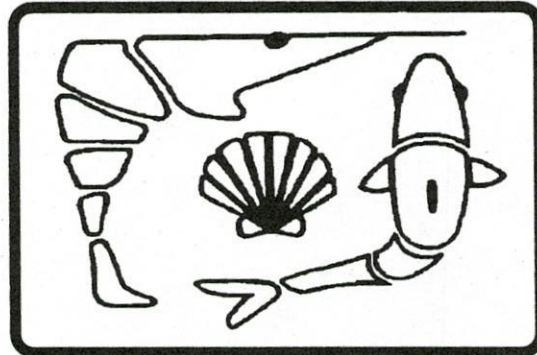




EL SABER DE MIS HIJOS
HARÁ MI GRANDEZA

UNIVERSIDAD DE SONORA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN ACUACULTURA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ACUACULTURA



**EVALUACIÓN DEL PRESUPUESTO DE NITRÓGENO Y REQUERIMIENTO
PROTEICO DE JUVENILES DE CAMARÓN BLANCO DEL PACÍFICO,
Litopenaeus vannamei, CULTIVADOS EN UN SISTEMA CERRADO.**

T E S I S

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

DENISSE ALEJANDRA TRUJILLO VILLALBA

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



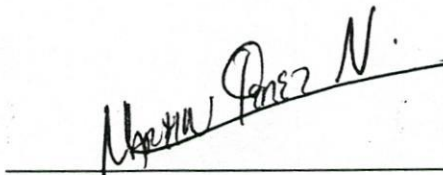
Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

APROBACIÓN

Los miembros del Comité designado para revisar la tesis de DENISSE ALEJANDRA TRUJILLO VILLALBA la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



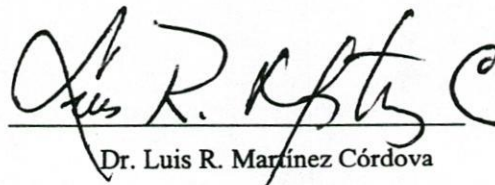
Dra. Mayra Lizett González Félix
Presidente



Dr. Martín Pérez Velázquez
Sinodal Secretario



Dra. Silvia Gómez Jiménez
Sinodal



Dr. Luis R. Martínez Córdova
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

- ☺ *Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por su Programa de Becas a la Excelencia, otorgadas a estudiantes del programa de la Maestría en Acuicultura del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora.*

- ☺ *A la Universidad de Sonora, por crear y apoyar programas de postgrados, apoyando el deseo de estudiantes a seguir creciendo en su vida profesional.*

- ☺ *A todo el personal docente del DICTUS, por compartir su conocimiento y experiencia científica en todo momento... Gracias!!!!*

- ☺ *A los Dres. Mayra González y Martín Pérez por su gran apoyo y amistad otorgados siempre... Gracias por ser como son... ah!!! Y nunca cambien... ok?*

- ☺ *A los Dres. Silvia Gómez y Luis Martínez por su colaboración en mi comité de tesis y por su aportación al trabajo realizado.*

- ☺ *Al personal de la Unidad Experimental Kino, por todo su apoyo y colaboración en el experimental realizado en sus instalaciones.*

DEDICATORIA

- ☺ *A mis papás Jorge y Paky por darme la oportunidad de seguir creciendo como profesionalista y persona, gracias a todo su amor y apoyo jamás negado.... mil gracias LOS AMO...*
- ☺ *A mis hermanos Jorge e Iraís para quienes espero ser un ejemplo a seguir... OK? Los quiero mil...*
- ☺ *A mi Niñito por tu paciencia, apoyo, ayuda incondicional y amor, Gracias por hacerme sentir Grande, Te Amo!!!*
- ☺ *A mis tíos Mona y Tín, Verita, Raúl, Dinorah, Tina, Faby, Maloly, Malicha, Jando y Mario; así como a todos mis primitos, de los cuales siempre he tenido un apoyo incondicional... gracias por ser la Familia que formamos!!!!*
- ☺ *A mis amigos y compañeros de clases, Ana Laura, Irene, Luchy, Irasema, Fernando, Jorge, Uriel, Edgard, Roberto, Carlos, Alfredo, Miguel y Freyman por hacer amenas y divertidas las clases compartidas.*
- ☺ *A mis nuevos y no tan nuevos amigos ☺ Gloria, Claudia, Willy, Sergio, Karlita, Zayra, Alma, Iván, José, Noel, Nelson, Juan, y Naty.*

CONTENIDO

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
INDICE DE FIGURAS	iii
INDICE DE TABLAS	iv
I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
II. OBJETIVOS	9
II. 1. Objetivo general	9
II. 2. Objetivos particulares	9
III. MATERIALES Y MÉTODOS	10
III. 1. Origen de los organismos experimentales	10
III. 2. Aclimatación de organismos experimentales	10
III. 3. Sistema experimental	10
III. 4. Dietas experimentales	11
III. 5. Determinación de parámetros biológicos	13
III. 6. Monitoreo de la calidad del agua	13
III. 7. Parámetros evaluados para el presupuesto de nitrógeno	13
III. 7. 1. Nitrógeno de alimento y nitrógeno de organismos cosechados	13
III. 7. 2. Nitrógeno inorgánico disuelto (NID)	14
III. 7. 3. Nitrógeno orgánico	16
III. 7. 4. Clorofila <i>a</i> y crecimiento superficial	17
III. 8. Análisis de datos	17
IV. RESULTADOS	18
IV. Parámetros de Producción	18
IV. I. 1. Peso Inicial	18
IV. I. 2. Peso Final	18
IV. I. 3. Peso Ganado	18
IV. I. 4. Supervivencia	19
IV. I. 5. Tasa Instantánea de Crecimiento	19
IV. I. 6. Factor de Conversión Alimenticia	20

IV. II. Calidad de agua	20
IV. II. 1. Oxígeno disuelto	20
IV. II. 2. Salinidad	20
IV. II. 3. Temperatura	21
IV. II. 4. pH	22
IV. III. Compuestos Nitrogenados	23
IV. III. 1. Nitrógeno Inorgánico	22
IV. III. 1. 1. Nitrógeno amoniacal total	23
IV. III. 1. 2. Nitritos	25
IV. III. 1. 3. Nitratos	27
IV. III. 2. Nitrógeno Orgánico	29
IV. III. 2. 1. Nitrógeno Orgánico Disuelto	29
IV. III. 2. 2. Nitrógeno de Sólidos Suspendidos	31
IV. III. 2. 3. Nitrógeno de Sólidos Sedimentados	31
IV. III. 3. Nitrógeno y proteína en dietas experimentales	33
IV. III. 4. Nitrógeno en organismos experimentales	33
IV. III. 5. Clorofila <i>a</i>	35
IV. III. 6. Crecimiento superficial	35
IV. IV. Presupuesto de nitrógeno	36
V. DISCUSIÓN	38
VI. CONCLUSIONES	45
VII. RECOMENDACIONES	46
VIII. LITERATURA CITADA	47

RESUMEN

Se realizó un estudio de cuatro semanas, en el cual se evaluó el presupuesto de nitrógeno y el requerimiento de proteína de *Litopenaeus vannamei* cultivado en un sistema cerrado. Se investigaron diferentes niveles de inclusión de proteína en la dieta, 25, 30, 35 y 40 %. Al final del experimento, se observaron diferencias significativas en peso final y peso ganado de los organismos. Aquellos alimentados con 25 % de proteína fueron significativamente menores en peso que el resto de los tratamientos, aunque obtuvieron el mayor índice de supervivencia (100 %), pero ésta no fue significativamente diferente al resto de los tratamientos. Los organismos con mayor talla (3.00 g) fueron alimentados con 35 % de proteína, pero no fueron significativamente diferentes de aquellos alimentados con 30 % (2.84 g) ó 40 % (2.87 g). La concentración de nitrógeno amoniacal en el agua del sistema, al menos hasta la segunda semana de muestreo, al igual que la de nitritos, fue proporcional a la cantidad de nitrógeno suministrado a través de la dieta balanceada. Por otra parte, el presupuesto de nitrógeno evidenció que la mayor cantidad de nitrógeno incorporado en biomasa de camarón (36.97 %) fue en aquellos organismos alimentados con 25 % de proteína y la menor (25.11 %) en organismos alimentados con 40 % de proteína. Bajo estas condiciones experimentales, los resultados obtenidos indican que el buen desempeño biológico de *L. vannamei* no necesariamente está ligado a la utilización de una dieta con un alto contenido de proteína, particularmente en sistemas cerrados con cero recambio de agua.

ABSTRACT

This study evaluated the nitrogen budget and the dietary protein requirement of *Litopenaeus vannamei* raised in a zero water exchange system for 4 weeks. Four dietary protein levels were investigated, 25, 30, 35 and 40 %. Significant differences in final weight and weight gain were observed at the end of the experiment. Shrimp fed with a 25 % protein diet were significantly smaller than the rest of the dietary treatments, although they showed the highest survival (100 %); however, survival was not significantly different among the treatments. Shrimp fed the 35 % protein diet showed the highest growth (3.00 g), but were not significantly different from those fed a 30 % (2.84 g) or 40 % (2.87 g) protein diet. Ammonia and nitrite concentration in the water column increased as the nitrogen concentration in the diet increased, at least up to the second week of the experiment. On the other hand, the nitrogen budget showed that the most significant amount of nitrogen incorporated into shrimp biomass (36.97 %) was recorded in those animals fed a 25 % protein diet, and the opposite (25.11 %) occurred those animals fed a 40 % protein diet. Under these experimental conditions, results showed that an adequate biological performance of *Litopenaeus vannamei* is not necessarily related to the use of a balanced diet with high protein content, particularly in closed systems with zero water exchange.

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola, UEK.	11
2	Tanque experimental de 19 L de capacidad provisto con una piedra aireadora.	11
3	Concentración de nitrógeno amoniacal total en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo	24
4	Concentración de nitritos en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo	26
5	Concentración de nitratos en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo	28
6	Concentración de nitrógeno orgánico disuelto en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo	30
7	Concentración de nitrógeno de sólidos suspendidos en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo	32

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA		PÁGINA
I	Composición de las dietas experimentales	12
II	Peso inicial, peso final, peso ganado y supervivencia de <i>L. vannamei</i> alimentado con diferentes niveles de proteína en la dieta	19
III	Tasa instantánea de crecimiento (TIC) y factor de conversión alimenticia (FCA) de <i>L. vannamei</i> alimentado con diferentes niveles de proteína en la dieta	20
IV	Oxígeno disuelto, salinidad y temperatura de los tratamientos experimentales	21
V	Valores de pH de los tratamientos experimentales en cada día de muestreo	22
VI	Concentración de nitrógeno amoniacal total en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo (mg de NH ₄ - N/L)	24
VII	Concentración de nitritos en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo (mg de NO ₂ -N/L)	26
VIII	Concentración de nitratos en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo (mg de NO ₃ - N/L)	28
IX	Concentración de nitrógeno orgánico disuelto en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo (mg de NO ₃ - N/L)	30
X	Concentración de nitrógeno de sólidos suspendidos en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo (mg de NO ₃ - N/L)	32
XI	Contenido de proteína y nitrógeno de las dietas experimentales	34
XII	Contenido de proteína y nitrógeno en camarones al inicio del experimento y en camarones cosechados al final del experimento	34
XIII	Concentración de clorofila <i>a</i> inicial y final para los tratamientos experimentales	35
XIV	Peso del crecimiento superficial en portaobjetos colocados en tanques experimentales	36
XV	Balance del presupuesto de nitrógeno (N) para un sistema cerrado de cultivo de juveniles de <i>L. vannamei</i> alimentados con diferentes niveles de proteína (25%, 30%, 35% y 40%)	37

I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.

La acuicultura y específicamente la camaronicultura es considerada una actividad económica importante en todo el mundo. En los últimos años la producción camaronícola se ha incrementado. Según la FAO (1999), entre las causas que permiten explicar los elevados índices de crecimiento de esta actividad, sobresalen los siguientes: (a) la alta demanda del mercado, especialmente, de Japón, Estados Unidos y Europa; (b) el progreso tecnológico; y (c) la reducción de los suministros procedentes de las poblaciones silvestres, muchas de las cuales se hallan sobre explotadas. Esta expansión también ha sido posible gracias a dos factores: primero, muchos gobiernos, ayudados por organismos multilaterales, han apoyado activamente el desarrollo del cultivo de camarón orientado a la exportación con el fin de obtener divisas. Este apoyo ha sido a través de créditos subvencionados, planes de extensión y capacitación patrocinados por el gobierno. Asimismo, en donde existía ya esta actividad, se han realizado y acelerado actividades de planificación y la concesión de permisos para la instalación y operación de granjas de camarón en zonas costeras (Soto, 2000).

Sin embargo, como toda actividad productiva la industria acuícola ha tenido problemas en su rápido desarrollo y expansión. Los efluentes de los estanques camaronícolas se consideran un riesgo para las aguas receptoras, debido a que generalmente cuentan con un alto contenido de nutrientes (nitrógeno y fósforo), biomasa fitoplanctónica y material sedimentable, que le confiere una elevada demanda bioquímica de oxígeno. Dado que las aguas de los estanques generalmente son eutróficas y ricas en biomasa fitoplanctónica, sus descargas son motivo de preocupación como fuentes puntuales de contaminación localizada (Frías-Espéricueta y Páez-Osuna, 2001).

Las descargas de aguas eutróficas con altas concentraciones de nitrógeno y sólidos suspendidos pueden dañar el medio ambiente costero, particularmente en áreas donde se localizan granjas que manejan altas densidades de siembra, ya que promueven un indeseable florecimiento de algas, un incremento en la turbidez y condiciones anóxicas. Este es el foco de atención del incremento en las críticas a granjas intensivas de camarón por parte de reguladores ambientales y grupos de ambientalistas en todo el mundo (Naylor *et al.*, 1998). La expansión sin leyes de la industria acuícola y la falta de conocimiento de

las consecuencias ambientales han resultado en mortalidades masivas de camarón, afectando significativamente la producción en China y Taiwán, por ejemplo (Chen, 1995; Qingyin *et al.*, 1995). Los países con una industria naciente de cultivo de camarón, como Australia, están interesados en evitar el cometer estos errores, pretenden descargar solo el máximo permisible de nutrientes y sólidos en sus descargas, controlando las densidades y localización de las granjas (Preston *et al.*, 1995).

Muchas granjas de camarón tienen estanques de tierra con altas densidades de siembra (25–100 camarones/m²) y alimentan con dietas formuladas con altos contenidos de proteína. Se sabe que alrededor del 90 % del nitrógeno que entra a los estanques proviene de alimento balanceado; aunque gran parte del nitrógeno (70–80%) no es asimilado por el camarón (Briggs y Funge-Smith, 1994). Sin embargo, entra al ecosistema del estanque y actúa como un fertilizante caro, estimulando el crecimiento de bacterias y plancton (Burford y Glibert, 1999), resultando en biomasa planctónica y bacteriana que requiere de una considerable demanda de oxígeno. A menos que en los estanques exista recirculación y un recambio de agua constante, pueden presentarse condiciones hipóxicas y generar un detrimento en el crecimiento del camarón y su salud.

No obstante, se ha documentado en varios trabajos (Jory, 2001; Lawrence *et al.*, 2001; Tacon *et al.*, 2002) la posibilidad de obtener altos rendimientos (mayor crecimiento de camarones cultivados) a altas densidades de siembra con poco o cero recambio de agua, es decir, en sistemas de cultivo cerrados.

Entre las principales ventajas de los sistemas con cero recambio de agua se encuentra la bioseguridad, que se define como la suma de todos los procedimientos en sitio para proteger a los animales en cultivo (camarones, peces y otros) y prevenir la introducción y transmisión de enfermedades, así como para evitar el crear condiciones de salud indeseables para el cultivo (Jory, 2001). Otra ventaja observable en este tipo de sistemas es la reducción de costos de operación, debido a que se reducen significativamente los costos por bombeo de agua, y la cantidad de alimento administrado también disminuye, ya que se apoya en la productividad primaria, que puede ser utilizada como alimento alternativo para los camarones cultivados. Por último, este tipo de sistemas

disminuye el efecto negativo al medio ambiente, debido a que se minimizan los efluentes descargados a los ecosistemas adyacentes al cultivo.

Existen diversas estrategias de manejo de agua en estos sistemas que pueden ser usadas para controlar su calidad en los estanques y evitar la entrada de portadores y viriones (Jory, 2001):

- *Cero recambio–sistema cerrado y estático*: se refiere a un sistema de cultivo en estanques completamente cerrado donde el estanque se llena con agua una vez y no se lleva a cabo ningún recambio durante el ciclo de producción.
- *Bajo recambio–sistema cerrado y recirculación*: se refiere a un método empleado comúnmente en Asia, donde los estanques se llenan una vez con agua tratada y libre de portadores del Síndrome del Virus de Mancha Blanca (WSSV), y donde el agua de recambio proviene de un reservorio central cuya agua ha sido tratada para eliminar portadores y viriones.
- *Bajo recambio–sistema de circulación abierto*: se maneja con un recambio diario relativamente constante pero muy reducido (1-5%), el agua nueva que entra es filtrada pero no es tratada químicamente. Esta estrategia es de alto riesgo porque conlleva un riesgo permanente de introducción de WSSV a los estanques.
- *Bajo recambio–recirculación parcial*: es aquel donde los estanques se llenan inicialmente con agua filtrada y tratada, y la mayor parte del agua de recambio se recircula, como se mencionó antes para el sistema de bajo recambio, cerrado y con recirculación.
- *Combinaciones de los anteriores*.

Para mitigar los impactos ambientales de las descargas de efluentes y para reducir el riesgo de contraer enfermedades provenientes del suministro de aguas externas contaminadas, el cultivo intensivo de camarón se ha ido transformado de “sistemas abiertos” con frecuentes descargas de agua a “sistemas cerrados” con poca o cero descarga en años recientes. Sin embargo, el problema principal asociado con los sistemas cerrados, es la rápida eutroficación en los estanques, resultado del incremento de concentración de nutrientes y materia orgánica a lo largo del periodo de cultivo. Indiscutiblemente, el

balance entre la producción de desechos y la capacidad de asimilación de la biota en el estanque es de suprema importancia para el éxito del sistema cerrado. Cuando se cultiva en sistemas cerrados se debe considerar también el impacto de los desechos sobre el crecimiento de los organismos cultivados, la mortalidad, y la expansión de la biomasa total en el sistema de producción (Thakur y Lin, 2003).

Se ha desarrollado una técnica para incrementar la eficiencia y bioseguridad a lo largo del ciclo de producción aunada al desarrollo de sistemas de cultivo con altas densidades de siembra y con cero recambio de agua. Esta tecnología se desarrolló principalmente en el Centro de Maricultura Waddell en los Estados Unidos a principios de la década de los 90's (Hopkins *et al.*, 1993; Sandifer y Hopkins, 1996). Unos años más tarde, la técnica se adaptó y modificó en una granja comercial en Belice, en América Central (Browdy *et al.*, 2001), en donde se desarrolló una aproximación integrada al cultivo de camarón con excelente salud, de organismos de linajes seleccionados, alimentados con bajo contenido de proteína (20% aproximadamente), altas densidades de siembra en los estanques y sin recambio de agua durante toda la temporada de engorda; la recirculación de agua se implementó solo hasta el tiempo de la cosecha (Burford *et al.*, 2003).

Existen ejemplos exitosos de sistemas de producción con cero recambio de agua, a nivel comercial y experimental. En el primer caso, la Sociedad de Acuicultura Belice desarrolló una estrategia de cero recambio de agua para reducir los efluentes y sedimentos que se liberan al ambiente en una granja típica, lo cual incrementa la bioseguridad de la granja. Esta estrategia ha resultado en altos rendimientos y en la reducción de nutrientes liberados al ambiente, a través de un incremento en la eficiencia de alimentación y utilización del estanque (Jory, 2001). Así mismo, en el año 2001, Lawrence *et al.* reportaron un cultivo intensivo exitoso de *Litopenaeus vannamei* contaminado con WSSV en la Granja Agromarina de Panamá en un sistema con cero recambio de agua, obteniendo un 80% de supervivencia. En el segundo caso, Tacon *et al.* (2002) llevaron a cabo un experimento en el Instituto Oceánico de Hawaii con *L. vannamei* para comparar el crecimiento y desempeño de organismos alimentados con una serie de dietas experimentales y comerciales y diversos regímenes alimenticios en un sistema de

recirculación al interior y en un sistema cerrado al exterior. El mejor crecimiento se observó en camarones cultivados con dietas experimentales en el sistema con cero recambio de agua. El peso promedio final y la tasa promedio de crecimiento semanal bajo esas condiciones fue 2.8 y 3.4 veces mayor, respectivamente, que aquellos animales de talla similar alimentados con la misma dieta en el sistema de recirculación. Se considera que el mejor desempeño biológico de los animales cultivados en el sistema cerrado fue primordialmente debido a la disponibilidad de otros nutrientes adicionales provenientes de los organismos que se desarrollan dentro del mismo sistema, *e.g.* fitoplancton, zooplancton, bacterias, etc.

Por otra parte, entre los contaminantes más importantes en los sistemas de cultivo se encuentran los desechos nitrogenados, como el nitrógeno amoniacal. La síntesis de nitrógeno amoniacal es considerada la forma más primitiva de excreción de nitrógeno y la menos cara con respecto al gasto de energía (Forster y Goldstein, 1969). En crustáceos el nitrógeno amoniacal es el principal producto nitrogenado de desecho y es considerado un contaminante acuático (Frías-Espéricueta y Páez-Osuna, 2001). Su presencia en el agua se explica pues, como un producto natural principalmente del metabolismo de las proteínas de los organismos.

La cantidad de nitrógeno amoniacal excretado varía de acuerdo con un número de factores, tales como el contenido proteico del alimento. Para una misma cantidad de alimento, la producción de nitrógeno amoniacal se incrementa al incrementarse la cantidad de proteína (Rosas *et al.*, 1996). Debido a que el ingrediente de mayor costo en los alimentos balanceados para camarón es la proteína es necesario conocer el requerimiento proteico bajo condiciones específicas de cultivo, como es el caso de un sistema cerrado, y establecer el destino de la carga de nitrógeno en el sistema con el fin de evaluar el progreso de las pérdidas, es decir, conocer el balance del presupuesto de nitrógeno, ya que la eficiencia del sistema puede evaluarse a través del análisis de la conversión de nitrógeno en biomasa de camarón (Thoman, *et al.*, 2001). Para *L. vannamei*, generalmente se recomiendan valores entre 25 y 35% de proteína dietaria. Cook y Clifford (1997) han reportado que existe una gran variedad de alimentos balanceados para camarones y que su composición y valor nutricional es muy variable. Para producciones de 600 Kg/ha, estos

autores recomiendan alimentos de “baja calidad” con 20-22% de proteína cruda. Alimentos de “mediana calidad” son recomendados para producciones de entre 800 y 1000 Kg/ha con 25% de proteína, y para producciones de 1000 a 1200 Kg/ha, alimentos con 35% proteína. Para producciones mayores de 1200 Kg/ha, recomiendan dietas completas que suministren todos los macro y micronutrientes que el animal necesita para un crecimiento y supervivencia adecuados.

La poca retención del nitrógeno dietario en el organismo cultivado puede ser causada por varios factores: una formulación no óptima o una pobre calidad de los ingredientes del alimento, la sobrealimentación y la poca estabilidad del alimento en el agua. Muchas investigaciones se han propuesto estudiar la nutrición de camarón centrándose en la formulación de alimentos para minimizar la lixiviación de ingredientes solubles en los alimentos y mejorar la retención de nutrientes en los animales cultivados (Lawrence y Lee, 1997). Las nuevas formulaciones son generalmente estudiadas en acuarios al interior y no en estanques al exterior, o bien, solo consideran los efectos de los desechos de alimentos descargados sobre el ecosistema (Tacon y Akiyama, 1997). Sin embargo, la integración de la investigación sobre el ciclo de los nutrientes en los estanques y la optimización de las formulaciones de alimentos tiene el potencial para mejorar significativamente la retención del alimento y reducir la excreción de nitrógeno (Burford y Williams, 2001).

Para lograr la reducción de los desechos nitrogenados es indispensable el entendimiento del presupuesto de nitrógeno, así como la caracterización de sus componentes (Jackson *et al.*, 2003). El presupuesto de nitrógeno permite conocer la carga de nitrógeno que entra a un sistema, así como establecer el destino del mismo dentro del sistema, mediante el análisis de la calidad del agua y los procesos en los sedimentos. El conocer el presupuesto de nitrógeno de un sistema permitirá entonces realizar mejoras en el procesamiento del nitrógeno dentro del mismo (Avnimelech y Lacher, 1979). Además, la manipulación del medio ambiente para favorecer la producción, requiere de la comprensión básica de los procesos físicos, químicos y biológicos (Boyd, 1986). El conocimiento de los procesos químicos y la información del destino de los nutrientes adicionados es esencial, particularmente para el nitrógeno y el fósforo. El establecimiento

del presupuesto de nutrientes en los estanques es un paso básico para el estudio cuantitativo de la eficiencia de utilización del alimento, la fertilidad del estanque, la calidad de agua y los procesos en los sedimentos (Avnimelech y Lacher, 1979).

En estudios previos realizados en granjas intensivas de camarón en Tailandia, se encontró que solo el 21% del nitrógeno del alimento se recuperaba en el camarón cosechado, mientras que el 35% se descargaba al medio ambiente (Briggs y Funge-Smith, 1994). En otro estudio realizado en Honduras en granjas semiintensivas con cultivos de *L. vannamei*, se observó que el 72% del nitrógeno que entraba en los estanques se descargaba al medio ambiente durante los recambios (Teichert-Coddington *et al.*, 2000). Por lo tanto, uno de los retos más importantes que enfrenta la industria es el de mejorar la eficiencia económica mediante el desarrollo e implementación de un plan integrado que permita la reducción de los desechos de nitrógeno, el cual debe incluir no solo mejoras en la formulación y manejo de los alimentos, sino también, mejoras en el procesamiento de nitrógeno dentro del estanque y en el diseño y manejo de los tratamientos de efluentes (Burford *et al.*, 2001)

Thakur y Lin (2003) realizaron un estudio en donde evaluaron el presupuesto de nitrógeno en un sistema de cultivo cerrado para *Penaeus monodon* durante 90 días para determinar el efecto de la densidad de siembra (25 y 50 juveniles/m²) y el tipo de sustrato (suelo y concreto) sobre la calidad de agua, desempeño biológico de los camarones, y el presupuesto y distribución de los nutrientes. Las concentraciones de nitrógeno amoniacal total y nitritos-N en todos los tratamientos permanecieron dentro del rango seguro para los camarones durante el periodo del estudio. El peso ganado de los camarones y la producción fue mayor en el tratamiento con mayor densidad de siembra y sustrato de suelo. El presupuesto de nitrógeno reveló que los camarones pueden asimilar solo 23-31% del nitrógeno y 10-13% del fósforo total entrante. La fuente principal de nitrógeno fue el alimento, que representó entre 76-92% del nitrógeno y entre 70-91% del fósforo. La mayor pérdida de nutrientes se detectó en los sedimentos con un 14-53% de nitrógeno y 39-67% de fósforo del total de nutrientes entrantes en el sistema, y el agua contenía 14-28% de nitrógeno y 12-29% de fósforo del total de nutrientes entrantes. Dicho estudio demostró que un sistema de cultivo cerrado para camarón puede mantener niveles aceptables de

calidad de agua para su crecimiento y reducir la pérdida de nutrientes al medio ambiente a través de los efluentes.

En otro estudio, Jackson *et al.* (2003) evaluaron el presupuesto de nitrógeno y los componentes de los efluentes en una granja intensiva de camarón ubicada al Noroeste de Australia. Se tomaron muestras semanales para determinar la concentración de nitrógeno total en la entrada y descargas de agua durante un periodo de diez meses. El presupuesto de nitrógeno se calculó basándose en datos de nitrógeno total, registros continuos del volumen de agua descargada, datos del régimen alimenticio, cosecha y remoción de sedimentos. La concentración de nitrógeno en el agua entrante solo contribuyó con el 5% del total de nitrógeno entrante, la principal fuente de entrada de nitrógeno fue el alimento (90%). En los estanques, el 22% del nitrógeno entrante se convirtió a camarón cosechado, 14% permaneció en sedimento, mientras que el resto, 57%, fue descargado al ambiente. Solo el 3% del nitrógeno entrante no se cuantificó, y se asume que se perdió a la atmósfera vía denitrificación o volatilización del nitrógeno amoniacal. Además, se realizó un muestreo más intensivo en los efluentes (tres veces al día). Se observó que entre el 42-45% del nitrógeno descargado se encuentra en forma de fitoplancton. La fracción de nitrógeno disuelto mostró dos componentes principales, nitrógeno orgánico disuelto, el cuál comprendió el 37-43% del nitrógeno total y nitrógeno amoniacal total, que comprendió el 12-21% del nitrógeno total.

Mientras se establece claramente el vínculo entre la entrada de nutrientes a los sistemas de cultivo a través del alimento y la concentración de éstos en las descargas, solo existe poca información acerca de las rutas metabólicas de los nutrientes en los estanques y sus rutas adyacentes en el agua. Es importante conocer esta información en primera instancia con el objeto de reducir la carga de nutrientes en las descargas de las granjas de camarón (Burford y Williams, 2001), así como de optimizar el alimento suministrado al estanque. A pesar de la información generada recientemente sobre sistemas cerrados con cero recambio de agua, existe todavía una gran incógnita de los procesos que ocurren dentro de tales sistemas y de la manera en que los nutrientes como el nitrógeno son utilizados. Se requiere por tanto investigación encaminada a contestar dichas incógnitas.

II. OBJETIVOS.

II. 1. Objetivo general

Evaluar el presupuesto de nitrógeno y requerimiento proteico de juveniles de camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, cultivado en un sistema cerrado.

II. 2. Objetivos particulares

- a) Determinar el requerimiento de proteína del camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, cultivado en un sistema con cero recambio de agua y alimentado con 25, 30, 35 y 40% de proteína dietaria.
- b) Evaluar el desempeño biológico (e.g., peso final, peso ganado, supervivencia, tasa instantánea de crecimiento, factor de conversión alimenticia) de juveniles de camarón blanco del Pacífico, *L. vannamei*, cultivados en un sistema con cero recambio de agua y alimentados con diferentes niveles proteicos.
- c) Evaluar el efecto de los tratamientos experimentales (25, 30, 35 y 40% de proteína dietaria) sobre los parámetros de calidad de agua en un sistema con cero recambio de agua.
- d) Determinar el presupuesto de nitrógeno para cada uno de los tratamientos experimentales (25, 30, 35 y 40% de proteína dietaria) en un sistema con cero recambio de agua, considerando el contenido de nitrógeno en dietas y organismos experimentales, el contenido de nitrógeno inorgánico disuelto (nitrógeno amoniacal total, nitritos y nitratos), el contenido de nitrógeno orgánico (nitrógeno orgánico disuelto, nitrógeno en sólidos suspendidos, y nitrógeno en sólidos sedimentados), el contenido de nitrógeno en crecimiento superficial, y el contenido de nitrógeno en la biomasa fitoplanctónica del sistema a través de la medición de la concentración de clorofila *a*.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un experimento de cuatro semanas de duración con postlarvas de camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, en el Laboratorio Húmedo de Nutrición y Biotecnología Acuícola (Figura 1), el cual se encuentra ubicado dentro de las instalaciones de la Unidad Experimental Kino, perteneciente al Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora.

III. 1. Origen de los organismos experimentales

Los organismos experimentales fueron provistos por el laboratorio de Larvicultura "Maricultura del Pacífico" en Mazatlán, Sinaloa, y transportados en bolsas de polietileno con agua de mar a la Unidad Experimental Kino.

III. 2. Aclimatación de organismos experimentales

Inmediatamente después de su recepción, los organismos fueron colocados en un "raceway" de 10m³ de capacidad donde se aclimataron a las condiciones del laboratorio (30.02 ± 2.60°C, 40.23 ± 3.11‰, 6.94 ± 1.52mg/L de oxígeno disuelto y 8.44 ± 0.13 de pH) y se mantuvieron durante dos semanas hasta obtener el peso inicial individual promedio de 0.45g alimentándose con una dieta comercial con un 40% de proteína (Camaronina™, Purina).

III. 3. Sistema Experimental

El sistema experimental estuvo constituido por 40 tanques de polietileno cilíndricos con una capacidad de 19 L c/u, los cuales fueron llenados con 15 L agua de mar de 35‰. Los cuatro tratamientos experimentales consistieron de 4 niveles dietarios de proteína, 25, 30, 35 y 40%, y cada uno de ellos contó con 10 replicas. La densidad de siembra fue de 57 camarones/m². Cada tanque contenía una piedra aireadora conectada a un sistema de distribución de aire comprimido para proveer oxígeno a la columna de agua (Figura 2). No se realizó recambio de agua durante los 28 días del período experimental, solamente se repuso el agua perdida por evaporación una vez por semana.

III. 4. Dietas Experimentales

Se elaboraron cuatro dietas experimentales con 25, 30, 35 y 40% de proteína. Los camarones se alimentaron dos veces al día y la ración diaria de alimento se determinó considerando un factor de conversión alimenticio (FCA) igual a 1. La Tabla I muestra la composición de las dietas experimentales utilizadas en el bioensayo.



Figura 1. Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola, UEK.

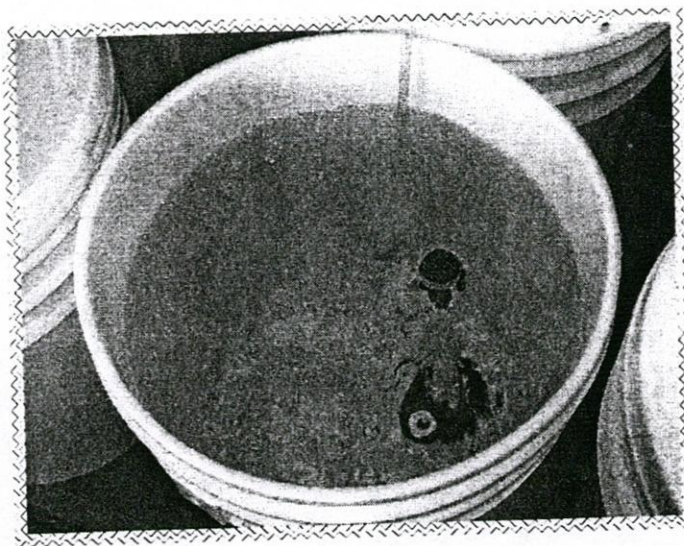


Figura 2. Tanque experimental de 19 L de capacidad provisto con una piedra aireadora.

Tabla I. Composición de las dietas experimentales.

Ingredientes	g/100g de alimento			
	Dieta 25%	Dieta 30%	Dieta 35%	Dieta 40%
Harina de pescado (Menhaden)	15.625	18.750	21.875	25.000
Harina de soya	24.800	30.600	36.500	42.400
Aceite de pescado (Menhaden)	2.150	2.740	3.330	3.920
Almidón de trigo	31.655	22.840	13.925	4.910
Trigo	20.000	20.000	20.000	20.000
Premezcla de minerales	0.500	0.500	0.500	0.500
Premezcla de vitaminas (sin colina)	1.800	1.800	1.800	1.800
Cloruro de colina	0.200	0.200	0.0200	0.200
Vitamina C (250 mg/Kg 35%)	0.070	0.070	0.070	0.070
Monofosfato de calcio	2.500	1.800	1.100	0.500
Lecitina (Aqualipid 95)	0.500	0.500	0.500	0.500
Colesterol	0.200	0.200	0.200	0.200
TOTAL	100.000	100.000	100.000	100.000

III. 5. Determinación de parámetros biológicos

Los parámetros biológicos evaluados en este estudio fueron: peso final, peso ganado, supervivencia, tasa de crecimiento instantáneo (TCI) y factor de conversión alimenticia (FCA). El peso ganado se expresó como porcentaje de peso inicial.

El valor de la TCI para cada tratamiento fue obtenido aplicando la ecuación:

$$TCI = \frac{[100] [\ln (\text{Peso Final} / \text{Peso Inicial})]}{\text{Días de tratamiento}}$$

El FCA fue calculado utilizando la siguiente ecuación:

$$FCA = \frac{\text{gramos de alimento suministrado}}{\text{Gramos de peso ganado}}$$

III. 6. Monitoreo de la calidad del agua

Durante los 28 días del experimento se monitorearon la temperatura, oxígeno disuelto y salinidad del agua en cada tanque una vez al día. La concentración de Nitrógeno Amoniacal Total ($\text{NH}_4\text{-N}$), Nitritos-N ($\text{NO}_2\text{-N}$), Nitratos-N ($\text{NO}_3\text{-N}$) y el pH de cada tanque se evaluaron una vez por semana, como se describe en el punto III.6.2.

III. 7. Parámetros evaluados para el presupuesto de nitrógeno

Se valoraron diversos parámetros para la determinación del presupuesto de nitrógeno.

III. 7. 1. Nitrógeno del alimento y nitrógeno de camarones cosechados

La concentración de nitrógeno en alimento y en camarones cosechados se determinó por medio de la técnica de Microkjeldahl, utilizando un factor de corrección de 6.25 para conocer la concentración de proteína, ya que esta técnica determina la concentración de nitrógeno. Las muestras fueron deshidratadas a 75 °C durante 24 horas; posteriormente se maceró hasta obtener un polvo fino para llevar a cabo el análisis, el cual consiste de tres pasos fundamentales: digestión, destilación y titulación. La digestión se

realiza añadiendo ácido sulfúrico concentrado a la muestra, además de una mezcla de sulfato de potasio con sulfato de cobre (1:1) conocida como mezcla catalizadora que acelera el proceso de reacción. El nitrógeno presente en la muestra se transforma a amoníaco y la materia orgánica se reduce a agua y dióxido de carbono. El amoníaco se une al ion sulfato (sulfato de amonio), permaneciendo suspendido en la solución. La destilación se realiza agregando hidróxido de sodio para aumentar el pH y hacer que el amoníaco se desprenda del ion sulfato pasando al estado gaseoso, y en esta forma, el amoníaco se recupera en ácido bórico con rojo de metilo como indicador, en donde se forma borato de amonio, haciendo virar de morado a verde el color de la solución. La titulación del borato de amonio se realiza con ácido clorhídrico, haciendo virar de nuevo el color de la solución de verde a morado. Para el cálculo del porcentaje de nitrógeno se utiliza la siguiente fórmula, considerando que el nitrógeno contenido en la muestra se encuentra en el borato de amonio y que la cantidad de iones de hidrógeno gastados en la titulación son equivalentes a la concentración de nitrógeno en la muestra analizada:

$$\% \text{ de Nitrógeno (N}_2\text{)} = \frac{(\text{mL de HCl gastados}) (\text{N del ácido}) (0.01401) (100)}{\text{g de muestra}}$$

III. 7. 2. Nitrógeno inorgánico disuelto (NID)

Nitrógeno Amoniacal Total (NH₄-N)

La concentración de nitrógeno amoniacal total en las muestras analizadas se determinó siguiendo la metodología de Solorzano (1969) y Spotte (1979), utilizando estándares de sulfato de amonio con concentraciones de 0, 0.001, 0.002, 0.005, 0.01 y 0.02 mg/mL de NH₄-N. Se llevó a cabo una reacción colorimétrica adicionando 2 mL de alcohol fenol (5.3 mL de fenol líquido en 500 mL de alcohol absoluto), 2 mL de nitroferriicianuro de sodio (2.5 g de nitroferriicianuro de sodio en 500 mL de agua desionizada) y 5 mL de solución oxidante (4 partes de solución alcalina – 400 g de citrato trisódico y 20 g de hidróxido de sodio en 2000 mL de agua desionizada – y 1 parte de hipoclorito de sodio 1.5 N). Se esperó una hora de tiempo de reacción y se leyó en espectrofotómetro a 640 nm.

Nitritos-N totales (NO₂-N)

La concentración de nitritos en las muestras analizadas se determinó mediante la técnica de Solorzano (1969) y Spotte (1979), que consiste de una reacción colorimétrica realizada mediante la adición de 2 mL de solución de sulfanilamida (5 g de sulfanilamida en una solución de 50 mL de ácido clorhídrico concentrado y 300 mL de agua desionizada), y 2 mL de solución de dihidrocloro (0.05 g de N-(1-naftil)-etilendiamina dihidrocloro en 500 mL de agua desionizada) en las alícuotas de las muestras. Las concentraciones de nitritos se determinan comparando contra una curva estándar con concentraciones de 0, 0.0005, 0.001, 0.002 y 0.004 mg/mL de NO₂-N, a partir de una solución de trabajo de nitrito de sodio (0.5 g en 1000 mL de agua desionizada). Se esperó un tiempo de reacción de 10 minutos, y se leyó a 543 nm.

Nitratos-N (NO₃-N) totales

La determinación de nitratos totales en las muestras tomadas de cada tratamiento una vez por semana se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Solorzano, (1969) y Spotte, (1979). Se realizó una solución de trabajo con 0.607 g de nitrato de sodio en 1000 mL de agua desionizada; de ésta se tomaron 0.0, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 mL para realizar la curva estándar. Las alícuotas de las muestras se colocaron en matraces de 125 mL con 20 mL de agua desionizada, y se les añadió 2 mL de solución buffer [partes iguales de hidróxido de sodio (14.175 g de NaOH en 1000 mL de agua desionizada) y solución fenol (24 mL de fenol líquido en 500 mL de agua desionizada)], así como 1 mL de solución reductora [partes iguales de solución de sulfato de cobre (0.1 g de sulfato cúprico pentahidratado en 1000 mL de agua desionizada) y solución de sulfato de hidracina (3.625 g de sulfato de hidracina en 500 mL de agua desionizada)]. Se almacenaron durante 24 horas en oscuridad a temperatura ambiente; y, se les agregó 2 mL de acetona, 1 mL de sulfanilamida (5 g de sulfanilamida en una solución de 50 mL de ácido clorhídrico concentrado y 300 mL de agua desionizada), 1 mL de dihidrocloro (0.05 g de N-(1-naftil)-etilendiamina dihidrocloro en 500 mL de agua desionizada) y 20 mL de agua desionizada. Se esperó el tiempo de reacción (10 minutos) y se leyó en el espectrofotómetro a 543 nm.

III. 7. 3. Nitrógeno orgánico

Nitrógeno orgánico disuelto (NOD), nitrógeno de sólidos suspendidos (NSS), nitrógeno orgánico total (NOT) y nitrógeno de sólidos sedimentados (NSSed)

El nitrógeno orgánico disuelto, nitrógeno de sólidos suspendidos y nitrógeno orgánico total de las muestras se analizaron mediante la técnica descrita por Solorzano y Sharp (1980). Se tomaron muestras de 500 mL de cuatro tanques de cada tratamiento experimental una vez por semana y se congelaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis.

La técnica descrita para la determinación de nitrógeno orgánico se basa en una oxidación alcalina con persulfato de potasio, la cual convierte todo el nitrógeno orgánico de la muestra analizada en nitratos. La concentración de nitratos se determina siguiendo la metodología de Solorzano (1969) y Spotte (1979) previamente descrita.

Para determinar la concentración de nitrógeno orgánico disuelto y nitrógeno de sólidos suspendidos en las muestras se tomaron alícuotas de 45 mL, las cuales fueron filtradas a través de filtros de fibra de vidrio Whatman 4.7cm GF/C. El agua filtrada (nitrógeno orgánico disuelto) y el filtro (nitrógeno de sólidos suspendidos) se colocaron en 40 mL de agua desionizada dentro de botellas de teflón con 6 mL de reactivo oxidante (6 g de persulfato de potasio en 100 mL de hidróxido de sodio 1.5 M). Posteriormente, las botellas se colocaron en autoclave durante 30 minutos a 15 libras de presión; una vez que las botellas se enfriaron se agregó ácido clorhídrico 1.4 M. El contenido se colocó en matraces de 125 mL a los cuales se agregó 3mL de solución buffer (75 g de NH_4Cl en 400 mL de agua desionizada con un pH de 8.5 ajustado con NH_4OH). Finalmente, se cuantificó la concentración de nitratos mediante el método descrito por Solorzano (1969) y Spotte (1979). La concentración de nitrógeno orgánico total se determinó realizando la misma oxidación alcalina con persulfato de potasio con 40mL de muestra sin filtrar.

Para evaluar el nitrógeno de sólidos sedimentados se tomaron muestras de agua agitada del tanque experimental al final del bioensayo. Estas muestras fueron analizadas de la misma forma que las muestras de agua sin agitar para determinar NOD, NSS y NOT.

III. 7. 4. Clorofila *a* y crecimiento superficial

Se determinó la biomasa fitoplanctónica al inicio y al final del periodo experimental mediante el análisis de la concentración de clorofila *a* utilizando la técnica descrita por Strickland y Parsons (1972). Las muestras de agua fueron filtradas a través de filtros de nitrocelulosa Whatman 0.45 μm GF/C y se tomaron alícuotas de 25 mL, se añadieron 3 gotas de una suspensión de carbonato de calcio para neutralizar la acidez; los filtros se colocaron en tubos para centrifuga y se les añadió 5mL de acetona al 90 % para extraer la clorofila, se almacenaron a 4 °C en la oscuridad durante 20 horas. Transcurrido este tiempo, las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se leyó en un espectrofotómetro a 750, 665, 645 y 630 nm.

La asimilación de nitrógeno inorgánico así como la degradación de nitrógeno orgánico por bacterias y otros microorganismos se evaluó por medio de la estimación del crecimiento superficial al colocar un portaobjetos previamente pesado y secado en el fondo del tanque al inicio del experimento. Los portaobjetos fueron retirados al final del experimento y se secaron a 65 °C. Posteriormente se pesaron y se determinó la cantidad de crecimiento superficial por diferencia de peso.

III. 8. Análisis de datos

Los parámetros utilizados para evaluar el desempeño de los organismos fueron el peso inicial, peso final, peso ganado (expresado como porcentaje de peso inicial) y supervivencia. Antes de realizar el análisis estadístico, los datos de porcentaje de supervivencia se transformaron a arco seno de la raíz cuadrada. Estos datos, así como los datos de los parámetros de calidad de agua y presupuesto de nitrógeno se analizaron por medio de un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para evaluar el efecto de los tratamientos. Se utilizó además una prueba de rango múltiple de Duncan para el procedimiento de separación de medias ($P < 0.05$) en caso de encontrar diferencias significativas. Los análisis estadísticos se realizaron usando el paquete Statistica 6.0 (Edition '98).

IV. RESULTADOS

IV. I. Parámetros de Producción

Los parámetros de producción que se analizaron en este estudio fueron el peso inicial, peso final, peso ganado y supervivencia (Tabla II), además de la tasa de crecimiento instantáneo (TCI) y el factor de conversión alimenticia (FCA) (Tabla III) para cada uno de los tratamientos experimentales.

IV. I. 1. Peso Inicial

El peso inicial individual promedio de los camarones en todos los tratamientos varió de 0.44 a 0.46 g, sin evidenciar diferencias significativas entre ellos ($P < 0.05$), como se observa en la Tabla II.

IV. I. 2. Peso Final

El peso final promedio de *L. vannamei* para aquellos organismos alimentados con 25 % de proteína fue de 2.42 ± 0.18 g, que fue significativamente menor ($P < 0.05$) al resto de los tratamientos. Por el contrario, los organismos alimentados con 35 % de proteína obtuvieron el mayor peso promedio final de 3.00 ± 0.29 g (Tabla II); sin embargo, este peso no fue significativamente diferente de aquellos camarones que fueron alimentados con 30 % (2.84 ± 0.40 g) ó con 40 % (2.87 ± 0.47 g) de proteína en la dieta.

IV. I. 3. Peso Ganado

El peso ganado de los organismos cultivados con diferentes niveles de proteína se expresó como porcentaje del peso inicial, y al igual que para el peso final, también se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$). El tratamiento con 25 % de proteína mostró un peso ganado promedio de 430.63 ± 64.90 % de peso inicial, significativamente menor que el resto de los tratamientos. Los tratamientos con 30 % (538.55 ± 119.55 % de peso inicial), 35 % (592.54 ± 107.87 % de peso inicial) y 40 % de proteína (542.61 ± 81.49 % de peso inicial) no fueron significativamente diferentes, aunque aquellos organismos alimentados con 35 % de proteína en la dieta mostraron el mayor peso ganado (Tabla II).

IV. I. 4. Supervivencia

Un parámetro de producción de suma importancia es la supervivencia al final del experimento. Los resultados obtenidos no mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en la supervivencia de los camarones entre los tratamientos experimentales, que varió entre 87.5 y 100 % (Tabla II).

Tabla II. Peso inicial, peso final, peso ganado y supervivencia de *L. vannamei* alimentado con diferentes niveles de proteína en la dieta¹.

Tratamiento (% de proteína)	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Peso Ganado (% de peso inicial)	Supervivencia (%)
25%	0.46 ± 0.03	2.42 ± 0.18 ^a	430.63 ± 64.90 ^a	100 ± 0.0
30%	0.45 ± 0.06	2.84 ± 0.40 ^b	538.55 ± 119.55 ^b	87.5 ± 19.7
35%	0.44 ± 0.04	3.00 ± 0.29 ^b	592.54 ± 107.87 ^b	90 ± 15.5
40%	0.45 ± 0.07	2.87 ± 0.47 ^b	542.61 ± 81.49 ^b	95 ± 12.6

¹Los valores representan la media de 10 replicas ± la desviación estándar (D.E.). Las medias con el mismo superíndice en cada columna no son significativamente diferentes.

IV. I. 5. Tasa de Crecimiento Instantáneo

La tasa de crecimiento instantáneo (TCI) de los camarones sometidos a los diferentes tratamientos mostró diferencias significativas semejantes a aquellas observadas en el peso final y el peso ganado de los animales. Aquellos organismos alimentados con 25 % de proteína en la dieta mostraron una TCI significativamente menor ($P < 0.05$) al resto de los tratamientos (2.38 ± 0.37 %/día) mientras que para los organismos alimentados con 30 % (3.07 ± 0.59 %/día) 35% (3.33 ± 0.43 %/día) y 40 % (3.11 ± 0.63 %/día) de proteína, la TCI no fue significativamente diferente.

IV. I. 6. Factor de Conversión Alimenticia

El factor de conversión alimenticia (FCA) fue mayor para aquellos organismos experimentales alimentados con 25 % de proteína en la dieta, mostrando un valor de 2.03. Para aquellos pertenecientes al tratamiento con 30 y 35 % de proteína el FCA fue de 2.02 y para aquellos alimentados con 40 % de proteína fue de 1.77 (Tabla III). No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla III. Tasa de crecimiento instantáneo (TCI) y factor de conversión alimenticia (FCA) de *L. vannamei* alimentado con diferentes niveles de proteína en la dieta¹.

Tratamiento (% de proteína)	TCI (%/día)	FCA
25%	2.38 ± 0.37 ^a	2.03
30%	3.07 ± 0.59 ^b	2.02
35%	3.33 ± 0.43 ^b	2.02
40%	3.11 ± 0.63 ^b	1.77

¹Los valores de TIC representan la media de 10 replicados ± D.E. Las medias con el mismo superíndice en cada columna no son significativamente diferentes.

IV. II. Calidad de agua

IV. II. 1. Oxígeno disuelto

La concentración de oxígeno disuelto se mantuvo arriba de 6 mg/L en todos ellos. A pesar de que el análisis estadístico mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos, no se consideran importantes para el desempeño biológico de los organismos, ya que varió en un rango de 6.13 a 6.20 mg/L (Tabla IV).

IV. II. 2. Salinidad

En los cuatro tratamientos experimentales (25, 30, 35 y 40 % de proteína), se observó una variación en la salinidad desde 32.3 a 34.6 ‰ a lo largo del periodo experimental. El promedio general para el tratamiento con 25 % de proteína fue

ligeramente más bajo que para los demás tratamientos con 33.1 ‰, y para los tratamientos con 30 y 35 % fue ligeramente mayor, 33.8 ‰. También se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos para estos valores pero no se consideran importantes para el desempeño biológico de los camarones (Tabla IV).

IV. II. 3. Temperatura

Para el tratamiento con 25, 30 y 40 % de proteína el promedio general de temperatura fue de 28.3 °C y para el tratamiento con 35 % fue de 28.4 °C. Se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) pero, como en el caso del oxígeno disuelto y la salinidad, éstas mínimas diferencias no se consideran trascendentales en el desempeño biológico de los camarones (Tabla IV).

Tabla IV. Oxígeno disuelto, salinidad y temperatura de los tratamientos experimentales¹.

Tratamiento (% de proteína)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Salinidad (‰)	Temperatura (°C)
25%	6.20 ± 0.04 ^{ac}	33.1 ± 0.6 ^a	28.3 ± 0.1 ^a
30%	6.17 ± 0.04 ^{abc}	33.8 ± 0.6 ^b	28.3 ± 0.1 ^a
35%	6.13 ± 0.06 ^b	33.8 ± 0.5 ^b	28.4 ± 0.0 ^b
40%	6.18 ± 0.06 ^c	33.3 ± 0.5 ^a	28.3 ± 0.1 ^a

¹Los valores representan la media de 10 replicados ± D.E. Las medias con el mismo superíndice en cada columna no son significativamente diferentes.

IV. II. 4. pH

El pH inicial fue de 8.55 para todos los tratamientos. Al final se registró un valor de pH de 8.29 para el tratamiento con 25 % de proteína, 8.24 para 30 %, 8.07 para 35 % y 7.91 para 40 %. No se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos hasta los días 22 y 29, aunque dichas diferencias no se consideran importantes para el desempeño biológico de los camarones (Tabla V).

Tabla V. Valores de pH de los tratamientos experimentales en cada día de muestreo¹.

Día	Tratamiento (% de proteína)			
	25%	30%	35%	40%
1	8.55	8.55	8.55	8.55
8	8.43 ± 0.05	8.44 ± 0.01	8.42 ± 0.02	8.44 ± 0.03
15	8.46 ± 0.04	8.47 ± 0.02	8.45 ± 0.04	8.51 ± 0.05
22	8.45 ± 0.05 ^a	8.46 ± 0.02 ^a	8.34 ± 0.06 ^b	8.18 ± 0.10 ^c
29	8.29 ± 0.08 ^a	8.24 ± 0.02 ^a	8.07 ± 0.03 ^b	7.91 ± 0.07 ^c

¹Los valores representan la media de 4 replicados ± D.E. Las medias con el mismo superíndice en cada renglón no son significativamente diferentes.

IV. III Compuestos Nitrogenados

Los compuestos nitrogenados se evaluaron en el experimento en forma de nitrógeno inorgánico (nitrógeno amoniacal total, nitritos y nitratos); así como de nitrógeno orgánico (nitrógeno orgánico disuelto, nitrógeno de sólidos suspendidos y nitrógeno de sólidos sedimentados).

IV. III. 1. Nitrógeno Inorgánico

IV. III. 1. 1. Nitrógeno amoniacal total

La concentración de nitrógeno amoniacal total inicial (día 1) fue de 0.02 ± 0.00 mg de $\text{NH}_4\text{-N/L}$. En semanas posteriores la concentración se determinó para cada tratamiento experimental, encontrándose diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos en el día 8, 15 y 22 de muestreo. En el día 8 y 15, el tratamiento con 25 % de proteína presentó una significativamente menor cantidad de nitrógeno amoniacal (0.14 y 1.25 mg de $\text{NH}_4\text{-N/L}$, respectivamente) en contraste con el tratamiento con 40 % de proteína, que fue significativamente mayor que el resto de los tratamientos (1.47 y 4.77 mg de $\text{NH}_4\text{-N/L}$, respectivamente). En el registro del día 22 por el contrario, el tratamiento con 40 % de proteína mostró una concentración de 0.47 mg de $\text{NH}_4\text{-N/L}$, significativamente menor a los demás tratamientos excepto por el tratamiento con 25% de proteína. El análisis del día 29, el último día del experimento, no mostró diferencias significativas entre los tratamientos, y se observó, en general, una reducción en la concentración de nitrógeno amoniacal total en contraste con las concentraciones registradas los días 15 y 22 de muestreo (Tabla VI, Fig. 3).

Tabla VI. Concentración de nitrógeno amoniacal total en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo (mg de $\text{NH}_4\text{-N/L}$)¹.

Día	Tratamiento (% de proteína)			
	25%	30%	35%	40%
1	0.02	0.02	0.02	0.02
8	0.14 ± 0.23 ^a	0.65 ± 0.60 ^{ab}	0.98 ± 0.44 ^{bc}	1.47 ± 0.11 ^c
15	1.25 ± 0.67 ^a	2.08 ± 1.13 ^a	3.85 ± 0.42 ^b	4.77 ± 0.68 ^b
22	2.50 ± 1.55 ^{ab}	4.92 ± 2.62 ^a	3.79 ± 1.46 ^a	0.47 ± 0.52 ^b
29	0.75 ± 0.86	0.55 ± 0.47	0.39 ± 0.50	0.81 ± 0.70

¹Los valores representan la media de 4 replicados ± D.E. Las medias con el mismo superíndice en cada renglón no son significativamente diferentes.

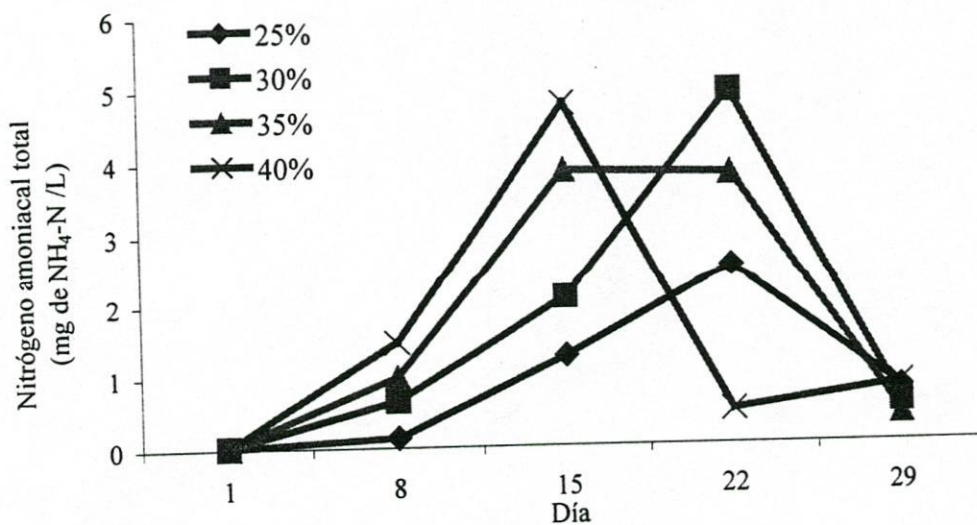


Figura 3. Concentración de nitrógeno amoniacal total en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo.

IV. III. 1. 2. Nitritos

La concentración inicial de nitritos (0.03 mg de NO_2 -N/L) y las del día 8 para los diferentes tratamientos fueron relativamente bajas (0.01-0.12 mg de NO_2 -N/L) y no mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$). A partir del día 15 del bioensayo, la concentración de nitritos se incrementó gradualmente a lo largo del período experimental en todos los tratamientos y se observó también una tendencia en el incremento en la concentración de nitritos en la medida en que incrementó el porcentaje de proteína en la dieta, es decir, la concentración más baja de nitritos se observó siempre en el tratamiento con 25 % de proteína en los días 15, 22 y 29 de muestreo (0.21, 2.09 y 10.09 mg de NO_2 -N/L para el día 15, 22 y 29, respectivamente) y la concentración más alta se observó siempre en el tratamiento con 40 % de proteína (0.76, 10.09 y 19.26mg de NO_2 -N/L para el día 15, 22 y 29, respectivamente); dichas concentraciones evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos experimentales (Tabla VII, Fig. 4).

Tabla VII. Concentración de nitritos en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo (mg de $\text{NO}_2\text{-N/L}$)¹.

Día	Tratamiento (% de proteína)			
	25%	30%	35%	40%
1	0.03	0.03	0.03	0.03
8	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.12 ± 0.17	0.02 ± 0.02
15	0.21 ± 0.21 ^a	0.28 ± 0.20 ^a	0.40 ± 0.04 ^a	0.76 ± 0.14 ^b
22	2.09 ± 2.72 ^a	2.41 ± 1.10 ^a	4.25 ± 1.31 ^a	10.09 ± 2.56 ^b
29	10.09 ± 1.89 ^a	12.95 ± 0.65 ^a	16.32 ± 1.50 ^b	19.26 ± 3.11 ^b

¹Los valores representan la media de 4 replicados ± D.E. Las medias con el mismo superíndice en cada renglón no son significativamente diferentes.

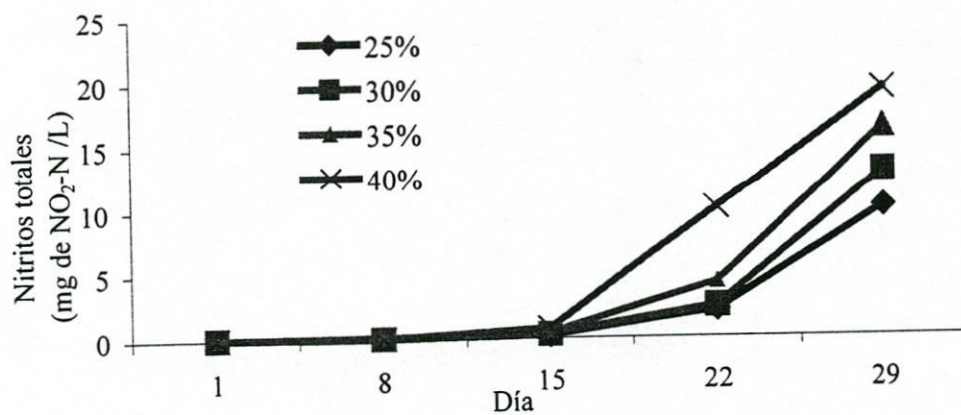


Figura 4. Concentración de nitritos en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo.

IV. III. 1. 3. Nitratos

La concentración de nitratos inicial (0.01 mg de NO_3 - N/L), así como la de los días 8 y 15 de muestreo fueron relativamente bajas en todos los tratamientos experimentales (\leq 0.65 mg de NO_3 - N/L). A partir del día 22, la concentración se incrementó en todos ellos y varió en un rango de 2.62 hasta 8.18 mg de NO_3 - N/L, éste último registrado en el tratamiento con 40 % de proteína. En el último día de muestreo la concentración de nitratos en los tanques experimentales alcanzó su valor máximo en cada uno de los tratamientos, con concentraciones de 12.06, 20.44, 15.47 y 36.94 mg de NO_3 - N/L para el tratamiento con 25, 30, 35 y 40 % de proteína, respectivamente. Únicamente en este día de muestreo se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla VIII, Fig. 5).

Tabla VIII. Concentración de nitratos en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo (mg de NO₃ - N/L)¹.

Día	Tratamiento (% de proteína)			
	25%	30%	35%	40%
1	0.01	0.01	0.01	0.01
8	0.04 ± 0.08	0.38 ± 0.63	0.03 ± 0.07	0.00 ± 0.00
15	0.10 ± 0.14	0.15 ± 0.11	0.43 ± 0.54	0.65 ± 0.22
22	2.73 ± 3.66	2.62 ± 1.63	4.95 ± 1.70	8.18 ± 5.19
29	12.06 ± 2.71 ^a	20.44 ± 10.15 ^b	15.47 ± 6.92 ^{bc}	36.94 ± 22.03 ^c

¹Los valores representan la media de 4 replicados ± D.E. Las medias con el mismo superíndice en cada renglón no son significativamente diferentes.

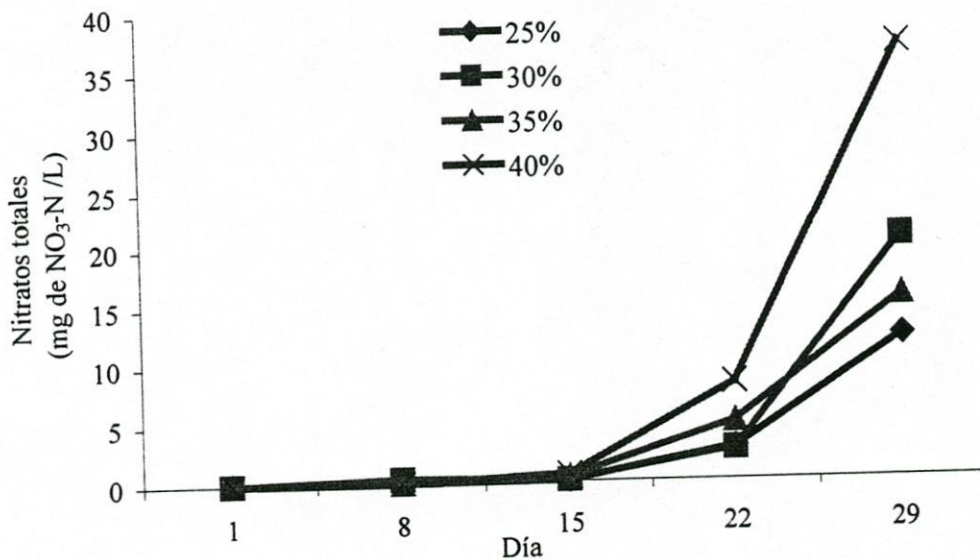


Figura 5. Concentración de nitratos en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo.

IV. III. 2. Nitrógeno Orgánico

Para la determinación de nitrógeno orgánico se determinó la concentración de nitrógeno orgánico disuelto (NOD), nitrógeno de sólidos suspendidos (NSS) y nitrógeno de sólidos sedimentados (NSSed).

IV. III. 2. 1. Nitrógeno Orgánico Disuelto

La concentración de nitrógeno orgánico disuelto al inicio (día 1) del experimento fue de 0.0 mg de NO_3 - N/L. Para el día 8, la concentración de NOD varió en un rango de 0.17 a 0.88 mg de NO_3 – N/L pero no se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$). En el día 15 de muestreo que equivale a la segunda semana de experimento, las concentraciones variaron entre 0.32 y 0.73 mg de NO_3 – N/L, y tampoco se observaron diferencias significativas. En el día 22 de muestreo en cambio, las diferencias en la concentración de NOD entre los tratamientos fueron estadísticamente significativas. Para 25 % de proteína, la concentración se incrementó a 0.67 mg de NO_3 – N/L; con 30 % de proteína se registró una concentración de 0.61 mg de NO_3 – N/L; con 35 % una de 0.85 mg de NO_3 – N/L y con 40 % la concentración fue de 1.10 mg de NO_3 – N/L. Para el día 29 del experimento, la concentración de NOD alcanzó niveles máximos en todos los tratamientos pero no fueron significativamente diferentes. Las concentraciones fueron de 0.85, 0.79, 1.19 y 1.22 mg de NO_3 –N/L para los tratamientos con 25, 30, 35 y 40 % de proteína, respectivamente (Tabla IX, Fig.6).

Tabla IX. Concentración de nitrógeno orgánico disuelto en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo (mg de $\text{NO}_3\text{-N/L}$)¹.

Día	Tratamiento (% de proteína)			
	25%	30%	35%	40%
1	0.00	0.00	0.00	0.00
8	0.64 ± 0.53	0.71 ± 0.44	0.17 ± 0.30	0.88 ± 0.40
15	0.32 ± 0.22	0.55 ± 0.21	0.39 ± 0.25	0.73 ± 0.30
22	0.67 ± 0.25 ^a	0.61 ± 0.12 ^a	0.85 ± 0.22 ^{ab}	1.10 ± 0.28 ^b
29	0.85 ± 0.32	0.79 ± 0.58	1.19 ± 0.69	1.22 ± 0.42

¹Los valores representan la media de 4 replicados ± D.E. Las medias con el mismo superíndice en cada renglón no son significativamente diferentes.

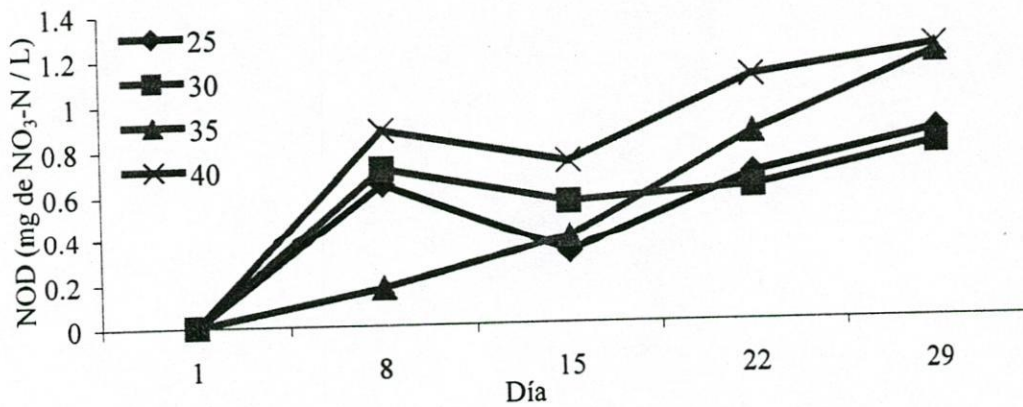


Figura 6. Concentración de nitrógeno orgánico disuelto en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo.

IV. III. 2. 2. Nitrógeno de Sólidos Suspendidos

La evaluación de la concentración de nitrógeno de sólidos suspendidos indicó que no existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos en ninguno de los días de muestreo establecidos. Se inició el experimento con una concentración de 0.00 mg de $\text{NO}_3\text{-N/L}$, la cual se incrementó en las siguientes semanas (día 8, 15 y 12) alcanzando valores de 0.24 a 0.52 mg de $\text{NO}_3\text{-N/L}$. El día 29 del experimento, la concentración en todos los tratamientos disminuyó a 0.23, 0.12, 0.17 y 0.17 mg de $\text{NO}_3\text{-N/L}$ para los tratamientos con 25, 30, 35 y 40 % de proteína, respectivamente (Tabla X, Fig.7).

IV. III. 2. 3. Nitrógeno de Sólidos Sedimentados

La concentración de nitrógeno de sólidos sedimentados del día 29 del experimento para los tratamientos con 25 y 30 % de proteína fue de 0.05 y 1.14 mg de $\text{NO}_3\text{-N/L}$, respectivamente. Para los tratamientos con 35 y 40 % de proteína no se detectó nitrógeno de sólidos sedimentados (0.00 mg de $\text{NO}_3\text{-N/L}$).

Tabla X. Concentración de nitrógeno de sólidos suspendidos en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo (mg de NO₃ - N/L)¹.

Día	Tratamiento (% de proteína)			
	25%	30%	35%	40%
1	0.00	0.00	0.00	0.00
8	0.42 ± 0.30	0.53 ± 0.56	0.11 ± 0.17	0.33 ± 0.32
15	0.28 ± 0.21	0.30 ± 0.14	0.24 ± 0.22	0.52 ± 0.07
22	0.33 ± 0.10	0.30 ± 0.16	0.40 ± 0.16	0.38 ± 0.07
29	0.23 ± 0.36	0.12 ± 0.25	0.17 ± 0.24	0.17 ± 0.15

¹Los valores representan la media de 4 replicados ± D.E. Las medias con el mismo superíndice en cada renglón no son significativamente diferentes.

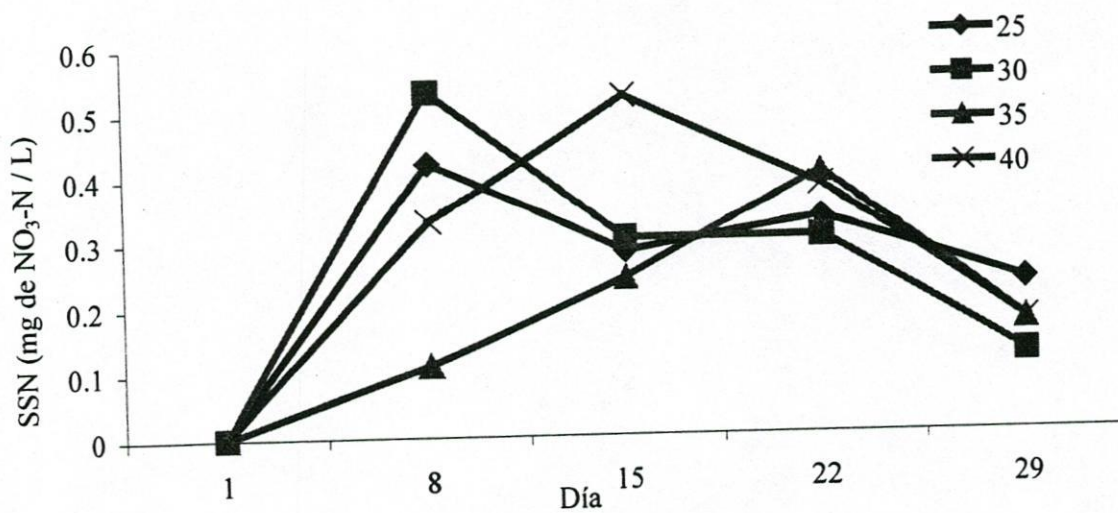


Figura 7. Concentración de nitrógeno de sólidos suspendidos en los tratamientos experimentales en cada día de muestreo.

IV. III. 3. Nitrógeno y proteína en dietas experimentales

El contenido de proteína indicó que las dietas con 25, 30, 35 y 40 % de proteína contienen exactamente 27.6, 32.3, 37.0 y 42 % de proteína, respectivamente. La concentración de nitrógeno en la dieta con 25 % de proteína fue de 4.4 %; la dieta con 30 % de proteína tuvo 5.1 % de nitrógeno; la de 35 % de proteína tuvo 5.9 % de nitrógeno y finalmente la dieta con 40 % de proteína contenía 6.7 % de nitrógeno (Tabla XI).

IV. III. 4. Nitrógeno en organismos experimentales

El análisis de determinación de nitrógeno evidenció que los organismos experimentales poseían una concentración de 69.20 % de proteína y 11.07 % de nitrógeno. De igual forma, para cada uno de los tratamientos experimentales se determinó la concentración de proteína y nitrógeno en los camarones cosechados al final del periodo experimental. Los resultados indicaron que los organismos alimentados con 25 % de proteína poseían 72.51 % de proteína y 11.60 % de nitrógeno; los organismos alimentados con 30 % de proteína, tuvieron 74.73 % de proteína y 11.95 % de nitrógeno; los camarones alimentados con 35 % de proteína tuvieron 76.09 % de proteína y 12.01 % de nitrógeno y finalmente los organismos alimentados con 40 % de proteína poseían 69.76 % de proteína y 11.16 % de nitrógeno (Tabla XII).

Tabla XI. Contenido de proteína y nitrógeno de las dietas experimentales¹.

Dieta	Porcentaje de proteína (%)	Porcentaje de nitrógeno (N ₂ , %)
25% de proteína	27.6	4.4
30% de proteína	32.3	5.1
35% de proteína	37.0	5.9
40% de proteína	42.0	6.7

¹Los valores representan la media de 2 replicados.

Tabla XII. Contenido de proteína y nitrógeno en camarones al inicio del experimento y en camarones cosechados al final del experimento¹.

Organismos experimentales	Porcentaje de proteína (%)	Porcentaje de nitrógeno (N ₂ , %)
Iniciales	69.20	11.07
25% de proteína	72.51	11.60
30% de proteína	74.73	11.95
35% de proteína	76.09	12.09
40% de proteína	69.76	11.16

¹Los valores representan la media de 3 replicados.

IV. III. 5. Clorofila *a*

La concentración de clorofila *a* al inicio del experimento fue de 0.67 ± 0.00 mg/m³. Al final del experimento los resultados no evidenciaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos. Para el tratamiento con 25 % de proteína la concentración final fue de 1.47 ± 1.73 , para 30 % fue de 1.52 ± 1.43 , para 35 % fue de 0.00 ± 0.00 y para 40 % de proteína se encontró 0.98 ± 1.78 mg/m³ de clorofila *a* (Tabla XIII).

Tabla XIII. Concentración de clorofila *a* inicial y final para los tratamientos experimentales.

Tratamiento (% de proteína)	Concentración (mg/m ³)
Inicial	0.67 ± 0.00
25%	1.47 ± 1.73
30%	1.52 ± 1.43
35%	0.00 ± 0.00
40%	0.98 ± 1.78

IV. III. 6. Crecimiento superficial

Otro parámetro evaluado y considerado importante para la determinación del presupuesto de nitrógeno fue el crecimiento superficial de microorganismos que pudieran estar involucrados en los procesos de degradación de compuestos nitrogenados. Sin embargo, los resultados no evidenciaron un crecimiento significativo de bacterias pues la acumulación de crecimiento superficial en los portaobjetos fue mínima. Por esta razón, la asimilación de nitrógeno por bacterias y otros microorganismos no se cuantificó (Tabla XIV).

Tabla XIV. Peso del crecimiento superficial en portaobjetos colocados en tanques experimentales.

Tratamiento (% de proteína)	Crecimiento superficial (g)
25	0.0003
30	0.0005
35	0.0004
40	0.0005

IV. III. 7. Presupuesto de nitrógeno

La cantidad de nitrógeno total suministrado a cada uno de los tratamientos experimentales fue diferente debido a que la concentración de proteína en cada una de las dietas es distinta. La cantidad total de nitrógeno adicionado fue de 0.350, 0.397, 0.467 y 0.556 g para los tratamientos con 25, 30, 35 y 40 % de proteína, respectivamente. Para el tratamiento con 25 % de proteína, sólo un 36.97 % del nitrógeno se recuperó en biomasa de camarón. Para el tratamiento con 30 % de proteína, se recuperó un 34.31 % en biomasa de camarón; para el tratamiento con 35 % de proteína, la cantidad de nitrógeno recuperado en biomasa de camarón fue de 31.10 %; y, finalmente para el tratamiento con 40 % se recuperó solamente un 25.11 % del nitrógeno adicionado en biomasa de camarón. El mayor porcentaje de nitrógeno no recuperado se observó (41.45 %) en el tratamiento con 35 % de proteína, y el menor (33.38 %) en el tratamiento con 30 % de proteína, sin encontrarse diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos experimentales. El nitrógeno inorgánico fue más importante que el nitrógeno orgánico dentro del sistema, y del total del nitrógeno suministrado, un 27.47 a 40.74 % se encontró en esta forma en los diferentes tratamientos experimentales. En el caso del nitrógeno orgánico solamente un 1.17 a 2.09 % estuvo presente en esta forma (Tabla XV).

Tabla XV. Balance del presupuesto de nitrógeno (N) para un sistema cerrado de cultivo de juveniles de *L. vannamei* alimentados con diferentes niveles de proteína (25%, 30%, 35% y 40%)¹.

Tratamiento	N de alimento	N recuperado	² N inorgánico	³ N orgánico	⁴ N extraído	⁵ N no	⁶ N inicial en	Balance
(% de	suministrado	en biomasa de	final en el	final en el	del sistema	recuperado (g)	el sistema	(g)
proteína)	(g)	camarón (g)	sistema (g)	sistema (g)	(g)		(g)	(1+2+3+4+5-6)
25%	0.350	0.129	0.096 ^a	0.006	0.003 ^a	0.135	0.020	0.350
30%	0.397	0.136	0.137 ^a	0.008	0.004 ^b	0.133	0.021	0.397
35%	0.467	0.145	0.135 ^a	0.007	0.005 ^c	0.195	0.018	0.467
40%	0.556	0.140	0.227 ^b	0.007	0.005 ^c	0.198	0.020	0.556
25%	100	36.97	27.49	1.83	0.71	38.63	5.63	100
30%	100	34.31	34.61	2.09	0.93	33.38	5.29	100
35%	100	31.10	28.87	1.43	1.07	41.45	3.92	100
40%	100	25.11	40.74	1.17	0.95	35.54	3.51	100
	N de alimento	N recuperado	² N inorgánico	³ N orgánico	⁴ N extraído	⁵ N no	⁶ N inicial en	Balance
	suministrado	en biomasa de	final en el	final en el	del sistema	recuperado	el sistema	(1+2+3+4+5-6)
	(%)	camarón (%)	sistema (%)	sistema (%)	(%)	(%)	(%)	(%)

¹Los valores representan la media de 4 replicas. Las medias con el mismo superíndice en cada columna no son significativamente diferentes.

2. N inorgánico final en el sistema: es la suma de nitrógeno amoniacal total, nitritos y nitratos en las muestras del último día del periodo experimental.

3. N orgánico final en el sistema: es la suma de NOD y NSS en las muestras del último día del periodo experimental.

4. N extraído del sistema: corresponde a la suma de nitrógeno orgánico e inorgánico extraído en las muestras de agua semanales.

5. N no recuperado: corresponde a la fracción de nitrógeno resultante de la diferencia entre la cantidad de nitrógeno suministrada (alimento) y la cantidad recuperada al final del periodo experimental.

6. N inicial del sistema: corresponde a la cantidad de nitrógeno orgánico e inorgánico presente en el agua al inicio del periodo experimental, así como a la cantidad de nitrógeno en los organismos experimentales sembrados en los acuarios.

V. DISCUSIÓN

Una alternativa actual de camaronicultura que promueve la sustentabilidad de la actividad es el cultivo de camarón, por ejemplo el camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, en sistemas con bajo o cero recambio de agua. Se ha documentado en diversos trabajos que en estos sistemas es posible obtener altas producciones, incluso mejores que las que se obtienen en sistemas donde se lleva a cabo un recambio significativo de agua (Hopkins *et al.*, 1993; Samocha *et al.*, 1998). En este tipo de sistemas de cultivo, una de las preocupaciones más importantes es el mantener una apropiada calidad del agua a lo largo del ciclo del cultivo para salvaguardar el buen estado de salud de los organismos (McIntosh *et al.*, 2001). En el presente estudio, los parámetros de calidad de agua tales como temperatura (28.3–28.4 °C), oxígeno disuelto (6.13–6.20 mg/L), salinidad (33.1–33.8 ‰) y pH (7.91–8.55) se mantuvieron en el rango óptimo para el cultivo comercial de esta especie en cada uno de los tratamientos experimentales.

Como era de esperarse, el peso individual inicial de los organismos no mostró diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$). Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas entre los tratamientos experimentales en los parámetros de producción evaluados. El peso final (2.42 g) y el peso ganado (430.63 %) de los camarones alimentados con la dieta que contenía 25 % de proteína fueron significativamente menores que para el resto de los tratamientos. Los camarones alimentados con 40 % de proteína (2.87 g; 542.61 %) en la dieta no se favorecieron de este incremento en la proteína con respecto a aquellos organismos alimentados con 30 (2.84 g; 538.55 %) o 35 % de proteína (3.0 g; 592.54 %).

El peso final y el peso ganado de los camarones en este estudio son comparables a los valores reportados por Martínez-Porchas (2005) para el desempeño biológico de juveniles de *L. vannamei* alimentados con raciones isoproteicas durante un periodo de cuatro semanas. El autor reporta un peso final que varió de 2.71 a 2.87 g y un peso ganado que varió de 472.4 a 549.81 %. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos para dichos valores, aunque también en este estudio el peso final y el peso ganado de los camarones alimentados con 25 % de proteína en la dieta fueron menores que para el resto de los tratamientos. Tacon *et al.* (2002) reportan un peso ganado

que varió de 554.7 a 1098.2 % para organismos de la misma especie con un peso inicial de aproximadamente 1.6 g cultivados durante 8 semanas en un sistema cerrado al exterior. No obstante, para un sistema de recirculación al interior, reportan un menor peso ganado que varió de 130.2 a 323.8 %. Aparentemente, el mayor crecimiento de los animales cultivados al exterior está directamente relacionado con las condiciones de cultivo al exterior que propician el desarrollo de una mezcla de microorganismos (e.g., bacterias, microalgas, flagelados, ciliados, rotíferos, etc.) que forman parte del alimento natural del camarón, y que contribuyen a su alimentación. Decamp *et al.* (2003) reportan un peso ganado de aproximadamente 628 % para *L. vannamei* de cerca 1.84 g de peso inicial cultivado durante 56 días en tanques al exterior con cero recambio de agua con salinidad de 36 ‰.

El tratamiento con 25 % de proteína en la dieta mostró el mayor índice de supervivencia (100 %), aunque este parámetro no mostró diferencias significativas con los otros tratamientos. No se observó alguna tendencia en particular respecto a la supervivencia de los camarones debido al incremento de proteína en la dieta en los tratamientos con 30, 35 y 40 %, pero en general la supervivencia fue alta en todos ellos, mayor de 87 %. En un estudio previo en el mismo sistema experimental bajo condiciones similares y utilizando la misma especie, excepto por la implementación de una alimentación con raciones isoproteicas de las dietas con 25, 30, 35 y 40 % de proteína, Martínez-Porchas (2005) reportó supervivencias en un rango de 87.5 a 92.5%, muy similares a las reportadas en este estudio. En otro estudio Decamp *et al.* (2003) reportan también una alta supervivencia de 94.3 % después de 56 días de cultivo de esta especie a en tanques al exterior (36 ‰) sin recambio y alimentados con 35.2 % de proteína en la dieta. Tacon *et al.* (2002) por su parte reportaron una supervivencia variable de 19.0 a 79.3 % para juveniles de *L. vannamei* después de 8 semanas de cultivo en un sistema estático y alimentados con dietas con 35-37 % de proteína.

El contenido de proteína en la dieta es importante, pues se sabe que la mayor fuente de compuestos del nitrógeno en sistemas de cultivo proviene del metabolismo de las proteínas contenidas en el alimento (Colt y Armstrong, 1981). Por otro lado, el nitrógeno amoniacal es el principal producto de desecho del catabolismo de las proteínas de peces, crustáceos (Dall *et al.*, 1990) y moluscos (Campbell, 1973). Los problemas de toxicidad

por acumulación de metabolitos nitrogenados pueden ocurrir en todo tipo de sistemas de cultivo, pero es especialmente significativa en sistemas cerrados pues la concentración de éstos metabolitos en la columna de agua suele alcanzar valores importantes, especialmente cuando no se desarrolla dentro del sistema una adecuada cantidad de microorganismos que pudieran reciclarlos.

Aparentemente, en los sistemas con cero recambio de agua las bacterias juegan un papel importante en la disminución de la concentración de metabolitos tóxicos, particularmente de nitrógeno amoniacal, a través de la denitrificación (Tacon *et al.*, 2002). Los resultados de este estudio coinciden con esta observación, ya que una vez que las bacterias se han establecido en el sistema, a partir del día 15 para el tratamiento con 40 % de proteína y del día 22 para el resto de los tratamientos, la concentración de nitrógeno amoniacal (Figura 3) comenzó a disminuir, mientras que la concentración de nitritos y nitratos se incrementó (Figura 4 y 5). Este mismo comportamiento en la concentración de los metabolitos nitrogenados en la columna de agua se ha reportado en trabajos previos (Gómez-Jiménez *et al.*, 2005; Velazco-Rameños, 2004), en donde se describe que la concentración de nitrógeno amoniacal disminuye a partir del día 14, al mismo tiempo que la concentración de nitritos y nitratos se incrementa. Debido a que la molécula de nitrógeno amoniacal es muy pequeña y altamente soluble, se puede difundir fácilmente a través de membranas biológicas. Cuando los crustáceos son expuestos a agua con altos niveles de nitrógeno amoniacal, la concentración de este metabolito en hemolinfa puede aumentar pues se asimila del medio, y por lo tanto, la concentración ambiental disminuye, como se ha reportado anteriormente (Hosie *et al.*, 1991; Schmitt y Uglow, 1997; Gómez-Jiménez *et al.*, 2002). A pesar de que este fenómeno ocurre, probablemente la disminución en la concentración de nitrógeno amoniacal a partir de los días 15 y 22 en los diferentes tratamientos se debe primordialmente a la acción de las bacterias nitrificantes, como parece indicarlo el incremento en la concentración de nitritos y nitratos, de tal manera que la asimilación de nitrógeno amoniacal por los organismos cultivados quizás no es cuantitativamente importante bajo estas condiciones de cultivo, aunque tal vez debiera evaluarse en un estudio posterior.

La concentración máxima de nitrógeno amoniacal encontrada fue de 4.92 mg de $\text{NH}_4\text{-N/L}$ en el día 22 para en el tratamiento con 30 % de proteína. Ésta y las demás concentraciones registradas estuvieron por debajo de la concentración letal media (LC_{50}) de nitrógeno amoniacal total reportada para juveniles de esta especie (3.8 g) por Frías-Espéricueta *et al.* (1999), que es de 110.6 mg de $\text{NH}_4\text{-N/L}$ para alcanzar la LC_{50} en un periodo de 48 h y de 70.9 mg de $\text{NH}_4\text{-N/L}$ para alcanzar la LC_{50} en un periodo de 96 h. Colt y Armstrong (1981) sugieren que, además del nitrógeno amoniacal, los nitritos también pueden ser tóxicos en los sistemas de cultivo, incluso en aquellos con recambios de agua frecuentes, cuando sus concentraciones alcanzan niveles importantes, ya que son un producto intermediario en el proceso de nitrificación (Chen y Chen, 1992). Entre los principales efectos tóxicos de los nitritos sobresalen aquellos que tienen una relación directa con el transporte de oxígeno, oxidación de compuestos importantes y daños a diversos tejidos (Frías-Espéricueta y Páez-Osuna, 2001). En el presente estudio la máxima concentración de nitritos se registró en el día 29 en el tratamiento con 40 % de proteína y fue de 19.26 mg de $\text{NO}_2\text{-N/L}$. Lin y Chen (2003) determinaron la concentración letal media de nitritos para *L. vannamei* cultivado a diferentes salinidades, a 35 ‰ determinaron un nivel de seguridad para este metabolito tóxico de 25.7 mg/L, un valor más alto que el máximo valor registrado en este estudio. Sin embargo, a 15 ‰, el nivel de seguridad se reduce a 6.1 mg/L, demostrándose un claro efecto de la salinidad en su toxicidad. Bajo estas condiciones experimentales, tanto el nitrógeno amoniacal como los nitritos no evidenciaron tener influencia en el desempeño biológico de los camarones, particularmente en su supervivencia, a pesar de que sus concentraciones fueron substanciales en algún momento del periodo experimental. En contraste con lo observado en este trabajo, Velazco-Rameños (2004) observó que estos desechos nitrogenados sí son un factor crítico en la supervivencia de *L. vannamei* cuando se cultiva en un sistema cerrado y en agua de baja salinidad (4 ‰), pues se añade un factor de estrés osmótico adicional a los animales que aunado a las altas concentraciones de metabolitos nitrogenados puede propiciar altas mortalidades.

Una gran cantidad del nitrógeno que entra a los sistemas de cultivo en forma de alimento balanceado se pierde durante el recambio de agua desechándose al medio ambiente en diversas formas (*e.g.*, NOD, NID, NSS ó NSSed, etc.) y en mayor o menor

grado según la eficiencia del sistema de producción. Sin embargo, en los sistemas cerrados se promueve un mejor aprovechamiento del nitrógeno entrante mediante el reciclaje de nutrientes, de manera que la camaricultura puede desarrollarse como una actividad sustentable al reducir el impacto ambiental a los ecosistemas adyacentes al cultivo (Thoman *et al.*, 2001; Thakur y Lin, 2003). En este estudio se observó la máxima concentración de NOD al final del bioensayo en cada uno de los tratamientos experimentales. En cuanto a la concentración de NSS, se observaron las máximas concentraciones entre los días 8 y 15 en todos los tratamientos, posteriormente disminuyó en todos ellos. El presupuesto de nitrógeno evidenció que la cantidad de nitrógeno recuperada en biomasa de camarón disminuyó al incrementar el contenido de proteína en la dieta bajo estas condiciones experimentales, siendo el tratamiento con 25 % de proteína aquel en donde se recuperó la mayor cantidad de nitrógeno en forma de biomasa de camarón (36.97 %) y el de 40 % de proteína en donde se recuperó la menor cantidad (25.11). De manera semejante a lo observado en este estudio, Velazco-Rameños (2004) reportó una recuperación de 39.8 % de conversión de nitrógeno en biomasa de camarón con una dieta de 25 % de proteína y la menor, 5.8 % con 40 % de proteína en un sistema cerrado con baja salinidad. Thakur y Lin (2003), quienes también evaluaron el presupuesto de nitrógeno para un sistema cerrado, observaron que solo el 23-31 % del nitrógeno pudo ser asimilado por los camarones, mientras que para una granja intensiva de camarón, Jackson *et al.* (2003) observaron que solo el 22 % del nitrógeno fue convertido a biomasa de camarón.

Por otra parte, bajo estas condiciones de cultivo, solamente un pequeño porcentaje de nitrógeno dentro del sistema se encontró en forma de nitrógeno orgánico, entre 1.17-2.09 %, lo que difiere de lo anteriormente observado en otros trabajos. Velazco-Rameños (2004) observó un alto porcentaje de nitrógeno en forma de nitrógeno orgánico dentro del sistema experimental (≤ 51.8 %). Thakur y Lin (2003) también observaron la mayor pérdida de nitrógeno en los sedimentos, que pudieran considerarse como nitrógeno orgánico, con 14-53 %, y Jackson *et al.* (2003) reportan que aproximadamente el 57 % de nitrógeno se descargó en efluentes de una granja intensiva, la fracción de nitrógeno disuelta comprendió un 37-43 % de NOD y el nitrógeno amoniacal un 12-21 % del nitrógeno total. Es importante enfatizar que, a diferencia de los trabajos anteriormente mencionados, en

este estudio la incorporación de nitrógeno a la biomasa de camarón y la cantidad de nitrógeno inorgánico en el sistema fueron mayores.

El nitrógeno inorgánico disuelto en el agua que permaneció en nuestro sistema al final del experimento fue de 27.49-40.74 (Tabla XV). Thakur y Lin (2003) reportan para su sistema cerrado alrededor de 14-28 % del nitrógeno permaneció en el agua como nitrógeno inorgánico, mientras que Velazco-Rameños (2004) reporta un 14.7-22.6 %. Jackson *et al.* (2003) reportan un 12-21 % únicamente de nitrógeno amoniacal. Uno de los objetivos de los sistemas cerrados es el promover el desarrollo de microorganismos y productividad primaria para recapturar el nitrógeno inorgánico disuelto y que al mismo tiempo éstos puedan ser consumidos por los camarones. En este sentido, probablemente la gran cantidad de nitrógeno inorgánico observada en este estudio pueda explicarse por el limitado desarrollo de la comunidad bacteriana y la escasa o nula presencia de productividad primaria dentro del sistema, como parece indicarlo la mínima presencia de clorofila *a* que es un índice de la cantidad de biomasa fitoplanctónica presente, así como el limitado crecimiento superficial. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que la asimilación de nitrógeno inorgánico y la degradación de nitrógeno orgánico por bacterias haya ocurrido.

Los presupuestos de nitrógeno en sistemas de estanquería son difíciles de evaluar porque son sistemas abiertos al intercambio a través de lluvias, desbordamiento, volatilización de nitrógeno amoniacal y al efecto del intercambio en sedimentos del estanque. Según Daniels y Boyd (1989), más del 50 % del nitrógeno que entra a estanques con membranas y aguas salobres vía alimento se pierde por procesos de denitrificación y volatilización de nitrógeno amoniacal. Por otra parte, Acosta-Nassar (1994) estimó que solo el 1 % del nitrógeno total se perdió a través de procesos de denitrificación en un sistema semiintensivo de cultivo de peces en estanques con agua de baja salinidad. En este estudio realizado en un sistema cerrado, el nitrógeno no recuperado representó un 33.38-41.45 %, lo que pone en evidencia que pudiera existir una gran variación dependiendo del sistema de cultivo de que se trate. Por ejemplo, en una granja intensiva de camarón, Jackson *et al.* (2003) estimaron un 3 % de nitrógeno que no se recuperó y lo adjudican a la pérdida vía denitrificación o volatilización de nitrógeno amoniacal. Thakur y Lin (2003), para un sistema de estanquería cerrado, reportaron que el porcentaje de nitrógeno no

recuperado varió de 5.2-36 %, mientras que Thoman *et al.* (2001) reportaron una pérdida de nitrógeno de 9-21 % vía denitrificación en un sistema cerrado de recirculación. Velazco-Rameños (2004) observó un 0.8-23 % de nitrógeno no recuperado en un sistema cerrado de baja salinidad, y menciona además que la cantidad de nitrógeno no recuperado se incrementó al aumentar la concentración de proteína en la dieta, lo que no se evidenció en este estudio.

VI. CONCLUSIONES

- Este trabajo demuestra que el cultivo de *Litopenaeus vannamei* en un sistema con cero recambio de agua se puede llevar a cabo con buenos resultados de producción.
- Este estudio también demuestra que no se requiere de una dieta con un contenido mayor a 30 % de proteína para la alimentación de juveniles de *L. vannamei* cultivados en un sistema cerrado si se desea obtener un desempeño biológico satisfactorio.
- El presupuesto de nitrógeno evidenció que la cantidad de nitrógeno incorporado en biomasa de camarón fue mayor cuando se utilizó la dieta con menor contenido proteico, lo que apoya lo antes mencionado.
- La concentración de nitrógeno inorgánico en el sistema está íntimamente relacionada con la cantidad de nitrógeno suministrada a través del alimento balanceado, por lo que el uso de dietas con alto contenido proteico puede propiciar el deterioro de la calidad de agua del sistema.

VII. RECOMENDACIONES

- Para el cultivo de *Litopenaeus vannamei* en sistemas con cero recambio de agua, no se recomienda la utilización de alimentos balanceados con altos porcentajes de proteína (≥ 30 %) con el fin de minimizar la acumulación de desechos nitrogenados en el sistema.
- Se considera necesario realizar estudios utilizando sistemas de cultivo cerrados al exterior, incluyendo cultivos comerciales, con el fin de promover el desarrollo de la productividad primaria y evaluar el papel que juega en los procesos de asimilación y transformación del nitrógeno.
- El uso de sistemas cerrados promueve la reducción de costos de producción, no solo por la utilización de dietas con bajo contenido proteico, sino también por la reducción de costos de energía por actividad de bombeo de agua.
- El análisis del presupuesto de nitrógeno es útil para la determinación de la eficiencia del sistema al estimar qué cantidad del nitrógeno introducido a través del alimento se recupera en biomasa de camarón, por lo tanto, es recomendable realizar este tipo de estudios a nivel comercial con el fin de optimizar los sistemas de producción.

VIII. LITERATURA CITADA

- Acosta-Nassar, M.V., Morell, J.M. y Corredor, J.E.. 1994. The nitrogen budget of a tropical semi-intensive freshwater fish culture pond. *J. World Aquaculture. Society*, 25: 261–270.
- Avnimelech, V. y Lacher, M., 1979. A tentative nutrient balance for intensive fish ponds. *Bamidgeh*, 31, 38.
- Boyd, C.E. 1986. Component of development techniques for management of environment quality in aquaculture. *Aquacultural Engineering* 5:135-146.
- Briggs, M.R.P. y Funge-Smith, S.J., 1994. A nutrient budget of some intensive marine shrimp ponds in Thailand. *Aquacult. Fish. Manage.* 25:789–811.
- Browdy, C.L., Bratvold, D., Stokes, A.D. y McIntosh, R.P., 2001. Perspectives on the application of closed shrimp culture systems. In: Browdy, C.L., Jory, D.E. (Eds.), *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, pp. 20–34.
- Burford, M. A. y Glibert, P.M., 1999. Short-term N uptake and regeneration in early and late growth phase shrimp ponds. *Aquaculture. Research* 30:215–227.
- Burford, M.A. y Williams, K.C., 2001. The fate of nitrogenous waste from shrimp feeding. *Aquaculture* 198:79– 93.
- Burford, M. A., Thompson, P. J., McIntosh, R. P., Bauman, R, H. y Pearson, D. C. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. *Aquaculture* 219:393-411.
- Campbell, J. M. 1973. Nitrogen excretion. En: Prosser, C. L. (Ed). *Comparative Animal Physiology*. 3era. Edición. W. B. Sanders, Philadelphia, USA. 279-315.

- Chen, S. N., 1995. Current status of shrimp aquaculture in Taiwan. En: Browdy, C.L., Hopkins, J.S. (Eds.), *Swimming through Troubled Waters: Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, pp. 29– 34.
- Chen, J. C. y Chen, S. F. 1992. Effects of nitrite on growth and molting of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquaculture*, 109:177-185.
- Cheng , S. Y. y Chen, J. C. 1998. Effects of nitrite exposure on the haemolymph electrolyte, respiratory protein and free amino acid levels and water content of *Penaeus japonicus*. *Aquatic Toxicology*, 44:129-139.
- Colt, J. E. y Armstrong, D. 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and mollusks. *Proceedings of the Bio-Engineering Symposium for Fish Culture*. Fish Culture Section of the American Fisheries Society 1:34-47.
- Cook, H., Clifford, H., 1997. Feed management for semi-intensive shrimp culture: Part 2. *Aquaculture Mag.* 23:37–42.
- Dall, W., Hill, B.J., Rothlisberg, P.C. y Staples, D.J., 1990. *The Biology of Penaeidae*, *Advances in Marine Biology* vol. 27. Academic Press, New York, 489 pp.
- Daniels, H. V. y Boyd, C. E. 1989. Chemical budgets for polyethylene-lined brackishwater ponds. *World Aquaculture Society* 20:85-94.
- Decamp, O., Cody, J., Conquest, L., Delanoy, G. y Tacon, A, G. J. 2003. Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone), within experimental zero water exchange culture systems. *Aquaculture Research* 34:345-355.

- FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations) 1999. Yearbook of Fishery Statistics 1998. Vol. 86/2. Aquaculture production. FAO Statistics Series No. 154. and Fisheries Series No. 56, FAO, Roma. 182pp.
- Forster, R. P. y Goldstein, L. 1969. Formation of excretory products. En: Hoar, W. y Randall, R. (Eds.). Fish Physiology. Vol. 1. Academia Press, New York. p. 313 – 350.
- Frías-Espéricueta, M. G. y Páez-Osuna, F. 2001. Toxicidad de los compuestos del nitrógeno en camarones. En: Camaronicultura y Medio Ambiente, ed. Páez-Osuna, F. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Mazatlán, Sinaloa. p. 225-242.
- Frías-Espéricueta, M. G., Harfush-Meléndez, M., Osuna-López, J. I. y Páez-Osuna, F. 1999. Acute toxicity of ammonia to juvenile shrimp *Penaeus vannamei* Boone. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 62:646-652.
- Gómez-Jiménez, S., Amaya, A. M. L., Carballo-Ruiz, G. y García-Sánchez, G. 2002. Effects of ambient ammonia on the nitrogen metabolism of the freshwater crayfish *Cambarellus montuzumae*. Freshwater Crayfish, 13:491-497.
- Gómez-Jiménez, S., González-Félix, M. L., Pérez-Velázquez, M., Trujillo-Villalba, D. A., Ezquerro-Brauer, I. R. y Barraza-Guardado, R. 2005. Effect of dietary protein level on growth, survival and ammonia efflux rate of *Litopenaeus vannamei* (Boone) raised in a zero water exchange culture system. Aquaculture Research 36:834-840.
- Hopkins, J.S., Hamilton, R.D.I., Sandifer, P.A., Browdy, C.L. y Stokes, A.D., 1993. Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. Journal of the World Aquaculture Society 24 3:304–320.

- Hosie, D. A., Uglow, R. F., Hagerman, L., Sondergaard, T. y Weile, K. 1991. Some effects of hypoxia and medium ammonia enrichment on efflux rates and circulating levels of ammonia in *Nephrops norvegicus*. *Marine Biology*, 110:273-279.
- Jackson, C., Preston, N., Thompson, P. J. y Burford, M. 2003. Nitrogen budget and effluent nitrogen components at an intensive shrimp farm. *Aquaculture* 218:397-411.
- Jory, D. E. 2001. Comments on Biosecurity and Shrimp Farming. *Aquaculture Magazine* Jul / Aug, Volume 27, Number 4.
- Lawrence, A.L. y Lee, P.G., 1997. Research in the Americas. En: D'Abramo, L.R., Conklin, D.E., Akiyama, D.M. (Eds) *Crustacean Nutrition, Advances in World Aquaculture* vol. 6. World Aquaculture Society, Baton Rouge, pp. 566-587.
- Lawrence, A. L., More, W., Bray, W. A. y Royo, M. 2001. Successful intensive culture of *Litopenaeus vannamei* on a White Spot Syndrome Virus – contaminated farm in Panama. En: Browdy, Craig L. y Jory, D. E. Eds. 2001. *The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.
- Lin, Y.C y Chen, J.C. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*, 224: 193-201.
- Martínez-Porchas, M. 2005. Efecto del suministro de raciones isoprotéicas con diferentes niveles de proteína dietética sobre el presupuesto de nitrógeno, crecimiento y supervivencia de *Litopenaeus vannamei* Boone 1931 (Crustacea: Penaidae) en sistemas de cultivo sin intercambio de agua. Universidad de Sonora. Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Hermosillo, Sonora, México. 53 p.

- McIntosh, D., Samocha, T. M., Jones, E. R., Lawrence, A. L. Howitz, S., y Horowitz, A. 2001. Effect of two commercially available low-protein diets (21 % and 31 %) on water and sediment quality, and the production of *Litopenaeus vannamei* in an outdoor tank system with limited water discharge. *Aquacultural Engineering* 25:69-82.
- Naylor, R. L., Goldberg, R. J., Mooney, H., Beveridge, M., Clay, J., Folke, C., Kautsky, N., Lubchenco, J., Primavera, J. y Williams, M. 1998. Nature's subsidies to shrimp and salmon farming. *Science* 282:883-884.
- Preston, N.P., Burford, M.A., Jackson, C.J. y Crocos, P.J. 1995. Sustainable shrimp farming in Australia—prospects and constraints. *Proceedings of PACON Sustainable Aquaculture 95, Hawaii*. Pacon International, Honolulu, pp. 308–316.
- Qingyinet, W., Conghai, Y. y Jia, Y. 1995. The shrimp farming industry in China: past development, present status and perspectives on the future. En: Browdy, C.L., Hopkins, J.S. (Eds.), *Swimming through Troubled Waters: Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, pp. 1 – 12.
- Rosas, C., Sánchez, A., Díaz, E., Soto, L. A., Gaxiola, G. y Brito, R. 1996. Effect of dietary protein on apparent heat increment and postprandial nitrogen excretion of *P. setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae. *Journal of the World Aquaculture Society*, 27:92-102.
- Samocha, T. M., Hamper, L., Emberson, C. R., Davis, A. D., McIntosh, D., Lawrence, A. L. y Van Wyk, P. M. 2002. Review of some recent developments in sustainable shrimp farming practices in Texas, Arizona and Florida. *Journal of Applied Aquaculture*, 12:1-42.

- Sandifer, P. A. y Hopkins, J. S. 1996. Conceptual design of a sustainable pond based shrimp culture system. *Aquaculture Engineering* 15:41 – 52.
- Schmitt, A. S. C. y Uglow, R. F. 1997. Effects of ambient ammonia levels on blood ammonia, ammonia excretion and heart and scaphognathite rates of *Nephrops norvegicus*. *Marine Biology*, 127:411-418.
- Solorzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. *Limnol. Oceanogr.* 14:799-801.
- Solorzano, L., y Sharp. 1980. Determination of total dissolved organic nitrogen. *Limnology and Oceanography*, 25 p: 751-754.
- Soto, C. 2000. Efecto de un bicultivo de camarón café (*Farfantepenaeus californiensis*) y ostión japonés (*Crassostrea gigas*) sobre la calidad de agua y sedimento en una laguna de descarga de una granja camaronícola experimental. Universidad de Sonora. Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Hermosillo, Sonora, México.
- Spotte, S. 1979. *Fish and invertebrate culture: water management in closed systems*, John Wiley & Sons, Inc. New York, New York, USA.
- Strickland, D. H. y Parsons, T. R. 1972. *A practical handbook of seawater analysis*. Bull. Fish. Res. Bd. Canada. 167, 311 p.
- Tacon, A. G. J. y Akiyama, D.M. 1997. Feed ingredients. En: D'Abramo, L. R., Conklin, D.E., Akiyama, D. M. Ž . Eds., *Crustacean Nutrition, Advances in World Aquaculture vol. 6*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, pp. 411–472.
- Tacon, A.G.J., Cody, J.J., Conquest, L.D., Divakaran. S., Forster, L.P. y Decamp, O. E., 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of

Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquaculture Nutrition* 8:121-137.

Teichert-Coddington, D. R., Martínez, D. y Ramírez, E. 2000. Partial nutrients budgets for semi-intensive shrimp farms in Honduras. *Aquaculture* 190:139-154.

Thakur, D.P. y Lin, C.K., 2003. Water quality and nutrient budget in closed shrimp (*Penaeus monodon*) culture systems. *Aquacultural Engineering* 27:159-176.

Thoman, E.S., Ingall, E.D., Davis, D.A. y Arnold, C.R. 2001. A nitrogen budget for a closed, recirculating mariculture system. *Aquacultural Engineering*, 24: 195-211.

Velazco-Rameños, J. G. 2004. Efecto de diferentes niveles de proteína en dietas de juveniles de camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei*, sobre el crecimiento, supervivencia y presupuesto de nitrógeno en un sistema con baja salinidad y cero recambio de agua. Universidad de Sonora. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Hermosillo, Sonora, México. 73 p.