



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**

**INFORME DE SERVICIO SOCIAL
POR INVESTIGACIÓN**

Eficiencia de los residuos de café como fuente de carbono con la adición de una levadura *Rhodotorula* en el crecimiento de *Puntius conchoni* cultivado en Biofloc.

QUE PRESENTA LA ALUMNA

Carmona Espíritu Estefanía Berenice
Matricula: 2142036068

ASESORES

Dra. María del Carmen Monroy Dosta UAM-X (28906)

Ciudad de México, D.F.

Junio de 2018

Resumen.

En México uno de los principales problemas en sistemas de producción acuícola es la acumulación de materia orgánica y compuestos tóxicos dañinos para los organismos. Actualmente se han desarrollado nuevas tecnologías para controlar dichos residuos, una de estas tecnologías es el Biofloc (BFT, por sus siglas en inglés), donde los desechos se convierten en proteína microbiana por medio de la incorporación de carbohidratos (café, melaza, entre otros.), produciendo biomasa bacteriana. De igual forma la utilización de probióticos proporcionan mejor asimilación de nutrientes y una maduración del sistema inmune. Por lo que esta investigación tiene como objetivo determinar la eficiencia de los residuos de café como fuente de carbono con la adición de una levadura *Rhodotorula* en el crecimiento de *Puntius conchoni* cultivada en un sistema Biofloc. Se colocaron 4 cilindros de 80 L con diez juveniles durante 16 semanas sin recambio de agua, dos con levadura, fuente de carbono (café) y alimento comercial, comparándolo con dos controles, ajustando la cantidad de alimento y fuente de carbono cada 15 días.

Los datos obtenidos demuestran que hubo una diferencia significativa en el crecimiento de los peces (Longitud total) al obtener un valor de $P=0.0014$, sobrevivencia del 90% en el tratamiento con fuente de carbono y la levadura mientras que en el control fue del 56%.

Por lo anterior el uso de sistemas biofloc enriquecido con una levadura, es una alternativa para incrementar los parámetros productivos de las especies cultivadas, sin los costos ambientales de la acuicultura tradicional.

Palabras clave: Biofloc, café, carbono, probiótico, *Puntius conchoni*.

INDICE

1. Introducción.....	4
2. Antecedentes.....	5
3. Objetivo.....	7
3.1. Objetivos particulares.	7
4. Metodología.....	7
4.1. Implementación del Sistema experimental.....	7
4.2. Biometría.....	8
4.3. Fórmula para calcular el desarrollo Biofloc.....	8
4.4. Aplicación levadura	8
4.5. Parámetros químicos.....	9
5. Resultados.....	9
6. Discusión.....	10
7. Referencias.....	12

1. Introducción

La acuicultura o también llamada acuicultura se define como la intervención humana de forma técnica en el proceso de cría de organismos acuáticos bastante diversa, existen aproximadamente 567 especies de agua dulce con importancia acuícola (FAO, 2011).

La Acuicultura como actividad económica del hombre necesita de nuevas técnicas avanzadas que reduzcan gastos de producción, puesto que la alimentación es una de las limitantes y uno de los costos fijos más difíciles de comprar en el rubro de la acuicultura porque representa el 70% de los costos totales de la producción de dichos cultivos acuícolas. La necesidad del recurso del agua en la industria acuícola es indispensable para la producción y para ello los avances de nuevas técnicas (Biofloc) nos permiten reducir grandes cantidades de agua, siendo sostenible con el medio ambiente (Pérez, 2014). En ese sentido, el sistema de Biofloc (BFT, por sus siglas en inglés) comenzó a hacer utilizado en acuicultura en la década de 1980 en la polinesia francesa. Posteriormente, en Israel se realizaron experimento de inducción de la formación de cadena microbiana heterotróficas a través de cambios en la relación C: N en el agua de cultivo. Durante este mismo periodo, se empezó a desarrollar en Norteamérica y Brasil (Wasielisky *et al.*, 2013). Un factor importante para el desarrollo del Biofloc es a fuente de carbono utilizada, ya que influye en la comunidad microbiana que se desarrolla y en todos los procesos de oxido reducción. La fuente de carbono mas utilizada ha sido la melaza, pero también se pueden aprovechar residuos ricos en carbohidratos derivados de alguna industria, como son los residuos de café, que son una fuente rica en carbohidratos, polifenoles y flavonoides que mejoran la producción de hormonas y reducen el estrés oxidativo.

Por otra parte, diversos estudios señalan que la manipulación de las comunidades microbianas en los sistemas de cultivo puede ser beneficiosa sobre todo si se hace una selección de bacterias con una alta eficiencia en el proceso de oxido-reducción y de aquellas que mejoran la nutrición y la respuesta inmune como es el caso de las bacterias probióticas. Las cuales forman una biopelícula en el intestino que protege de la invasión de microorganismos patógenos, además producen metabolitos que pueden ser utilizados por el hospedero (peces), como son las vitaminas del grupo B, algunos minerales como magnesio y calcio. También producen exoenzimas que ayudan al hospedero a incrementar la asimilación de nutrientes, lo que se puede verse reflejado en el crecimiento (Monroy *et al.*, 2012). Por todo lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la

eficiencia de los residuos de café como fuente de carbono con la adición de una levadura *Rhodotorula* en el crecimiento de *Puntius conchonius* cultivado en Biofloc.

2. Antecedentes

Los microorganismos son parte fundamental de las redes tróficas en los ambientes acuáticos, al contribuir en la recirculación de nutrientes e interactuando con una amplia gama de organismos (Cruz-Leyva *et al.*, 2015). Sin embargo; en un estudio realizado por De Paiva *et al.* (2016), no observaron efectos positivos al adicionar un probiótico comercial, compuesto por *Bacillus* spp. y *Lactobacillus* sp. en el sistema Biofloc para el cultivo de camarón, los autores señalan que esto puede suceder debido a los procesos de anaerobiosis que se pueden dar en el fondo del estanque o a la concentración a la que el probiótico es adicionado.

Reyes (2010) llevó a cabo un experimento durante 50 días en época de invierno con alevines de tilapia híbrida (*Oreochromis niloticus* y *O. aureus*) de 50 y 100 g en estanques circulares de concreto proporcionando una alimentación de 1.5 kg/día de proteína de pellet con 23 o 30 % y la adición de almidón, otro solo contenía proteína del mismo porcentaje y carecía de almidón. La proporción de C:N fue de 10.8 y 14 en los tratamientos sin almidón. Cuando la proporción de C:N se ajustó a 20 por adición del almidón en estanques, se elevó la concentración de carbono, la calidad del agua fue asegurada por la presencia del biofloc. El promedio de crecimiento diario fue de 0.29 ± 0.03 g en peces de 100 g y de 0.27 ± 0.02 g en peces de 50 g. Probando así la eficiencia de esta tecnología ya que aumentaron peso en épocas invernales, se mantuvo la temperatura del agua idónea y en buena calidad y con poco o nulo cambio de agua.

Kuhn (2010) realizó dos ensayos cada 5 semanas en tanques de 26 L para determinar si el Biofloc puede reemplazar la harina de pescado y/o proteína de soya en las dietas de camarones (*Litopenaeus vannamei*). Los camarones alimentados con dietas a base de biofloc durante el primer bioensayo adquirieron mayor peso comparado con los de la dieta control, la diferencia fue de un 49%. Durante el segundo experimento, el camarón alimentado con dietas de biofloc superó al grupo control en aproximadamente un 10%, por lo que los camarones alimentados con las dietas de biofloc

crecieron ligeramente o significativamente más rápido. Estos datos sugieren que el biofloc puede ser un ingrediente adecuado, si no es que superior, a la harina de pescado y/o proteína de soya.

En el 2017, De Lara Andrade *et al.*, realizaron un estudio sobre el crecimiento y supervivencia de *Puntius conchonius* cultivado en un sistema biofloc, donde se pusieron ocho tinajas circulares de 200 L, en las cuales se colocaron 30 organismos juveniles de esta especie, con una longitud inicial promedio de 5.0 ± 0.95 cm y un peso promedio de 4.2 ± 1.08 g. Se les suministró una dieta para trucha (60% de proteína) y se adicionó melaza+polvillo de arroz como fuente externa de carbono, garantizando una relación C/N 15:1. Este experimento registra diferencias significativas en talla y peso en comparación con los organismos sin este tratamiento, además de que mejora la supervivencia y provee el alimento vivo que necesitan estos peces para evitar la alta mortalidad que se da en cultivos controlados.

Moreira en el mismo año, evaluó el efecto de dos promotores de crecimiento sobre los parámetros de sobrevivencia, biomasa, peso por alevín, ganancia diaria de peso e índice de conversión alimenticia. Donde se le administraron los promotores de crecimiento mezclados con el concentrado de 45% de proteína cruda. Se obtuvo, en la mezcla de concentrado con *Rhodotorula sp.* 1.85×10^8 UFC/g y con *B. subtilis* 2.25×10^8 UFC/g de alimento respectivamente. Se utilizó una densidad de 700 alevines por tanque. El análisis se hizo con un diseño completo al azar con medidas repetidas en el tiempo. Los tratamientos fueron: tratamiento uno, control, el cual consistió únicamente de alimento convencional si ningún tipo de aditivo, dos, Alimento + *Rhodotorula sp.* y tres, Alimento + *B. subtilis*. Cada tratamiento con tres repeticiones. El tratamiento de control mostró los mejores resultados, siendo superior en cada parámetro evaluado en comparación con los tratamientos dos y tres. A excepción del índice de conversión alimenticia, el promedio acumulado muestra que el tratamiento de control no tuvo diferencia significativa comparado con el tratamiento de Alimento + *Rhodotorula sp.* Bajo las condiciones del estudio, al incluir la levadura *Rhodotorula sp.* o la bacteria *B. subtilis* se reducen los parámetros productivos de los alevines comparado con la dieta convencional.

Por otra parte, la investigación realizada por Prabu *et al.* (2017), donde probaron dietas con 32% de proteína, diferentes porcentajes de triptofano y 20% de hojuela de Biofloc, se observó que el incremento en peso de las tilapias fue significativo, ya que comenzaron con un peso menor a 5g y en un periodo de 60 días el tratamiento con el promedio de peso más alto fue de 41.84g. Los autores indican que estos resultados se deben a que el Biofloc afectan positivamente la actividad enzimática digestiva de los organismos en cultivo mejorando la asimilación de nutrientes.

Por otro lado, (Azim y Little, 2008) evaluaron el crecimiento de *Oreochromis niloticus* en Biofloc, adicionando como fuente de carbono externa harina de arroz y melaza. La ganancia en peso fue de 40g en sistema Biofloc en un periodo de 12 semanas de experimentación, atribuyendo este crecimiento a que la mayoría de las tilapias son conocidas por utilizar partículas de alimentos producidos *in situ*, incluidas las bacterias suspendidas.

3. Objetivo

Determinar la eficiencia de la levadura *Rhodotorula* y de los residuos de café como fuente de carbono en el crecimiento de *Puntius conchoni* cultivada en un sistema Biofloc.

3.1. Objetivos particulares

- Evaluar la tasa de crecimiento y sobrevivencia de *Puntius conchoni* administrando la levadura *Rhodotorula sp* y la adición de los residuos de café como fuentes de carbono en un sistema Biofloc.
- Valorar la calidad de agua durante el cultivo de *Puntius conchoni* administrando la levadura *Rhodotorula sp.* y la adición de los residuos de café como fuentes de carbono en un sistema Biofloc.

4. Metodología

4.1. Implementación del Sistema experimental

Para el desarrollo del sistema Biofloc se utilizaron 4 cilindros de 80 L en el cual se colocaron diez juveniles de *Puntius conchoni* de talla similar por cilindro.

A dos se le administró la levadura *Rhodotorula*, la fuente de carbono (café) y el alimento comercial marca "El Pedregal" con 40% de proteína; y a los dos restantes solo se les administró el alimento comercial.

4.2. Biometría

Se realizó una biometría cada 15 días para conocer su longitud y peso, utilizando una balanza digital y un Vernier. Obtenido el peso de los alevines se calculó la cantidad de alimento al 10% según su peso y la fuente de carbono (residuos de café) para mantener la relación C:N=15:1 con base a la fórmula de Avnimelech.

Con base en la biomasa presente en el sistema se obtuvo la dieta para los peces, siendo esta de 10% según lo obtenido.

4.3. Fórmula para calcular el desarrollo Biofloc

Para calcular la relación C:N en el sistema Biofloc, primero se obtuvo la cantidad de carbono y nitrógeno presente en el alimento de acuerdo a la siguientes fórmulas:

C: cantidad de alimento en gramos $\times 88 \times 0.7/2$

N: cantidad de alimento en gramos $\times 88 \times 0.7 \times 0.30/ 6.25$

88 : % de materia seca de café.

0.7: % de alimento no consumido por el pez.

0.30: % de proteína.

6.25: constante del nitrógeno en las proteínas.

Después se ajustó la relación carbono nitrógeno (15:1) multiplicando el resultado de la cantidad de nitrógeno en el alimento por 15. Este resultado se divide entre el valor obtenido de la fuente de carbono.

4.4. Aplicación levadura

Se le aplicó la levadura (*Rhodotorula*) dos veces por semana, en una concentración del $1 \times 10^7 \text{ c/ml}^{-1}$ para favorecer el equilibrio de la microbiota intestinal y promover el buen funcionamiento del sistema inmunológico de los peces.

4.5. Parámetros químicos

Se medieron cada 15 días los parámetros químicos, utilizando el kit NUTRAFIN TEST para nitritos, nitratos y amonio y un multiparamétrico Hanna 4P.

4.6 Análisis de datos

Con los datos obtenidos se generó una base de datos en Excel para efectuar la estadística descriptiva, posteriormente se realizó un análisis de varianza de una vía con un valor de α de 95% tomando como fuente de variación la adición de levadura en el grupo tratado.

5. Resultados

Los resultados de esta investigación en relación con el peso muestran que en los tratamientos con residuos de café y la levadura *Rhodotorula* dieron los mejores resultados en comparación con el tratamiento control con menor ganancia de peso tal como se observa en la Tabla 1.

Por otra parte, la sobrevivencia se vio refleja de igual foma en los tratamiento con Biofloc, café y levadura con un 90% mientras que en los tratamientos control (biofloc con café) con 56% respectivamente, lo que puede atribuirse a la adición de la levadura *Rhodotorula* en los tratamientos.

Tabla 1.- Crecimiento de *Puntius Conchoni* con Biofloc y cafe (control) y Blofloc mas café y levadura

Parámetro	Control	BFT con cafe + Rhodoturula
Peso inicial (g)	3.15±1.03 ^a	3.02.88±0.98 ^a
Peso final (g)	3.97±2.61 ^a	5.20±2.38 ^b
Longitud inicial	3.61±0.59 ^a	4.88±0.46 ^a

Longitud total final	4.00±1.25 ^a	5.11±1.08 ^b
Sobrevivencia (%)	56	90

Los datos son promedios (\pm desviación estándar). Filas con letras distintas muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos al final del experimento.

Por ultimo los parámetros fisicoquímicos se mantuvieron constantes durante todo el experimento (Tabla 2), manteniendo una buena calidad en el sistema Biofloc con café y la levadura, si bien los nitratos son los que resultan con los valores mas altos, siguen estando dentro de los niveles normales para el cultivo del barbo rosi (1-14mg/L⁻¹)(Tabla 2).

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos químicos

Parámetro	Media DS	max	min	Media DS	max	min
pH	7.67 (± 0.21) ^a	7.20	7.85	7.57 (± 0.18) ^a	7.36	8.01
Temperatura (°C)	21.58 (± 0.72) ^a	20.69	22.7	21.86 (± 0.78) ^a	20.29	22.44
Oxígeno disuelto mg L ⁻¹	89.89 (± 6.67) ^a	74.83	94	87.39 (± 7.25) ^a	7.67	96.37
NO ²⁻ mg/L	0.59 (± 0.28) ^a	0.28	1.15	0.52 (± 0.26) ^a	0.22	1.15
NO ³⁻ mg/L	13.17 (± 5.40) ^a	0.73	30.0	13.70 (± 4.13) ^a	1.6	30.0
NH ⁴⁺ mg/L	0.80 (± 0.16) ^a	0.39	0.80	0.63 (± 0.12) ^b	0.51	1.55
Sólidos sedimentables (mg/L)	5	0	5	5	5	5

Valores promedios (\pm desviación estándar). Máximos y mínimos. Letras distintas muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos.

6. Discusión

Los microorganismos son parte fundamental de las redes tróficas en los ambientes acuáticos, al contribuir en la recirculación de nutrientes e interactuando con una amplia gama de organismos

(CruzLeyva et al., 2015). Estudios sugieren que una manipulación adecuada de las comunidades microbianas puede ayudar a mejorar la calidad del agua en términos de niveles de nutrientes y reducir la abundancia de bacterias patógenas, mejorando la supervivencia y crecimiento de las especies cultivadas. En ese sentido, una de las tecnologías más utilizadas para la modificación de la microbiota en acuicultura es el uso de probióticos, los cuales han demostrado múltiples beneficios sobre la salud y la calidad del agua de las especies cultivadas, a través de distintos mecanismos de acción, como son: la estimulación de la respuesta inmunitaria, la segregación de sustancias que inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos, la producción de enzimas que inducen la absorción y mejoran la nutrición de los peces y crustáceos y una reducción de compuestos nitrogenados que son transformados por los microorganismos mejorando el sistema de cultivo. Lo anterior se pudo observar en esta investigación ya que la supervivencia fue mayor en los tratamientos con café más levadura respecto al control, lo que puede deberse al efecto de la levadura que mejoró el bienestar de los peces al funcionar como bioestimulantes del sistema inmune y a mejorar la calidad del agua lo que les permitió alcanzar una mayor supervivencia tal y como lo señala Aly et al. (2008) quienes indican que al añadir probióticos en la dieta se incrementa la respuesta inmune y por consiguiente la sobrevivencia.

Así mismo se ha demostrado que la levadura *Rhodotorula sp.* produce pigmentos carotenoides como: β - caroteno, α caroteno, toruleno y torularodina que confieren un color característico (Buzzini *et al.*, 2007) y que su uso tanto en alimento formulado o adicionado directamente a los tanques de cultivo promueve el crecimiento, actividad enzimática y reduce la incidencia de enfermedades (Gatesoupe, 2000; Tovar-Ramirez *et al.*, 2008; Lara-flores *et al.*, 2010), investigaciones mencionan que las levaduras liberan constantemente pequeñas moléculas llamadas poliaminas, las cuales se encuentran en todos los materiales biológicos (Tovar-Ramirez *et al.*, 2008; Tabor y Tabor, 1984) y promueven el crecimiento, supervivencia y maduración del sistema digestivo por lo que los beneficios por la adición de probióticos en estos sistemas influyen positivamente en diversos procesos (Monroy *et al.*, 2012), como mayores tasas de crecimiento y aumento en la sobrevivencia; lo cual se demostró en nuestro tratamiento con residuos de café enriquecido con la levadura reportando un 90% de sobrevivencia.

Los parámetros fisicoquímicos son de suma importancia para evitar la mortalidad de los peces, Azim y Little en el 2008 mencionan que la manipulación de la relación C:N en el sistema añadiendo

carbohidratos, reduce significativamente las concentraciones de N inorgánico en la columna de agua y el N total de los sedimentos. Por lo que las bacterias que ecrecen en el microsistema comienzan a usar compuestos que pueden ser tóxicos para el cultivo como; carbono orgánico, nitrógeno amoniacal, nitritos, nitratos y fosfatos, dejándolos asimilables para algas,hongos y otras bacterias (Avnimelech 1999;2007),lo que sugieren la presencia de un sistema maduro en términos de nitrificación (Cohen *et al.*, 2005).

7. Referencias

Avnimelech Y. (1999). Biofloc technology- A practical guide book. The worldaquaculturesociety. Baton Rouge, United States.

Avnimelech, Y. (2007). *Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds*. Aquaculture. 264, 140-147.

Aly, S. M., Mohamed, M. F. and John, G. (2008), Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture Research, 39: 647-656.

Azim ME. and 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.

Cohen, J.M., T.M. Samocha, J.M. Fox, R.L. Gandy y A.L. Lawrence. (2005). Characterization of water quality factors during intensive raceway production of juvenile *Litopenaeus vannamei* using limited discharge and biosecure management tools. Aquaculture Engineering. Vol. 32. (3-4):425-442.

Cruz-Leyva, María Concepción de la, Zamudio-Maya, Marcela, Corona-Cruz, Alma Irene, González-de la Cruz, José Ulises, & Rojas-Herrera, Rafael Antonio. (2015). Importancia y estudios de las comunidades microbianas en los recursos y productos pesqueros. Ecosistemas y recursos agropecuarios, 2(4), 99-115.

De Lara Andrade, R., Castro-Mejía, G., Monroy-Dosta, MC., Castro-Mejía, J., Ocampo-Cervantes, JA., & Dávila-Sánchez, F. (2017). *Crecimiento y supervivencia de *Puntius conchonius* (Hamilton, 1822) cultivado en un sistema Biofloc*. E-Bios, 1 (13), 43-53.

FAO. 2011. Desarrollo de la acuicultura. Enfoque ecosistémico a la acuicultura. No. 5, Supl. 4. Roma, Italia.

Gatesoupe, F. J. (2000). Uso de Probióticos en Acuicultura, 463–472.

Kuhn, D., Laurence, A., Boardman, G., Marsh, L. & Flic, G. (2010). *Tecnología de biofloc*. Industria Acuícola, 6, 12-15 pp.

Lara-flores, M., Olivera-Castillo, L., Olvera-Novoa, M. (2010). Effect of the inclusion of a bacterial mix (*Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*), and the yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth, feed utilization and intestinal enzymatic activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). International Journal of Fish Aquaculture, 2(4), 93–101.

Moreira Marcillo T. G. . (2017). Uso de *Bacillus subtilis* y *Rhodotorula* sp. como promotores de crecimiento en alevines de tilapia gris (*Oreochromis niloticus*). 2017, de Escuela Agrícola

Monroy, M., Castro, T., Castro, J., Castro, G., & Lara, R. (2012). *Beneficios del uso de probióticos en la flora bacteriana intestinal de los organismos acuáticos*. ContactoS, 85, 11-18.

Reyes Fierro Manuel. (2010). *Bioflocs en el cultivo de tilapia: Aplicación de esta tecnología durante invierno*. Aplicación de tecnología Bioflocs en cultivo de tilapia, 6, 24-27.

Tovar-Ramirez, D., Reyes-Becerril, M., Guzman-Villanueva, L., Gleavez-Lopez, V., Civere-Cerecedo, R. (2008). Probióticos en acuicultura: Avances recientes del uso de las levaduras en peces marinos. Recuperado de [Http://www. Uanl. mx/utillerias/nutricion_acuicola/IX/archivos/12-Tovar. Pdf](http://www.Uanl.mx/utillerias/nutricion_acuicola/IX/archivos/12-Tovar.Pdf).

Tabor, C.W., Tabor, H. (1984). Polyamines, *Biochemistry*, 53, 749-90
DOI:10.1146/annurev.bi.53.070184.003533