



Casa abierta al tiempo

Universidad Autónoma Metropolitana

Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Maestría en Ciencias Agropecuarias

Efecto sobre la composición nutricional de los bioflóculos producidos, a partir de distintas fuentes de carbono (melaza, residuos de café y harina de arroz) en un sistema Biofloc

T E S I S

(Idónea Comunicación de Resultados)

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias Agropecuarias

Presenta

Biol. Daniel Becerril Cortés

COMITÉ TUTORAL

Directora:

Dra. María del Carmen Monroy Dosta

Codirector:

Dr. Mauricio Gustavo Coelho Emerenciano

Asesor:

M en C. Germán Castro Mejía

México, Ciudad de México a 20 de abril de 2018

La Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco (UAM-X) pertenece al padrón de Posgrados de Excelencia del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

El jurado designado por la Comisión Académica de la Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana, aprobó la tesis titulada: **“Efecto sobre la composición nutricional de los bioflóculos producidos, a partir de distintas fuentes de carbono (melaza, café y pulido de arroz) en un sistema Biofloc”** que presentó:

Daniel Becerril Cortés

El 20 de abril de 2018

JURADO DE EXAMEN

Presidente

Dra. Martha Patricia Hernández Vergara

Secretario

Dra. Genoveva Ingle de la Mora

Vocal

M en C. Germán Castro Mejía

.

El autor fue becario del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), con número de CVU 763361

Contenido

Resumen.....	7
Abstrac	8
1. Introducción	9
2. Objetivos.....	10
2.1 Objetivo General	10
2.2 Objetivos Específicos	10
3. Marco de referencia	10
3.1. Antecedentes de la acuicultura	10
3.2 Estado actual de la Acuicultura	11
3.3 Producción en Latino América	13
3.4 Producción en México.....	13
3.5 Problemática en acuicultura.....	15
3.5.1 Agua.....	15
3.5.2 Alimento	16
3.5.3 Enfermedades.....	16
3.6 Tipos de cultivo en acuicultura	17
3.6.1 Cultivos intensivos y cultivos extensivos	17
3.7 Nutrición acuícola.....	18
3.7.1 Importancia del alimento vivo en acuicultura.....	18
3.8 Tecnología en acuicultura	19
3.9 Tecnología Biofloc.....	20
3.9.1 Fuente orgánica de carbono	20
3.10 Beneficios del Biofloc	20
3.10.1 Reducción del uso de agua.....	21
3.10.2 Control de patógenos	22
3.10.3 Alimentación.....	23
4. Marco teórico.....	24
4.1 Definición de Acuicultura.....	24
4.1.2 Nutrición en acuicultura.....	25
4.1.3 Alimentos balanceados	26

4.1.4 Alimento vivo para acuicultura	27
4.2 Sistemas Biofloc (orígenes y fundamento).....	28
4.3 Bioflóculos (definición y caracterización)	29
4.4 Influencia de factores físicos y químicos en la formación de bioflóculos.....	30
4.4.1 Oxígeno disuelto y aireación	30
4.4.2 Temperatura.....	31
4.4.3 pH	31
4.4.4 Sólidos suspendidos	31
4.4.5 Fuente orgánica de carbono	32
4.5 Diversidad de microorganismos en el Biofloc (función ecológica e importancia nutricional)	33
4.5.1 Bacterias.	34
4.5.2 Fitoplancton.....	36
4.5.3 Zooplancton	38
4.6 Aportes nutricionales del Biofloc	39
4.7 Pregunta de investigación	41
4.8 Hipótesis	41
5. Material y métodos	41
5.1 Diseño experimental y condiciones de cultivo.....	41
5.2 Valoración de la calidad de agua y de sólidos sedimentables	42
5.3 Caracterización de microorganismos presentes en los bioflóculos	42
5.4 Análisis proximal de los bioflóculos.....	43
5.4.1 Determinación de ceniza y materia orgánica	43
5.4.2 Determinación de grasa cruda	44
5.4.3 Determinación de fibra cruda	45
5.4.4 Determinación de proteínas	46
5.5 Determinación de micronutrientes.....	47
5.6 Análisis de datos	48
6. Resultados	48
6.1 Parámetros de la calidad del agua.....	48
6.2.2 Biofloc con residuos de café	50
6.2.3 Biofloc con melaza	54

6.3 Análisis proximal de los bioflóculos.....	56
7. Discusión.....	58
7. Conclusiones.....	61
8. Referencias bibliográficas	62
9. Anexos	70

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la harina de arroz, melaza y residuos de café en la composición nutricional de los flóculos generados en un sistema de cultivo Biofloc con tilapia, así como la microfauna asociada a dichos flóculos. Cada tratamiento se realizó por triplicado en estanques plásticos de 80 L con 15 tilapias (*Oreochromis niloticus*) por estanque con un peso promedio de 4.2 ± 1.08 g. Se monitorearon semanalmente parámetros de calidad de agua como temperatura, pH, oxígeno disuelto, NO_2^- , NO_3^- , TAN, no se realizó recambio de agua durante el desarrollo del experimento, pero las pérdidas por evaporación se compensaron con agua dulce desclorada. La microfauna se contabilizó mediante microscopía óptica y fue identificada con ayuda de bibliografía especializada y por último se determinó el contenido de proteína, lípidos, fibra y cenizas de mediante los métodos estandarizados de AOAC. Los resultados no mostraron diferencias significativas en la calidad de agua durante el experimento con excepción del oxígeno disuelto en el tratamiento control en el cual el porcentaje fue mayor (9.16%). Los principales grupos de microorganismos observados en los distintos tratamientos fueron microalgas, protozoarios, ciliados y rotíferos representados por 16 géneros en el tratamiento residuos de café, 18 géneros en tratamiento melaza y 22 géneros en el tratamiento harina de arroz. Los análisis proximales no mostraron diferencias significativas respecto a lípidos crudos con valores entre 1.96 y 2.50 % para los distintos tratamientos, en cuanto a fibra cruda el tratamiento con residuos de café fue significativamente superior (29%), mientras que para cenizas la melaza obtuvo el porcentaje más alto (16%). Los tratamientos con harina de arroz y melaza presentaron altos niveles de proteína 47.99 y 42.01% respectivamente. Se puede considerar a partir de los resultados que, sin importar la fuente de carbono utilizada, la contribución del Biofloc como fuente de alimento natural in situ, es equiparable al uso de dietas convencionales, pero sin el impacto económico y ecológico de los sistemas tradicionales.

Palabras clave: Fuente de carbono, fitoplancton, zooplancton, Biofloc, Nutrición acuícola

Abstrac

The objective of this study was to evaluate the effect of rice flour, molasses and coffee residues on the nutritional composition of the flocs generated in a Biofloc culture system with tilapia, as well as the microfauna associated with these flocs. Each treatment was carried out in triplicate in 80 L plastic tanks with 15 tilapia (*Oreochromis niloticus*) per pond with an average weight of 4.2 ± 1.08 g. Water quality parameters such as temperature, pH, dissolved oxygen, NO₂⁻, NO₃⁻, TAN were monitored weekly, no water exchange was carried out during the development of the experiment, but evaporation losses were compensated with dechlorinated fresh water. The microfauna was recorded by optical microscopy and was identified with the help of specialized bibliography and finally the content of protein, lipids, fiber and ashes was determined through the standardized methods of AOAC. The results showed no significant differences in water quality during the experiment, with the exception of dissolved oxygen in the control treatment in which the percentage was higher (9.16%). The main groups of microorganisms observed in the different treatments were microalgae, protozoa, ciliates and rotifers represented by 16 genera in the treatment of coffee residues, 18 genera in molasses treatment and 22 genera in the rice flour treatment. The proximal analysis did not show significant differences with respect to crude lipids with values between 1.96 and 2.50% for the different treatments, in terms of crude fiber the treatment with coffee residues was significantly higher (29%), while for ashes the molasses treatment obtained the highest percentage (16%). The treatments with rice flour and molasses showed high protein levels of 47.99 and 42.01% respectively. It can be considered from the results that, regardless of the source of carbon used, the contribution of Biofloc as a source of natural food in situ, is comparable to the use of conventional diets, but without the economic and ecological impact of traditional systems.

Keywords: Carbon source, phytoplankton, zooplankton, Biofloc, aquaculture nutrition

1. Introducción

En México, los sistemas de producción acuícola se han venido transformando con la idea de resolver distintas problemáticas que son inherentes a la actividad, como son el uso de grandes cantidades de agua, la contaminación de los afluentes de descarga y los costos de la alimentación de las especies cultivadas (Hernández *et al.*, 2009). En este último aspecto hay que resaltar que en las unidades de producción se utilizan enormes cantidades de alimento formulado de elevado precio, lo que representa el 40% de los costos de producción (FAO, 2005). Además de que en la mayoría de los casos las dietas comerciales no cubren todos los requerimientos nutritivos de las especies o incluyen contenidos proteicos superiores a los necesarios lo que ocasiona baja digestibilidad, palatabilidad y estabilidad en el agua (Argue *et al.*, 2001; Martínez *et al.*, 2002). Debido a lo anterior, uno de los sistemas de producción que ha llamado la atención en los últimos años es la tecnología Biofloc, la cual, consiste en la generación de flóculos microbianos a partir de la incorporación de una fuente de carbono externa, que ayuda a minimizar o evitar los recambios de agua, además producir proteína microbiana que puede ser utilizada como fuente primordial de alimentación, con un significativo ahorro de alimento comercial y una mejora sustancial de la calidad del agua de descarga (Avnimelech, 2009).

Al adicionar una fuente de carbono al sistema de cultivo, el medio se enriquece con carbohidratos que son aprovechados por bacteria heterótrofas, además pueden utilizar compuestos que pueden ser tóxicos para el cultivo como: nitrógeno amoniacal, nitritos, nitratos y fosfatos como fuente de energía, para oxidar dichos compuestos en formas químicas menos complejas que permiten el desarrollo de microalgas, ciliados, rotíferos y nematodos, de esta forma los nutrientes son reintegrados a las cadenas tróficas del sistema productivo (Avnimelech y Kochba, 2009). Lo anterior es de suma importancia ya que se ha documentado la necesidad del uso de alimento vivo en la producción de organismos acuáticos, ya que promueven mayor diversidad de nutrientes, son de fácil asimilación y son más atractivos para las especies cultivadas (Otoshi *et al.* (2001).

Por otra parte, los flóculos pueden proveer nutrientes importantes tales como proteínas (Azim y Little 2008; Emerenciano *et al.*, 2011), lípidos (Wasielesky *et al.*, 2006; Emerenciano *et al.*, 2012), aminoácidos (Ju *et al.*, 2008) y ácidos grasos (Azim y Little 2008; Ekasari *et al.*, 2010). Por estas características, ésta tecnología ha sido el foco de atención de investigaciones en el campo de la nutrición acuícola por ser una fuente de alimento natural disponible las 24 horas del día para los

organismos en cultivo (Emerenciano *et al.*, 2013). En años recientes se han publicado estudios sobre efectos positivos en el crecimiento de peces y crustáceos cultivados en Biofloc, sin embargo; son escasos los reportes sobre el contenido nutricional de los flóculos que se desarrollan en este tipo de sistemas y su relación con la fuente de carbono utilizada ya que en la mayoría de los casos se ha utilizado a la melaza como inductor del Biofloc, pero se desconoce si se genera un cambio al utilizar otras fuentes de carbono. Por lo anterior, es necesario realizar estudios que permitan conocer tanto la composición planctónica como el contenido nutricional que los bioflóculos utilizando melaza, residuos de café y harina de arroz a lo largo de un ciclo de cultivo de tilapia.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Determinar el valor nutricional de los bioflóculos generados a partir de distintas fuentes de carbono (melaza, café y pulido de arroz) en un sistema Biofloc

2.2 Objetivos Específicos

1. Caracterizar las comunidades de planctónicas asociadas al Biofloc
2. Determinar el contenido de humedad, proteína cruda, lípidos crudos, fibra cruda, ceniza y Ca, Mg, Fe, K y Na contenido en los bioflóculos
3. Determinar una relación entre la composición planctónica con el valor nutricional de los bioflóculos

3. Marco de referencia

3.1. Antecedentes de la acuicultura

La producción de peces en estanques se considera una práctica que se remonta a 4,000 años en china y 3,500 años en Mesopotamia y posteriormente en otros imperios como el romano, lo que se cree que derivo en el desarrollo del sistema alimentario de los monasterios cristianos en Europa, algunas de las especies de las que se tiene registro son la carpa y la tilapia, por otro lado existen antecedentes en china del cultivo conjunto de peces y arroz (Gonzalez, 2011).

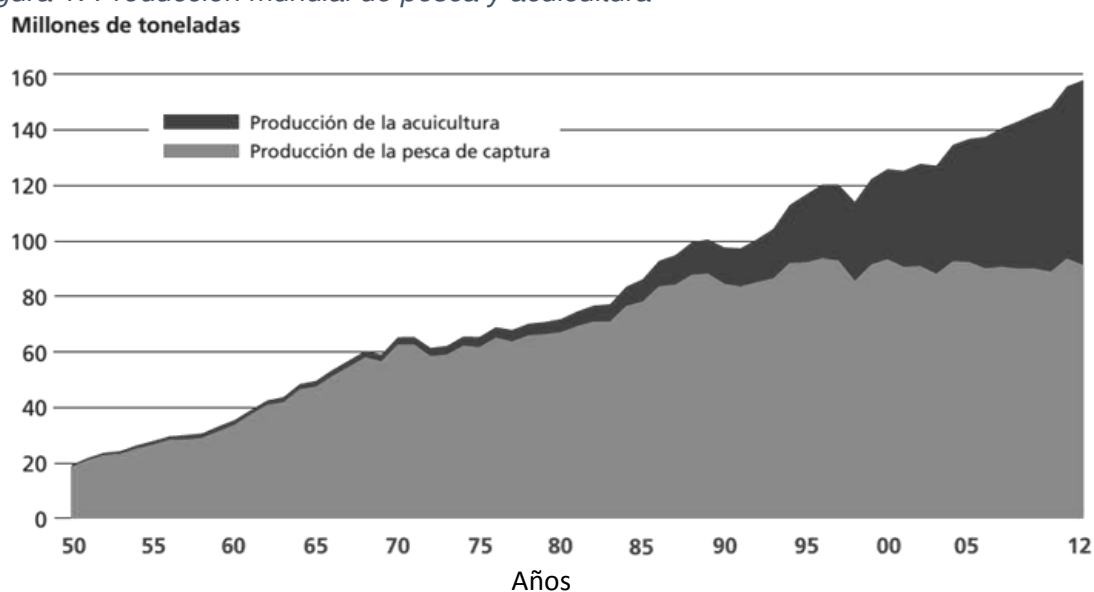
Particularmente en México, esta disciplina se remonta al periodo prehispánico en la que los peces eran cultivados con fines ornamentales, alimentarios y religiosos en ríos, lagos naturales y artificiales. En los años, veinte las experiencias en el cultivo de organismos de agua dulce comenzaron a tomar importancia con el establecimiento de la primera estación acuícola y el otorgamiento de diversas concesiones para la construcción de viveros para cría y reproducción de peces (Fragoso y Auró, 2009).

Como resultado del primer Reglamento de Pesca Marítima y Fluvial implantado en 1923, en el que se asienta que la Acuicultura es un acto de pesca y la define como "el aprovechamiento de las aguas y riberas para la cría y la reproducción de animales", en los años posteriores se establece las zonas reservadas al cultivo y se inicia la construcción de los primeros Centros Acuícolas en los Estados de Aguascalientes (Pabellón de Hidalgo) y México (El Zarco). En los cincuenta y sesenta se empieza a desarrollar intensamente la piscicultura de repoblación en aguas dulces con una orientación de beneficio social, construyéndose 16 Centros acuícolas (CONAPESCA, 2014a).

3.2 Estado actual de la Acuicultura

Distintos expertos mundiales y organizaciones como la FAO, el Centro Mundial de Peces, el Banco Mundial y la OCDE coinciden en que la relevancia de la acuicultura como actividad productiva en el mundo, su creciente peso en la seguridad alimentaria y su potencial de crecimiento son una realidad (SAGARPA, 2006). Así mismo tomando en cuenta la tendencia del crecimiento de la acuicultura mundial, las proyecciones de población mundial y consumo alimenticio al año 2030, y dado que las capturas de la pesca se han establecido en niveles que no crecerán (fig. 1), la acuicultura tiene el potencial factible para aportar la producción necesaria para consumo humano.

Figura 1. Producción mundial de pesca y acuicultura



(FAO) 2014.

Respecto a su producción, la acuicultura presentó su máximo histórico de en 2012 con 66.6 millones de toneladas (tabla 1). Hoy en día proporciona casi la mitad del pescado destinado a la alimentación humana y se prevé que esta proporción aumente un 62 % para el 2030, debido a la estabilización del rendimiento de la pesca de captura y al aumento considerable de la demanda de productos acuícolas a nivel mundial, según los reportes más actuales respecto a la distribución de la producción en acuicultura mundial el 92,7 % de todos los peces comestibles cultivados en 2012 fue aportada por 15 países, siendo países asiáticos liderados por china, los que más aportan (FAO, 2014).

Tabla 1. Comparativo de la producción por la acuicultura y pesca de captura 2007- 2012

Producción	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Pesca de captura	90.8	90.1	90.1	89.1	93.7	91.3
Acuicultura	49.9	52.9	55.7	59.9	62.0	66.6
Producción pesquera mundial	140.7	143.1	145.8	148.1	155.7	158.0

(CONAPESCA) 2013.

3.3 Producción en Latino América

En América Latina destacan Chile, Brasil, México y Ecuador como los principales productores, con el 85% de la producción. El valor económico de esta actividad para el 2009 se estimó alrededor de 8,291 millones de dólares y aportó casi 2 millones de toneladas en biomasa del total mundial (Campos *et al.*, 2012).

Los principales cultivos regionales corresponden a especies exóticas, fundamentalmente salmónidos (truchas y otros) en 9 países de la región; camarones marinos, en 18 países; y tilapias en 20 países. La acuicultura en América Latina mantiene un crecimiento que supera el de cualquier otra región del mundo (FAO, 2009).

3.4 Producción en México

En México la acuicultura es una industria relativamente reciente, que aún está en su etapa de desarrollo, sin embargo; se considera una de las actividades con mayor potencial y progreso en los últimos años, la cual arroja beneficios sociales y económicos que se traducen en una fuente de alimentación para la población con un elevado valor nutricional y costos accesibles, por lo que se ha convertido en un asunto de seguridad nacional y parte esencial del quehacer económico y social del país, representando una alternativa para ampliar la oferta y seguridad alimentaria, generación de divisas y creación de fuentes permanentes de empleo estimulando el desarrollo regional (SAGARPA, 2006).

Estados como Sinaloa, Sonora, Baja California y Veracruz son los que lideran la producción nacional, cabe destacar que 17 estados sin litoral participan en la producción acuícola nacional siendo el Estado de México el más productivo, seguido por el estado de Hidalgo, por otro lado el valor total de la actividad así como las especies que más aportaron según el anuario estadístico de pesca 2013, se muestran en la tabla 2 (CONAPESCA, 2013).

Tabla 2. Volumen y valor de la producción pesquera de acuicultura, según principales especies

Especies	Volumen (toneladas)	Valor (millones de pesos)
Total	242,771	7,568,180
Camarón	60,191	3,925,479
Mojarra	94,575	1,766,060
Ostión	38,669	150,394
Carpa	26,545	381,960
Trucha	6,693	398,443
Atún	6,238	547,425
Bagre	5,304	186,201
Charal	1,634	18,792
Lobina	430	13,215
Langostino	53	5,265
Otros	2,440	174,945

(CONAPESCA) 2013.

Las estadísticas más actuales de acuerdo a la SAGARPA indican que la acuicultura creció 32.2 % (al pasar de 245 mil 760 toneladas en 2013 a 325 mil en 2014), principalmente en especies como mojarra, trucha, ostión, carpa y camarón, se indica que la producción nacional pesquera y acuícola del 2014 ascendió a un millón 751 mil 952 toneladas de especies procedentes de los litorales, zona económica exclusiva y aguas interiores del país (SAGARPA, 2015).

La infraestructura para la acuicultura comprende un total de 9216 granjas acuícolas (tabla 3) siendo las siendo más abundantes las que corresponden a la producción de tilapia (CONAPESCA, 2014b).

Tabla 3. Número de granjas acuícolas por especie

Especie	Numero de granjas acuícolas
Camarón	1383
Tilapia	3775
Ostión	126
Carpa	1480
Trucha	1414
Bagre	343
Otras especies	696
Total	9216

(CONAPESCA) 2014.

3.5 Problemática en acuicultura

La rápida expansión de esta disciplina en los últimos años ha generado una creciente preocupación por las externalidades que esta actividad puede provocar en el medio ambiente. Como ya se mencionó la acuicultura se ha mantenido en los últimos años en un crecimiento constante anual de casi el 10%, sin embargo; esta actividad no está exenta de dificultades. Para poder aumentar su producción requiere resolver diversos problemas que son inherentes a su actividad, como es incrementar áreas para su instalación, conducción del agua, construcción de estanques y drenajes para el desalojo de aguas residuales, alimentación y manejo de enfermedades. Asociado a esto, las prácticas referentes a la acuicultura impactan en el medio ambiente a través de tres procesos: el consumo de recursos, el proceso de transformación y la generación del producto final (Plascencia y Almada, 2012).

3.5.1 Agua

Un gran porcentaje de los desechos, tanto orgánicos como inorgánicos, de las granjas acuícolas, químicos, microorganismos y parásitos así como antibióticos y sustancias necesarias para realizar la actividad, son causantes de un enriquecimiento en nutrientes e incluso eutrofización de los cuerpos de agua naturales en el caso de que las zonas destinadas al cultivo sean semi confinadas, se sabe que cerca del 85 % del Fósforo, un 80 a 88% del Carbono y un 52 a 95% del Nitrógeno introducido en

las jaulas o estanques pueden pasar a los ríos, lagos, o lagunas naturales a través de los desechos de la comida, las excreciones de los peces, la producción de heces y la respiración (Rabasso Krohnert, 2006).

Este impacto tiene un costo ambiental, económico y social. Particularmente en lo social se debe a que esta disciplina, puede comprometer la disponibilidad del recurso para otras actividades y esto puede acarrear conflictos derivados por el uso del agua. Durante mucho tiempo, el método más común para tratar con esta contaminación ha sido el uso de la sustitución continua del agua del estanque con agua fresca externa. Sin embargo, el volumen de agua necesario, incluso para pequeños a medianos sistemas de acuicultura puede alcanzar hasta varios cientos de metros cúbicos por día (Borja, 2011).

3.5.2 Alimento

Uno de los más importantes problemas de la acuicultura es el alimento, pues representa uno de los insumos requeridos y de mayor costo, con la desventaja que un 60% del alimento que se suministra no es aprovechado por los organismos y el precio de este puede llegar a representar un alto porcentaje del costo de producción, lo que puede significar que pequeños granjeros no puedan mantener su negocio y que la producción de los especímenes se sustente cada vez más de una fuente exógena de alimento. Como consecuencia, la producción se ha desarrollado basada en la industria de harina de pescado lo cual puede considerarse como una incongruencia, debido a que casi el 40% de la producción de peces se destina para la alimentación de las propias especies cultivadas (Hargreaves, 2013).

3.5.3 Enfermedades

La aparición de enfermedades en animales acuáticos es una amenaza económica permanente y un desafío de gestión para la industria acuícola. El impacto de enfermedades puede afectar la sanidad y bienestar de los animales acuáticos, el comercio y la salud humana, dicha actividad se ve afectada por la falta de detección temprana de parásitos y enfermedades en los cultivos, lo cual provoca cuantiosas pérdidas anualmente (Becerril-Cortés *et al.*, 2015).

Las enfermedades infecciosas son la causa mayoritaria de las numerosas pérdidas económicas en acuicultura. Muchas enfermedades pueden ocasionar mortalidades superiores al 90% en una granja si no se toman las medidas pertinentes para su control (Fernandez-Alonso *et al.*, 1998).

3.6 Tipos de cultivo en acuicultura

La clasificación que tradicionalmente se ha realizado en la acuicultura se muestra en la tabla 4, donde se observa una categorización en función del tipo de hábitat, especie o densidad del cultivo entre otras (FAO, 2009).

Tabla 4. Clasificación de los tipos de acuicultura

Clasificación en función de	Tipo de Acuicultura
La clase de agua	Agua dulce o salada
La densidad de cultivo	Extensivo, se mi-intensivo, intensivo
Número de especies	Monocultivo y policultivo
Lugar en el que se realiza el cultivo	Interior, costa y mar
Flujo de agua	Circuito abierto, semi-cerrado y cerrado
Escala del cultivo	laboratorio, planta piloto e industrial

(FAO) 2009.

3.6.1 Cultivos intensivos y cultivos extensivos

Según el grado de tecnificación que se utiliza para la producción de organismos acuáticos (moluscos, crustáceos y peces) los podemos dividir en sistemas extensivos, semi intensivo, intensivos e incluso en producción de camarón tilapia y trucha existe el sistema hiper intensivo (Campos *et al.*, 2012).

La diferenciación entre los cultivos de tipo de extensivo e intensivo, en algunos casos no está perfectamente delimitada, podemos establecer como características fundamentales las siguientes: la alta concentración de animales, el aporte de alimento al sistema de cultivo y un control estricto del medio de cultivo como elementos que definen al cultivo intensivo, por el contrario, el cultivo extensivo o de subsistencia se caracteriza por el acotamiento de grandes extensiones de agua en condiciones seminaturales. En este cultivo, por lo tanto, la densidad de individuos es inferior al cultivo intensivo y el control del medio y de los organismos es nulo o mínimo (Fragoso y Auró, 2009).

A este respecto se considera que el 80% de los cultivos que se llevan a cabo son de tipo extensivo de rendimiento bajo. La acuicultura dulceacuícola es la que más se ha desarrollado y es apta para recibir las ventajas de las nuevas tecnologías que la impulsen hacia mayores volúmenes de producción.

3.7 Nutrición acuícola

La nutrición de peces y crustáceos se ha convertido en una de las áreas de investigación y desarrollo más importantes dentro de la acuicultura. El alimento y los costos de alimentación, generalmente constituyen la fracción más significativa dentro de los gastos de operación en las empresas dedicadas al cultivo de organismos acuáticos a nivel semi intensivo o intensivo (Castro *et al.*, 2012).

El desarrollo de un régimen de alimentación, para peces o camarones, requiere del entendimiento básico de la nutrición, así como de los requerimientos nutricionales de los animales. Con excepción del agua y la energía, los requerimientos nutricionales en la dieta de todas las especies acuáticas cultivadas, se pueden considerar bajo cinco diferentes grupos de nutrientes; proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales (Castro *et al.*, 2003).

3.7.1 Importancia del alimento vivo en acuicultura

Un aspecto importante en la nutrición acuícola es que con frecuencia se observa que los alimentos empleados no contienen los nutrientes que las especies requieren para su crecimiento óptimo, principalmente en sus primeras etapas de vida, que es la crítica en todas las especies, ya que es donde se puede presentar la mayor mortalidad. A nivel mundial, se utilizan alimentos inertes con ingredientes nutritivos bien balanceados; es decir la promoción y aprovechamiento integral del alimento natural endógeno y exógeno. En cualquier sistema acuático en el que se lleve a cabo el cultivo de algún organismo, se desarrollan a la par otros organismos que pueden tener diversas relaciones, una de estas es que pueden fungir como presas y pueden ser eventualmente aprovechados como una parte importante de la nutrición de la especie que se está cultivando (Córdova *et al.*, 2010). Algunas de las cualidades que tiene el alimento vivo son; el movimiento, ya que estimula ser atrapado por el depredador; el color, que es atractivo para su captura; la calidad nutritiva ya que, los organismos que se aprovechan como alimento y que se cultivan, contienen la cantidad y la calidad de nutrimentos indispensables para el adecuado crecimiento de las especies en el agua. Por otra

parte, el alimento vivo tiene la cualidad de no afectar la calidad del agua, debido a que este es consumido antes de que llegue al fondo, sin causar ningún tipo de descomposición, a diferencia del alimento inerte. Dentro de estos organismos vivos están las microalgas (fitoplancton), organismos zoo planctónicos de tamaños microscópicos, como son los rotíferos, pulgas de agua, copéodos, nauplios del crustáceo *Artemia*; y otras especies de invertebrados (Castro *et al.*, 2003). Si bien la utilización de alimento vivo implica tener instalaciones adicionales para su cultivo y esto representa un gasto agregado para los productores, esta problemática se resuelve con la implementación del sistema Biofloc ya que algunos de estos grupos de microorganismos se encuentran presentes en este tipo de sistemas sin la necesidad de infraestructura anexa al estanque de cultivo

3.8 Tecnología en acuicultura

En años recientes en la acuicultura existe una tendencia hacia el desarrollo y uso de técnicas o sistemas de producción que impliquen bajo uso de recursos naturales básicos como el agua y la tierra, y que a su vez involucren un incremento en la cantidad de producción y disminución en los costos de esta (Monroy-Dosta *et al.*, 2013).

La literatura señala la presencia de diferentes estrategias y tecnologías mediante las cuales es posible minimizar el impacto ambiental causado por las prácticas de cultivo, tales como colectores de elementos sólidos bajo las jaulas, bombas difusoras de elementos sólidos y sistemas de recirculación con biofiltros tratadores de las aguas. Estas técnicas, sin embargo, pueden tener diferentes efectos secundarios negativos sobre los peces y una restringida capacidad de minimizar el impacto ambiental o su costo puede ser muy elevado (Buschmann *et al.*, 2011).

En la actualidad se presenta una beneficiosa interacción entre biotecnología, concebida como un conjunto de técnicas que utilizan o se aplican a organismos vivos para modificar o fabricar un producto de consumo o uso, por lo tanto la acuicultura, concebida como la producción de organismos acuáticos en sistemas controlados y con aplicaciones tecnológicas que permiten manejar densidades poblacionales mayores que las naturales, optimizando su manejo en los cultivos, lo que habla de la posibilidad de una acuicultura intensiva (Díaz y Neira, 2005).

3.9 Tecnología Biofloc

Una de las alternativas para disminuir los daños ambientales ocasionados por la acuicultura y optimizar su producción, es el uso del sistema “Biofloc”, y se trata de una propuesta desarrollada en la década de los 70, basada en la generación de flóculos microbianos formados a partir de la incorporación de fuentes de carbono externa tales como melaza (caña de azúcar) salvado de arroz, salvado de trigo, entre otros lo que permite el crecimiento de una comunidad microbiana heterótrofa, que metaboliza los carbohidratos y toman nitrógeno inorgánico (principalmente NH_4^+), reduciendo sus niveles dentro del sistema lo que ayuda a minimizar o evitar los recambios de agua de cultivo y además producir, como beneficio adicional, proteína microbiana que puede ser utilizada como alimento (Avnimelech, 2009).

Esta tecnología fue desarrollada bajo el mismo principio que tienen las plantas de tratamiento de aguas negras convencionales, en las que la microbiota crece a partir de las excretas de los organismos cultivados, transformándolas en productos orgánicos de menor complejidad que pueden ser consumidos por otros organismos y reintegrados a las cadenas alimenticias (Castro *et al.*, 2012).

3.9.1 Fuente orgánica de carbono

La fuente de carbono es el principal insumo para el funcionamiento del sistema Biofloc, la elección de la fuente de carbono implicará variantes en cuanto al valor nutricional y composición taxonómica de los bioflóculos (Crab *et al.*, 2012). Dichas fuentes de carbono son a menudo los subproductos derivados de la industria de la alimentación humana y / o animal, y de fácil disposición, sirve como un sustrato para operar el sistemas y para la producción de proteína microbiana. Algunas consideraciones para su selección, son factores tales como los costos, la disponibilidad local, la biodegradabilidad y la eficiencia de asimilación de las bacterias. Algunas de las fuentes de carbón empleadas en distintos estudios, se presentan en la tabla 5 (Emerenciano *et al.*, 2013).

3.10 Beneficios del Biofloc

La técnica de cultivo en Biofloc, permite trabajar con una inversión mucho menor que los sistemas tradicionales, es decir, sin biofiltros, ni bombesos ni filtración de sólidos, ni desinfección del agua, sin aporte apreciable de agua a lo largo de todo el cultivo, y con un aporte menor de pienso al sistema,

además se consigue intensificar de manera notable el engorde de las especies que se están cultivando, algunas de las especies con las que se han obtenido resultados exitosos se resumen en la tabla 5 (Emerenciano *et al.*, 2013).

Tabla 5. Principales especies empleadas en cultivos Biofloc

Fuente de Carbono	Especie	Referencia
Acetato	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	(Crab <i>et al.</i> , 2010)
Harina de maíz	Híbridos de tilapia	(Asaduzzaman <i>et al.</i> , 2010)
Melaza	<i>Litopenaeus vannamei</i> y <i>Penaeus monodon</i>	(Samocha <i>et al.</i> , 2007)
Tapioca	<i>Litopenaeus vannamei</i> y <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	(Hari <i>et al.</i> , 2004)
Harina de trigo	<i>Oreochromis niloticus</i>	(Azim y Little, 2008)
Salvado de trigo y melaza	<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	(Emerenciano <i>et al.</i> , 2012)
Almidón	<i>Oreochromis niloticus</i>	(Crab <i>et al.</i> , 2009)
Glicerol y glucosa	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	(Crab <i>et al.</i> , 2010, Ekasari <i>et al.</i> , 2010)
Sacarosa	<i>Litopenaeus vannamei</i>	(Khun <i>et al.</i> , 2009)
Acetato	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	(Crab <i>et al.</i> , 2010)

3.10.1 Reducción del uso de agua

Este tipo de sistema de cultivo proporciona una ventaja en cuanto al uso y mantenimiento de la calidad del agua, comparando las técnicas de tratamiento de agua convencionales usados en la acuicultura, la tecnología Biofloc proporciona una alternativa más económica, disminuyendo los costos de

tratamiento de agua hasta en un 30%. Es reconocido que, el funcionamiento normal de los estanques puede incluir el intercambio de agua (por lo general un 10 % por día) como método para controlar la calidad del agua. En contraste el Sistemas Biofloc puede operar con un bajo intercambio de agua con tasas de 0,5 a 1% por día, mientras se mantenga suficiente aireación para mantener en suspensión los flóculos, se reducen los costos de bombeo, se conservan nutrientes en los tanques y se reduce el volumen de los efluentes (Crab *et al.*, 2012).

En cuanto al mantenimiento de la calidad del agua este se encuentra mediado por la comunidad bacteriana y esto se consigue utilizando una alta relación de carbono a nitrógeno (C: N) para garantizar el mejor crecimiento de las bacterias heterótrofas, mediante la aplicación de una fuente externa de carbono como la melaza, el café o la harina de arroz. Las bacterias heterotróficas se encargan de captar los complejos nitrogenados liberados por los peces y utilizarlos en su crecimiento, eliminando de esta manera la toxicidad por amonio y nitritos (Azim y Little, 2008).

Cuando hablamos de los sistemas BTF, la transformación de los compuestos nitrogenados tóxicos (amonio, nitritos y nitratos) es más eficiente, debido a que este proceso lo llevan a cabo bacterias heterótrofas facultativas que corresponden principalmente a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*, estos géneros presentan gran actividad enzimática, ya que oxidan la materia orgánica y también nitratos y nitritos, además de que la presencia de materia orgánica en forma de carbono inhibe la desnitrificación por los autótrofos, disminuyendo su tasa de crecimiento mientras que las heterótrofas incrementan sus poblaciones mucho más rápido y convierten el nitrógeno amoniacal en compuestos con baja toxicidad; incluso algunas de ellas transforman dichos compuestos para producir biomasa microbiana lo que permite la generación de diversos protozoarios en muy corto plazo (días) en comparación con los sistemas convencionales (Monroy -Dosta *et al.*, 2015)

3.10.2 Control de patógenos

Uno de los grandes retos que enfrenta el sector acuícola a nivel mundial, son las enfermedades infecciosas, las cuales causan mortalidades hasta del 90% en las granjas de peces y crustáceos y que son causadas por virus, hongos y bacterias. De manera específica las infecciones bacterianas son las más frecuentes, debido a que la mayoría de los casos los microorganismos que forman parte de la

microbiota normal de los peces y el agua de cultivo, se pueden mostrar virulenta como resultado de las variaciones ambientales y las condiciones de cultivo y manejo. Si bien, durante muchos años se ha utilizado diversos químicos y antibióticos para el control de enfermedades, la aplicación inadecuada de éstos, ha dado lugar al desarrollo de resistencia a los antibióticos e impacto ambiental. Como consecuencia, existe una necesidad urgente de técnicas de control alternativo más sostenible (Collazos y Arias, 2015). La Tecnología Biofloc puede ser una nueva estrategia para el control de patógenos en contraste con los enfoques convencionales. En primer lugar, la adición de una fuente de carbono a los sistemas productivos como es el caso de la melaza, enriquece el medio con azúcares que son aprovechados por bacterias heterótrofas compitiendo por espacio con las bacterias patógenas que no tienen la capacidad fisiológica de utilizarlos (Azim y Little, 2008).

De igual modo, se ha observado que en este tipo de sistemas de cultivo se desarrollan bacterias reconocidas por su potencial probiótico, esto puede deberse a que en las heces se libera parte de la microbiota intestinal que al estar en un medio nutritivo, permite su proliferación y con ello que las especies cultivadas aprovechen los beneficios que éstos microorganismos proveen (Crab *et al.*, 2010), dentro de los beneficios que se obtienen, se pueden señalar el incremento en la asimilación de nutrientes lo que se refleja en mayor sobrevivencia y crecimiento de las especies cultivadas, así mismo se incrementa la respuesta inmune para hacer frente a los procesos infecciosos. También se ha mencionado que existe un efecto de exclusión competitiva por parte de las bacterias probióticas frente a otros grupos microbianos ya que secretan una gran variedad de exoenzimas y polímeros que generan un ambiente hostil a bacterias, sobre todo patógenas (Monroy -Dosta *et al.*, 2015).

3.10.3 Alimentación

La manera en que este tipo de sistema contribuye a beneficios asociados a la alimentación es debido a que en la columna de agua se presenta una interacción compleja entre la materia orgánica, el sustrato físico y una amplia gama de microorganismos como fitoplancton, bacterias, además de rotíferos, ciliados, protozoos y copépodos que forman macroagregados o bioflóculos (Collazos y Arias, 2015). Los agregados microbianos pueden proporcionar importantes nutrientes tales como

carbohidratos, proteínas, aminoácidos, ácidos grasos y minerales, por lo que estos microorganismos presentan un papel clave en la nutrición de animales en cultivo ya que son una rica fuente natural de proteína-lípido "in situ" disponible las 24 horas del día, con lo anterior se sabe que la ganancia de alimentación potencial con esta tecnología es de 10 a 20%, debido a ello los costos por alimentación disminuyen entre 40 a 50 % (Hargreaves, 2013).

En cuanto a la calidad nutricional del Biofloc es buena para el cultivo de organismos acuáticos ya que se ha reportado un contenido de proteína de entre 25 al 50% y de grasas de un 0.5 al 15%. Sin embargo, este contenido puede variar con relación a la fuente de carbono utilizada para la promoción del Biofloc, la comunidad planctónica que se desarrolle en el sistema y las especies cultivadas como se puede observar en la tabla 6 (Emerenciano *et al.*, 2013).

Tabla 6 Composición bromatológica con base en materia seca de bioflóculos

Fuente	PB (%)	Carb (%)	Lípidos (%)	FB (%)	Genizas (%)
Wasielisky <i>et al.</i> (2000)	31.1	23.6	0.5	ND	44.8
Kuhn <i>et al.</i> (2009)	49	36.4	1.13	12.6	13.4
Maica <i>et al.</i> (2011)	28.8 - 43.1	ND	2.1 - 3.6	8.7 - 10.4	22.1 - 42.9
Emerenciano <i>et al.</i> (2011)	30.4	29.1	0.5	0.8	39.2

PB= Proteína bruta Carb= Carbohidratos FB= Fibra cruda ND= No disponible (modificada de Emerenciano *et al.*, 2013)

Así mismo este valor nutricional aportado a los animales cultivados estribara en la preferencia de alimento de los mismos, así como de su capacidad para ingerir y digerir partículas en suspensión.

4. Marco teórico

4.1 Definición de Acuicultura

En el ámbito internacional la FAO (2016), define a la acuicultura como la cría de organismos acuáticos, comprendidos peces, moluscos, crustáceos y plantas, dónde la cría supone la intervención humana para incrementar la producción, respecto al ámbito nacional dicha actividad se define dentro de la Ley

General de Pesca y Acuicultura Sustentable como: el conjunto de actividades dirigidas a la reproducción controlada, preengorda y engorda de especies de la fauna y flora realizadas en instalaciones ubicadas en aguas dulces, marinas o salobres, por medio de técnicas de cría o cultivo, que sean susceptibles de explotación comercial, ornamental o recreativa (CONAPESCA, 2014).

4.1.2 Nutrición en acuicultura

El principal objetivo del cultivo de peces y crustáceos, es incrementar su peso y reproducción en el tiempo más corto posible y en condiciones económicamente rentables. Para ello, la satisfacción de todos los requerimientos nutricionales de los organismos a través de la dieta es fundamental. Esto ha conducido a incrementar el alimento natural disponible mediante fertilización (sistemas extensivos) o bien a suministrar todos los nutrientes al pez en forma de dieta preparada (sistemas intensivos)

(FAO, 2002). Conforme el pez se hace más dependiente de las dietas artificiales, es crítica la necesidad de alimentos completos desde el punto de vista nutricional ya que la calidad de la dieta puede determinar en gran medida el éxito o fracaso de la operación, debido a que influye en el comportamiento, salud, reproducción, impacto ambiental y crecimiento de los peces (Naylor *et al.*, 2000). Otro aspecto fundamental es que el alimento generalmente constituye la fracción más significativa dentro de los costos de operación en las empresas dedicadas al cultivo de organismos acuáticos, por lo cual no es de sorprender que hoy día, la nutrición de peces y crustáceos se haya convertido en una de las áreas de investigación y desarrollo más importantes dentro de la acuicultura (Tacon, 2008).

Con excepción del agua, los requerimientos nutricionales en los peces cultivados, se pueden considerar bajo cinco diferentes grupos de nutrientes; proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales, observándose variaciones debido a la especie, la edad, el estado fisiológico (crecimiento y reproducción), el tipo de hábitos alimenticios (carnívoros, herbívoros y omnívoros) y las condiciones ambientales (Tacon, 2008).

Con respecto a los aminoácidos, los más importantes tanto para peces como para crustáceos son: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Dentro de las grasas, los componentes más sobresalientes para todos los organismos son los ácidos grasos, siendo esenciales los ácidos oleicos, linoleico y linolénico (Pillay, 1997). Desafortunadamente, son pocas las especies en las que se han determinado con precisión sus requerimientos nutritivos,

dentro de las conocidas están la trucha, salmón, bagre de canal, carpa común, carpa herbívora y en crustáceos están los peneidos y el langostino asiático (Pillay, 1997). Respecto a los minerales, entre sus principales funciones cabe destacar que son una parte esencial del esqueleto y de los tejidos blandos, participan en la transmisión nerviosa y en el mantenimiento de la presión, regulan el pH de la sangre, forman parte de multitud de enzimas, vitaminas, hormonas y actúan como activadores enzimáticos. Su aporte en la dieta es una garantía para poder alcanzar un buen grado de crecimiento y desarrollo. Además, actúan modulando el sistema inmunitario, y son fundamentales en la prevención de enfermedades carenciales y patológicas de diferente índole.

4.1.3 Alimentos balanceados

Actualmente en nuestro país se ha desarrollado una fuerte industria proveedora de piensos para organismos acuáticos, en donde se observa una amplia variedad de alimentos balanceados para peces de consumo humano, crustáceos y especies ornamentales. Sin embargo, con frecuencia se ha registrado que estos alimentos no tienen el contenido nutritivo que las especies requieren para su crecimiento óptimo, principalmente en sus primeras etapas de vida (Castro *et al.*, 2003), al mismo tiempo que no cuentan con las propiedades físicas adecuadas, tales como su estabilidad en el agua, su flotabilidad y su sabor, además, el precio de estos alimentos es una limitante para su adquisición en sectores sociales con bajos recursos económicos, ya que de manera general el alimento representa hasta el 40% de los costos de producción, debido a que el ingrediente base es la harina de pescado y con el incremento de la producción acuícola, este ingrediente ha ido escaseando incrementando con ello su costo (Isea *et al.*, 2008).

Actualmente se cuestiona la utilización de enormes cantidades de alimento formulado a base de harina de pescado, pues la calidad de estos alimentos, muchas veces con contenidos proteicos superiores a los necesarios, disminuyen la tasa de asimilación de las especies y por lo tanto su crecimiento y reproducción además de contaminar el agua. Por ello, la utilización del alimento mediante el uso de piensos de alta calidad y las prácticas de alimentación cuidadosas pueden reducir significativamente la cantidad de nutrientes y sólidos generados durante el cultivo y los desechos liberados al medio ambiente (Luchini y Panné-Huidobro, 2008). Por lo anterior, se han implementado varias estrategias para enfrentar esta problemática, entre las que se pueden destacar: el uso de ingredientes alternativos a la harina de pescado, nuevos y mejores procesos para aumentar la estabilidad de los alimentos en el agua (Barber 2000); uso de aditivos que aumenten la palatabilidad y la promoción y

aprovechamiento integral del alimento natural endógeno o exógeno conocidos como cultivos de apoyo (Martínez-Porchas 2006; Cruz-Suárez *et al.*, 2008).

4.1.4 Alimento vivo para acuicultura

Como ya mencionamos en el apartado anterior, el alimento artificial no supe las necesidades nutricionales o no presenta las características adecuadas para los peces, principalmente en estados larvarios, constituyendo el alimento vivo (presas vivas) la mejor opción en la acuicultura (Sánchez-Estudillo, 2011). Los organismos considerados dentro del alimento vivo pertenecen a diversos grupos taxonómicos o comunidades y van desde pequeños microorganismos unicelulares como bacterias, microalgas y levaduras, pasando por organismos del zooplancton, hasta grandes organismos del bentos o necton. Dentro del alimento vivo, las microalgas (fitoplancton) juegan un papel importante en las primeras horas de vida de las larvas, cuando inician la búsqueda de su alimento. Posteriormente se pueden suministrar algunos organismos zooplactónicos, de tamaños microscópicos, como son los rotíferos, pulgas de agua, copépodos y nauplios del crustáceo *Artemia*; en estadios de desarrollo más avanzados se pueden utilizar otras especies de invertebrados, como las larvas de *Tenebrio* (gusano de harina) o del gusano de fango *Tubifex*, o de *Panagrellus*. Otros organismos usados como alimento vivo son las pupas o larvas de mosca de la fruta, las lombrices de tierra y pequeños peces conocidos como peces forrajeros (Castro *et al.*, 2003).

Una de las ventajas de utilizar dietas vivas es que contienen los nutrientes necesarios para el crecimiento de los peces, ya que presentan altos niveles de proteína de excelente calidad, son una fuente importante de vitaminas y minerales y su contenido de aminoácidos y ácidos grasos esenciales son adecuados. Además, el movimiento natural y la coloración de estos organismos planctónicos estimula el comportamiento predador de los peces y en cantidad adecuada no compromete la calidad del agua (Prieto y Atencio, 2008). El zooplancton presenta ciclo de vida corto, alta tasa de fertilidad y capacidad de vivir en altas densidades, características que facilitan su cultivo, así mismo algunas especies de zooplancton presentan la posibilidad de ser bioencapsuladas para ser enriquecidos (Muller, 2000; Castro *et al.*, 2013). Pese a todos los beneficios antes señalados una desventaja que presenta el uso de alimento vivo, es el elevado costo que representa mantener los cultivos de apoyo, puesto que se requiere mayor infraestructura y personal capacitado para el cultivo del alimento natural, por lo que en muchos casos el uso de dietas inertes sigue siendo la práctica más común en los sistemas de producción (D'Souza *et al.*, 2002)

4.2 Sistemas Biofloc (orígenes y fundamento)

El Biofloc es una forma de producción intensiva en acuicultura, misma que es capaz de enfrentar retos propios de la actividad, como el aumento de la biomasa por volumen de agua y la utilización cada vez más reducida de agua, es decir en el marco de los paradigmas de sostenibilidad (Avnimelech, 2009). El término "floc o Biofloc" puede definirse como floculación de materia orgánica presente en el medio resultando en una alta concentración de biomasa en forma de partículas (Cuzon *et al.*, 2004; Emerenciano *et al.*, 2011)

El sistema Biofloc fue desarrollado a principios de los 70 en el IFREMER-COP con diferentes especies de crustáceos de importancia económica y se basa en una compleja interacción entre la materia orgánica, el sustrato físico y una amplia gama de microorganismos como bacterias, protozoos, rotíferos y nematodos, los cuales, proporcionan una fuente de alimento para las especies cultivadas (Emerenciano *et al.*, 2011).

Esta tecnología se caracteriza por utilizar el alimento no consumido, las excretas de las especies cultivadas y una fuente de carbono externa, como sustrato para la descomposición aeróbica (Avnimelech, 1999; Hargreaves, 2013) y la conversión a proteína microbiana disponible como alimento adicional del ambiente de cultivo, incrementando los índices de conversión alimenticia (Wasielensky *et al.*, 2006; Crab *et al.*, 2012).

El principio fundamental de BFT es reciclar nutrientes mediante el mantenimiento de un alto contenido de carbono /nitrógeno (C / N) en el agua con el fin de estimular el crecimiento de bacterias heterótrofas que convierte el amoníaco en biomasa microbiana, sin embargo, para lograr el establecimiento de las bacterias heterótrofas en los bioflóculos es necesario ajustar la relación carbono/nitrógeno (C:N) en el cuerpo de agua, ya que se requiere cerca de 20 unidades de carbono para asimilar una unidad de nitrógeno, esto se logra adicionando alimento de baja proteína y un carbohidrato como por ejemplo, la melaza en cantidad suficiente (Avnimelech, 1999). La biomasa microbiana agregada con otros microorganismos y las partículas suspendidas en el agua, constituyen lo que se ha denominado "Biofloc" (Ekasari y Maryam, 2012). Otra característica distintiva del sistema Biofloc es el poco o nulo recambio en el agua y alta aireación y oxigenación de la columna de agua.

Este sistema de cultivo anteriormente ha recibido la denominación de sistema de cero o mínimo recambio de agua, sistema autótrofo-heterotrófico, lodos activados, sistema suspendido a base de bacterias, sistema de producción de proteínas a base de una sola célula, sistemas de crecimiento

suspendido o sistemas de flóculos microbianos. Sin embargo, los investigadores están tratando de mantener el término "BFT o Tecnología Biofloc" con el fin de establecer una referencia clave (Emerenciano *et al.*, 2013).

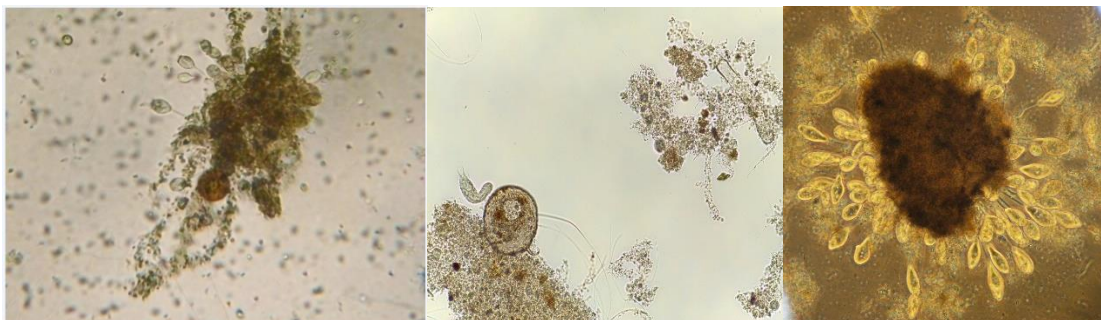
A pesar de sus múltiples beneficios el sistema Biofloc también presenta algunas desventajas a tomar en cuenta, por ejemplo, la necesidad de un periodo de inicio, la inversión necesaria para un sistema de aireación (Hargreaves, 2013). Así mismo, otra limitante para incrementar el uso de este tipo de cultivos es que, al ser un sistema donde se minimizan casi al 100% los recambios, el agua se torna turbia por lo que hay una resistencia por parte de los consumidores debido al concepto erróneo de que el agua de cultivo debe verse siempre limpia.

4.3 Bioflóculos (definición y caracterización)

Flóculos o bioflóculos es el término que se aplica a un compuesto constituido por un 60 a 70% de materia orgánica, la cual incluye una mezcla heterogénea de microorganismos (hongos, algas, bacterias, protozoarios, y rotíferos) y de 30 a 40% de materia inorgánica como coloides, polímeros orgánicos, cationes y células muertas (Chu y Lee, 2004). Los bioflóculos se mantienen unidos en una matriz ya sea por moco que es secretado por las bacterias, por los microorganismos filamentosos, o la atracción electrostática (Azim y Little, 2008).

Los grandes bioflóculos se pueden ver a simple vista, pero la mayoría son microscópicos de alrededor de 50 a 200 micras y presentan una forma irregular Fig. 2, así mismo son más densos que el agua por lo que tienden a sedimentarse lentamente (Collazos y Arias, 2015).

Figura 2 Bioflóculos observados con microscopio óptico (10x y 40x)



(Fuente propia)

En la formación de los bioflóculos se distinguen dos tipos de adhesión: inicialmente los primeros microorganismos se adhieren directamente al sustrato, mientras el soporte disponga de superficie sin colonizar este proceso se puede seguir produciendo, pero simultáneamente ocurre el segundo

proceso de adhesión; la unión de células o unidades formadoras de colonias que se acoplan a las células que ya están unidas al soporte, de forma que esta adhesión se lleva a cabo desde la fase líquida al bioflóculo (De Schryver *et al.*, 2008).

En dichos bioflóculos ocurren al mismo tiempo actividades autotróficas y heterotróficas, así como procesos aeróbicos y anaeróbicos de los cuales se desprenden interacciones claves para el mantenimiento de la calidad del agua, como el control de los compuestos nitrogenados (Ray *et al.*, 2010; Ebeling *et al.*, 2006). La floculación o formación de las comunidades microbianas es un proceso complejo. Los mecanismos exactos y los métodos para formular bioflóculos microbiológicos siguen siendo en gran parte desconocidos, los componentes principales que se pueden encontrar dentro de dicha matriz de bioflóculos son sustancias poliméricas extracelulares y son estas estructuras las que encapsulan las células microbianas, y desempeñan un papel importante en la unión de los componentes de los bioflóculos (De Schryver *et al.*, 2008).

4.4 Influencia de factores físicos y químicos en la formación de bioflóculos

Se conocen distintos parámetros sobre como promover una adecuada formación de bioflóculos, sin embargo, dichos parámetros pueden necesitar ajustes para obtener una buena agregación y alta calidad de los bioflóculos, así como condiciones óptimas de crecimiento para los organismos que se están cultivando. Dado que la mayoría de parámetros físico-químicos están fuertemente interrelacionados entre sí, en muchos casos no es fácil predecir un determinado resultado debido al cambio de dichos parámetros (De Schryver *et al.*, 2008).

Los parámetros básicos de medición en cultivos Biofloc son: oxígeno, temperatura, pH, alcalinidad, amonio y sólidos sedimentables (Collazos y Arias, 2015).

4.4.1 Oxígeno disuelto y aireación

En cultivos con Biofloc los sistemas de incorporación de oxígeno al agua son fundamentales, sin oxígeno suficiente y aún más en exceso no es posible construir Biofloc. Los aireadores son los equipamientos más comunes utilizados para oxigenar el agua en contenedores con Biofloc y ellos deben ser escogidos de tal manera que suplan tres necesidades principales: 1) las necesidades de respiración de la especie cultivada, 2) la respiración y reacciones de nitrificación propias en la metabolización de compuestos nitrogenados tóxicos de los microorganismos contenidos en el sistema y 3) mantener los bioflóculos en suspensión constante para evitar la decantación y acumulo de sólidos

que conduzcan a reacciones anaerobias que produzcan metabolitos tóxicos letales que puedan llegar a afectar el cultivo (Collazos y Arias, 2015).

La aireación es un requisito esencial de los sistemas Biofloc, ya que los sólidos deben estar suspendidos en la columna de agua en todo momento para el buen funcionamiento del sistema. Sin esta constante mezcla de sólidos, los bioflóculos se asientan y pueden acumularse consumiendo rápidamente el oxígeno disuelto, creando ambientes anóxicos letales para cualquier especie los niveles reportados en distintas investigaciones oscilan entre 3-8 mg/L (Wasiolesky *et al.*, 2006; Crab *et al.*, 2012; Emerenciano *et al.*, 2013; Monroy *et al.*, 2013).

4.4.2 Temperatura

La temperatura del agua en los estanques con Biofloc no es un factor que se pueda ajustar fácilmente sin el incremento de costos operativos adicionales considerables, especialmente en estanques al aire libre. En la mayoría de los casos, las condiciones climáticas determinan la temperatura de operación, una temperatura intermedia del agua entre 20-25 ° C se considera óptima para obtener bioflóculos estables (De Schryver *et al.*, 2008). Se ha podido comprobar que es un factor importante en la morfología del bioflóculo (Wilén, 1999).

4.4.3 pH

Respecto al pH, De Schryver *et al.*, (2008), indican que los cambios en este parámetro determinan la estabilidad de los bioflóculos presentes en el sistema de cultivo, en estos sistemas de producción el pH y la alcalinidad normalmente permanecen estables en el agua con rangos entre 7 – 9, existiendo una relación directa entre los procesos de nitrificación y la alcalinidad e inversos en relación con el pH, en este sentido cuando el pH es alto promueve toxicidad por amonio no ionizado (Avnimelech, 2009; Collazos y Arias 2015). También la temperatura del agua afecta al pH teniendo correlaciones positivas, es decir que mayor temperatura mayor pH y mayor amonio tóxico (De Schryver *et al.*, 2008).

4.4.4 Sólidos suspendidos

El perfil de sólidos en un contenedor con Biofloc es sin duda el indicador de calidad más relevante del sistema pues esto indicara si existe una buena formación de bioflóculos o no. Diferentes tipos de sólidos existen en un tanque con Biofloc, los más comunes y fáciles de determinar son los sólidos

sedimentables (SS), otros son los sólidos suspendidos totales (SST) y los sólidos suspendidos volátiles (SSV) (Collazos y Arias, 2015, Avnimelech, 2009).

Para mantener el buen funcionamiento de los sistemas la densidad de bioflóculos debe estar entre 10 y 15 ml/L. El exceso de sólidos suspendidos, incrementa el consumo de oxígeno en el sistema, además puede llegar a cubrir las branquias y limitar el intercambio de oxígeno, resultando en mortalidades de los organismos, o dificultar su crecimiento. El excedente debe ser cosechado para que pueda ser aprovechado como fuente de proteínas para los organismos, de manera directa o en forma de harina o piensos (Emerenciano *et al.*, 2011; Avnimelech, 1999).

4.4.5 Fuente orgánica de carbono

La fuente de carbono sirve como sustrato para operar los sistemas Biofloc, en consecuencia, para el crecimiento de las comunidades heterótrofas y la generación de energía se necesitan fuentes de carbono suplementarias. La elección de estas va en función de su costo, su disponibilidad local y la asimilación por parte de las bacterias.

La melaza se ha utilizado como el principal promotor del crecimiento bacteriano en estanques utilizados con sistemas Biofloc debido a que es fácilmente asimilable por las bacterias. Wasielesky *et al.* (2006) sugirieron el uso de melaza en la formación de Biofloc y una relación C / N equilibrada en la fase de crecimiento de *L. vannamei* controla los niveles de amoníaco. Emerenciano *et al.* (2007) utilizó salvado de trigo y melaza en cultivos de *Farfantepenaeus paulensis* y recomendó nuevos estudios para evaluar otras fuentes de carbono.

Algunas investigaciones indican que las diferentes las fuentes de carbono pueden afectar la composición, estructura y estabilidad del Biofloc (Wei *et al.*, 2016; Hollender *et al.*, 2002, Oehmen *et al.*, 2004). Un ejemplo de esto es un experimento de laboratorio a pequeña escala realizado por Crab *et al.* (2010) en donde observó que las fuentes carbono conducían a diferencias en cuanto a los porcentajes de proteína, lípidos, hidratos de carbono y ácidos grasos contenidos en los bioflóculos. Por otro lado, como ya se mencionó el capítulo anterior, existen diferentes opciones como fuentes alternativas de carbono que contrastan con la melaza en su costo y disolución en agua de cultivo. Algunas de las fuentes de carbono empleadas en diversos estudios, se resumen en la tabla 7.

Tabla 7 Diferentes fuentes de carbono utilizadas en sistemas de cultivo Biofloc

Fuente de Carbono	Referencia
Tapioca	(Hari <i>et al.</i> , 2004)
Melaza	(Samocha <i>et al.</i> , 2007)
Harina de trigo	(Azim y Little, 2008)
Sacarosa	(Khun <i>et al.</i> , 2009)
Almidón	(Crab <i>et al.</i> , 2009)
Acetato	(Crab <i>et al.</i> , 2010)
Harina de maíz	(Asaduzzaman <i>et al.</i> , 2010)
Glicerol y glucosa	(Crab <i>et al.</i> , 2010, Ekasari <i>et al.</i> , 2010)
Salvado de trigo y melaza	(Emerenciano <i>et al.</i> , 2012)
Almidón, glucosa y glicerol	(Wei <i>et al.</i> , 2016)
Melaza, harina de maíz y salvado de trigo	(Wang <i>et al.</i> , 2016)

4.5 Diversidad de microorganismos en el Biofloc (función ecológica e importancia nutricional)

Los microorganismos son parte esencial de los ecosistemas pues, constituyen un componente esencial de las redes tróficas de los ambientes marinos y dulceacuícolas tanto en actividad como en cantidad de biomasa, contribuyendo a la regeneración de nutrientes e interactuando con una extensa gama de organismos (Monroy *et al.*, 2015).

Dentro de la amplia diversidad de microorganismos que conforman los bioflóculos se encuentran, bacterias, microalgas, levaduras, agregados de materia orgánica, rotíferos, ciliados, protozoos, nematodos y copépodos (Monroy *et al.*, 2013, Collazos y Arias, 2015), esta biodiversidad de especies, dependerá de la fuente de carbono y la especie cultivada (Ray *et al.*, 2010).

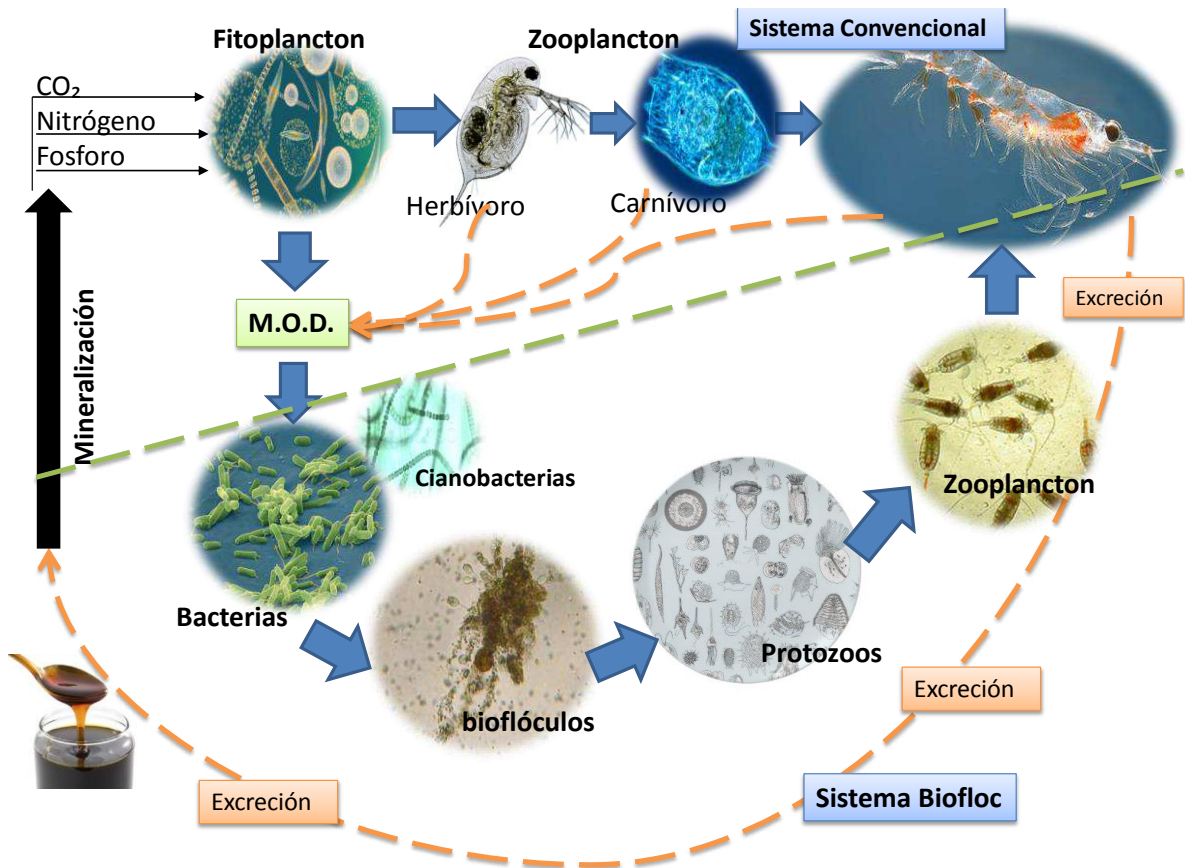
4.5.1 Bacterias.

En los sistemas de producción acuícola se desarrollan un sin número de grupos microbianos y específicamente bacterias y hongos unicelulares, los cuáles pueden actuar de manera positiva en la transformación de la materia orgánica, en la remoción de compuestos contaminantes y como fuente de biomasa microbiana disponible para organismos de mayor tamaño (De Scryver *et al.*, 2008), de entre estos grupos el más importante dentro del sistema Biofloc es el de las bacterias heterótrofas.

La importancia de promover el crecimiento de bacterias heterótrofas es debido a que estas están involucradas en una mejor remoción de los residuos contaminantes, a través de su metabolismo, estas bacterias liberan muchos compuestos inorgánicos al ambiente, que puede ser utilizados por otros seres vivos, además producen exo-enzimas que descomponen diversos compuestos como la celulosa, la lignina, la queratina y otras moléculas naturales difíciles de transformar. Los procesos de desnitrificación y la descomposición, no se llevarían a cabo de forma tan eficaz, sin las funciones realizadas por los microorganismos heterótrofos (Avnimelech, 1999).

En los sistemas de producción acuícola, la calidad del agua se ve afectada por el alimento no consumido, los desechos tóxicos como el nitrógeno amoniacal, que es liberado por difusión e intercambio iónico a través de las branquias, orina y heces de los organismos en cultivo (Crab *et al.*, 2102) y estos microorganismos heterótrofos son los encargados de minimizar el impacto a través de la remoción de nitrógeno amoniacal mediante el proceso de nitrificación que consiste en la sucesiva oxidación del amoníaco primero a nitrito y finalmente a nitrato. En los sistemas BTF, la transformación de los compuestos nitrogenados tóxicos es más eficiente, debido a que este proceso lo llevan a cabo bacterias heterótrofas facultativas que corresponden principalmente al género *Bacillus* y *Pseudomonas* (Monroy *et al.*, 2015). Además la presencia de materia orgánica en forma de carbono inhibe la desnitrificación por los autótrofos, por lo que crecen muy lentamente en comparación con las heterótrofas que incrementan sus poblaciones mucho más rápido en aguas con mayor contenido de materia orgánica y alta oxigenación por lo que pueden transformar el nitrógeno amoniacal en compuestos con toxicidad baja; incluso algunas de ellas transforman dicho compuesto para producir biomasa microbiana y permite la generación de diversos protozoarios en muy corto plazo (días) en comparación con los sistemas convencionales Fig. 3 (Monroy *et al.*, 2015, Ebeling *et al.*, 2006).

Figura 3 Utilización de la cadena microbiana en los BTF



(Modificado de Azam et al., 1995)

Otros grupos igualmente importantes son los microorganismos degradadores, estos se encargan de la transformación de almidón, celulosa, quitina y fenoles entre otros compuestos, que se producen a partir de los desechos de los organismos cultivados como escamas, esqueletos, tejidos y caparzones, así mismo se conoce de la presencia de bacterias quitinolíticas las cuales son fundamentales en los cultivos marinos y dulceacuícolas pues posibilitan la restauración de los niveles de carbono y nitrógeno a través de la degradación de quitina en la columna de agua y son altamente eficientes en aprovechar los desechos de caparzones de diversos crustáceos u otros organismos que poseen quitina en su estructura y que se encuentran en el sistema (Cardoso et al., 2012). Dentro de este grupo se encuentran los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Alteromonas*, *Micrococos*. Igualmente estos géneros son importantes para la solubilización de elementos como el fosfato de calcio, hierro y aluminio, dejándolos disponibles en el ambiente para la producción de diversos protozoarios, rotíferos, nematodos y una serie de organismos que a su vez pueden ser aprovechados como alimento natural *in situ* por las especies cultivadas (Avnimelech, 2009; Martínez-Córdova et al., 2011; Monroy et al.,

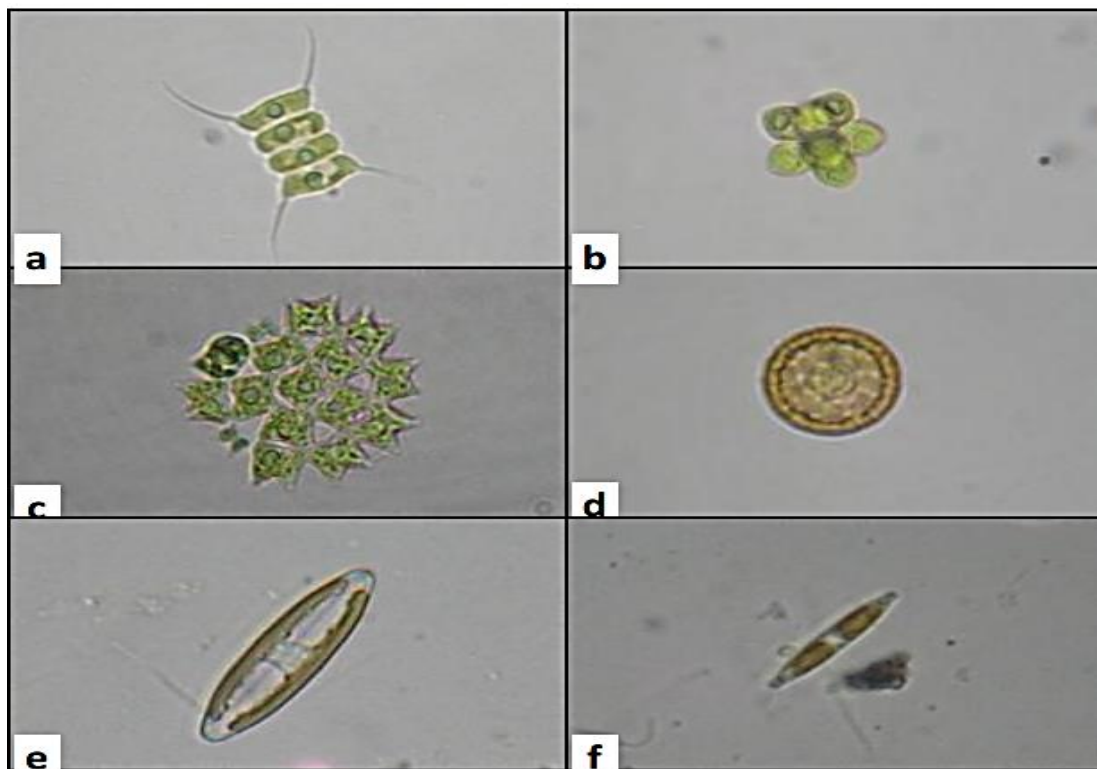
2015).,dentro de los géneros conocidos con esta característica se encuentran *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Alteromonas*, y *Micrococos* (Monroy *et al.*, 2015).

4.5.2 Fitoplancton

Dentro de las microalgas presentes en este tipo de sistemas, algunas por ejemplo utilizan el amoníaco, y los compuestos menos peligrosos como el nitrito y nitrato para la construcción de estructuras tales como proteínas y azúcares, además de aportar oxígeno durante el día. Diversas especies fitoplanctónicas, en su mayoría diatomeas, son nutritivas y pueden beneficiar la producción de las especies, debido a sus aportes de aminoácidos esenciales y ácidos grasos altamente insaturados (Moss, 2001).

De entre los géneros y especies reportadas por diversos autores se encuentran; *Scenedesmus quadricauda*, *Coelastrum sp.*, *Pediastrum dúplex*, *Cyclotella sp*, *Navicula sp*, *Synedra sp*, *Fragilaria sp*, *Fragilaria*, *Orthoseira*, *Rhabdonema*, *Ulothrix*, *Skeletonema*, *Cylindrotheca*, *Hemiaulus*, *Phymatodocis*, *Ulothrix*, *Cyanobacteria Chlorophyta*, *Bacillariophyta*, *Euglenophyta* y *Dinophyta*. (Figura 4). (Ferreira y Otavio 2014; Castro *et al.*, 2014; Monroy *et al.*, 2013; Brito *et al.*, 2013)

Figura 4 Fitoplancton (40X) presente en un cultivo de *Oreochromis niloticus*, a) *Scenedesmus quadricauda*, b) *Coelastrum* sp., c) *Pediastrum dúplex*, d) *Cyclotella* sp., e) *Navicula* sp. y f) *Synedra* sp



(Castro et al., 2014)

El valor nutrimental de las microalgas, está relacionado con el ambiente en el que se desarrollan y los compuestos inorgánicos que utilizan para su crecimiento. La composición de carbohidratos, en términos de azúcares específicos, puede variar considerablemente entre las especies de algas. Generalmente la glucosa se encuentra en concentraciones mayores, seguido por galactosa, manosa y ribosa. El contenido de proteínas en las algas puede variar de un 30 a un 65% de su peso seco (Becker, 1986). En las Chlorofitas, los ácidos grasos saturados pueden constituir del 15 al 30% de los ácidos grasos totales; en las diatomeas constituyen del 30 al 40%. Las microalgas verdes presentan bajas concentraciones de ácidos grasos monoinsaturados y altas concentraciones de poliinsaturados que son de gran importancia para el crecimiento de peces y crustáceos. (Fernandez-Reiriz, 1989). Por lo anterior, en la actualidad se han destinado diferentes microalgas para su uso en acuicultura, tomando en consideración sus aportes nutritivos y su importancia ecológica ya que son la base de toda la cadena alimenticia acuática (Muller, 2000).

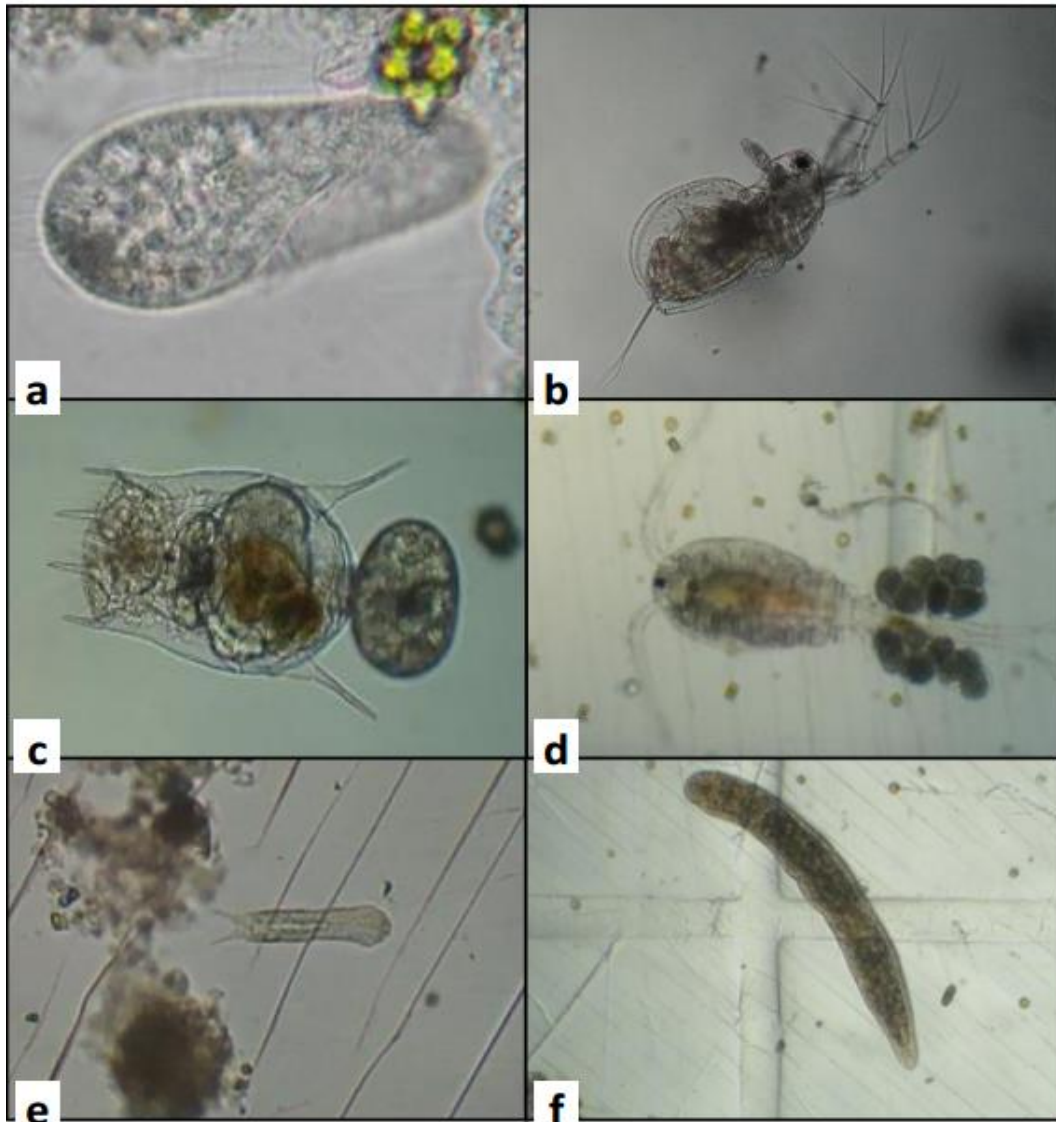
Existe una importante relación microalga-bacteria como determinante de los grupos que se desarrollan en los ambientes acuáticos, de tal manera que el aumento de bacterias heterótrofas transformadoras de carbono, posibilitan un incremento de diatomeas en el sistema y restringe a otros grupos como las cianobacterias que son potencialmente nocivas en los sistemas acuícolas debido a que pueden formar capas superficiales que se adhieren a las branquias de los peces ocasionando de esta manera mortalidades, además de que algunos géneros como *Anabaena*, y *Oscillatoria* poseen la capacidad de producir metabolitos tóxicos que se pueden incrementar en el caso de un crecimiento exponencial (Monroy *et al.*, 2013; Massaut y Ortiz 2003).

4.5.3 Zooplancton

A través de columna de agua de los sistemas Biofloc se produce una interacción compleja entre materia orgánica, sustrato físico y gran variedad de microorganismos, como rotíferos, ciliados, flagelados protozoarios, copépodos, y nematodos entre otros (Fig. 5), estos organismos de la red alimentaria microbiana han sido propuesto como posibles fuentes de alimentos para los animales acuáticos Esta productividad natural desempeña un papel importante en el reciclaje de nutrientes y mantenimiento de la calidad del agua, además representan un papel clave en la nutrición de los animales cultivados (Emerenciano *et al.*, 2013).

El consumo de zooplancton presente en el Biofloc ha demostrado innumerables beneficios tales como como la mejora de la tasa de crecimiento, disminución en el factor de conversión alimenticia y los costos asociados al alimento balanceado (Hargreaves, 2013), los bioflóculos contribuyen significativamente como fuente de alimento natural *in situ*, debido al gran número de organismos que pueden ser asociados a ellos (Monroy *et al.*, 2013).

Figura 5 Zooplancton presente en un cultivo de *Oreochromis niloticus* en sistema Biofloc, a) protozooario 40X, b) cladóceros 10X, c) rotíferos 10X, d) copépodos 5X, e) gastrotrícos 40X y f) nemátodos 5X.



(Castro et al., 2014)

4.6 Aportes nutricionales del Biofloc

En un principio las investigaciones con Biofloc se centraron en evaluar sus beneficios ambientales por medio de la reducción de uso del agua, la reducción de las descargas de agua de cultivo y las medidas de bioseguridad que esto implica. Sin embargo, uno de los principales beneficios del sistema Biofloc es que puede proporcionar nutrientes tales como "proteína nativa" (Emerenciano et al., 2011), lípidos (Wasielesky et al., 2006), aminoácidos (Ju et al., 2008) y ácidos grasos (Izquierdo et al., 2006, Ekasari

et al., 2010). Todo esto mediante de los diversos microorganismos que conforman los bioflóculos mismos que se encuentran disponibles como fuente de alimento todo el día en forma de bioflóculos suspendidos en la columna de agua.

El valor nutricional de los bioflóculos estará en función de los grupos de microorganismos que los conformen y este ha sido reportado por diversos autores, un ejemplo de esto es la investigación desarrollada por Maicá *et al.* (2012), en la cual reportaron valores de proteína de 28,7 a 43,1% y de lípidos entre 2,11 y 3,62% en bioflóculos utilizados para cultivar *L. vannamei* en un sistema con melaza como fuente de carbono; mientras que Azim y Little (2008) obtuvieron niveles de 38% para proteína y entre 3.16 y 3.23% para lípidos un cultivo de tilapia con bioflóculos generados a partir de harina de trigo como fuente de carbono; por otro lado, Emerenciano *et al.* (2011) reportaron porcentajes de proteína de 30.4%, carbohidratos 29.1% y lípidos 0.5 en un sistema adicionado con melaza; Crab *et al.* (2009), emplearon como fuente de carbono acetato, glicerol y glucosa encontrando valores entre 42 y 58.9 % de proteína en peso seco en sus distintos tratamientos; López Tarín (2011) llevó a cabo un cultivo de tilapia en un sistema cerrado, sustituyendo parcialmente el alimento formulado con bioflóculos promovidos con melaza y encontró que la composición de los mismos presentó niveles aceptables de proteínas y lípidos.

Distintos autores indican que la calidad nutricional del Biofloc es buena en cuanto a proteínas y grasas, también aportan un adecuado contenido de carbohidratos y cenizas para su uso como alimento en acuicultura, por otro lado, existen pocos informes sobre la aportación de aminoácidos esenciales como metionina y lisina por parte del Biofloc. Los bioflóculos también son buenas fuentes de vitaminas y minerales, especialmente fósforo (Crab *et al.*, 2011; Hargreaves, 2013; Emerenciano *et al.*, 2013).

Los nutrimentos contenidos en el Biofloc representan una fracción considerable de los requerimientos nutricionales de varias especies acuícolas (Crab *et al.*, 2010; Tacon *et al.*, 2002). Diversos investigadores coinciden en que la aplicación de la tecnología Biofloc mejoró la conversión alimenticia y la retención de proteínas, indicando que indirectamente el consumo de Biofloc contribuye al crecimiento de los organismos cultivados (Avnimelech, 2009, Wasieliesky *et al.*, 2006; Ekasari *et al.*, 2014).

Aun es escasa la literatura que describa las variaciones en la calidad nutricional de los bioflóculos como resultado del uso de diferentes fuentes de carbono, por lo que se requiere seguir investigando (Wei *et al.*, 2016).

4.7 Pregunta de investigación

¿El uso de distintas fuentes de carbono (melaza, harina de arroz y residuos de café) empleadas para la generación de bioflóculos en un sistema Biofloc, influirá en la composición nutricional de los mismos?

4.8 Hipótesis

Al adicionar melaza, harina de arroz o residuos de café como fuente de carbono, se incrementará en un 20 % el contenido de proteína cruda, lípidos crudos, fibra cruda, ceniza, así como Ca, Mg, Fe, K y Na contenido en el sistema, en comparación con el control o sistema convencional

5. Material y métodos

5.1 Diseño experimental y condiciones de cultivo

En el experimento se emplearon tanques de plástico para exteriores, con capacidad de 80 L, los cuales se llenaron con agua dulce de clorada. Se introdujeron 15 tilapias por estanque con un peso promedio de $4,2 \pm 1,08$ g para fertilizar el sistema, a las cuales se les suministro alimento comercial diariamente (Alimentos del Pedregal®, Toluca, Estado de México, México) con un contenido de proteína de 45% y un tamaño de partícula de 0.6-0.8 mm. No se realizó recambio de agua, pero las pérdidas por evaporación se compensaron con agua dulce de clorada. El agua de los tanques se aireó y agitó continuamente usando piedras difusoras conectadas a una bomba de aire. El experimento se llevó a cabo durante un período de 12 semanas.

Para promover la generación de los flóculos se utilizaron tres fuentes de carbono; melaza, harina de arroz y residuos de café y un control sin fuente de carbono. Cada tratamiento se realizó por triplicado y se asignó de manera aleatoria. La fuente de carbono y el alimento se añadieron una vez al día en una cantidad correspondiente a una relación C / N de 20:1, tomando en cuenta los porcentajes de carbono y materia seca contenida en la fuente externa de carbono, así como el porcentaje de nitrógeno contenido en el alimento, de acuerdo a la siguiente fórmula modificada de Emerenciano (2011).

1° Paso: calcular la relación C:N presente en el alimento

$$C \text{ (g)} = \% \text{ de biomasa} \times \% \text{ MS (alimento)} \times 0.7 \text{ (asimilación)} \div 2 \times 10$$

$$N \text{ (g)} = \% \text{ de biomasa} \times \% \text{ MS (alimento)} \times 0.7 \text{ (asimilación)} \times \% \text{ PB} \div \text{FC (6.25)} \times 10$$

2 ° Paso: Ajuste C: N

- Calcular de cantidad de carbono en sustrato por cada kg.

$$C \text{ (g)} = \% \text{ MS} \times \% \text{ C}$$

- Calcular la cantidad de sustrato necesario para obtener la relación C: N deseada

$$C \text{ para C: N} = N \text{ (g) alimento} \times \text{unidades de C deseadas}$$

$$C \text{ (g)} = C \text{ (g) alimento} \times C \text{ para C: N}$$

5.2 Valoración de la calidad de agua y de sólidos sedimentables

La evaluación de los parámetros de calidad de agua se realizó una vez por semana, la temperatura del agua (°C), el oxígeno disuelto y el pH se determinaron mediante un medidor multiparamétrico marca Hanna modelo HI 9829. Los niveles de nitrógeno amoniacal total (TAN, mg/L), nitrito (NO₂⁻, mg/L), nitrato (NO₃⁻-mg/L) fueron analizados por espectrofotometría mediante un autoanalizador HANNA Aquaculture Photometer modelo HI83203 de acuerdo con los métodos estándar de HANNA (HANNA Company, 2003). Para monitorear la cantidad de sólidos sedimentables producidos en el sistema "Biofloc" se utilizó un cono Imhoff con agua, evitando verter la muestra por las paredes del cono, hasta la marca de 1L para su posterior sedimentación por un tiempo de 15 a 20 minutos. Finalmente se anotó el volumen de sólidos sedimentables como mL/L. Este procedimiento se llevó a cabo semanalmente hasta el final del experimento (Avnimelech, 2009)

5.3 Caracterización de microorganismos presentes en los bioflóculos

Para la identificación de los microorganismos asociados al Biofloc se concentraron bioflóculos semanalmente, mediante un tamiz de malla de 10 μ , se diluyeron en 100 mL de agua destilada. Posteriormente se tomaron muestras de 150 μ L de agua y se fijaron con formalina al 5%, para la observación y contabilización directa sobre portaobjetos esmerilados estándar 76x26 mm con espesor de 2 mm realizando cuatro barridos sobre el portaobjetos con un microscopio óptico (Olympus BX50) con contraste de fases. La identificación taxonómica de los grupos observados se efectuó de acuerdo a Aladro (2009) y Patterson (1996).

5.4 Análisis proximal de los bioflóculos

Para el análisis proximal de los bioflóculos se concentraron muestras de cada tanque a través de un tamiz de malla de 10 μ m al final de las 12 semanas. Las muestras se secaron en un horno a 45 °C, se molieron y se almacenaron a temperatura ambiente para la determinaron de proteína, lípidos, fibra y cenizas de acuerdo a AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 2000), dichos análisis se realizaron en el laboratorio de bromatología del Departamento de Producción Agrícola y Animal de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

5.4.1 Determinación de ceniza y materia orgánica

Las muestras se pesaron mediante una balanza analítica (Radwag AS220/C/2) en crisoles de porcelana a peso constante previamente etiquetados y se conservaron en un desecador, posteriormente se pesó 1 gramo de la muestra molida y seca en cada crisol registrando el peso exacto. Las muestras se colocaron en una mufla (Felisa FE-341) para su incineración a una temperatura entre 550-600 °C, durante 2 horas y media, las muestras se retiraron de la mufla y colocaron en una estufa de 100 °C por 15 minutos, se enfriaron en desecador por 20 minutos y se pesaron los crisoles con cenizas registrando nuevamente el peso exacto en la balanza analítica, el porcentaje de cenizas en base seca se obtuvo mediante los siguientes cálculos:

$$PM = PCM - PCV$$

Donde:

PM= Peso de muestra (g)

PCM= Peso del crisol con muestra (g)

PCV= Peso del crisol vacío (g)

$$PC = PCC - PCV$$

Donde:

PC= Peso de las cenizas (g)

PCC= Peso del crisol con cenizas (g)

PCV= Peso del crisol vacío (g)

$$\%Cbs = PC \times 100 / PM$$

Donde:

%Cbs = % de cenizas en base seca

$$\%MO = 100 - \%Cbs$$

%MO = materia orgánica

5.4.2 Determinación de grasa cruda

La determinación de grasa cruda se realizó en un equipo digestor de grasa Goldfisch (Craft EG 400). Se emplearon vasos para grasa Goldfisch a peso constante, previamente pesados y etiquetados en la balanza analítica. 2 gramos de la muestra fueron pesados en papel filtro y con ellos se realizaron paquetes doblando cuidadosamente el papel filtro, dichos paquetes se colocaron en cartuchos porosos e insertados en los porta cartuchos para extracción de grasa, a continuación se colocaron en las abrazaderas del aparato Goldfisch, y se colocaron los vasos conteniendo éter de petróleo (medio cuarto de su capacidad), una vez colocadas las muestras se realizó la extracción por un periodo de 4 horas revisando que el éter mantuviera un nivel adecuado en los vasos. Transcurrido el tiempo se retiraron los porta cartuchos y se colocaron en su lugar dedales de recuperación para el éter, los paquetes de muestras desengrasadas se conservaron para la determinación de fibra cruda. Una vez

que se evaporó todo el éter, los vasos con grasa se retiraron y fueron colocados en horno a 100 °C durante 5 minutos posteriormente se sacaron y se dejaron enfriar en desecador durante 20 minutos y fueron pesados en la balanza analítica, el porcentaje de grasa cruda en base seca se determinó mediante los siguientes cálculos:

$$PG = PVG - PVV$$

Donde:

PVG= Peso del vaso con grasa (g)

PVV= Peso del vaso vacío (g)

PG= Peso de la grasa (g)

Donde:

$$\%GCbs = PG \times 100 / PM$$

%GCbs = Porcentaje de grasa cruda base seca

PG= Peso de la grasa (g)

PM= Peso de la muestra (g)

5.4.3 Determinación de fibra cruda

La determinación de fibra cruda se realizó en un equipo digestor de fibra (Prendo DEK-06), sometiendo la muestra seca y desengrasada a una primera digestión ácida y posteriormente a una alcalina. Se pesó 1g de muestra y se colocó en un vaso digestor Berzelius etiquetado con el número de muestra, se le agregaron 200 mL de ácido sulfúrico al 0.255 N, los vasos se colocaron en el aparato digestor de fibra previamente calentado y se mantuvieron en ebullición durante 30 min, posteriormente se filtró la muestra sobre tela de algodón con ayuda de un embudo Buchner, matraz Kitazato y una bomba de vacío, enjuagando la muestra con pequeñas porciones de agua hirviendo cuidando de que no quedara muestra en los vasos (el agua del filtrado se desechó), se raspó la muestra contenida en la tela lavándola con una solución de NaOH al 0.313 N, depositándola sobre el mismo vaso y se aforó a 200 mL con la misma solución y se mantuvo en ebullición durante 30 min para la segunda digestión, se filtró la muestra con filtros de papel cuantitativos libres de ceniza 4-12 µm marca Whatman©, la muestra contenida en los filtros se dobló en cuatro y se colocó en charolas de aluminio dentro de una estufa a temperatura de 60 °C durante 24 hrs, transcurrido el tiempo las muestras se pesaron en

crisoles a peso constante y se calcinaron en la mufla a 550-600 °C durante dos horas, posteriormente se enfriaron durante 15 min en una estufa a °C y por ultimo 30 minutos en desecador, para ser pesadas en la balanza analítica, el porcentaje de fibra cruda se determinó mediante los siguientes cálculos:

PF: PCMAI – PCMDI

Donde:

PF= Peso de la fibra (g)

PCMAI = Peso del crisol con muestra antes de incinerar (g)

PCMDI = Peso del crisol con muestra después de incinerar (g)

$\% \text{FCsyd} = \text{PF} \times 100 / \text{PM}$

Donde:

$\% \text{FCsyd} = \%$ de fibra cruda seca y desengrasada

Donde:

PF= Peso de la fibra (g)

PM = Peso de la muestra (g)

$\% \text{FCbs} = \% \text{FCsyd} (100 - \% \text{GCbs}) / 100$

Donde:

$\% \text{FCbs} = \%$ de fibra cruda base seca

$\% \text{GCbs} = \%$ grasa base seca

5.4.4 Determinación de proteínas

La determinación de proteína se realizó en un equipo digestor y destilador de proteína (JP-Selecta 20). Se pesó en la balanza analítica 0.3g de la muestra y se depositó en tubos FOSS de digestión, posteriormente se agregaron los reactivos para digestión 2 tabletas Kjeltek, se agregaron 12.5 ml de ácido sulfúrico concentrado se pusieron a digerir en el equipo de acuerdo a las instrucciones del fabricante, transcurrido el tiempo se retiraron las muestras y se enfriaron durante 20 min en la campana de extracción, posteriormente se procedió a la destilación vertiendo la muestra en matraces

Erlenmeyer de 250 ml, adicionando 30 ml de ácido bórico al 4% y 3 gotas de indicador de proteínas, se tituló con ácido clorhídrico al 0.1 N hasta que la solución viro a color rosa, el porcentaje de proteína cruda se obtuvo mediante los siguientes cálculos:

$$\%N = (V_m - V_b) (N) (\text{meq. N}) \times 100 / PM$$

Donde:

$\%N$ = % de nitrógeno

V_m volumen (mL) gastado de HCL en la titulación de la muestra

V_b = volumen (mL) gastado de HCL en la titulación del blanco.

Meq. N = miliequivalente del nitrógeno (0.014)

$$\%PCbs = (V_m - V_b) (N) (\text{meq. N}) (\text{factor}) \times 100 / PM$$

Donde:

$\%PCbs$ = % de proteína cruda base seca

Factor = factor de nitrógeno para convertir a proteínas (6.25)

5.5 Determinación de micronutrientes

El análisis de minerales (Ca^{+2} , Mg^{+2} , Fe^{+2} , K^{+1} y Na^{+1}) se realizó en el laboratorio de Edafología y Absorción Atómica del departamento El Hombre y su Ambiente de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco, la mineralización de la materia orgánica (muestras) se realizó de acuerdo con los métodos tradicionales de digestión húmeda y de calcinación de la AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 2000). 1g de las muestras secas y pulverizadas fueron sometidas a una primera digestión en 10 ml de ácido nítrico (HNO_3) durante 30 minutos en un horno de microondas Milestone Modelo Start D © calibrado para muestras orgánicas, posteriormente las muestras fueron filtradas por gravedad utilizando papel filtro y el producto de la filtración conteniendo la muestra líquida se sometió a calcinación en un espectrómetro de absorción atómica Varian 220 Fastsequential ©, equipado con una lámpara específica para cada mineral examinado, donde la muestra fue nebulizada y luego la diseminada en forma de aerosol dentro la llama. Se realizó una curva patrón mediante soluciones con contenido conocido de cada mineral a analizar.

5.6 Análisis de datos

Para todos los datos se creó una base de datos en el software Excel 2013 para un primer análisis mediante estadística descriptiva. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando SYSTAT 13 software (SPSS, Chicago, IL, EE.UU.). Las medias de los parámetros de calidad del agua y los contenidos nutricionales se analizaron mediante un ANOVA de una vía. Se consideraron diferencias significativas a un nivel de $P < 0.05$. Cuando se observaron diferencias significativas se utilizó la prueba de Tukey para identificar las diferencias entre los grupos experimentales.

6. Resultados

6.1 Parámetros de la calidad del agua

Los parámetros de calidad del agua monitoreados durante el período experimental no mostraron diferencia significativa para temperatura, pH, nitrito y nitrato, respecto al oxígeno disuelto se observó diferencia significativa entre el control y los tratamientos, teniendo el control la concentración más alta (9.16 ± 3.48), todos los parámetros estuvieron dentro de los niveles tolerables para el cultivo de especies en Biofloc, con excepción de la temperatura la cual se considera más baja de lo recomendable, rondando alrededor de los 20°C (tabla 8).

Tabla 8 Parámetros de calidad del agua registrados en cultivos Biofloc generados a partir de distintas fuentes de carbono

Variable	Control	Harina de arroz	Residuos de café	Melaza
Temperatura (°C)	20.32 ± 1.00	20.34 ± 1.09	19.55 ± 3.33	20.54 ± 1.06
OD (%)	9.16 ± 3.48 ^a	7.55 ± 6.27 ^b	7.78 ± 7.96 ^b	7.89 ± 8.40 ^b
pH	7.95 ± 0.25	7.84 ± 0.25	7.90 ± 0.26	7.91 ± 0.21
NH ₄ —N (mg/L)	1.82 ± 3.25	1.52 ± 2.26	1.02 ± 1.05	1.23 ± 2.54
NO ₂ —N (mg/L)	4.06 ± 4.72	2.46 ± 3.26	1.86 ± 2.89	2.06 ± 3.13
NO ₃ —N (mg/L)	19.70 ± 15.9	15.66 ± 13.12	16.24 ± 14.56	13.38 ± 10.83

Cada valor representa la media y su desviación estándar. Los valores medios en la misma fila con diferentes superíndices indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

6.2 Caracterización planctónica

A partir de la tercera semana comenzó la colonización por parte de los microorganismos, dentro de los principales grupos observados se encuentran: microalgas, protozoarios, ciliados y rotíferos.

6.2.1 Biofloc con harina de arroz

En la tabla 9 se presenta la información acerca de la abundancia (org mL^{-1}) del plancton observado en el tratamiento con H.A, los géneros fitoplanctónicos se observaron únicamente hasta la semana 6, siendo el género *Eudorina* quien presentó mayor abundancia con un promedio de 250 org mL^{-1} durante las semanas 4 y 5, en cuanto a ameboides y flagelados solo *Amisonema* y *Peranema* permanecieron hasta la semana 12 de experimentación. En lo que respecta a los ciliados se observó que los géneros *Podophyra*, *Litonotus*, *Paramecium*, *Tokophyra* y *Vorticella* se mantuvieron hasta el final del experimento, por otro lado se identificaron tres géneros de rotíferos *Philodina*, *Lecane* y *Lepadella* siendo este último el que predominó durante todo el experimento alcanzando una población máxima de 180 org mL^{-1} durante la semana cuatro, el género *Lecane* solo fue observado por un periodo de siete semanas.

Tabla 9. Abundancia Planctónica en Biofloc con harina de arroz como fuente de carbono a partir de la tercera semana de experimentación

Plancton	Semana									
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	2
Fitoplancton										
<i>Cianobacterias</i>	173	84	46	17	-	-	-	-	-	-
<i>Eudorina</i>	84	248	253	80	-	-	-	-	-	-
<i>Coleastrum</i>	73	128	89	28	-	-	-	-	-	-
Ameboides y flagelados										
<i>Amebas</i>	146	33	148	-	-	-	-	-	-	-
<i>Heliozoo</i>	0	12	61	-	-	-	-	-	-	-
<i>Actinophrys</i>	19	65	51	-	-	-	-	-	-	-
<i>Amisonema</i>	25	105	61	179	72	166	40	34	24	20
<i>Peranema</i>	81	220	128	114	74	99	73	86	56	35
Ciliados										
<i>Euplotes</i>	-	36	99	121	181	190	48	23	17	9
<i>Ephistilys</i>	-	-	69	31	54	32	6	-	-	-
<i>Podophyra</i>	59	201	101	113	111	81	74	82	52	33
<i>Acineta</i>	-	-	91	64	89	76	44	58	55	35
<i>Litonotus</i>	60	66	24	75	74	57	56	59	45	3
<i>Paramecium</i>	30	167	86	88	73	93	37	11	16	15
<i>Tokophyra</i>	10	65	67	80	30	48	57	28	3	3
<i>Coleps</i>	-	24	33	52	41	49	34	32	24	-
<i>Aspidisca</i>	-	-	-	24	18	28	26	13	5	-
<i>Vorticella</i>	81	228	105	85	173	74	25	17	12	33
Rotíferos										
<i>Philodina</i>	61	63	36	54	62	51	23	33	43	61
<i>Lepadella</i>	98	180	107	91	78	79	48	40	24	21
<i>Lecane</i>	-	53	51	42	30	37	23	28	-	-

6.2.2 Biofloc con residuos de café

En este tratamiento los géneros fitoplanctónicos *Eudorina* y *Colellastrum* se observaron durante tres semanas con una densidad máxima de 107 y 104 org mL⁻¹ respectivamente, mientras que las cianobacterias se observaron por un periodo de cuatro semanas, respecto a los protozoarios menores (amebas y flagelados) su aparición y permanencia fue intermitente siendo el flagelado *Peranema* el que se observó con más frecuencia alcanzando su máxima población durante la cuarta semana (tabla 3). Al respecto de los ciliados de los siete géneros observados solo *Litonotus*, *Paramecium* y *Vorticella* se mantuvieron desde el inicio de la colonización hasta el final del experimento. Entre los rotíferos el género *Lepadella* fue el más dominante con conteos iniciales arriba de 90 org mL⁻¹ pero incrementándose hasta 114 org mL⁻¹ durante la semana 5 promediando 74 org mL⁻¹ a lo largo del experimento, el género *Philodina* apareció a partir de la quinta semana (50 org mL⁻¹) permaneciendo hasta la once (43 org mL⁻¹).

Tabla 9 Abundancia planctónica en Biofloc con residuos de café como fuente de carbono a partir de la tercera semana de experimentación

Plancton	Semana									
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Fitoplancton										
Cianobacterias	91	97	62	26	-	-	-	-	-	-
<i>Eudorina</i>	98	107	85	-	-	-	-	-	-	-
<i>Coleastrum</i>	81	104	63	-	-	-	-	-	-	-
Ameboides y flagelados										
Amebas	53	38	28	-	-	-	-	-	-	-
<i>Amisonema</i>	-	35	-	94	54	64	47	-	-	9
<i>Peranema</i>	82	175	60	48	35	42	21	0	0	49
CILIADOS										
<i>Podophyra</i>	32	172	48	39	43	42	26	41	41	-
<i>Acineta</i>	-	-	51	40	82	102	15	18	18	16
<i>Litonotus</i>	83	33	19	24	21	22	21	22	22	10
<i>Tokophyra</i>	-	-	-	59	46	55	32	20	16	2
<i>Paramecium</i>	102	73	106	56	52	34	0	12	16	7
<i>Coleps</i>	-	120	82	87	87	84	59	49	24	10
<i>Vostichella</i>	79	199	56	52	59	49	26	19	12	25
Rotíferos										
<i>Philodina</i>			50	40	37	35	32	26	43	0
<i>Lepadella</i>	94	66	114	74	78	99	88	78	24	26
<i>Mniobia</i>	77	67	33	79	82	59	27	62	0	15

6.2.3 Biofloc con melaza

El resumen de las comunidades microbianas observadas en este tratamiento se muestra en la tabla 11. Al igual que en los otros dos tratamientos, la presencia de comunidades fitoplanctónicas estuvo representada por *Eudorina*, *Coleastrum* y cianobacterias y se limitó a las primeras cuatro semanas de colonización. El flagelado con más abundancia fue *Amisonema* alcanzando su máximo durante las semanas 6 y 8 con 152 y 147 org mL⁻¹ respectivamente, por su parte los géneros *Heliozoo* y *Actinophrys* solo se observaron las semanas cuatro y cinco. En relación a los ciliados, se observaron ocho géneros, cinco presentes de la semana tres a la doce, en donde *Paramecium* fue el predominante con 47 org mL⁻¹ en el conteo inicial, con de máximos de 133 y 114 org mL⁻¹ en las semanas cuatro y siete con decrementos consecutivos a partir de esta última. En este tratamiento se observaron dos géneros de rotífero, *Lepadella* a partir de la tercera semana y *Philodina* en la cuarta, ambos se mantuvieron hasta la última semana de experimentación.

Tabla 10 Abundancia planctónica en Biofloc con melaza como fuente de carbono a partir de la tercera semana de experimentación

Plancton	Semana									
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Fitoplancton										
<i>Cianobacterias</i>	98	48	39	33	-	-	-	-	-	-
<i>Eudorina</i>	48	72	93	36	-	-	-	-	-	-
<i>Coleastrum</i>	62	96	83	23	-	-	-	-	-	-
Ameboides y flagelados										
<i>Amebas</i>	92	33	87	-	-	-	-	-	-	-
<i>Heliozoo</i>	-	27	91	-	-	-	-	-	-	-
<i>Actinophrys</i>	-	11	57	-	-	-	-	-	-	-
<i>Amisonema</i>	17	128	48	152	100	147	67	56	54	44
<i>Peranema</i>	-	98	63	116	72	102	70	97	76	22
Ciliados										
<i>Podophyra</i>	-	122	-	113	112	110	50	28	23	22
<i>Acineta</i>	9	37	145	53	86	90	17	21	25	7
<i>Litonotus</i>	44	78	45	51	62	34	19	20	18	13
<i>Tokophyra</i>	-	-	-	82	81	77	56	16	14	17
<i>Paramecium</i>	47	133	109	96	114	66	46	34	28	29
<i>Coleps</i>	11	87	38	61	63	49	9	-	-	-
<i>Aspidisca</i>	-	-	-	46	29	35	40	26	12	0
<i>Vostichella</i>	129	113	38	69	113	69	39	29	24	27
Rotíferos										
<i>Philodina</i>	-	132	19	61	58	58	59	40	25	30
<i>Lepadella</i>	80	153	70	58	46	44	54	43	10	28

6.3 Análisis proximal de los bioflóculos

Los resultados de los análisis proximales realizados a los diferentes tipos de bioflóculos se muestran en la tabla 12. No se observaron diferencias significativas respecto a lípidos crudos, en cuanto al porcentaje de fibra cruda el tratamiento R.C fue significativamente superior a los otros tratamientos y el contenido de materia orgánica de este tratamiento también fue el más alto (93.3 ± 1.6) presentando diferencia significativa respecto al tratamiento MEL, el porcentaje de cenizas más alto se obtuvo en el tratamiento MEL (16.46 ± 2.72) y fue significativamente diferente del tratamiento R.S, los tratamientos H.A y MEL presentaron altos niveles de proteína (47.99 y 42.01% respectivamente). Con relación al contenido mineral en los bioflóculos, no hubo diferencias significativas en cuanto a Ca^{+2} , Mg^{+2} y Fe^{+2} , mientras que para Na^{+1} el tratamiento R.C registro el nivel más alto (33.66 ± 11.02) mostrando diferencia significativa respecto al tratamiento con MEL y para K^{+1} el contenido fue significativamente mayor en el tratamiento MEL.

Tabla 11 Análisis proximal de bioflóculos producidos a partir de distintas fuentes de carbono

Composición	Alimento comercial	Harina de arroz	Residuos de café	Melaza
Grasa (%)	5	2.16 ± 0.60	1.96 ± 0.31	2.50 ± 0.45
Proteína (%)	35	47.99 ± 2.78 ^a	30.28 ± 5.33 ^b	42.01 ± 4.93 ^a
Fibra cruda (%)	6	3.93 ± 0.94 ^b	29.10 ± 4.90 ^a	5.11 ± 0.97 ^b
M.O	n/d	88.2 ± 3.2 ^a	93.3 ± 1.6 ^a	83.5 ± 2.7 ^b
Cenizas (%)	5	11.82 ± 3.23 ^a	6.71 ± 1.60 ^b	16.46 ± 2.72 ^a
Na (mEq/l)	-	19 ± 4.58 ^a	33.66 ± 11.02 ^b	7.62 ± 2.89 ^a
Ca (mEq/l)	-	6.23 ± 0.36	4.17 ± 0.38	5.73 ± 2.20
Fe (mEq/l)	-	0.16 ± 0.02	0.14 ± 0.06	0.10 ± 0.03
K (mEq/l)	-	21.00 ± 6.56 ^a	7.33 ± 1.53 ^b	38.67 ± 16.17 ^a
Mg (mEq/l)	-	17.24	7.11	18.11

Cada valor representa la media y su desviación estándar. Los valores medios en la misma fila con diferentes superíndices indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$)

7. Discusión

Durante el desarrollo de este estudio en los distintos tratamientos (harina de arroz, residuos de café y melaza), los parámetros de calidad del agua se mantuvieron en un intervalo adecuado para el cultivo de tilapia, a este respecto diversos investigadores coinciden en que la aplicación de la tecnología Biofloc ofrece la posibilidad de mantener la calidad del agua de cultivo en niveles óptimos para la especie, sin la necesidad de realizar recambios (Wasieliesky *et al.*, 2006; De Schryver *et al.*, 2008; Avnimelech, 2009; Ekasari *et al.*, 2015, Lima *et al.*, 2015.).

De acuerdo con Ebeling *et al.* (2006) la formación y desarrollo de flóculos en altas relaciones C/N, se encuentra directamente relacionada con la asimilación de los compuestos nitrogenados. Por otro lado, López Elias *et al.* (2014) mencionan que la forma amoniacal se correlaciona estrechamente al pH, destacando que en pH alto la forma no ionizada del nitrógeno (NH₃) es dominante, los valores de pH registrados durante este experimento (7.90-7.95) beneficiaron el dominio de amonio en su forma no toxica. Moreira de Souza *et al.* (2014) mencionan que la calidad del agua en los sistemas de producción heterotróficos basados en microorganismos son más estables que aquellos sistemas basados en fitoplancton, así mismo Suita *et al.* (2015) y Wang *et al.* (2016), coinciden en que los microorganismos asociados al Biofloc juegan un rol muy importante en el mantenimiento de la calidad del agua pues participan en metabolizar los desechos provenientes tanto de excretas como de alimento no consumido, disminuyendo los compuestos nitrogenados, principalmente las formas más toxicas (amoniacal NH₃ y nitrito NO₂⁻), en nuestro experimento se apreció esta tendencia pues a partir de la colonización de los microorganismos se observó una disminución de los compuestos nitrogenados, sin la necesidad de realizar recambios de agua manteniendo niveles óptimos en el tratamiento con harina de arroz, residuos de café y melaza como fuente de carbono.

Crab *et al.* (2012), mencionan que la fuente de carbono empleada para la promoción de los flóculos estimula bacterias, protozoos y algas específicas y por lo tanto influye en la composición microbiana de los flóculos como también en sus propiedades nutricionales, en este estudio los principales grupos de microorganismos observados en los distintos tratamientos fueron microalgas, protozoarios, ciliados y rotíferos, representados por 16 géneros en el con tratamiento residuos de café (R.C), 18 géneros en tratamiento con melaza (MEL) y 22 géneros en el tratamiento con harina de arroz(H.A), respecto a los microorganismos fitoplanctónicos en los tres tratamientos únicamente se observaron cianobacterias así como los géneros *Coleastrum* y *Eudorina*, quienes obtuvieron la mayor abundancia

en el tratamiento H.A (253 org mL⁻¹) y fueron observados de la tercera a la sexta semana de experimentación en contraste con lo reportado por Hernández-Estrada *et al.* (2017), quienes en un experimento utilizando melaza como fuente de carbono indicaron la aparición y permanencia de microalgas desde el inicio de su experimento hasta el final del mismo, con densidades superiores a 600 org mL⁻¹, de igual modo, Castro *et al.*(2017) utilizando una combinación de pulido de arroz y melaza como fuente de carbono, indicaron la presencia de clorofitas, diatomeas y cianobacterias durante 10, 9 y 4 semanas respectivamente con conteos hasta de 900 org mL⁻¹ para las diatomeas, estas diferencias pueden atribuirse a que las variaciones de luz debidas a la aireación constante en el sistema se convierten en una limitante para el desarrollo de cianobacterias y favoreciendo el crecimiento de clorofitas y diatomeas (Green *et al.*, 2014), por otro lado, Monroy *et al.* (2013) Indican que los organismos fitoplanctónicos dominantes al inicio de la colonización en los sistemas Biofloc tienden a decrecer y desaparecer conforme este va madurando, tal como sucedió en este experimento, otro aspecto importante a resaltar de los organismos fitoplanctónicos es su valor nutricional, el cual está relacionado con el entorno en el que se desarrollan y con los compuestos inorgánicos que utilizan para su crecimiento, algunas especies frecuentemente observadas en el Biofloc pueden aportar buenos contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos (Becerril *et al.*, 2017).

Respecto a los ameboideos y flagelados, en este experimento se observaron además de amebas desnudas, microorganismos emparentados con estas de los géneros, *Heliozoo* y *Actinophrys*, así como los flagelados *Peranema*, y *Amisonema*, de acuerdo con Perez *et al.* (2009), la presencia de estos microorganismos está claramente asociada a una buena eficiencia en la eliminación de compuestos nitrogenados, cuestión que se vio reflejada en los bajos niveles de estos compuestos durante el desarrollo de este experimento.

En lo referente a los ciliados, en este trabajo se identificaron 10 géneros en el tratamiento con harina de arroz, similar a lo reportado por Hernández *et al.* (2017), quienes en su estudio con melaza como fuente de carbono identificaron 9 géneros distintos, así mismo esto contrasta con los resultados obtenidos por Castro *et al.* (2017) donde observaron 5 géneros en su estudio con melaza y pulido de arroz, Monroy *et al.* (2013) mencionan que los ciliados son especies comunes en sistemas Biofloc e indica que la salinidad, el tiempo de cultivo y la fuente de carbono empleada puede afectar la concentración y diversidad de ciliados en el agua, dichos microorganismos juegan un papel importante en la nutrición de organismos acuáticos, principalmente en las primeras fases de cultivo debido a su tamaño y contenido de proteína (Loureiro *et al.*, 2012), así mismo se encargan de controlar la densidad

de comunidades bacterianas por medio de la depredación y formar parte de la red alimenticia para zooplancton superior (Nagano y Decamp 2004).

Con respecto a los rotíferos, se observaron cuatro géneros *Mniobia*, *Lecane Philodina* y *Lepadella*, con concentraciones máximas de 82, 53, 132 y 180 org mL⁻¹ respectivamente, estos dos últimos observados en los tres tratamientos, por su parte *Mniobia* solo se observó en el tratamiento R.C y *Lecane* en el tratamiento con H.A, la cantidad de géneros observados es similar a lo reportado por Castro *et al.* (2017) quienes en Biofloc con melaza y pulido de arroz reportaron tres géneros con una concentración hasta de 287 org mL⁻¹ e indica que posiblemente el pulido de arroz propicia condiciones más favorables para que la comunidad planctónica sea más abundante, incrementando el número de especies e individuos, Loureiro *et al.* (2012) mencionan que los rotíferos se encuentran frecuentemente asociados al Biofloc cumpliendo algunas funciones fundamentales tales como la fragmentación de los flóculos, consumir bacterias, y producir mucilago que ayuda a la formación de nuevos flóculos, además de que dichos organismos pueden contener entre un 54 y 60% de proteína (Ray *et al.*, 2010).

Los análisis proximales realizados a los distintos tipos de Biofloc indicaron variaciones en el contenido nutricional de estos dependiendo de la fuente de carbono empleada para su promoción, el porcentaje de proteína más alto se obtuvo en el tratamiento H.A (47%), sin embargo, no se encontró diferencia significativa respecto a lo obtenido con MEL (42%), si bien en el tratamiento R.C el porcentaje de proteína fue el más bajo (30%), dicho valor puede ser considerado como aceptable, si tomamos en cuenta que la mayoría de las especies de acuicultura requieren un nivel de proteína en su dieta entre 20 a 50% (Tacon, 1987), el valor más bajo obtenido en este experimento es comparable con lo reportado por Wang *et al.* (2017), quienes utilizando una mezcla de melaza, harina de maíz y salvado de trigo como fuente de carbono reportaron valores de proteína de 32%, así mismo, Crab *et al.* (2010) reportaron un porcentaje de 58% de proteína utilizando glicerol como fuente de carbono más un bacilo. En lo que respecta al contenido lipídico de los flóculos, los valores obtenidos en los distintos tratamientos estuvieron entre 1.96 y 2.50 % dichos valores fueron superiores a lo reportado por Suita *et al.* (2015) que indicaron un porcentaje de 1.6 % en flóculos generados a partir de dextrosa, mientras que es inferior a lo obtenido por Wei *et al.* (2016) que indicaron porcentajes hasta de 8.5 en Biofloc con almidón. Se ha reportado que los lípidos son la fuente más importante de energía metabólica para el crecimiento (Roustaian *et al.*, 2001), muchos de estos nutrientes pueden ser atribuidos a las microalgas presentes en este tipo de sistemas, las cuales tienen la capacidad de producir grandes cantidades de lípidos en las condiciones adecuadas (Verma *et al.*, 2010), los beneficios de estos

aportes nutricionales se reflejan en mayores tasas de crecimiento, supervivencia, mejoría en los factores de conversión alimenticia y, en el bienestar general, de la especie en cultivo.

En relación con la fuente de carbono empleada para la promoción del Biofloc, se han utilizado diversas opciones como sucrosa (Zhao *et al.*, (2012), salvado de trigo (Anand *et al.*, 2004) o glicerol y acetato (Crab *et al.*, 2010), Serra *et al.* (2015), indicó que fuentes de carbono como la melaza o la dextrosa se disuelven más fácilmente en el medio de cultivo que el salvado de arroz, liberando más rápidamente el carbono para la generación de proteína microbiana y menciona que la melaza ha sido utilizada ampliamente como promotor de crecimiento bacteriano en sistemas con cero recambio de agua, sin embargo diversos investigadores indican que, el sistema de cultivo de BFT es viable con el uso de fuentes ricas en carbono de bajo costo (como la harina de arroz o los residuos de café empleados en este experimento), además recomiendan el uso de fuentes de carbono de bajo costo porque es una alternativa que permite la sostenibilidad económica, proporciona una fuente adicional de proteínas y mejora la eficiencia nutricional del sistema de cultivo.(Crab *et al.*,2009; Asaduzzaman *et al.*, 2010). La calidad nutricional aportada por los microorganismos asociados a Biofloc es comparable y / o superior con respecto a los alimentos comerciales en términos de proteínas y grasas, también contribuyen y un contenido adecuado de carbohidratos y cenizas para su uso como alimento en la acuicultura, los bioflóculos también son buenas fuentes de vitaminas y minerales, especialmente de fósforo, calcio y magnesio.

7. Conclusiones

Los resultados de esta investigación aportan avances significativos en el conocimiento sobre la composición de los diferentes grupos planctónicos asociados al Biofloc, y el aporte nutricional que brindan a las especies cultivadas, destacando que sin importar la fuente de carbono utilizada la contribución del Biofloc como fuente de alimento natural *in situ*, es equiparable al uso de dietas convencionales, pero sin el impacto económico y ecológico de los sistemas tradicionales, sobre todo porque se mejora la calidad del agua y se limita el uso de este recurso tan escaso en el mundo.

8. Referencias bibliográficas

- Anand PS, Kohli MPS., Kumar S, Sundaray JK, Roy SD, Venkateshwarlu G, Pailan GH. 2014. Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. *Aquaculture* (418): 108-115.
- Arredondo JL. 1996. Estado actual y perspectivas de la acuicultura en México. *Contactos*, 14, 28-38.
- Aladro LM. 2009 Manual de prácticas de laboratorio de protozoos. Las Prensas de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F., pp. 40-50.
- AOAC. 2009 Official methods of analysis. 20th edition AOAC International, Washington, DC.
- Asaduzzaman M, Wahab MA, Verdegem MC, Adhikary RK, Rahman SM, Azim ME, Verreth JA. 2010. Effects of carbohydrate source for maintaining a high C: N ratio and fish driven re-suspension on pond ecology and production in periphyton-based freshwater prawn culture systems. *Aquaculture*, 301(1), 37-46.
- Argue BJ, Cody JJ, Arce SM, Forster IP, Moss SM, Tacon AG. 2001. Shrimp breeding for lowprotein or vegetable-protein diets. *Glob Aquacult Adv.*, 4, 15-16.
- Avnimelech Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176:227-235.
- Avnimelech Y. 2009. Biofloc technology: A practical guide book, Baton Rouge. The World aquaculture society.
- Avnimelech Y, Kochba M. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using 15N tracing. *Aquaculture* 287: 163-168.
- Azim ME, Little DC. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, Biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 283, 29-35.
- Becerril CD, Monroy DM, Ramirez TJ, Castro MJ. 2015. Enfermedades comunes en acuicultura ornamental y sus medidas básicas de prevención. *Natural MENTE*, 1, 26-30.
- Becerril CD, Monroy DM, Emerenciano MG, Castro MG, Lara AR. 2017 Nutritional importance for aquaculture and ecological function of microorganisms that make up Biofloc, a review. *Int. J. Aquat. Sci.* 8(2), 69-77.
- Becker EW. 1986. Nutritional properties of microalgae: potential and constraints. p. 339-419. En: *Handbook of microalgal mass culture*. Richmond, A. (ed.) CRC Press, Florida.
- Brito LO, Arana LA, Soares RB, Severi W, Miranda RH, da Silva SM, Gálvez AO. 2014. Water quality, phytoplankton composition and growth of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in an integrated biofloc system with *Gracilaria birdiae* (Greville) and *Gracilaria domingensis* (Kützinger). *Aquaculture International*, 22(5), 1649-1664.

- Borja A. 2011. Los impactos ambientales de la acuicultura y la sostenibilidad de esta actividad. *Boletín. Instituto Español de Oceanografía*, 18, 41-49.
- Buschmann A, López D, Medina A. 2011. Nuevas tendencias en la acuicultura: costos y tecnologías para minimizar el impacto ambiental. *Ambiente y desarrollo*, 71-75.
- Campos N, Sevilla M, Velasco S, Filograsso C, Cárdenas L. 2012. Acuicultura: estado actual y retos de la investigación en México. *Revista AquaTIC*, 20-25.
- Cardoso AM, Cavalcante JJ, Vieira RP. 2012. Gut Bacterial Communities in the Giant Land Snail *Achatina fulica* and Their Modification by Sugarcane-Based Diet. Moustafa A, ed. PLoS ONE; 7 (3):e33440. doi:10.1371/journal.pone.0033440.
- Castro B, De Lara A, Castro M, Malpica, S. 2003. Alimento vivo en la acuicultura. *Contactos*, 48, 27-33.
- Castro NT, Castro BR, De Lara AR, Castro MJ, Castro MG. 2012. Sistemas Biofloc: un avance tecnológico en acuicultura. *Revista Digital del Departamento El Hombre y su Ambiente*. 1(1):1-6.
- Castro MD, Bulnes AL, Suárez MH. 2014. Crianza de *Oreochromis niloticus* Var chitralada en sistema bio-floc en la Empresa PRODUMAR SA, Guayaquil (Ecuador). *Revista REBIOLEST*, 1(2), 79-91.
- Castro MG, De Lara AR, Monroy DM, Maya GS, Castro MJ, Jiménez PF. 2017. Presencia y abundancia de fitoplancton y zooplancton en un sistema de producción de Biofloc utilizando dos aportes de carbono: 1) Melaza y 2) Melaza + pulido de arroz cultivando al pez *Oreochromis niloticus*. *Revista Digital del Departamento El Hombre y su Ambiente*. 1 (13): 33-42.
- Chu CP, Lee DJ. 2004. Multiscale structures of biological flocs. *Chemical Engineering Science*, 59(8), 1875-1883.
- Collazos LL, Arias CJ. 2015. Fundamentos de la tecnología biofloc (BFT). Una alternativa para la piscicultura en Colombia: Una revisión. *Orinoquia*, 19, 77-86.
- Córdova LR, Porchas MM, López JA. 2010. Alimento natural en acuicultura: una revisión actualizada. En: Cruz-Suarez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J. (Eds), *Avances en Nutrición Acuícola X - Memorias del X Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*, 8-10 de Noviembre, San Nicolás de los Garza, N. L., México. ISBN 978-607-433-546-0. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, pp. 668-699
- CONAPESCA. 2013. Anuario estadístico de pesca 2013. En: Secretaría De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca Y Alimentación. Disponible: http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona_anuario_estadistico_de_pesca [consultado MAYO 25 2106].
- CONAPESCA. 2014a. *Instalaciones para Acuicultura*. Comisión Nacional De Acuicultura Y Pesca. Disponible: http://www.conapesca.gob.mx/wb/cona/instalaciones_para_acuicultura [consultado MAYO 25 2106].

CONAPESCA. 2014b. Operación de Centros Acuícolas Federales, Antecedentes. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. Disponible: http://www.conapesca.gob.mx/wb/cona/cona_antecedentes/_rid/8022/_mto/3/_wst/maximized?imp_a_ct=imp_step3&page=0 [Consultado 18 June 2016].

Córdova LR, Porchas MM, López JA. 2010. Alimento natural en acuicultura: una revisión actualizada. *Memorias del X Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*. San Nicolás de los Garza, N. L., México: Universidad Autónoma de Nuevo León.

Crab R, Kochva M, Verstraete W, Avnimelech Y. 2009. Bio-flocs technology application in overwintering of tilapia. *Aquac Eng* 40:105-112.

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

Crab R, Lambert A, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W. 2010. The application of bioflocs technology to protect brine shrimp (*Artemia franciscana*) from pathogenic *Vibrio harveyi*. *J Appl Microbiol*, 109, 1643-9.

Decamp O, Nagano N. 2004. Ingestion of a ciliated protozoa by first-feeding larval stage of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture Research*. (35)516-518.

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

Díaz N, Neira R. 2005. Biotecnología Aplicada a la Acuicultura I. Biotecnologías clásicas aplicadas a la reproducción de especies cultivadas. *Ciencia e investigación agraria*, 31, 45-58.

D'Souza FM, Knuckey RM, Hohmann S, Pendrey RC. 2002. Flocculated microalgae concentrates as diets for larvae of the tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricius. *Aquaculture Nutrition* 8:113-120

Ebeling JM, Timmons MB, Bisogn JJ. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture* 257. 346-358.

Emerenciano M, Gaxiola G, Cuzo G. 2013. Biofloc Technology (BFT): A Review for Aquaculture Application and Animal Food Industry. *Biomass Now: Cultivation and utilization*, 12, 311-328.

Emerenciano M, Wasielesky WF, Soares RB, Ballester EL, Izeppi EM, Cavalli RO. 2007. Crecimiento y supervivencia del camarón-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) en fase de cultivo en medio heterotrófico. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 29(1).

Emerenciano M, Ballester E, Cavalli R, Wasielesky W. 2011. Biofloc technology application as a food resource in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture research* 1-11.

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

- Emerenciano M, Cuzon M, Gaxiola G. 2013. Biofloc technology in intensive broodstock farming of the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum*: spawning performance, biochemical composition and fatty acid profile of eggs. *Aquaculture Research* January 2013, <doi: 10.1111/ are.12117>
- Ekasari J, Crab R, Verstraete W. 2010. Primary nutritional content of bio-flocs cultured with different organic carbon sources and salinity. *Hayati Journal of Bioscience* 17: 125-130.
- Ekasari J, Maryam S. 2012. Evaluation of biofloc technology application on water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis sp.* cultured at different stocking densities. *HAYATI Journal of Biosciences*, 19(2), 73-80.
- Ekasari J, Angela D, Waluyo SH, Bachtar T, Surawidjaja EH, Bossier P, De Schryver P. 2014. The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. *Aquaculture*, 426, 105-111.
- FAO. 2005. Visión general del sector acuícola nacional, caso México. En: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura Disponible en http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_mexico/es
- FAO. 2009. Producción pesquera y acuícola en América Latina y el Caribe. En: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible: <http://www.fao.org/americas/perspectivas/pesca-y-acuicultura/es/> [Consultado: junio 12]
- FAO. 2014. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. En: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Available: <http://www.fao.org/3/a-i3720s.pdf> [Consultado: junio 12].
- Fernandez A, Alvarez F, Estepa A, Coll J. 1998. Vacunas DNA en Acuicultura. *Aquatic*.4, 9-11.
- Fernandez RM, Pérez CA, Ferreiro MJ, Blanco J, Planas M, Campos MJ. 1989. Biochemical profile (total protein, carbohydrate, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine. microalgae. *Aquaculture* 83: 17-37.
- Ferreira M, Otavio BL, Figueiredo SC, Sobral SI, Olivera GA. 2014. Efecto de la adición de *Navicula sp.* sobre la composición del plancton y el crecimiento de postlarvas de *Litopenaeus vannamei* criadas en estanques de cultivo sin recambio de agua. *Latin american journal of aquatic research*, 42(3), 427-437.
- Figueroa JL. 2009. Nematodo de vida libre *Panagrellus redivivus* (Goodey, 1945): Una alternativa para la alimentación inicial de larvas de peces y crustáceos. *Investigación y Ciencia*, 17(45), 4-11.
- Fornshell G, Hinshaw JM. 2008. Better management practices for flow-through aquaculture systems. *Environmental Best Management Practices for Aquaculture*. Edited by CS Tucker and JA Hargreaves. Blackwell Publishing, 331-338.
- Fragoso MC, Auró AO. 2009. Zootecnia Acuicola. *Introducción a la zootecnia*. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Green BW, Schrader KK, Perschbacher PP. 2014. Effect of stocking biomass on solids, phytoplankton communities, common off-flavors, and production parameters in a channel catfish biofloc technology production system. *Aquaculture Research*. (45) 1442- 1458.

González FM. 2011. Breve historia de una gran desconocida: la acuicultura. *Eubacteria*, 3, 2-4.

Hari B, Kurup BM, Varghese JT, Schrama JW, Verdegem MCJ. 2004. Effects of carbohydrate addition on production in extensive shrimp culture systems. *Aquaculture*. 241:179-194.

Hargreaves JA. 2013. *Biofloc production systems for aquaculture*, Southern Regional Aquaculture Center.

Hernández BC, Aguirre GG, López CD. 2009. Sistemas de producción de acuicultura con recirculación de agua para la región Norte, Noreste y Noroeste de México. *Quinta Época*. Año XIII. Volumen 25. 117-130.

Hernández ER, Rodríguez MA, Ruíz MO, Monroy DM. 2017 Ecological succession of plankton in a biofloc system with molasses as carbon source *Scientific Journal of Biological Sciences*. 6(7) 222-228.

Hollender J, Van der Krol, D, Kornberger L, Gierden E, Dott W. 2002. Effect of different carbon sources on the enhanced biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18(4), 359-364.

Ju ZY, Forster I, Conquest L, Dominy W, Kuo WC, David HF. 2008. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. *Aquaculture Research*, 39(2), 118-133.

Kuhn DD, Boardman GD, Lawrence AL, Marsh L, Flick GJ. 2009. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. *Aquaculture* 296:51-57.

Lima E, Souza R, Wambach X, Silva UL, Correia, ES. 2015 Cultivo da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* em sistema de bioflocos com diferentes densidades de estocagem. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. 16(4), 948-957.

López TF. 2011. Efecto de la sustitución parcial de una dieta comercial complementada con floc en el crecimiento y la sobrevivencia de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en un sistema intensivo con cero recambio de agua. Tesis de Maestría. CESUES, México, 60 pp.

López EJ, Moreno AA, Miranda BA, Martínez CL, Rivas VM, Márquez RE. 2014. Proximate composition of bioflocs in culture systems containing hybrid red tilapia fed diets with varying levels of vegetable meal inclusion. *North American Journal of Aquaculture*. 77(1): 102-109.

Loureiro KC, Wilson WJ, Abreu PC. 2012. Utilização de protozoários, rotíferos e nematódeos como alimento vivo para camarões cultivados no sistema BFT. *Atlântica*, Rio Grande. 34(1): 5-12

Luchini L, Panné HS. 2008. Perspectivas en acuicultura: nivel mundial, regional y local. *Dirección de Acuicultura*.

- Maicá PF, de Borba MR, Wasielesky W. 2012. Effect of low salinity on microbial floc composition and performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles reared in a zero-water-exchange super-intensive system. *Aquaculture Research*, 43(3), 361-370.
- Marcus NH, Murray MM. 2001. Copepod diapause eggs: a potential source of nauplii for aquaculture. *Aquaculture*, 201, 107-115.
- Martínez CL, Campaña TA, Porchas CM. 2002 Promotion and contribution of biota in low water exchange ponds farming blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson). *Aquac Res.*, 33, 27-32.
- Martínez CL, Ezquerro BM, Bringas AL, Aguirre HE, Garza AM. 2002. Optimización de alimentos y prácticas de alimentación en el cultivo de camarón en el noroeste de México Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Cancún (México); 559-581.
- Martínez CL, Martínez PI, López EJ, Miranda BA., Ballester E.2010. Estado Actual del Uso de Biopelículas y Bioflóculos en el Cultivo de Camarón. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., Hernández-Hernández, L. (Eds), Avances en Nutrición Acuícola XI - Memorias del Onceavo Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 23-25 de Noviembre, San Nicolás de los Garza, N. L., México. ISBN 978-607-433-775-4. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, pp. 393-423
- Massaut L, Ortiz J. 2003. Aislamiento y cultivo de cianobacterias con potencial toxicidad sobre postlarvas de *litopenaeus vannamei*. *El mundo Acuicola*. 9 (1), 15-19.
- Moncada LF. 1999. Puntos de control en la fabricación de alimentos balanceados para acuicultura. In *Avances en Nutrición Acuícola III. Memorias del Tercer Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*. Monterrey, Nuevo León, México (pp. 543-555).
- Monroy DC, Lara AR, Castro MJ, Castro MG, Emerenciano CM. 2013. Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al Biofloc en un cultivo de tilapia. *Revista de biología marina y oceanografía*, 48, 511-520.
- Monroy DC, Rodríguez G, Castro J, Becerril D. 2015. Importance and function of microbial communities in aquaculture systems with no water exchange. *Scientific Journal of Animal Science*, 4, 103-110.
- Moreira SD, Medeiros SS, Romano LA, Wasielesky W, Ballester L. 2014. Use of molasses as a carbon source during the nursery rearing of *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) in a Biofloc technology system. *Aquaculture Research*. 45, 270–277.
- Moss SM. 2002. Dietary importance of microbes and detritus in Penaeid shrimp aquaculture. Pages 1-18 En: Lee, C.-S. O'Bryen, P. (Eds), *Microbial Approaches to Aquatic Nutrition Within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.
- Muller FA. 2000. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *Journal of Applied Phycology*, 12(3-5), 527-534.

Oehmen A, Yuan Z, Blackall LL, Keller J. 2004. Short-term effects of carbon source on the competition of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Water Science and Technology*, 50(10), 139-144.

Otoshi, CA, Montgomery AD, Look AM, Moss SM. 2001. Effects of diet and water source on the nursery production of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of World Aquaculture Society*, 32, 243-249.

Patterson DJ, Hedley S. 1992 *Free-Living Freshwater Protozoa A Colour Guide*. Wolfe

Plascencia AE, Almada MD. 2012. La acuicultura y su impacto al medio ambiente. *Estudios Sociales*, 2,221-232.

Pillay TV.1997. *Acuicultura. Principios y prácticas*. Ed. Limusa. México. 697 p.

Pérez UB, Arregui L, Calvo P, Salvadó H, Fernández N, Rodríguez E. 2009. Parámetros biológicos relacionados con la eliminación de nitrógeno en fangos activos. Análisis multivariante en el desarrollo de un índice biológico en estos sistemas. VI Jornadas de Transferencia de Tecnología sobre Microbiología del Fango Activo. Sevilla. España. Asociación Científica Grupo Bioindicación de Sevilla. 1-7.

Prieto G, Atencio G.2008. Zooplancton en la larvicultura de peces neotropicales. *Revista MVZ Córdoba*, 13(2), 1415-1415.

Rabasso KM. 2006. Los impactos ambientales de la acuicultura, causas y efectos. *Vector plus*, 6, 89-98.

Ray AJ, Seaborn G, Leffler JW, Wilde SB, Lawson A, Browdy CL. 2010. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture*, 310(1), 130-138.

Roustaian P, Kamarudin MS, Omar H, Saad CR. Ahmad MH. 2001. The effect of dietary lipid sources on the *Macrobrachium rosenbergii* larval performance, post larval production and fatty acid composition. *Journal of Aquaculture in the Tropics*. (16): 251-263.

Samocha TM, Patnaik S, Speed M, Ali AM, Burger MJ, Almeida RV. 2007. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult. Eng* 2007, 36:184-191.

Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. 2006. Análisis prospectivo de política para la Acuicultura y la pesca Disponible: <http://www.sagarpa.gob.mx/programas2/evaluacionesExternas/Lists/Otros%20Estudios/Attachments/14/Prospectivo%20Pesca.pdf> [Consultado junio 5 2016].

Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. 2015. Crecimiento de la Acuicultura. Disponible: <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/2012/Paginas/2015B351.aspx> [Consultado junio 04 2016].

Serra FP, Gaona AP, Furtado P, Poersh LH, Wasielesky W. 2015. Use of different carbon sources for the biofloc system adopted during the nursery and grow-out culture of *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult In.*

Suita MS, Ballester L, Abreu P, Wasielesky W. 2015. Dextrose as carbon source in the culture of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in a zero exchange system. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 43(3): 526-533.

Tacon AG. 1987. *The Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp; a Training Manual. 1: The Essential Nutrients.* FAO/UNDP, Roma.

Verma NM, Mehrotra S, Shukla A, Mishra BN. 2010. Prospective of biodiesel production utilizing microalgae as the cell factories: a comprehensive discussion. *Afr.J. Biotechnol.* 9 (10), 1402 –1411.

Wang C, Pan L, Zhang K, Xu W, Zhao D, Mei L. 2016. Effects of different carbon sources addition on nutrition composition and extracellular enzymes activity of bioflocs, and digestive enzymes activity and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in zero-exchange culture tanks. *Aquaculture Research.* 47: 3307–3318.

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

Wei Y, Liao SA, Wang AL. 2016. The effect of different carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of bioflocs. *Aquaculture*, 465, 88-93.

Wilén BM. 1999. The effect of dissolved oxygen concentration on the structure, size and size distribution of activated sludge flocs. *Water Research*, 33(2), 391-400.

Wilén BM, Nielsen JL, Keiding K, Nielsen PH. 2000. Influence of microbial activity on the stability of activated sludge flocs. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 18(2), 145-156.

Zhao P, Huang J, Wang XH, Song XL, Yang CH, Zhang XG. 2012. The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture.* (354): 97-106.



El comité organizador del
I Foro Nacional de Ecología, Recursos Costeros y Marinos
Otorga la presente

Constancia

A: Daniel Becerril-Cortés, María del Carmen Monroy-Dosta, German Castro-Mejía, José Alberto Ramírez-Torrez

Por su participación con el trabajo titulado:

Ventajas de los Sistemas de Cultivo Biofloc en la Acuacultura

Evento realizado los días 9 y 10 de junio del 2016, en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Marinas, Universidad de Colima, Manzanillo, Colima, México.



UNIVERSIDAD

DR. MARCO A. GALICIA PÉREZ
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
UNIVERSIDAD DE COLIMA

FNE-01
MARINAS

Dr. Jorge A. Rojo Vázquez



CUCSUR
UNIVERSIDAD DE COLIMA
DEDSZC



LAGUNA
CENTRO DE EDUCAÇÃO
SUPERIOR DA REGIÃO SUL



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DA REGIÃO SUL – CERES – LAGUNA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA – DEP
LABORATÓRIO DE AQUICULTURA (LAQ)
LABORATÓRIO DE NUTRIÇÃO DE ORGANISMOS AQUÁTICOS (LANOA)

Laguna-SC (Brasil), 23 de marzo de 2017

***A la Comisión Académica de la Maestría en Ciencias Agropecuarias
Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) - Unidad Xochimilco.***

Declaro para los debidos fines que acepto recibir el alumno de maestría **Daniel Becerril Cortés**, para una estancia de investigación con fecha tentativa del 1 de septiembre al 1 de diciembre del presente año, para acompañar actividades de investigación con sistemas de biofloc y acuaponia en nuestra Universidad.

Quedo a disposición para cualquier eventualidad y esclarecimientos,

Prof. Dr. Maurício Gustavo Coelho Emerenciano
Profesor/Investigador Universidad Estatal de Santa Catarina – UDESC
Coordinador del Laboratorio de Nutrición de Organismos Acuáticos – LANOA/UDESC

-Review-

Nutritional importance for aquaculture and ecological function of microorganisms that make up Biofloc, a review

Daniel Becerril-Cortés¹, María del Carmen Monroy-Dosta², Mauricio Gustavo Coelho-Emerenciano³, Germán Castro-Mejía², Kathia CienfuegosMartínez¹, Ramón de Lara-Andrade²

1)UAM-Xochimilco, Maestría en Ciencias Agropecuarias, Mexico.

2)UAM-Xochimilco, Laboratorio de Análisis Químico de Alimento Vivo, Mexico.

3)Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Laboratório de Aquicultura (LAQ) y Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA), Brasil.

Received: May-12-2017

Accepted: July-07-2017

Published: July-28-2017

Abstract: The objective of this review is to provide an overview of the nutritional importance and ecological function of microorganisms in Biofloc systems. For the elaboration of this review different databases were consulted, principally, PubMed, Scopus, Web of Science and Scielo. First, it is described the interactions between bacteria and phytoplankton in Biofloc, which are important for maintenance of water quality, because they are involved in transformation of organic matter and a better removal of contaminant residues such as nitrogenous compounds. Also, these organisms are important for aquatic ecosystems because they are an essential component of trophic nets in activity and biomass quantity, contributing to regeneration of nutrients and interacting with many organisms serving as base of food chain. Subsequently, mention is made of relevance of zooplankton that develops in Biofloc culture systems, because they represent a key role in animal's nutrition in culture and have proven benefits in growth rates, in food conversion factor and reduction in costs associated to commercial food.

Keywords: Heterotrophic bacteria, phytoplankton, aquaculture nutrition, zooplankton

Introduction

Nowadays, aquaculture production systems have been transformed to solve different activity problematics, as use of large quantities of water, contamination of tributaries discharge and dependence in feeding meal in formulated diets (Hernández-Barraza *et al.*, 2009). Regarding to alimentation, it is important to point out that in production units, large quantities of formulated food of high price are used, which represents 40% of production costs (FAO,

2005). In addition, in most cases, commercial diets do not cover all nutritional requirements of species or include protein contents superior to necessary and cause low digestibility, palatability, and water stability, that up to 60% of food that is supplied it is not used by organisms in culture and when it decompose it compromises water quality (MartínezCórdova *et al.*, 2002; Tacon *et al.*, 2004).

Because of this, one production systems that has attracted attention in recent years is Biofloc technology (BFT), which consist in

generation of microbial flocs, using an external carbon source, which is available in water and used by bacteria as

(✉) monroydosta@hotmail.com

energy source, that through of redox process they produce less complex chemical forms and nitrogen from food wastes, that are used for proteins synthesis (Azam *et al.*, 1983), which results in a micro trophic net, where several ecological relations are carried out (commensalism, competition, predation among others), in a community constituted by bacteria, microalgae, ciliates, rotifers, crustaceans and nematodes which are available whole day as natural food for cultured species (Avnimelech and Kochba, 2009; Emerenciano *et al.*, 2013). Different authors agree that there are some advantages of the Biofloc system compared to conventional farming systems. These advantages are: lower investment costs, good use and maintenance of water quality during cultivation, pathogen control, high crop densities and benefits associated with the feeding of cultivated organisms, as well as reduced costs associated with it (Avnimelech, 2009; Crab *et al.*, 2012; Hargreaves, 2013).

This cultivation technique allows to work with a much smaller investment than the traditional systems, because bio filters, pumping, solids filtration and water disinfection are not used and without considerable water inputs throughout the crop, thus providing an advantage over the use of water resources, being a more economical alternative, reducing water treatment costs by up to 30% (Crab *et al.*, 2012).

It is recognized that the normal operation of the ponds may include the replacement of water (usually 10% per day) as a method to control the quality of the liquid. In contrast Biofloc systems can operate with a low water exchange rate of 0.5 to 1% per day, while maintaining sufficient aeration to maintain suspended flocs, reduce pumping costs, preserve nutrients in tanks and the volume of the effluents is reduced (Gaona *et al.*, 2011; Ray *et al.*, 2011), with the use of this type of

systems reduces the discharge of pollutants and diseases to the wild, on the other hand working with high crop densities reduces the ecological footprint of cropping systems, thus contributing to the conservation of ecosystems (Krummeanuer *et al.*, 2011). About the maintenance of water quality, this is mediated by the bacterial community and this is achieved by using a high carbon to nitrogen (C:N) ratio to ensure the best growth of heterotrophic bacteria by applying an external carbon source. The heterotrophic bacteria are responsible for capturing nitrogenous compounds released by the fish and use them in their growth, thus eliminating ammonium and nitrite toxicity (Azim and Little, 2008; Nootong *et al.*, 2011).

Regarding the control of pathogens, Crab *et al.*, (2010) mention that in this type of culture systems, bacteria with probiotic potential are developed, this can be due to the fact that, in the feces, part of the intestinal microbiota is released, and being in a nutrient medium, it is possible that the cultivated species take advantage of the benefits that these microorganisms provide, some of these benefits are: increase in the immune response against infectious processes and better assimilation of nutrients by the cultivated species, which leads to their greater survival and growth, likewise, probiotic bacteria participate in a process of competitive exclusion because they generate a hostile environment to pathogenic bacteria by the excision of exoenzymes and polymers that release in the aquatic environment (Monroy-Dosta *et al.*, 2015).

As for the benefits associated with food, these can be attributed to the fact that microbial aggregates can provide important nutrients such as carbohydrates, proteins, amino acids, fatty acids and minerals. Therefore, microorganisms associated with biofloc play a key role in nutrition of animals in cultivation since they are a rich natural source of protein-lipid "in situ" available 24 hours a day, with the above, it is known that the potential feed gain with this technology is 10 to 20% due to that the costs per feeding decrease between 40 to 50% (Hargreaves,

2013), the nutritional quality of Biofloc is considered good for the cultivation of aquatic organisms since it has been reported that it can contain between 25 and 50% of protein and up to 0.5 to 15% of fats, however, this content may vary in relation To the carbon source used to promote Biofloc, the planktonic community that develops in the system and the cultivated species (Ekasari *et al.*, 2014b; Emerenciano *et al.*, 2013). Despite many benefits, the Biofloc system also has some disadvantages to take into account, for example, the need for a start-up period, the investment required for an aeration system to ensure the maintenance of suspended solids, cyanobacteria blooms and the accumulation of nitrogen compounds, as well as another limitation to increase the use of this type of crops is that, being a system with zero water change, the water becomes cloudy so there is a resistance on the part of the farmers for a misconception that the crop water must always be clean (Hargreaves, 2013).

It has been documented the need of use of live food organisms in of aquatic production, mainly in larvae stages, because they provide higher diversity of nutrients, are easy to assimilate and more attractive for cultured species (Wasiolesky *et al.*, 2006). Even though, in last years, studies have been published about positive effect in growth of fish and crustaceans cultured in Biofloc, few studies have been made to characterize developed planktonic communities, their importance as food and ecological function in production productive systems. Because of this, it must be made a review that allows to have a broader picture of planktonic groups that develop in Biofloc culture systems, their importance as natural food for cultured species and the ecological role they have in the system.

Biofloc system characteristics

Biofloc is an intensive production system in aquaculture, which can overcome difficulties of activity, such as increase in biomass per

volume of water and use of less water, overcoming paradigms of sustainability (Avnimelech, 2009). The term “floc” or “Biofloc” can be defined as flocculation of organic matter present in medium, resulting in a high concentration of biomass in form of particles or bioflocs (Cuzon *et al.*, 2004; Emerenciano *et al.*, 2011). This term applies to a compound consisting of 60 to 70% of organic matter, which includes an heterogeneous mix of microorganisms (fungi, algae, bacteria, protozoans, and rotifers) and 30 to 40% of inorganic matter such as colloids, organic polymers, cations and death cells (Fig. 1) (Chu and Lee, 2004).

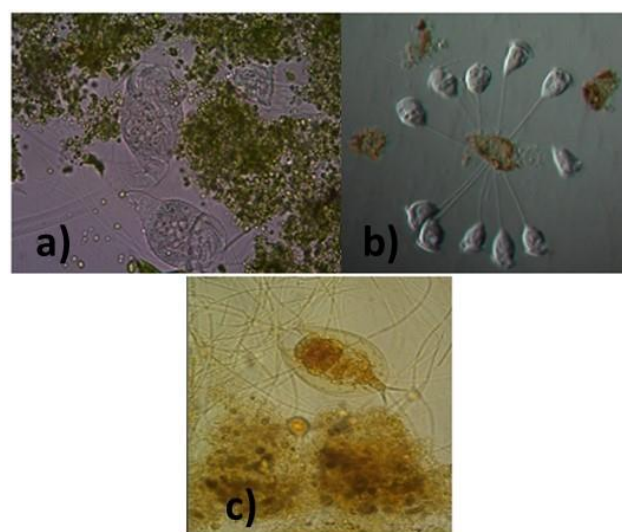


Fig. 1: Biofloc observed with an optical microscope a) Microalgae and *Vorticella* sp. (40x); b) *Vorticella* adhered to a floc (10x); c) Rotifer of the genus *Lecane* and Cyanobacteria species. (10x) (Own source)

BFT has been used on different aquaculture species. Table 1 summarizes some studies and show the different carbon sources that have been used in these, besides briefly explain the objectives of the study and the main results

Diversity of microorganism associated to Biofloc

The diversity of organisms that make up bioflocs are, bacteria, microalgae, yeast, rotifers, ciliates, protozoans, nematodes, and crustaceans (Monroy *et al.*, 2013; Collazos

and Arias, 2015), this biodiversity of species, depends on carbon source and cultured specie (Ray *et al.*, 2010).

In these bioflocs, both autotrophic and heterotrophic activities occur, also aerobic and anaerobic processes from which key interactions emerge for water quality maintenance, as control of nitrogenous compounds (Ray *et al.* 2010; Ebeling *et al.*,

2006). Microorganisms are an essential part of aquatic ecosystems because of their place in trophic webs in marine and freshwater environments both in activity and biomass quantity, contributing to nutrient regeneration and interacting with a wide range of organisms (Monroy *et al.*, 2015). Three main groups of microorganisms associated to Biofloc are recognized, these are bacteria, phytoplankton, and zooplankton.

Tab. 1: Summary of different studies carried out with biofloc technology.

Species	CS	Objective	Main result	Ref.
<i>Macrobrachium. rosenbergii</i>	Acetate, glycerol	Evaluate effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, as feed.	They suggest that the choice of the carbon source used for biofloc culture influences its nutritional value.	1
<i>Oreochromis. niloticus</i>	Molasses	Estimate the effect of producing and culturing Nile tilapia larvae in Biofloc.	Indicated that Biofloc positively affects Nile tilapia larvae performance, in terms of larval growth performance and robustness.	2
<i>Litopenaeus. vannamei</i>	Molasses	They tested the effect of three concentrations of bioflocs in the culture, water quality and performance of shrimp.	They mention that intermediate levels of bioflocs (TSS between 400 and 600 mg L ⁻¹) may be suitable to superintensive culture and suggest that ammonia and nitrite in T400-600 and T800-1000 tanks were mainly controlled by nitrifying bacteria, which provided greater stability of these parameters and of dissolved oxygen.	3
<i>Penaeus. monodon</i>	Wheat flour	Suitability of biofloc with different levels of inclusion of dried biofloc, as dietary supplement in shrimp feed	The study demonstrates that dietary supplementation of biofloc at 4–8% level had beneficial effects on growth performance and digestive enzyme activities.	4
<i>Marsupenaeus japonicus</i>	Sucrose	Investigated the effectiveness of biofloc technology for maintaining good water quality, supplying feed nutrition and inhibiting potential pathogens.	BFT offers the possibility to simultaneously maintain a good water quality and produce additional food for shrimp, besides microbes detected in bioflocs could be useful in resisting disease in high-intensive shrimp farming systems.	5

Tab. 1: Continued

Species	CS	Objective	Main result	Ref.
<i>Labeo rohita</i>	Molasses	They investigated the effect of biofloc system, on inorganic nitrogen control, growth and immunological response of rohu.	They report an increase in the growth and welfare of the fish cultivated, which can be attributed to the <i>in situ</i> maintenance of water quality within the biofloc system and the presence of microbial flocs.	6

CS = Carbon source employed

Ref.: 1) Crab *et al.* (2010), 2) Ekasari *et al.* (2015), 3) Schweitzer *et al.* (2013), 4) Anand *et al.* (2004), 5) Zhao *et al.* (2012), 6) Kamilya *et al.* (2017)

Bacteria

Bacteria and unicellular fungi are important for aquaculture production systems because they act in a positive way in organic matter transformation, removal of contaminant compounds and as a source of microbial

biomass available for larger organisms (De Stryver *et al.*, 2008).

Heterotrophic bacteria, is the most important bacterial group in Biofloc system their growth is involved in a better removal of contaminant compounds, through their metabolism. These bacteria release many inorganic compounds to environment that can be used by other organisms and produce exo-enzymes which decompose diverse compounds as cellulose, lignin, keratin, and other natural molecules that are hard to transform. The processes of denitrification and decomposition will not be carried out so effectively without the involvement of heterotrophic microorganisms (Avnimelech, 1999), these microbial groups reduce impact through removal of ammoniacal nitrogen by nitrification process that consists in successive oxidation of ammonia first to nitrite and finally to nitrate. In Biofloc systems, transformation of toxic nitrogenous compounds is more efficient, because this process is carried out by bacteria of *Bacillus* and *Pseudomonas* genders (Monroy *et al.*, 2015). Also, presence of organic matter as carbon, inhibits denitrification by autotrophs, so they grow up slowly compared to heterotrophic, that increase their population faster in water with high content of organic matter and high oxygen concentration, so they can transform ammoniacal nitrogen into low toxicity compounds; even some of them,

transform this compound to produce microbial biomass and allow generation of diverse protozoans in a short time (days) compared to conventional systems (Ebeling *et al.*, 2006). Studies where they have a more specific characterization on bacterial genus or species in Biofloc are few, some of them are resumed in Table 2. In addition to its ecological function, these bacteria can be used as unicellular or microbial protein (SCP or Single Cell Protein) and can provide important percentages of protein (40-80% of raw protein in dry basis, depending on specie) (Tacon, 2013), and therefore they can be considered as a supplement for fish and shrimps larvae (Palmerin *et al.*, 2012).

Phytoplankton

Another important group in Biofloc systems is phytoplankton, microalgae use ammonia, and compounds as nitrite and nitrate for construction of proteins and sugars, and they also provide oxygen during day time. Diverse phytoplankton species, like diatoms, are nutritive and can improve the production of cultured species as prawn culture, due to its contributions of essential amino acids and highly unsaturated fatty acids (Moss, 2002).

Genus and species reported by various authors are; *Scenedesmus quadricauda*,

Tab. 2: Description of bacterial groups reported in Biofloc systems by different authors.

Marine or freshwater specie employed	Reported bacterial group	Ref.
Reported the different bacterial groups that can be found in Biofloc	Indicated the presence of genus such as <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Alteromonas</i> and <i>Micrococcus</i> , <i>Cellulomonas</i> , <i>Clostridium</i>	1
<i>Marsupenaeus japonicus</i>	They report predominant bacterial communities, such as Proteobacterium, Actinobacterium, <i>Bacillus sp.</i> , <i>Roseobacter sp.</i> and <i>Chytriphaga sp.</i>	2
<i>Litopenaeus stylostris</i>	Reported bacterial phyla such as <i>Proteobacteria</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Cyanobacteria</i> , <i>Planctomycetes</i> and <i>Verrumicrobia</i>	3
<i>Oreochromis niloticus</i>	Reported genus of probiotic and degradative bacteria: <i>Lactobacillus</i> <i>Burkholderia</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Saccharomyces</i> , and <i>Bacillus</i> among others	4
Employed fresh pond water to inoculate the tank with natural microorganisms	Reported the presence of different phyla: <i>Firmicutes</i> , <i>Protobacteria</i> , <i>Actinobacteria</i> , <i>Acidobacteria</i>	5
<i>Litopenaeus vannamei</i>	Reported mainly pathogen species such as: <i>Vibrio rotiferianus</i> , <i>Photobacterium jeanii</i> , <i>Photobacterium damsela</i> , <i>Pseudoalteromonas spongiae</i> , <i>Vibrio mytil</i>	6

Ref.: 1) Monroy *et al.* (2015), 2) Zhao *et al.* (2012) , 3) Cardona *et al.* (2016) , 4) Maya *et al.* (2016), 5) Wei *et al.* (2016) , 6) Luis-Villaseñor *et al.* (2015)

Coelastrum sp., *Pediastrum dúplex*, *Cyclotella sp.*, *Navicula sp.*, *Synedra sp.*, *Fragilaria sp.*, *Fragilaria*, *Orthoseira*, *Rhabdonema*, *Ulothrix*, *Skeletonema*, *Cylindrotheca*, *Hemiaulus*, *Phymatodocis*, *Ulothrix*, *Cyanobacteria Chlorophyta*, *Bacillariophyta*, *Euglenophyta* and *Dinophyta*, (Ferreira and Otavio 2014; Castro *et al.*, 2014; Monroy *et al.*, 2013; Brito *et al.*, 2013).

Nutritional value of microalgae, is related to the environment in which they develop and inorganic compounds they use for growth. The composition of carbohydrates, regarding to specific sugars, can considerably vary between algae species. Generally, glucose is found in higher concentrations, followed by galactose, mannose, and ribose. Nutritional values of some microalgae species are shown in the Table 3. According to Fernandez-Reiriz (1989), green microalgae have low concentrations of monounsaturated fatty acids and high concentrations of polyunsaturated that are of great importance for growth of fish and crustaceans.

Tab. 3: Nutritional values of micro algae according to the authors cited.

Species	Protein	Lipids	Carbohydrate	Ref.
Freshwater <i>Scenedesmus</i>	24.1	2.47	n/a	1
Marine <i>Dunaliella</i>	38.3-52.8	7.7-10.8	8.4-12.7	2
Marine <i>Chlorella sp.</i>	16.6-35.8	13.6-15.3	22.6-54.5	3
Marine <i>P. lutheri</i>	16.02-52.35	12.39-37.83	15.63-53.104	4

Values represented in percentage, n/a = Not available

Ref.: 1) Andrade *et al.* (2009), 2) Suárez *et al.* (2007), 3) Paes *et al.* (2015), 4) Fernandez-Reiriz, (1989)

Therefore, today different microalgae are specifically used in aquaculture, taking into consideration their nutritive inputs and its ecological importance because they are base of all aquatic food chains (Muller, 2000). There is an important microalgae-

bacteria relation as determinant of groups develop in aquatic environments, in such a way the increment of carbon-transforming heterotrophic bacteria, make possible an increase of diatoms in system and restrict other groups like cyanobacteria, that are potentially harmful in aquaculture systems because they can form superficial layers that adhere to fish gills causing mortality, also some genus as *Anabaena sp.* and *Oscillatoria sp.* have capacity to produce toxic metabolites that can increase in case of exponential growth (Monroy *et al.*, 2013; Massaut and Ortiz, 2003).

Zooplankton

In aquaculture production systems with Biofloc, diverse planktonic groups develop in a natural way, such as rotifers, protozoans (ciliates and flagellates), crustaceans and nematodes which play an important role in nutrient recycle, maintenance of water quality and in nutrition of cultured animals (Emerenciano *et al.*, 2013). Consumption of zooplankton present in Biofloc has shown countless benefits, such as improvement of growth rate, increase in food conversion factor and benefits costs associated to balanced food (Hargreaves, 2013). Proximal composition of some planktonic species that are found in bioflocs, indicate that rotifers can contain between 54 and 60% of raw protein, while cladocerans 50-68% and copepods 70-71%, regarding lipid values in rotifers, they contain from 3.9 to 13.2% depending on specie, cladocerans have between 1 and 2.9% while copepods can contain up to 2.6% of lipids (Ray *et al.*, 2010), while nematodes are 76% water and 24% dry matter; 40% of dry matter is protein and 20% fat, remaining 40% correspond to nitrogen-free extract and other macronutrients (Figuroa, 2009).

Nutritional contributions of Biofloc

The carbon source is the main input for Biofloc system operation, so selection of this source can cause variation in nutritional value and taxonomic composition of bioflocs (Crab

et al., 2012). Maicá *et al.* (2012) using molasses as carbon source reported protein values of 28.7 to 43.1% and lipids between 2.11 and 3.62% in bioflocs used to culture *L. vannamei*. In tilapia cultures using wheat flour protein levels of 38% and lipid values between 3.16 and 3.23% (Azim and Little, 2008). Emerenciano *et al.* (2011), reported values of protein of 30.4%, carbohydrates of 29.1% and lipids of 0.5% in a system adding molasses; Crab *et al.* (2009), used acetate, glycerol and glucose as carbon source finding values between 42 and 58.9% of protein in dry weight in their different treatments; López Tarín (2011) made a tilapia culture in closed system, partially substituting formulated food with bioflocs with molasses, and found that their composition presented acceptable values of proteins and lipids. Other evidences of nutritional contributions that Bioflocs can contribute are shown in Table 4.

Tab. 4: Bromatological composition based in bioflocs dry matter and compared with commercial food for fattening stage.

Carbon source	RP (%)	Carb (%)	Lipids (%)	RF (%)	Ashes (%)	Ref.
Starch	31.5	n/a	85.2	n/a	12.4	1
Saccharose	49	36.4	1.13	12.6	13.4	2
Unrefined granulated sugar	23.7-25.4	32.2-39.1	2.6-3.5	n/a	33.0-40.4	3
Molasses with cornmeal	23.5-32.3	n/a	2.9- 5.33	n/a	20 - 36	4
-	25-35	n/a	5-7	3-6	5-12	5
-	30-35	n/a	5-7	4	11-12	6

RP= Raw protein, Carb= Carbohydrates, FB= Raw Fiber,

n/a= Not available

Ref.: 1) Wei *et al.* (2016), 2) Kuhn *et al.* (2009), 3) López *et al.* (2014), 4) Wang *et al.* (2016), 5) Commercial food for tilapia (Alimentos del Pedregal®), 6) Commercial food for shrimp (Alimentos del Pedregal®)

Benefits of these nutritional inputs are reflected in higher growth rates, survival, improvement in food conversion factors and general well, being in cultured species. Regarding this, Azim and Little (2008) in a Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* culture, in Biofloc system, reported a production 45% higher in this system compared to traditional system. Sierra-De la Rosa *et al.* (2009), presented good growth rates (500 g/226 days; 2.1 g/day), survival of 70% and better food conversion factor (1.5) in a study with tilapia.

Conclusions

Nutritional quality contributed by microorganisms associated to Biofloc is comparable and/or superior regarding to commercial food in terms of protein and fats, also they contribute and adequate content of carbohydrates and ashes for its use as food in aquaculture, bioflocs are also good vitamin and mineral sources, specially of phosphorus, calcium, and magnesium (Crab *et al.*, 2011; Hargreaves, 2013; Emerenciano *et al.*, 2013). On other hand, diverse investigators (Maya *et al.*, 2016; Azim and Little, 2008) coincide that Biofloc technology application, improves different aspects like higher growth rates, increased survival, better food conversion and decrease in diseases. Also, there are important environmental benefits, because of amount of used water reduction during culture cycle, because microorganisms regulate water quality present in Biofloc which transform organic wastes, favoring environmental conservation (Avnimelech, 2009; Wasiliesky *et al.*, 2006; Ekasari *et al.*, 2014a). Nutritional and ecological role that microorganisms present in Biofloc develop is important, nevertheless, is still unknown in its totality, so it is suggested to carry out more studies that characterize species diversity, both bacterial and planktonic that can be present in Biofloc systems and that help to explain interactions that are carried out in this type of aquaculture farming systems.

Acknowledgments

First author thanks Postgraduate Program: Master in Agricultural Sciences of Universidad Autonoma Metropolitana for provided support. Also to Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) for granted scholarship, number CVU 763361.

References

- ✓ Anand P.S., Kohli M.P.S., Kumar S., Sundaray J.K., Roy, S.D., Venkateshwarlu, G. and Pailan G.H. (2014) Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 418: 108-115.
- ✓ Andrade C., Vera A., Cárdenas C. and Morales E. (2009) Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia*, 32: 126-134.
- ✓ Avnimelech Y. (1999) Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176: 227-235.
- ✓ Avnimelech, Y. (2009). *Biofloc technology: a practical guide book*. 2d ed. The World Aquaculture Society, Baton Rouge.
- ✓ Avnimelech Y. and Kochba M. (2009) Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in biofloc tanks, using ¹⁵N tracing. *Aquaculture*, 287: 163-168.

- ✓ Azam F., Fenchel T., Field J.G., Gray J.S., Meyer-Reil L. A. and Thingstad F. (1983). The ecological role of watercolumn microbes in the sea. *Marine ecology progress series*, 10: 257-263.

- Azim M.E. and Little D.C. (2008). The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, Biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 283: 29-35.
- ✓ Brito L.O., Arana L. A.V., Soares R.B., Severi W., Miranda R.H., da Silva S.M. and Gálvez A.O. (2013) Water quality, phytoplankton composition and growth of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in an integrated biofloc system with *Gracilaria birdiae* (Greville) and *Gracilaria domingensis* (Kützing). *Aquaculture International*, 22: 1649-1664.
- ✓ Cardona E., Gueguen Y., Magré K., Lorgeoux B., Piquemal D., Pierrat F. and Saulnier D. (2016) Bacterial community characterization of water and intestine of the shrimp *Litopenaeus stylirostris* in a biofloc system. *BMC Microbiology*, 16: 157.
- ✓ Castro M.D.C., Bulnes A.L. and Suárez M.H. (2014) Crianza de *Oreochromis niloticus* Var chitralada en sistema bio-floc en la Empresa PRODUMAR SA, Guayaquil (Ecuador). *Revista REBIOLEST*, 1: 79-91.
- ✓ Crab R., Chielens B., Wille M., Bossier P. and Verstraete W. (2010). The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquaculture Research*, 41: 559-567.
- ✓ Crab R, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W (2012) Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*, 356: 351–356.
- ✓ Chu C.P. and Lee D.J. (2004) Multiscale structures of biological flocs. *Chemical Engineering Science*, 59: 1875-1883.
- ✓ Collazos-Lasso L.F. and Arias-Castellanos J.A. (2015) Fundamentos de la tecnología biofloc (BFT). Una alternativa para la piscicultura en Colombia. Una revisión. *Orinoquia*, 19: 77-86.
- ✓ Cuzon G., Lawrence A., Gaxiola G., Rosas C. and Guillaume J. (2004) Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture*, 235: 513-551.
- ✓ De Schryver P., Crab R., Defoirdt T., Boon N. and Verstraete W. (2008). The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture*, 277: 125-137.
- ✓ Ebeling J.M., Timmons M.B. and Bisogn J.J. (2006) Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257: 346–358.
- ✓ Emerenciano M., Cuzon G., Goguenheim J. and Gaxiola G. (2012) Floc contribution on spawning performance of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Aquaculture Research*, 44: 75-85.
- ✓ Emerenciano M., Gaxiola, G. and Cuzon G. (2013). Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry. In: Matovic MD (ed.) *Biomass Now: Cultivation and Utilization*, InTech, Belfast, CANADA. : 301-308.
- ✓ Ekasari J., Rivandi D.R., Firdausi A.P., Surawidjaja E.H., Zairin M., Bossier, P. and De Schryver P. (2015) Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. *Aquaculture*, 441: 72-77.
- ✓ Ekasari J., Angela, D., Waluyo S.H., Bachtiar T., Surawidjaja E.H., Bossier P. and De Schryver P. (2014a) The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals. *Aquaculture*, 426: 105-111.
- ✓ Ekasari J., Azhar M. H., Surawidjaja E. H., Nuryati S., De Schryver P. and Bossier P. (2014b) Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. *Fish and shellfish immunology*, 41: 332-339.
- ✓ Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2005) Department of Fisheries Information. Data and Statistics Unit. Roma.

- ✓ Fernandez-Reiriz M.J., Perez-Camacho A., Ferreiro M.J., Blanco J., Planas M., Campos M.J. and Labarta, U. (1989) Biochemical profile (total protein, carbohydrate, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. *Aquaculture*, 83: 17-37.
- ✓ Ferreira-Marinho Y., Otavio-Brito L., Figueiredo da Silva C.V., Sobral dos Santos I. G. and Olivera-Gálvez A. (2014) Efecto de la adición de *Navicula* sp. Sobre la composición del plancton y el crecimiento de postlarvas de *Litopenaeus vannamei* criadas en estanques de cultivo sin recambio de agua. *Latin american journal of aquatic research*, 42: 427-437.
- ✓ Figueroa J.L. (2009) Nematodo de vida libre *Panagrellus redivivus* (Goodey, 1945): Una alternativa para la alimentación inicial de larvas de peces y crustáceos. *Investigacion y Ciencia*, 45: 4-11.
- ✓ Gaona C.A.P., Poersch L. H., Krummenauer D., Foes G.K. and Wasielesky W.J. (2011) The effect of solids removal on water quality, growth and survival of *Litopenaeus vannamei* in a biofloc technology culture system. *International Journal of Recirculating Aquaculture*, 12: 547-553.
- ✓ Hargreaves J.A. (2013) Biofloc production systems for aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center, No. 4503. Mississippi.
- ✓ Hernandez-Barraza C.A., Guzmán G.A. and Cantú D.G. (2009) Sistemas de producción de Acuicultura con recirculación de agua para la Región Norte, Noreste y Noroeste de México. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 25: 117-128.
- ✓ Kamilya D., Debbarma M., Pal P., Kheti B., Sarkar S. and Singh S.T. (2017) Biofloc technology application in indoor culture of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings: The effects on inorganic nitrogen control, growth and immunity. *Chemosphere*, 182: 8-14.
- ✓ Krummenauer D., Peixoto S., Cavalli R. O., Poersch L. H. and Wasielesky W. (2011) Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42: 726-733.
- ✓ Kuhn D.D., Boardman G.D., Lawrence A.L., Marsh L. and Flick G.J. (2009) Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed. *Aquaculture*, 296: 51-57.
- Luis-Villaseñor I.E., Voltolina D., Audelo-Naranjo J. M., Pacheco-Marges M.R., Herrera-Espericueta V.E. and Romero-Beltrán E. (2015) Effects of Biofloc Promotion on Water Quality, Growth, Biomass Yield and Heterotrophic Community in *Litopenaeus Vannamei* (Boone, 1931) Experimental Intensive Culture. *Italian Journal of Animal Science*, 14: 322-337.
- ✓ López-Elías J.A., Moreno-Arias A., Miranda-Baeza A., Martínez-Córdova L.R., Rivas-Vega M.E. and MárquezRíos E. (2015) Proximate composition of bioflocs in culture systems containing hybrid red tilapia fed diets with varying levels of vegetable meal inclusion. *North American Journal of Aquaculture*, 77: 102-109.
- ✓ López-Tarín F. (2011) Efecto de la sustitución parcial de una dieta comercial complementada con floc en el crecimiento y la sobrevivencia de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en un sistema intensivo con cero recambio de agua. Master's Thesis. CESUES, México, 60 pp
- ✓ Maicá P.F., de Borba M.R. and Wasielesky W. (2012) Effect of low salinity on microbial floc composition and performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles reared in a zero-water-exchange super-intensive system. *Aquaculture Research*, 43: 361-370.
- ✓ Martínez-Córdova L.R., Ezquerro-Brauer M., BringasAlvarado L., Aguirre-Hinojosa E. and Garza-Aguirre M.D.C. (2002) Optimización de alimentos y prácticas de alimentación en el cultivo de camarón en el noroeste de México Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola, Cancún (México), 559-581.
- ✓ Massaut L., y Ortiz J. (2003) Aislamiento y cultivo de cianobacterias con potencial toxicidad sobre postlarvas de *Litopenaeus vannamei*. *El mundo Acuicola*. 9: 15-19.

- ✓ Maya G.S., Monroy D.M., Handam P.A., Castro J.C., and Rodríguez M.G. (2016) Effect of two carbon sources in microbial abundance in a Biofloc culture system with *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4(3): 421-427.
- ✓ Monroy-Dosta M.C., Lara-Andrade R., Castro-Mejía J., Castro-Mejía G. and Coelho-Emerenciano M.G. (2013) Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de tilapia. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 48: 511-520.
- ✓ Monroy-Dosta M., Rodríguez-Montes de Oca G., CastroMejia J. and Becerril-Cortés D. (2015) Importance and function of microbial communities in aquaculture systems with no water exchange. *Scientific Journal of Science*, 4: 103-110.
- ✓ Moss S.M. (2002) Dietary importance of microbes and detritus in Penaeid shrimp aquaculture. In: Lee C.S., O'Bryen, P. (eds.) *Microbial Approaches to Aquatic Nutrition within Environmentally Sound Aquaculture Production Systems*, World Aquaculture Society, Baton Rouge, U.S.A.: 1-18.
- ✓ Muller-Feuga A. (2000) The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *Journal of Applied Phycology*, 12: 527-534.
- ✓ Nootong K., Pavasant P. and Powtongsook S. (2011) Effects of organic carbon addition in controlling inorganic nitrogen concentrations in a biofloc system. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42: 339-346.
- ✓ Paes C.R., Faria G.R., Tinoco N.A., Castro D.J., Barbarino E. and Lourenço S.O. (2016) Crecimiento, absorción de nutrientes y composición química de *Chlorella sp.* y *Nannochloropsis oculata* bajo carencia de nitrógeno. *Latin american journal of aquatic research*, 44: 275-292.
- ✓ Palmerin C.D.M., Guevara L.O., Villaseñor O.F. and Perez P.C (2011) Identificación de una levadura para producción de proteína unicelular para consumo humano y caracterización de los parámetros cinéticos a nivel de matraces agitados. *Ciencia@UAQ*, 4:35-46.
- ✓ Ray A.J., Seaborn G., Leffler J.W., Wilde S.B., Lawson A. and Browdy C.L. (2010) Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture*, 310: 130-138.
- ✓ Ray A.J., Dillon K. S. and Lotz J.M. (2011) Water quality dynamics and shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production in intensive, mesohaline culture systems with two levels of biofloc management. *Aquacultural Engineering*, 45: 127136.
- ✓ Schweitzer R., Arantes R., Costódio P.F.S., do Espírito Santo C.M., Arana L.V., Seiffert W.Q. and Andreatta E. R. (2013) Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. *Aquacultural Engineering*, 56: 59-70.
- ✓ Sierra - De la Rosa J., Martínez Pardo X. and Mendoza Rivera M. (2009) Evaluación del cultivo de tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*) y tilapia roja (*Oreochromis sp*) en diferentes sistemas intensivos de granjas camaroneras como alternativa productiva en el sector camaronicultor colombiano. Ceiniacua. Bogotá.
- ✓ Suárez A.V., Guevara M., Salazar G., Arredondo-Vega B., Cipriani R., Lemus N. and Lodeiros C. (2007) Crecimiento y composición bioquímica de cuatro cepas de *Dunaliella* para ser utilizadas en acuicultura. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 41: 181-194.
- ✓ Tacon A.G., Nates, S. F., and McNeil, R. J. (2004) Dietary feeding strategies for marine shrimp: a review. *Avances en Nutrición Acuícola VII. VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Memorias, Hermosillo (México), 16-19.
- ✓ Tacon A.G. (1989) *Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados: Manual de capacitación*. FAO, Brasilia.
- ✓ Wang C., Pan L., Zhang K., Xu W., Zhao D. and Mei L. (2016) Effects of different carbon sources addition on nutrition composition and extracellular enzymes activity of bioflocs, and

- digestive enzymes activity and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in zero-exchange culture tanks. *Aquaculture Research*, 47: 3307-3318.
- ✓ Wasielesky W., Atwood H., Stokes A. and Browdy C.L. (2006) Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258: 396–403.
 - Wei Y., Liao S. A. and Wang A. L. (2016) The effect of different carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of bioflocs. *Aquaculture*, 465: 88-93.
 - ✓ Zhao P., Huang J., Wang X. H., Song X. L., Yang C. H., Zhang X. G. and Wang G. C. (2012) The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture*, 354: 97-106.
 - ✓

Universidad Autónoma de Baja California

Instituto de Investigaciones Oceanológicas

"2017 Año del 60 Aniversario de la Universidad Autónoma de Baja California"


Ensenada, B. C., 06 febrero de 2018
Oficio: 015/18-1

A QUIEN CORRESPONDA:

Sirva este medio para hacer de su conocimiento que el **C. Daniel Becerril Cortes** estudiante de la Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana - Xochimilco con Número de control 45987942112, realizó y concluyó satisfactoriamente su Estancia de Investigación en este Instituto de Investigaciones Oceanológicas en el periodo comprendido entre el 23 de enero al 06 de febrero de 2018, colaborando en el proyecto "Respuesta molecular e inmune en aspectos de la fisiología digestiva en estudios de nutrición de organismos acuáticos" bajo la supervisión del Dr. José Antonio Mata Sotres, Investigador Cátedra CONACyT en este Instituto.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Por la Realización Plena del Hombre"


DR. ALEJANDRO CABELLO PASINI
DIRECTOR

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE BAJA CALIFORNIA



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
OCEANOLÓGICAS

C.c.p. Dr. Asdrúbal Martínez Díaz de León. - Subdirector del IIO.
Dr. José Antonio Mata Sotres. - Investigador Cátedra CONACyT.
Expediente

ACPI/Cristina

Carretera Transpeninsular Ensenada - Tijuana, No. 3917, Fraccionamiento Playitas, Ensenada, B.C., C. P. 22860, México
Teléfonos: (646) 174-4601, 174-5475, 174-5462; Fax: (646) 174 53 03
E-mail: dire_iiio@usbc.edu.mx <http://iiio.ens.usbc.mx>



**La Facultad de Ciencias del Mar
de la Universidad Autónoma de Sinaloa**



a través del Guernpo académico en consolidación
"Desarrollo sustentable en ambientes acuáticos, con clave UAS-CA-259"

OTORGA EL PRESENTE

RECONOCIMIENTO

A: Daniel Cortés Becerril

Por haber realizado el curso de "Capacitación técnica en producción de alimento vivo en acuicultura" con duración de 40 horas, realizado del 21 al 25 de noviembre de 2016, en la Ciudad y Puerto de Mazatlán, Sinaloa, México

"Sursum versus"
Mazatlán, Sinaloa, 25 de noviembre de 2016.

Dr. Jorge Saúl Ramírez Pérez
Director de FACIMAR-UAS

Dr. José Cristóbal Román Reyes
Responsable del C.A. UAS-CA-259

