentran dentro del intervalo característico observado en granjas de cultivo comercial de camarón de la región (Moreno-Arias y Urquidez-Bejarano, 2011). Las diferencias estadísticas detectadas entre la salinidad de los sistemas de cultivo, menor en el sistema de cultivo de recirculación ($39.9 \pm 1.8\%$), en comparación con la del sistema de cero recambio de agua ($42.0 \pm 1.5\%$) (Tabla IV), pueden atribuirse precisamente al hecho de que en este último, la salinidad se incrementó, aunque sea ligeramente, de forma progresiva por efecto de la evaporación, a pesar de las adiciones semanales de agua dulce que se realizaron en este sistema de cultivo para recuperar el nivel de agua original y compensar este fenómeno. No obstante, las diferencias en salinidad observadas son muy pequeñas y es improbable que hayan afectado el desempeño en crecimiento y supervivencia de los organismos, ya que *L. vannamei* es bien conocido por su gran capacidad osmorregulatoria, pudiendo habitar en aguas que presenten salinidades desde 1 hasta 40‰ (Bray et al., 1994).

Con respecto al pH del agua de cultivo, se observaron diversos efectos significativos, tanto del factor sistema de cultivo como del factor nivel de proteína dietaria, así como diversas interacciones entre factores. Sin embargo, los valores registrados en ambos sistemas de cultivo, que globalmente variaron de 6.9 a 8.1 (Figuras 9 y 10), se encontraron muy cercanas o dentro del intervalo óptimo de pH recomendado (7.0 a 8.0) para el cultivo de esta especie (Hirono, 1992), por lo que no se considera que las diferencias observadas hayan tenido una influencia importante sobre el crecimiento y supervivencia de los organismos.

Los valores de las concentraciones de nitrógeno amoniacal total, que oscilaron de 0.006 a 0.850 mg/L y de 0.005 a 0.526 mg/L en los sistemas de cultivo de recirculación y de cero recambio de agua, respectivamente (Figuras 6 y 7), estuvieron por debajo de los valores máximos críticos, de 2.60 a 3.95 mg/L, reportados para esta especie (Jiang et al. 1999; Lin y Chen, 2001), por lo que la concentración de este compuesto no representó un riesgo para los organismos en cultivo.

Una consideración similar, en el sentido de haber mantenido condiciones adecuadas de cultivo en el presente estudio, puede hacerse acerca de las concentraciones de nitritos, que variaron de 0.004 a 0.098 mg/L y de 0.025 a 0.104 mg/L en los sistemas de cultivo de recirculación y de cero recambio de agua, respectivamente (Figuras 8 y 9), estando muy por debajo del valor máximo crítico reportado en la literatura (25.7 mg/L) para *L. vannamei* (Lin y Chen, 2003).

Finalmente, no resulta sorprendente que el nivel de inclusión de prebiótico no haya influido sobre los parámetros de calidad del agua del cultivo, pues su adición fue directamente al alimento balanceado y se reconoce que en estos casos su efecto está más bien dirigido a estimular el crecimiento de bacterias en el tracto gastrointestinal del organismo (Gatlin y Peredo, 2012).

VIII.2. Medición de Parámetros Biológicos de Cultivo

Probablemente el aspecto más resaltante de los resultados relacionados con los parámetros biológicos es que, utilizando una misma fuente de agua y habiéndose mantenido condiciones comparables, en términos de valores adecuados de los parámetros fisicoquímicos de calidad del agua de cultivo, el factor sistema de cultivo ejerció una influencia significativa sobre todos los índices de crecimiento evaluados, i.e., peso final, peso ganado expresado en gramos y como porcentaje del peso inicial y TIC, observándose resultados significativamente mejores en el sistema de cultivo de cero recambio de agua. Estos resultados son consistentes con lo reportado por Tacon et al. (2002), quienes observaron un peso final y crecimiento semanal y peso final de *L. vannamei* 3.4 y 2.8 veces mayor, respectivamente, en organismos mantenidos en un sistema de cero recambio de agua, en contraste con organismos cultivados en un sistema de cultivo de recirculación y con recambio de agua. Los resultados del presente estudio también concuerdan con otros estudios de cultivos de cero recambio de agua, realizados tanto a nivel experimental como a nivel de cultivo comercial en granjas, en los que se reportan tasas de crecimiento de los organismos en cultivo similares o mayores a aquellas

observadas en sistemas de cultivo tradicional con recambio de agua (Browdy et al., 2001; Burford et al., 2003; González-Félix et al., 2007; Perez-Velazquez et al., 2008). Los resultados favorables observados en sistemas de cultivo de camarón de cero recambio de agua tienen fundamento en el desarrollo de comunidades naturales de diversos taxa en el agua de cultivo, e.g., bacterias, fitoplancton, zooplancton, nemátodos, etc. (Decamp et al., 2003; Balasubramanian et al., 2014), que permanentemente sirven como una fuente suplementaria de alimento para el camarón (Tacon et al., 2002), pudiendo atribuirse los resultados del presente estudio a este mismo efecto. Por otra parte, es importante señalar que, a pesar de que los antecedentes anteriores datan de hace una década o más, las producciones ahí obtenidas ascendieron a 11.7 y 15 toneladas/ha (Browdy et al., 2001; Burford et al., 2003), lo que posicionó entonces al cultivo de camarón de cero recambio de agua como altamente promisorio. Sin embargo, dichos resultados cobran aún mayor relevancia hoy en día, en vista de los serios problemas ocasionados por enfermedades que actualmente atraviesa el cultivo comercial semi-intensivo de camarón en el noroeste de México. De hecho, las investigaciones sobre el cultivo de camarón de cero recambio de agua han continuado y los estudios más recientes se han enfocado en el perfeccionamiento de aspectos zootécnicos de dichos sistemas de cultivo en raceways, lográndose impresionantes producciones de hasta 8.1 kg de camarón/m³, es decir, el equivalente a 81 toneladas/ha (Castro et al., 2014; Samocha y Castro, 2014), lo que los convierte, más que nunca, en una alternativa para una alta producción con mayor grado de tecnificación, pero también con resultados mucho más predecibles, ya que operan bajo condiciones de bioseguridad que no son posibles de implementar en sistemas de cultivo tradicional a cielo abierto.

Por otra parte, en los resultados del presente se observó un crecimiento significativamente mayor cuando los organismos se alimentaron con el mayor nivel de proteína (35% vs. 23%). Estos resultados son similares a los reportados por otros autores, quienes al realizar cultivos experimentales de *L. vannamei* en cero recambio de agua, también han observado mayor crecimiento al utilizar un mayor nivel de proteína dietaria, por ejemplo 21% vs. 31% (McIntosh et al., 2001) y 25% vs. 35% (Wasielesky et al., 2006). Si bien en éste y en los estudios anteriores no ha sido posible reducir considerablemente el nivel de proteína en el alimento balanceado sin afectar el crecimiento, éste fenómeno ha sido documentado muy recientemente por Xu y Pan (2014), quienes al cultivar *L. vannamei* en un sistema de cero

recambio de agua, reportaron que es posible reducir el nivel de proteína dietaria de 35% a 25%, sin menoscabo del crecimiento ni de la supervivencia de los organismos. Es muy probable que las diferencias en los resultados observados en los diversos estudios anteriores se deban a las distintas condiciones de cultivo en que se han llevado a cabo. Sin embargo, estos hallazgos señalan que, en general, el aporte nutricional de las comunidades naturales en cultivos de cero recambio puede ser muy significativo, lo que suma a la reputación que esta modalidad de cultivo se ha ganado como amigable con el ambiente, principalmente por las siguientes razones: 1) dentro del sistema de cultivo hay un constante reciclaje de nutrientes que se aprovechan más eficientemente; 2) al no haber recambio de agua se reduce de manera drástica la descarga de residuos con elevados niveles de nutrientes a los cuerpos de agua receptores; 3) pueden implementarse efectivas medidas de bioseguridad, siendo tal vez este aspecto el más significativo, en vista de los graves problemas sanitarios actuales del cultivo comercial de camarón; 4) en general se reducen considerablemente los impactos ambientales (Qi et al., 2009; Avella et al., 2010).

Con respecto a la interacción significativa entre el sistema de cultivo y el nivel de proteína dietaria, ilustrada de las figuras 15 a 17, este resultado parece indicar que aún el mayor nivel proteico del alimento balanceado no fue capaz de promover el máximo crecimiento de los organismos, necesitándose al aporte nutricional del alimento natural propio del sistema de cultivo de cero recambio, ya que precisamente esta combinación de factores (cero recambio + 35% de proteína dietaria) promovió el mayor crecimiento. Sin embargo, es necesario tomar en cuenta que estos resultados podrían variar al utilizar alimentos balanceados con formulaciones distintas a las aquí utilizadas.

Es importante también mencionar que los demás índices de desempeño biológico de los organismos, tales como el FCA y la supervivencia, que variaron de 1.4 a 1.9 y de 72.5 a 80%, respectivamente (promedios de los “Efectos principales, Tabla V), se encuentran dentro de intervalos normales generalmente observados en cultivo experimental y comercial de camarón (Tacon et al., 2002; Miramontes-Higuera, 2004; Velasco-Rameños, 2004; Rosales-Leija, 2012).

VIII.3. Análisis Bacteriológicos

En las granjas de cultivo comercial de camarón del noroeste de México existen criterios establecidos con base en la experiencia, acerca de los límites seguros en la composición y abundancia de bacterias del género *Vibrio* spp. En hepatopáncreas de camarón y en agua de cultivo, la presencia de UFC de bacterias del género *Vibrio* spp. de color verde se asocian a especies potencialmente patógenas para los organismos en cultivo, mientras que las UFC de color amarillo no se consideran peligrosas, a menos que se encuentren en concentraciones elevadas (Gómez-Gil, 2005). En el presente estudio, tanto los promedios de UFC amarillas, que variaron de 8.3×10^2 a 2.8×10^4 , como de UFC verdes, que variaron de 1.0×10^2 a 8.3×10^2 , se encuentran dentro de los intervalos catalogados como normales en hepatopáncreas de camarones saludables: UFC amarillas menores de 1×10^5 ; UFC verdes menores de 1×10^5 (CESASIN, 2003) y por debajo de concentraciones que representan riesgo. Por ejemplo, Soto-Rodríguez et al. (2010), analizaron 5,912 camarones entre 2001 y 2006 y encontraron que con una carga promedio de bacterias heterótrofas viables (BHV) de 1.4×10^5 UFC/g de hepatopáncreas, estos organismos presentaban claros signos de vibriosis. Por otra parte, en el presente estudio la cantidad de UFC verdes (1.0×10^2 a 8.3×10^2) fue menor que la de UFC amarillas (8.3×10^2 a 2.8×10^4), fenómeno que ha sido observado anteriormente en tejidos de camarón cultivado (Rosales-Leija, 2012).

Se detectaron efectos significativos del sistema de cultivo y del nivel de inclusión dietaria de proteína sobre los conteos de bacterias del género *Vibrio* spp. y por primera ocasión en este estudio, del nivel de inclusión dietaria de prebiótico. Sin embargo, hay una gran variabilidad en los conteos en respuesta al nivel de inclusión de prebiótico, sin existir una tendencia, como teóricamente se hubiera esperado, de una reducción de la carga bacteriana a medida que se incrementó el nivel de prebiótico dietético. De hecho, se observaron las mayores concentraciones de UFC amarillas y verdes a un nivel de inclusión de prebiótico de 0.04% de la dieta, significativamente mayores a las observadas sin adición alguna de prebiótico. Así mismo, a pesar de que se detectaron interacciones significativas entre los distintos factores, al contrastar los promedios de las diversas combinaciones de los tratamientos (Tabla VIII), no se observan tendencias definitivas. Al contrario, existe una gran

variabilidad en los resultados, por lo que no es posible, al menos en el presente estudio, elucidar efectos concluyentes de la adición del prebiótico utilizado. Adicionalmente, es conveniente recordar que tanto los conteos de UFC amarillas como de UFC verdes en ambos sistemas de cultivos son bajos, no representando riesgos para los organismos.

En un estudio en el que se realizó un cultivo experimental de *L. vannamei* durante 6 semanas en el que se utilizó el mismo prebiótico dietario utilizado en este estudio, pero a niveles de inclusión de 0.000, 0.025, 0.05, 0.075, 0.100, 0.200, 0.400 y 0.800%, Li et al. (2007) encontraron diferencias en la composición de especies de la comunidad microbiana, caracterizada mediante la técnica de electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización, del tracto digestivo de los organismos alimentados con la dieta control (sin prebiótico), en comparación con aquellos que recibieron el prebiótico, constituyendo la primera evidencia de que un prebiótico dietario fue capaz de promover de forma selectiva el crecimiento de ciertas especies bacterianas en el tracto digestivo de *L. vannamei*. Sin embargo, estos resultados no estuvieron acompañados de efectos significativos positivos de la adición del prebiótico sobre el crecimiento o la supervivencia de los organismos, tal y como ocurrió en el presente estudio. Por el contrario, en ese mismo año, Zhang et al. (2007) observaron, utilizando otro prebiótico dietario incluido a niveles de 0.0, 0.4, 0.8, 1.2, y 1.6% del peso seco de la dieta, que el crecimiento y el FCA de *L. vannamei* cultivado experimentalmente durante 8 semanas fue significativamente mayor en organismos que recibieron cualquiera de los niveles del prebiótico, en comparación con los organismos de la dieta control. Este constituye un antecedente promisorio para el uso de prebióticos en cultivo de camarón, pero hasta la fecha, no existe un estudio en donde se haya demostrado un efecto significativo positivo de prebióticos sobre el desempeño de camarón a nivel de cultivo comercial.

IX. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en las que se desarrolló el presente estudio, se concluyó que:

El crecimiento de *L. vannamei* fue influenciado significativamente por los factores sistema de cultivo (sistema de cultivo de recirculación agua vs. sistema de cultivo cero recambio de agua) y nivel dietario de proteína (23% y 35%), pero no por el nivel dietario de inclusión de prebiótico.

Bajo condiciones de cultivo similares, en términos de calidad de agua de cultivo y alimentación, el crecimiento de *L. vannamei* fue mayor en un sistema de cultivo de cero recambio de agua que en un sistema de cultivo de recirculación, de acuerdo con la hipótesis formulada a este respecto en el presente trabajo.

El crecimiento de los organismos fue significativamente mayor al ser alimentados con el nivel de inclusión de proteína de 35% que con el de 23%.

Se observó una interacción de los factores sistema de cultivo y nivel dietario de proteína en la que la combinación sistema de cultivo de cero recambio de agua + nivel dietario de proteína de 35%, resultó en un crecimiento mayor que el producido por los mismos niveles de estos factores por separado.

La inclusión del prebiótico dietario ejerció una influencia estadísticamente significativa sobre la abundancia de bacterias del género *Vibrio* spp. Sin embargo, los conteos de unidades formadoras de colonias de estas bacterias fueron bajos para todos los tratamientos, sin representar riesgo para los organismos. Adicionalmente, no se observó una tendencia, esperada al menos teóricamente, de una reducción en la abundancia de bacterias de este género, a medida que se incrementó el nivel de adición del prebiótico. La carencia de efectos significativos del prebiótico dietario sobre el crecimiento del camarón representa un resultado contrario a la hipótesis formulada a este respecto en el presente trabajo.

X. RECOMENDACIONES

Se proponen las siguientes recomendaciones para futuros estudios orientados a evaluar el efecto de prebióticos en el cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.

1. El cultivo de camarón bajo la modalidad de cero recambio de agua se propone como una alternativa que confiere ventajas para la producción de esta especie.
2. Evaluar niveles de inclusión del prebiótico dietario mayores a los empleados en el presente estudio.
3. Evaluar prebióticos fructooligosacáridos de distinto fabricante al empleado en el presente estudio, así como evaluar sus efectos a escala de cultivo comercial.
4. Evaluar el efecto de otros tipos de prebiótico como transgalactooligosacáridos (TOS) o inulina, sobre el desempeño biológico de *L. vannamei*.
5. Evaluar un menor grado de reducción de la densidad proteica del alimento, utilizando niveles de inclusión de proteína dietaria de 28, 30 y 35%, para determinar si el aporte nutricional de las comunidades naturales en el sistema de cultivo de cero recambio de agua permiten dicha reducción sin afectar el crecimiento de los organismos.
6. Evaluar la carga de bacterias tanto en el agua de cultivo como en el tracto digestivo.

XI. LITERATURA CITADA

- Allsopp, M. P. Johnston y D. Santillo. 2008. La industria acuícola y de engorde: Un reto de sostenibilidad. . Greenpeace International. Amsterdam, the Netherlands.
- Aranyakananda, P. y A. L. Lawrence. 1993. Dietary protein and energy requirements of the white-legged shrimp, *Penaeus vannamei*, and the optimal protein to energy ratio. From Discovery to Commercialization. European Aquaculture Society. Oostende Belgium.
- Avella M., A. Gioacchini, G. Decamp, O. Makridis, P. Bracciatelli y C. Carnevali. 2010. Application of multi-species of *Bacillus* in sea bream larviculture. *Aquaculture* 305, 12-19.
- Avnimelech, Y. 2000. Nitrogen control and protein recycling: activated suspension ponds. *Global Aquaculture Advocate*. 3, 23-24.
- Barón, S. B., R. Buckle y F. M. Hernández. 2004. Intensive culture of *Litopenaeus vannamei* BONE 1931, in a recirculating seawater system. *Ciencias Marinas*. 30(1B): 179-188.
- Bauer, S. P., S. Vasu, S. A. Persson, J. Mort y C. R. Somerville. 2006. Development and application of a suite of polysaccharide-degrading enzymes for analyzing cell walls. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. USA. 103:11417–11422.
- Boyd, C. E. y A. Gross. 1998. Use of probiotics for improving soil and water quality in aquaculture ponds. 101-106 p. En: T. W. Flegel. (Eds.) *Advances in Shrimp Biotechnology*. The National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. Bangkok, Thailand.
- Bray, W. A., A. L. Lawrence y J. R. Leung-Trujillo. 1994. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHHN virus and salinity. *Aquaculture* 122, 133-146.
- Browdy, C. L., D. Bratvold, A. D. Stokes y R. P. McIntosh. 2001. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. 20–34 p. *The new wave*, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, *Aquaculture*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA,

- Burford, M. A., P. J. Thompson, R. P. McIntosh, R. H. Bauman y D. C. Pearson. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture*, 219: 393-411.
- Burr, G., D. Gatlin. 2005. Microbial ecology of the gastrointestinal tract and the potential applications of probiotic and prebiotics in fish aquaculture. *World Aquaculture Society*. 36:425-436.
- Cañez-Figueroa, F. 2011. Caracterización fisicoquímica y bacteriológica de un sistema cerrado de producción de camarón en la costa de Hermosillo Sonora. Tesis de Maestría. Maestría en ciencias en Acuicultura. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Castro, L. F., W. Xu, T. Hanson, T. Markey y T. M. Samocha. 2014. Comparison of two commercial feeds for the production of marketable *Litopenaeus vannamei* in super-intensive biofloc dominated zero exchange raceways. 469 p. *Aquaculture America*, Washington, USA.
- CESASIN, (Comité estatal de Sanidad Acuícola de Sinaloa). 2003. Técnicas de Bacteriología, Análisis en Fresco, Calidad de Agua y Buenas Prácticas de Manejo y Bioseguridad en Granjas Camaroneras. Sinaloa, México.
- COSAES (Comité de Sanidad Acuícola del Estado de Sonora). 2014. Resultados. Informe Final del Ciclo 2011. Consultado en Marzo, de 2014. <http://www.cosaes.com>
- Cousin, M., G. Cuzon, E. Blanchet, y F. Ruelle. 1991. Protein requirements following an optimum dietary protein to energy ration for *Penaeus vannamei* juveniles. 599-606 p. En: Kaushik, S.J., Liquet, P. (Eds.), *Fish Nutrition in Practice*. Instituto National de la Recherche Agronomique, Paris, France.
- Dong, C. y J. Wang. 2012. Immunostimulatory effects of dietary fructooligosaccharides on red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard). *Aquaculture Research*. 44:1416–1424. doi: 10.1111/j.1365-2109.2012.03146.x
- Decamp, O., J. Cody, L. Conquest, G. Denaloy y A. G. J. Tacon. 2003. Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone), within experimental zero-water exchange culture systems *Aquaculture and Research*, 34: 345–355. doi: 10.1046/j.1365-2109.2003.00842.x

- Food and Agriculture Organization (FAO). 2012. The state of world fisheries and aquaculture. Fisheries and Aquaculture Department. Roma, Italia.
- Food and Drug Administration. 1992. Food and drug administration bacteriological manual. Govt. Print. Off. USA.
- Fuller, R. 1989. A review: Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66: 365- 378.
- Gatlin D. 2002. Nutrition and fish health. 671-702 p. En: *Fish Nutrition*. Halver J.E. y R. W. Hardy (Eds.), Academic Press, San Diego, USA.
- Gatlin D, P. Li, X. Wang, G. S. Burr, F. Castille y A. L. Lawrence. 2006. Potential Application of Prebiotics in Aquaculture. 372-375 p. En: L. Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya-Tapia Salazar, Martha G. Nieto López, David A. Villarreal Cavazos, Ana C. Puello Cruz y Armando García Ortega (Eds.), *Avances en Nutrición Acuícola. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 15 al 17 de Noviembre de 2006. Monterrey, Nuevo León, México.
- Gatlin D. y M. Peredo. 2012. Prebiotics and Probiotics: Definitions and Applications. Southern Regional Aquaculture Center. 4711-12.
- Gibson R. y B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation of the colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal Nutrition*.; 125:1401–12.
- Gismondo, M. R., L. Drago y A. Lombardi. 1999. Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *International Journal of Antimicrobial Agents* 12: 287–292.
- Gómez-Gil, B. 2005. Técnicas de bacteriología y tablas de rangos. 3-8 p. Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo. Mazatlán, Sinaloa, México.
- Gómez-Gil, B. y S. Soto-Rodríguez. 2014. Genomic analyses of EMS-causing strains from México. 405 p. *Aquaculture America*. 9 al 12 de febrero de 2014. Seattle, Washington, USA.
- González-Félix, M. L., S. M. Gómez-Jiménez., M. Perez-Velazquez., D. A. Davis. y J. G. Velasco-Rameños. 2007. Nitrogen budget for a low-salinity, zero-water exchange culture system: I. Effect of dietary protein level on the performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture Research* 38, 798-808.
- Gullian, M., F. Thompson y J. Rodriguez. 2004. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 233: 1-14.

- Hanley, F., H. Brown y J. Carbery. 1995. First Observations on the Effects of Mannan Oligosaccharide Added to Hatchery Diets for Warm water Hybrid Red Tilapia. Poster. 11th annual symposium on Biotecnología in the Feed Industry. Lexington, KY, USA.
- Henry R. J. y H. S. Saini. 1989. Characterization of cereal sugar and oligosaccharides. *Cereal chemistry* 66:362-365.
- Hirono, Y., 1992. Current practices of water quality management in shrimp farming and their limitations. 157-165 p. En: J. Wyban (Eds.), *Proceeding of the special session on shrimp Farming*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, U.S.A.
- Hoseinifar, S. H., A. Mirvaghefi y D. L. Merrifield. 2011. The effects of dietary inactive brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae ellipsoideus* on the growth, physiological responses and gut microbiota of juvenile beluga (*Huso huso*). *Aquaculture*, 318(1), 90-94.
- Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC). 1982. Joint commission on biochemical nomenclature and (JCBN): Abbreviated terminology of oligosaccharide chains: Recommendations 1980. *Journal of Biological Chemistry* 257: 3347–3351.
- Ji, G., Z. Liu y X. Leng. 2004. Effects of dietary beta-glucan and fructooligosaccharides on the growth and activities of superoxide dismutase and lysozyme of *Trionyx sinensis*. *Journal of Shanghai Fisheries University* 13(1), 36-40.
- Jiang, D. H., A. L. Lawrence, W. H. Neill, W. H. Grant y H. Gong. 1999. Lethal effect of ammonia to postlarval *Penaeus vannamei* at two temperatures, 25 and 30°C. 77 p. *Book of Abstracts. American Aquaculture Society Annual Conference. 27 al 30 de Enero de 1999. Tampa, Florida, USA,*
- Jory, D., T. R. Cabrera, D. M. Dugger, D. Fegan, P. G. Lee, A. L. Lawrence., C. J. Jackson, R. P. McIntosh y J. Castañeda. 2001. A global review of shrimp feed management: status and perspectives. *The world Aquaculture Society*.
- Kesarcodi-Watson, A. H. Kaspar, M. J. Lategan y L. Gibson. 2008. Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture* 274: 1-14.
- Kureshy N. y D. A. Davis. 2002. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp. *Litopenaeus vannamei*

- Laurette, S., G. Venugopal, N. KiranKumar y N. Mohandas. 2003. Aprovechamiento practico de la aireación en el cultivo de camarones. INFOFISH. International Boletín Informativo Nicovita en línea: (http://www.nicovita.com.pe/pdf/esp/boletines/bole_0407_01.pdf).
- Li, P., G. S. Burr, D. M. Gatlin, M. E. Hume, S. Patnaik, F. L. Castille y A. L. Lawrence. 2007. Dietary supplementation of short-chain fructooligosaccharides influences gastrointestinal microbiota composition and immunity characteristics of pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in a recirculating system. The Journal of nutrition, 137(12), 2763-2768.
- Lin, Y. C. y J. C. Chen. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 259 (1):109-119.
- Lin, Y. C. y J. C. Chen. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. Aquaculture, 224 (1-4):193-201.
- Luna-González, A., J. A. C. Salas, J. A. Fierro-Coronado., M. D. C. Flores-Miranda, H. A. G. Ocampo y V. Peraza-Gómez. 2012. The prebiotic inulin increases the phenoloxidase activity and reduces the prevalence of WSSV in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured under laboratory conditions. Aquaculture 362(28),28-32
- Macfarlane, G. T. y J. H Cummings. 1999. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? British Medical Journal 318: 999-1003.
- Mahious, A. S., F. J. Gatesoupe, M. Hervi, R. Metailler y F. Ollevier. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture International, 14(3), 219-229.
- Manning, T. S. y G. R. Gibson. 2004. Prebiotics. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, 18(2), 287-298.
- McIntosh, R. P., D. P. Drennan y B. M. Bowen. 1999. Belize Aquaculture: Development of an intensive sustainable, environmentally friendly shrimp farm in Belize. 85-99 p En: 5th Simposio Centroamericano de Acuicultura. 3 de Marzo de 1999, San Pedro Sula, Honduras.
- McIntosh, D., T. M. Samocha, E. R. Jones, A. L. Lawrence, S., Horowitz y A. Horowitz. 2001. Effects of two commercially available low-protein diets (21 percent and 31 percent) on water and sediment quality, and on the production of *Litopenaeus vannamei*

- in an outdoor tank system with limited water discharge. *Aquacultural Engineering* 25(2):69-82.
- McNeil, R. 2000. Zero exchange, aerobic, heterotrophic systems: key considerations. *The Global Aquaculture Advocate*. 3(3), 72-76.
- Miramontes-Higuera, N. 2004. Alimentación isonitrógena de diferentes niveles de proteína dietética para *Litopenaeus vannamei* Boone 1931 (Crustacea: Penaeidae) en sistema de cultivo estático en baja salinidad: efecto sobre el presupuesto de nitrógeno y parámetros de producción. Tesis de Maestría en Ciencias en Acuicultura. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Moreno-Arias, A. y P. Urquidez-Bejarano. 2011. Evaluación de la condición de salud, parámetros fisicoquímicos y de producción, durante un ciclo de cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), en dos sectores de una granja del noroeste de México. Tesis de Licenciatura. Licenciatura en Biología. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Moriarty, D. J. W. 1999. Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria. *Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology*. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology. Halifax, Canada.
- Nicolas J., E. Gatesoupe y S. Froueli. 2007. What alternatives to antibiotics are conceivable for aquaculture? *Productions Animals*. 20: 253-258
- Páez-Osuna, F. 2001. Camaronicultura y medio ambiente. 451 p. Instituto de ciencias del Mar y Limnología, Estación Mazatlán, UNAM, Programa Universitario de Alimentos y El Colegio de Sinaloa. México, México.
- Patterson, J. A. y K. M. Burkholder. 2003. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science*, 82(4), 627-631.
- Perez-Velazquez, M., M. L. González-Félix, S. Gómez-Jiménez, D.A. Davis y N. Miramontes-Higuera. 2008. Nitrogen budget for a low-salinity, zero-water exchange culture system: II. Evaluation of isonitrogenous feeding of various dietary protein levels to *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture Research* 39: 995-1004.
- Qi, Z., X. H. Zhang, N. Boon y P. Bossier. 2009. Probiotic in aquaculture of China-Current state, problems and prospect. *Aquaculture* 290: 15-21.

- Ringo, E., R. E. Olsen, T. O. Gifstad, R. A. Dalmo, H. Amlund, G. I. Hemre y A. M. Bakke. 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*, 16(2), 117-136.
- Roberfroid, M. 2007. Prebiotics: the concept revisited. *The Journal of Nutrition* 137(3), 830S-837S.
- Rosales-Leija, M. 2012. Evaluación de un probiótico en cultivo comercial de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en Sonora, México. Tesis de Licenciatura. Licenciatura en Biología. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Salminen, S., C. Bouley, M.-C. Boutron-Ruault, J. H. Cummings, A. Franck, G. F. R. Gibson, E. Isolauri, M.-C. Moreau, M. Roberfroid y I. Rowland. 1998. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Brit. Journal. Nutrition* 80: S147–S171.
- Salminen, S., O. Ouwehand, A. Y. Benn y Y. K. Lee. 1999. Probiotics: how should they be defined? *Trends in food science & technology* 10(3), 107-110.
- Samocha, T. M. y S. M. Patnaik. 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Engineering* 36: 184-191.
- Samocha, T. M. y F. L. Castro. 2014. Design and operation nursery and grow-out biofloc systems 470 p. *Aquaculture America*. 9 al 12 de Febrero de 2014. Seattle, Washington, USA.
- Seidman, E. R. y A. L. Lawrence. 1985. Growth, feed digestibility, and proximate body composition of juvenile *Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon* grown at different dissolved oxygen levels. *Journal of the World Mariculture Society* 16:333–346.
- SENASICA. 2003. Manual de Buenas Practicas de Producción Acuícola de Camarón para la Inocuidad Alimentaria. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental y el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SAGARPA). Sinaloa, México.
- Smith, L., P. G. Lee, A. L. Lawrence y K. Strawn. 1985. Growth and digestibility by three sizes of *Penaeus vannamei* Boone: Effects of dietary protein level and protein sources. *Aquaculture* 46: 85-96.

- Soto-Rodríguez, S. A., B. Gómez-Gil, R. Lozano y A. Roque. 2010. Density of *Vibrios* in haemolymph and hepatopancreas of diseased Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* from northwestern Mexico. *Journal of the World Aquaculture Society* 26: 9-11.
- Sun, Y., Z. Wen., X. Li, N. Meng, R. Mi y S. Li. 2012. Dietary supplement of fructooligosaccharides and *Bacillus subtilis* enhances the growth rate and disease resistance of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). *Aquaculture Research* 43: 1328–1334.
- Tacon, A. G. J., J. J. Cody. L. D. Conquest, S. Divakaran, L. P. Forster y O. Decamp. 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of pacific White shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 8: 121–137. doi: 10.1046/j.1365-2095.2002.00199.x
- Teichert-Coddington, D. R. y R. Rodriguez. 1995. Semi-intensive commercial grow-out of *Penaeus vannamei* fed diets containing differing levels of crude protein during wet and dry seasons in Honduras. *Journal of the World Aquaculture Society* 26: 72-79.
- Velasco, M., A. L. Lawrence, F. L. Castille y L. G. Obaldo. 2000. Dietary protein requirement for *Litopenaeus vannamei*. En: L. E. Cruz–Suárez. D. M. Rocque-Marie, D. M. Tapia–alazar, M. A. Olvera-Novoa y R. Civera-Cercedo (Eds). *Avances en nutrición acuícola y. Memorias del V Simposium Internacional de Nutricion Acuicola*. 19 al 22 Noviembre de 2000. Mérida Yucatán, México.
- Velasco-Rameños, J. G. 2004. Efecto de diferentes niveles de proteína en la dieta de juveniles de camarón blanco del pacífico, *Litopenaeus vannamei*, sobre el crecimiento, supervivencia y presupuesto de nitrógeno en un sistema con baja salinidad y cero intercambio de agua. Tesis de Maestría en Ciencias en Acuicultura. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Vulevic, J., R. A. Rastall, y G. R. Gibson. 2004. Developing a quantitative approach for determining the in vitro prebiotic potential of dietary oligosaccharides. *FEMS microbiology letters* 236(1), 153-159.
- Wasielisky, W., H. Atwood, A. Stokes y C. L. Browdy. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial flock based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 258: 396-403.

- Xu, W. J. y L. Q. Pan. 2014. Evaluation of dietary protein level on selected parameters of immune and antioxidant systems, and growth performance of juvenile *Litopenaeus vannamei* reared in zero-water exchange biofloc-based culture tanks. *Aquaculture* 426, 181-188.
- Yousefian, M. y M. S. Amiri. 2009. A review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp. *African Journal of Biotechnology* 8(25) 7313-7318.
- Zhang, Q., B. Tan, K. Mai, W. Zhang, H. Ma, Q. Ai y Z. Liufu. 2011. Dietary administration of *Bacillus* (*B.licheniformis* and *B. subtilis*) and isomaltooligosaccharide influences the intestinal microflora, immunological parameters and resistance *against Vibrio alginolyticus* in shrimp, *Penaeus japonicus* (Decapoda: Penaeidae). *Aquaculture Research* 42(7), 943-952.
- Zhang, Z., Z. Ding y L. V. Huiyuan. 2007. Effects of Dietary Short-chain Fructooligosaccharides on Intestinal Microflora, Survival, and Growth Performance of Juvenile White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* 38: 296–301.10.1111/1749-7345.2007.00099.