

Research Article

Efecto del fotoperiodo y la razón camarón:macroalga en la remoción de nitrógeno amoniacal total por *Gracilaria vermiculophylla*, en cultivo con *Litopenaeus vannamei*, sin recambio de agua

**Adolfo Sánchez-Romero¹, Anselmo Miranda-Baeza¹, José Antonio López-Eliás²
Luis Rafael Martínez-Córdova², Armando Tejeda-Mansir² & Enrique Márquez-Ríos²**

¹Universidad Estatal de Sonora, Unidad Navojoa, Carr. a Huatabampo, km 5
Navojoa, Sonora, 85800, México

²Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (DICTUS)
Blv. Luis Donaldo Colosio, S/N Hermosillo, Sonora, 83000, México

RESUMEN. Se evaluó el efecto del fotoperiodo y la relación de biomasa camarón:macroalga en la remoción de nitrógeno amoniacal total (NAT), por la macroalga *Gracilaria vermiculophylla*, en cultivo con camarón *Litopenaeus vannamei*, sin recambio de agua. Se evaluaron cuatro fotoperiodos: 12:12, 14:10, 16:08 y 24:00 h de luz:oscuridad y dos relaciones de biomasa camarón:macroalga, 1:4 y 1:8. El diseño experimental fue factorial de 4x2 con cuatro réplicas por tratamiento. Las menores concentraciones de NAT ($0,55 \pm 0,17 \text{ mg L}^{-1}$), N-NO_2 ($0,145 \pm 0,29 \text{ mg L}^{-1}$) y N-NO_3 ($3,13 \pm 0,73 \text{ mg L}^{-1}$) se registraron en la relación 1:8. Las mayores tasas de crecimiento de la macroalga ($3,07 \pm 1,44\% \text{ día}^{-1}$) se obtuvieron con fotoperiodo de 24:00 h y relación de biomasa 1:8. La mayor tasa de incorporación de N en la macroalga ($0,31 \pm 0,12 \text{ mg N L}^{-1} \text{ día}^{-1}$) ocurrió en las mismas condiciones. El crecimiento del camarón fue similar al reportado en sistemas tradicionales de recirculación. La integración de *G. vermiculophylla* en el sistema sin recambio, fue capaz de mantener los niveles de compuestos nitrogenados tóxicos en niveles favorables para el crecimiento de *L. vannamei*.

Palabras clave: biorremediación, cultivo de macroalgas, cultivos multitróficos, fotoperiodo, remoción de nitrógeno.

Effect of the photoperiod and the shrimp-macroalgae rate on removal of total ammonia nitrogen by *Gracilaria vermiculophylla*, cultivated with *Litopenaeus vannamei*, without water exchange

ABSTRACT. A study was conducted to evaluate the effect of the photoperiod and biomass rate of shrimp:macroalgae over the total ammonia nitrogen (TAN) removal by the macroalgae *Gracilaria vermiculophylla*, in an integrated culture with shrimp *Litopenaeus vannamei*, with zero water exchange. Four photoperiods were evaluated: 12:12, 14:10, 16:08 and 24:00 h of light:darkness and two biomass ratios 1:4 and 1:8. The experimental design was a factorial of 4x2, with four replicates by treatment. The lowest concentrations TAN ($0.55 \pm 0.17 \text{ mg L}^{-1}$), N-NO_2 ($0.145 \pm 0.29 \text{ mg L}^{-1}$) y N-NO_3 ($3.13 \pm 0.73 \text{ mg L}^{-1}$) were registered in the biomass rate of 1:8. The highest growth rates of the macroalgae ($3.07 \pm 1.44\% \text{ day}^{-1}$) were recorded with 24:00 h photoperiod and biomass ratio 1:8. The highest rate of N incorporation ($0.31 \pm 0.12 \text{ mg N L}^{-1}$) of the macroalgae occurred under the same conditions. Shrimp growth was similar to data reported in traditional recirculation systems. The integration of *G. vermiculophylla* without water exchange system was able to maintain the TAN and N-NO_2 under levels conditions for the growth of *L. vannamei*.

Keywords: bioremediation, macroalgae culture, multitrophic cultures, nitrogen removal, photoperiod, nitrogen removal.

INTRODUCCIÓN

En el cultivo de animales acuáticos el nitrógeno (N) es un elemento importante, con una característica dual, ya que forma parte de las proteínas contenidas en el alimento y a la vez es tóxico en las formas de nitrito y amoníaco (N-NH₃). Este último es excretado por los camarones como un subproducto del catabolismo de las proteínas. En el agua el N-NH₃ puede ionizarse a NH₄⁺ dependiendo principalmente del pH y de la temperatura, por lo que es preferible considerar la suma de ambos como nitrógeno amoniacal total (NAT: NH₃ + NH₄⁺) (Timmons *et al.*, 2002).

El principal ingreso de nitrógeno a los cultivos proviene del alimento peletizado. Los balances de masa de nitrógeno en la acuicultura tradicional de camarón, muestran que el nitrógeno es subutilizado y que la magnitud descargada es elevada (Miranda-Baeza & Ramos-Brito, 2009). La asimilación del nitrógeno proporcionado por el alimento rara vez alcanza el 50%, el porcentaje restante es descargado de los sistemas de cultivo en forma disuelta (Hargreaves, 1998; Rodríguez-Valencia *et al.*, 2010). En los estanques de cultivo tradicional, las principales vías para eliminar amonio son a través de la asimilación por el fitoplancton y la nitrificación (Burford & Lorenzen, 2004).

Además de las grandes descargas de N al medio ambiente, otro problema que enfrenta la acuicultura mundial es la presencia de enfermedades virales, por lo que es urgente desarrollar sistemas de cultivo bioseguros y sustentables (Miranda-Baeza & Ramos-Brito, 2009). Entre ellos se encuentran los sistemas de recirculación y los sin recambio de agua, ambos pueden desarrollarse tierra adentro en sistemas de invernadero.

Una de las estrategias propuestas, para lograr la sostenibilidad en el cultivo de camarón, es su integración al cultivo con especies de otro nivel trófico, como macroalgas y moluscos (Martínez-Cordova *et al.*, 2009; Martínez-Porchas *et al.*, 2010). Los cultivos integrados que incluyen camarón y macroalga son escasos, algunos se encuentran en etapa experimental (Marinho-Soriano *et al.*, 2009; Mai *et al.*, 2010; Tsutsui *et al.*, 2010; Khoi & Fotedar, 2011) y otros a escala piloto (Paredes-Escalona, 1999; Xu *et al.*, 2008; Cruz-Suárez *et al.*, 2010).

Las macroalgas poseen características deseables para su integración a los cultivos multitrofos. Diversos estudios han demostrado que las macroalgas son eficientes para remover los compuestos nitrogenados disueltos (Hernández *et al.*, 2002; Buschmann *et al.*, 2007; Rodríguez & Montaña, 2007; Wang *et al.*, 2009; Mata *et al.*, 2010). En

especies del género *Gracilaria*, se han documentado niveles de remoción de amonio entre 0,34 y 3,60 mg g_{ps}⁻¹ h⁻¹ (Jones *et al.*, 2001; Hernández *et al.*, 2002; Mao *et al.*, 2009; Skriptsova & Miroshnikova, 2011; Sánchez-Romero *et al.*, 2012). Estudios en laboratorio han determinado que la eficiencia de remoción del nitrógeno amoniacal total (NAT) disuelto oscila entre 35 y 100% de la entrada de nutrientes (Troell *et al.*, 2003; Ramos *et al.*, 2010; Sánchez-Romero *et al.*, 2012).

En condiciones de laboratorio con irradiación constante, se determinó que la remoción de NAT por *G. vermiculophylla* es dependiente del fotoperiodo (Sánchez-Romero *et al.*, 2012). La luz es el factor abiótico más importante y es uno de los más complejos que afecta el crecimiento y los diversos procesos fisiológicos y metabólicos de las algas. La importancia del fotoperiodo quedó de manifiesto cuando se descubrió que controla el florecimiento estacional de varias especies de plantas superiores (Björn, 2008). El fotoperiodo en las macroalgas marinas está relacionado con relojes moleculares, que controlan los ritmos diarios, y se manifiesta en la inducción de los órganos reproductores en algas rojas, cafés y verdes (Lüning, 2005). Broch & Slagstad (2012) reportaron que el fotoperiodo tiene un mayor efecto en el crecimiento de *Saccharina latissima* que la concentración de los nutrientes.

Los estudios reportados han usado a las macroalgas como biofiltro en sistemas de flujo continuo. En otros casos, se ha trabajado en sistemas estáticos en condiciones controladas de iluminación y de temperatura. En experimentos estáticos de corta duración (6 h), se ha determinado que las macroalgas son capaces de remover compuestos nitrogenados provenientes de efluentes de camarón con una eficiencia del 49 a 70% (Ramos *et al.*, 2010). Sin embargo, se carece de estudios que evalúen el desempeño de *G. vermiculophylla* en sistemas de recirculación integrados al cultivo de camarón, considerando el efecto del fotoperiodo y la relación de biomasa camarón:macroalga. El objetivo del presente estudio es evaluar el efecto del fotoperiodo y la relación en peso de biomasa camarón:macroalga en la remoción de N-amoniacal, tasa de crecimiento y tasa de incorporación de N por la macroalga, en un cultivo integrado con camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las postlarvas de camarón blanco *L. vannamei* (PL₂₉) fueron donadas por el laboratorio comercial Acualarvas S.A. de C.V., localizado en Huatabampito, Sonora,

México. Los organismos fueron trasladados al laboratorio de acuicultura de la Universidad Estatal de Sonora (UES), unidad Navjoa, donde fueron aclimatados. A su llegada al laboratorio se mantuvieron en cuarentena, con agua de mar filtrada a 5 μm , pasada a través de una lámpara de luz ultravioleta de 60 W.

Las postlarvas, de 7 mg ind⁻¹ de peso promedio, fueron cultivadas en un sistema de recirculación de agua y alimentadas a saciedad (formulación comercial con 40% de proteína cruda), durante de 60 días hasta obtener un peso promedio individual de 4,5 \pm 0,4 g. Para verificar el estado de salud antes del experimento, se colectaron 30 individuos al azar a los cuales se realizó un análisis en fresco (Ibarra-Gómez *et al.*, 2006). Adicionalmente, se tomó una muestra de hepatopáncreas para determinar la presencia de bacterias tipo *Vibrio* mediante la siembra en placas (Gómez-Gil *et al.*, 1998).

La macroalga *G. vermiculophylla* fue colectada en la costa oriente del Golfo de California, México (26°29'22"N, 109°15'55"W) y posteriormente trasladada al laboratorio. A su llegada, las macroalgas fueron lavadas varias veces con agua de mar filtrada y pasada por luz ultravioleta para eliminar epibiontes y ramificaciones dañadas. Posteriormente, los brotes fueron colocados en un tanque con agua de mar filtrada, a la que se agregó 0,5 mL L⁻¹ de medio f/2 de Guillard & Ryther (1962). Las macroalgas se mantuvieron a temperatura ambiente y fotoperiodo natural, por un periodo de 10 días para su aclimatación. Se seleccionó esta especie de macroalga porque en experimentos previos demostró resistencia al manejo, facilidad de cultivo, tolerancia a elevadas temperaturas y amplio espectro de intensidad luminosa (Lizárraga-Armenta, 2012).

Diseño experimental

En este experimento se evaluaron cuatro fotoperiodos: 12:12, 14:10, 16:08 y 24:00 h de luz:oscuridad y dos relaciones de biomasa camarón:macroalga, 1:4 y 1:8. El diseño experimental fue factorial de 4x2 con cuatro réplicas por tratamiento.

En los tratamientos con relación de biomasa 1:4 (camarón:macroalga) se sembraron 75 g de *L. vannamei* en tanques con 200 L de agua de mar (375 g m⁻³) y 300 g de *G. vermiculophylla* colocados en 120 L de agua de mar (2.500 g m⁻³), que recibía los efluentes provenientes de los tanques de camarón. En los tratamientos con relación 1:8 se colocaron 37,5 g de *L. vannamei* (188 g m⁻³) y 300 g de *G. vermiculophylla* (2.500 g m⁻³) en los mismos volúmenes de agua para mantener la relación deseada.

Cada tratamiento consistió en un tanque de camarón integrado a uno de macroalgas. Los efluentes de cada tanque de camarón pasaron por un sedimentador (10 L de capacidad), para retener las partículas mayores a 100 μm . Para remover los sólidos suspendidos se usó, posteriormente, un filtro mecánico de algodón de 10 μm . Los sólidos acumulados en los sedimentadores fueron retirados diariamente y los filtros fueron lavados en el mismo periodo con agua dulce. Para mantener la recirculación del agua se utilizaron bombas sumergibles Resun, modelo SP-1100 (potencia de 8 W y flujo de 3 L min⁻¹), el agua del sistema fluyó de manera continua entre los tanques con camarón y macroalgas.

Se utilizó agua de mar con una salinidad de 35 ups, filtrada a 10 μm , sin tratamiento químico. La salinidad se mantuvo por reposición del agua evaporada. El experimento se realizó al exterior, sin control de temperatura. En los tanques con camarón se suministró aireación a saturación mediante un soplador eléctrico de 1/3 HP. Para proporcionar los fotoperiodos (12:12, 14:10, 16:08 y 24:00 h; luz:oscuridad), se colocó, en el primer caso (12:12), un plástico negro sobre los tanques de macroalgas para proporcionar 12 h de luz. En el resto de los tratamientos se instalaron dos reflectores con luz fluorescente (85 W cada uno) conectados a relojes automáticos (temporizador) programados a los periodos correspondientes de iluminación. Cada dos días el 100% del agua del sistema pasó a través de un filtro ultravioleta Vecton UV25 (25 W) para controlar el florecimiento de microalgas.

El peso promedio inicial de los camarones fue de 4,5 g ind⁻¹ y las ramificaciones de las algas tuvieron una longitud promedio de 5 cm. El experimento tuvo una duración de 15 días, con una fase previa de maduración y estabilización de los sistemas de 15 días. Los camarones fueron alimentados tres veces al día a saciedad, la ración fue controlada mediante la instalación de comederos (Casillas-Hernández *et al.*, 2006).

Medición de variables del agua y crecimiento

Las mediciones de las variables básicas del agua se efectuaron diariamente a las 8:00 y 17:00 h. La temperatura y concentración de oxígeno disuelto se registraron con una multisonda YSI 550A, el pH con un potenciómetro digital Denver Instruments pH-10, la salinidad con un refractómetro convencional y la irradiación con un sensor cuántico esférico (Li-cor 193SA). Las condiciones del agua al inicio del experimento fueron: temperatura 30,2 \pm 1,3°C, salinidad 35 ups, oxígeno disuelto 5,75 \pm 0,30 mg L⁻¹ y pH de 7,92 \pm 0,1.

Los compuestos nitrogenados se registraron durante los días 1, 5, 10 y 15 del experimento. Se tomaron muestras de agua a la entrada y salida de cada uno de los tanques de las macroalgas. El nitrógeno amoniacal total (NAT) fue determinado con el método del salicilato de sodio (método 8155; HACH, 2008), el N-NO₂ se midió con el método de diazotización (método 8507; HACH, 2008) y el N-NO₃ con el método de reducción de cadmio (método 8039; HACH, 2008), las lecturas de absorbancia fueron efectuadas con un espectrofotómetro HACH DR/2800.

Para determinar la tasa de crecimiento se registró el peso vivo de los camarones y de las macroalgas durante los días 1, 5, 10 y 15 del experimento. Las mediciones se realizaron en una balanza Acculab V-1200. La tasa de crecimiento específica del camarón fue calculada con la expresión $TCE (\% \text{ día}^{-1}) = \ln (W_t/W_o) \cdot 100/t$, donde, W_o y W_t son el peso (g) vivo inicial y final, respectivamente, y t es el tiempo (días). La tasa de crecimiento de la macroalga fue calculada con la expresión $TCE (\% \text{ día}^{-1}) = \ln (W_t/W_o) \cdot 100/t$ (Mao *et al.*, 2009). Donde, W_o y W_t son el peso (g) vivo inicial y final, respectivamente y t es el tiempo (días).

La tasa de incorporación de nitrógeno al tejido de la macroalga, (TIN), fue calculada con la ecuación reportada por Mata *et al.* (2010): $(g \text{ N L}^{-1} \text{ día}^{-1}) = [0.13 \cdot (W_t - W_o) \cdot N] / (t \cdot V)$ (Mata *et al.*, 2010), donde, 0,13 es la relación de peso seco a peso en vivo de la macroalga (promedio $n = 10$), W_o y W_t son el peso (g) en vivo de la macroalga inicial y final, respectivamente, N es el contenido de nitrógeno en el tejido del alga en peso seco, t es el tiempo (días) y V es el volumen (litros) del estanque donde se cultivo la macroalga.

Análisis estadístico

Se hicieron pruebas de normalidad y de homocedasticidad a los datos. Posteriormente, para determinar diferencias debidas al fotoperiodo y la relación de biomasa camarón:macroalga sobre las concentraciones NAT, de N-NO₂ y N-NO₃ y para comparar la tasa de crecimiento del alga y la tasa de incorporación de nitrógeno en los diferentes tratamientos se realizaron análisis de varianza de dos vías, con un nivel de confianza del 95%. En los casos en que se determinó significancia, se realizó la respectiva prueba *a posteriori* de Tukey (Zar, 1999). Los análisis se realizaron con el programa computacional Statistica 5.1 para Windows (Statsoft, Inc. ®).

RESULTADOS

Los promedios de temperatura del agua, oxígeno disuelto, salinidad y pH, registrados durante todo el experimento fueron de $30,59 \pm 2,30^\circ\text{C}$, $5,56 \pm 0,40 \text{ mg L}^{-1}$, $34,63 \pm 2,88 \text{ ups}$ y $8,06 \pm 0,14$ respectivamente. La irradiación en la superficie de los tanques de la macroalga fue de $136,14 \pm 229,77 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Tabla 1).

En la relación de biomasa 1:4, el NAT presentó un incremento durante los primeros días de cultivo. Sin embargo, a partir del día 10 se observó una disminución consistente, para finalizar en concentraciones entre $0,70$ y $1,33 \text{ mg L}^{-1}$. Mientras que en la relación 1:8 las concentraciones de NAT no mostraron incrementos significativos y se mantuvieron muy similares a los niveles iniciales. Al final del experimento los niveles de NAT estuvieron entre $0,68$ y $1,06 \text{ mg L}^{-1}$. Los niveles de NAT presentaron diferencias significativas debidas a la interacción del fotoperiodo y la relación de biomasa de camarón:macroalga. Las menores concentraciones de NAT se registraron en la relación 1:8, con un intervalo de $0,55 \pm 0,17$ a $0,80 \pm 0,33 \text{ mg L}^{-1}$; mientras que en la relación 1:4 las concentraciones fueron significativamente más elevadas con un intervalo de $1,87 \pm 0,70$ a $3,13 \pm 1,34 \text{ mg L}^{-1}$ (Tabla 2).

La Tabla 3 muestra las concentraciones de N-NO₂ para las relaciones camarón:macroalga y fotoperiodos. El intervalo presentó valores de $2,04 \pm 0,19$ a $3,26 \pm 1,16 \text{ mg L}^{-1}$, para la relación de biomasa 1:4, mientras que en la relación 1:8 el mínimo fue de $0,14 \pm 0,29 \text{ mg L}^{-1}$ y el máximo de $0,53 \pm 0,05 \text{ mg L}^{-1}$. Al igual que con el NAT, las interacciones de la relación de biomasa y el fotoperiodo tuvieron un efecto significativo sobre la concentración de N-NO₂.

En la Tabla 4 se presentan las concentraciones de N-NO₃, con un valor mínimo de $10,76 \pm 0,54 \text{ mg L}^{-1}$ y un máximo de $13,96 \pm 3,91 \text{ mg L}^{-1}$, en la relación de biomasa 1:4; mientras que en la relación 1:8 el mínimo fue de $3,13 \pm 0,73 \text{ mg L}^{-1}$ y el máximo de $4,28 \pm 0,53 \text{ mg L}^{-1}$.

El fotoperiodo tuvo un efecto significativo sobre la tasa de crecimiento específico (TCE) de *G. vermiculophylla*. La TCE incrementó conforme aumentó el tiempo de exposición a la luz. En la relación 1:4, la TCE mínima ($1,49 \pm 0,42\% \text{ día}^{-1}$) se registró en el fotoperiodo 14:10 h y la máxima ($2,37 \pm 0,45\% \text{ día}^{-1}$) en el fotoperiodo 24:00 h. En la relación 1:8 la mínima TCE ($0,87 \pm 0,54\% \text{ día}^{-1}$) se obtuvo en el fotoperiodo 12:12 h y la máxima ($3,07 \pm 1,44\% \text{ día}^{-1}$) con 24:00 h (Fig. 1). Por otro lado, la tasa de crecimiento promedio para *L. vannamei* fue de $3,79 \pm$

Tabla 1. Temperatura, oxígeno disuelto, salinidad, pH e irradiación, en el agua del cultivo integrado de camarón y macroalga. DE: desviación estándar.

Estadístico	Temperatura (°C)	O ₂ (mg L ⁻¹)	S (ups)	pH	Irradiación μmol fotón m ⁻² s ⁻¹
Media ± DE	30,59 ± 2,30	5,56 ± 0,40	34,63 ± 2,88	8,06 ± 0,14	136,14 ± 229,77
Min-Max	26,4 - 35,4	4,39 - 6,34	15,00 - 37,00	7,65 - 8,36	2,04 - 1109,30
n	240	240	240	240	240

Tabla 2. Concentración de nitrógeno amoniacal total (NAT) (mg L⁻¹) en el agua, para las relaciones de camarón y macroalga 1:4 y 1:8 y fotoperiodos 12:12, 14:10, 16:08 y 24:00 h.

Relación biomasa camarón:macroalga	Fotoperiodo			
	12:12	14:10	16:08	24:00
1:4	3,13 ± 1,34 ^c	1,87 ± 0,70 ^b	2,02 ± 0,99 ^b	2,68 ± 1,33 ^{bc}
1:8	0,75 ± 0,20 ^a	0,58 ± 0,16 ^a	0,55 ± 0,17 ^a	0,80 ± 0,33 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas; ANOVA de 2 vías ($P < 0,05$).

Tabla 3. Concentración de N-NO₂ (mg L⁻¹), en el agua, para las relaciones de camarón:macroalga 1:4 y 1:8 y fotoperiodos 12:12, 14:10, 16:08 y 24:00 h.

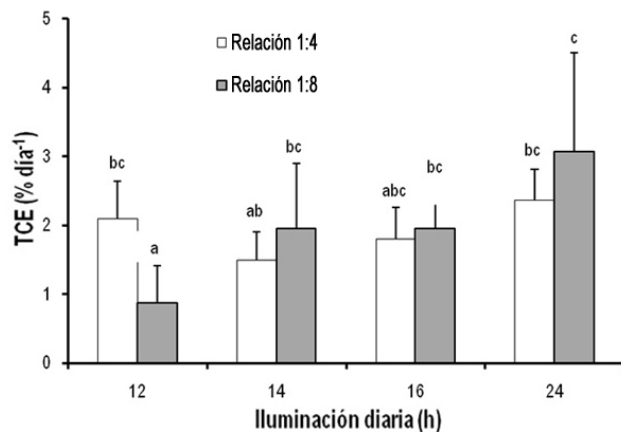
Relación biomasa camarón:macroalga	Fotoperiodo			
	12:12	14:10	16:08	24:00
1:4	3,09 ± 0,03 ^c	2,04 ± 0,19 ^{bc}	2,34 ± 1,54 ^c	3,26 ± 1,16 ^c
1:8	0,26 ± 0,26 ^a	0,14 ± 0,29 ^a	0,34 ± 0,07 ^a	0,53 ± 0,05 ^{ab}

Letras diferentes indican diferencias significativas; ANOVA de 2 vías ($P < 0,05$).

Tabla 4. Concentración de NO₃ (mg L⁻¹), en el agua, para las relaciones camarón:macroalga 1:4 y 1:8 y fotoperiodos 12:12, 14:10, 16:08 y 24:00 h.

Relación biomasa camarón: macroalga	Fotoperiodo			
	12:12	14:10	16:08	24:00
1:4	11,79 ± 0,69 ^b	10,76 ± 0,54 ^b	11,59 ± 1,75 ^b	13,96 ± 3,91 ^b
1:8	4,00 ± 0,96 ^a	3,13 ± 0,73 ^a	4,14 ± 0,61 ^a	4,28 ± 0,53 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas; ANOVA de 2 vías ($P < 0,05$).

**Figura 1.** Tasa de crecimiento específico de *Gracilaria vermiculophylla* (% día⁻¹), obtenida en los fotoperiodos de 12, 14, 16 y 24 h y las relaciones camarón:macroalga 1:4 y 1:8 (letras diferentes indican diferencias significativas; ANOVA de 2 vías; $P < 0,05$).

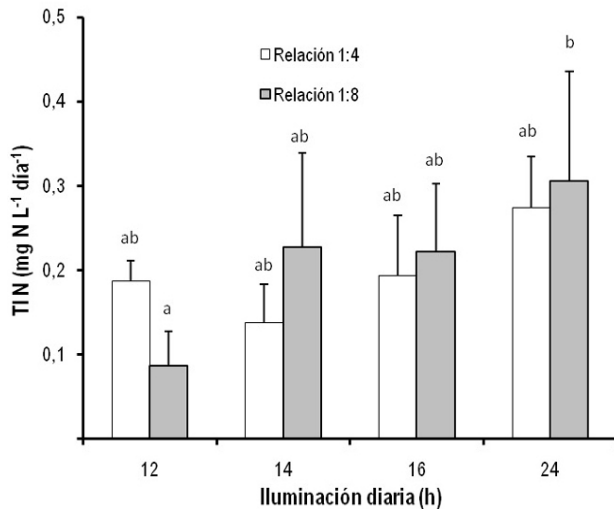


Figura 2. Tasa de incorporación de nitrógeno por *Gracilaria vermiculophylla*, en los fotoperiodos 12:12, 14:10, 16:08 y 24:00 h y las relaciones camarón:macroalga 1:4 y 1:8 (Letras diferentes indican diferencias significativas; ANOVA de 2 vías; $P < 0,05$).

1,30% día⁻¹ sin diferencias significativas debidas a la relación de biomasa camarón:macroalga y fotoperiodo.

El fotoperiodo tuvo un efecto significativo sobre la TIN (Fig. 2). La variable incrementó con el tiempo de exposición a la luz, el valor mínimo (0,09 mg N L⁻¹ día⁻¹) se presentó en el tratamiento 12:00 h y relación 1:8, mientras que el máximo (0,31 mg N L⁻¹ día⁻¹) en el tratamiento 24:00 y relación 1:8.

DISCUSIÓN

En los camarones peneidos la excreción de nitrógeno amoniacal representa más del 85% de la excreción nitrogenada (Re *et al.*, 2004) y consecuentemente, el principal aporte de NAT al sistema de cultivo proviene de su metabolismo. En este estudio, los niveles altos se registraron en la relación de biomasa 1:4. Este fenómeno aparentemente indica que la biomasa de macroalgas no fue capaz de compensar la excreción de los compuestos nitrogenados producidos por los camarones (Burford & Lorenzen, 2004).

En la relación de biomasa 1:4 el incremento de NAT durante los primeros días del experimento, indica que la capacidad de remoción de la macroalga fue rebasada. La disminución observada al final del cultivo sugiere que hubo otro consumidor de NAT, atribuido en mayor medida a las bacterias nitrificantes. Esto se demuestra por el incremento registrado en las concentraciones de N-NO₂ y N-NO₃ productos intermedio y final de la nitrificación (Timmons *et al.*,

2002). Este proceso fue reportado por Shpigel & Neori *et al.* (1996) y ha sido identificado como el segundo consumidor más grande de N-NH₄⁺ en sistemas de cultivos multitróficos integrados (Krom *et al.*, 1995). Se podría suponer que el incremento transitorio de la concentración de NAT, fue un evento normal causado por el tiempo de maduración requerido por las bacterias nitrificantes en el sistema de cultivo, de acuerdo a lo reportado por Timmons *et al.* (2002).

En la razón de biomasa 1:8, la remoción de NAT de la columna de agua fue efectuada de manera eficiente por *G. vermiculophylla* y en menor medida participaron las bacterias nitrificantes, lo que se explica por los bajos niveles de N-NO₂ y N-NO₃ registrados en estos tratamientos. Estudios previos indican que en esta especie de macroalga, la fuente preferida de nitrógeno es el amonio (Abreu *et al.*, 2011; Skriptsova & Miroshnikova, 2011; Sánchez Romero *et al.*, 2012).

El nitrógeno amoniacal y nitrito son tóxicos para las diferentes etapas del desarrollo de los camarones peneidos (Frías-Espéricueta & Páez-Osuna, 2001). La concentración media de NAT, en la relación de biomasa 1:8, se mantuvo por debajo de los niveles tóxicos (<2,4 mg L⁻¹) sugeridos para juveniles de *L. vannamei* (Frías-Espéricueta & Páez-Osuna, 2001; Yong-Chin & Jian-Chu, 2001). Este resultado es similar al reportado por Neori *et al.* (1996), para un cultivo integrado de peces (*Sparus aurata*) y macroalgas (*Ulva lactuca*). En los tratamientos con la relación de biomasa 1:4, las concentraciones de NAT fueron significativamente mayores para los fotoperiodos de 12:12 y 24:00 h, las cuales superaron ligeramente el límite recomendado para el camarón blanco (*L. vannamei*), aunque no se registraron mortalidades, debido probablemente al corto periodo de exposición y a los niveles de pH mantenidos en el sistema de cultivo.

En este estudio, el sistema sin recambio de agua proporcionó una calidad del agua favorable para el crecimiento de *L. vannamei*, a pesar que en la relación de biomasa 1:4 la concentración de N-NO₂ superó el límite recomendado (<1 mg L⁻¹) por Clifford (1994).

La tasa de crecimiento del camarón obtenida en este trabajo fue del 3,8% día⁻¹, similar a la obtenida por Anaya-Rosas & Bückle-Ramírez (2012) de 3,7% día⁻¹, en un cultivo intensivo en sistema de recirculación de agua y fue mayor a la reportada por Martínez-Córdova *et al.* (2010) para un cultivo multitrófico experimental con camarón *L. vannamei*, almeja *Chione fluctifraga* y la microalga *Navicula* sp. Lezama-Cervantes *et al.* (2010) evaluaron el uso de tapetes microbianos como biofiltro en un cultivo de camarón con recirculación de agua y concluyeron que

el uso de agua biorremediada tuvo un efecto positivo en el crecimiento y en la sobrevivencia de *L. vannamei*.

La temperatura del cultivo en esta investigación, $30,59 \pm 2,30^\circ\text{C}$, no afectó el crecimiento del camarón *L. vannamei* y se encontró en el límite superior óptimo recomendado para esta especie (Clifford, 1997; Martínez-Córdova, 1999; Whetstone *et al.*, 2002). Del mismo modo la concentración de oxígeno disuelto, la salinidad y el pH, se mantuvieron dentro de los intervalos recomendados para el cultivo de *L. vannamei*. Experimentos previos han demostrado que *G. vermiculophylla* puede cultivarse en sistemas tierra adentro, a las mismas condiciones que las registradas en este estudio (Lizarraga-Armenta, 2012; Sánchez, Romero *et al.*, 2012).

La máxima tasa de crecimiento de *G. vermiculophylla* obtenida en este estudio ($3,07 \pm 1,44\%$ día⁻¹) fue menor que la máxima obtenida por Abreu *et al.* (2011) ($6,23 \pm 0,25\%$ día⁻¹). Se considera que la intensidad de la luz fue un factor limitante para el crecimiento de la macroalga. La irradiación de saturación para esta especie es de valores cercanos a $500 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Phooprong *et al.*, 2008), mientras que en este trabajo la irradiación media fue el 27% de ese valor, lo que pudo causar una disminución de la tasa fotosintética (Lobban & Harrison, 1997).

La temperatura es otro factor importante que afecta a las macroalgas. Sin embargo, Phooprong *et al.* (2008) determinaron que la máxima tasa fotosintética de *G. vermiculophylla* procedente de una población del sur de Japón, se presentó a 30°C y disminuyó a temperatura de 35°C . Niño-Ortiz (2011) señaló que esta especie creció satisfactoriamente en estanques en tierra a 33°C .

La macroalga tuvo el crecimiento máximo con luz continua, siendo de $2,37 \pm 0,45\%$ día⁻¹ en la relación 1:4 y de $3,07 \pm 1,44\%$ día⁻¹ en la relación 1:8, resultado que contrasta con la TCE obtenida en condiciones de laboratorio, donde el crecimiento máximo se obtuvo con el fotoperiodo de 16:00 h (Sánchez-Romero *et al.*, 2012). Lo anterior se explicaría por las diferentes condiciones experimentales. El experimento de laboratorio se realizó con temperatura controlada de $25\text{-}26^\circ\text{C}$ y agua esterilizada, mientras que en el presente experimento, el cultivo se realizó a temperatura ambiental ($26,4\text{-}35,4^\circ\text{C}$) con agua sin esterilizar. Lobban & Harrison (1997) indican que hay un óptimo fisiológico para el monocultivo de las macroalgas y un óptimo ecológico en condiciones naturales, debido a variaciones constantes de luz y temperatura, y a la interacción de la macroalga con microorganismos como bacterias y hongos.

La relación de la biomasa de camarón:macroalga no tuvo un efecto significativo sobre la tasa de crecimiento del camarón y la macroalga. En el caso de la macroalga, esto indica que la cinética de crecimiento de *G. vermiculophylla* depende de factores múltiples, por lo que el aumento de la concentración de amonio no produce un mayor crecimiento (De Boer, 1981).

La TIN fue afectada por el fotoperiodo, posiblemente, por la actividad de algunas enzimas involucradas en el metabolismo del nitrógeno, como es el caso de la enzima nitrato reductasa que responde a los ciclos circadianos de luz y oscuridad (Lobban & Harrison, 1997). La incorporación de N también está relacionada con el crecimiento (generación de nuevo tejido) de la macroalga, lo que explicaría el valor máximo de la TIN con luz continua.

Se concluye que el cultivo integrado de *G. vermiculophylla* con camarón blanco *L. vannamei* en un sistema sin recambio, mantiene la calidad del agua en condiciones favorables para el crecimiento del camarón, con tasas similares a las obtenidas en los sistemas tradicionales de recirculación. La relación de biomasa camarón:macroalga que proporcionó la menor concentración de NAT y N-NO₂ y NO₃ fue de 1:8 y las mayores tasas de crecimiento y de incorporación de nitrógeno se registraron en el fotoperiodo de 24:00 h y relación de biomasa 1:8. Los resultados pueden ser prometedores para la implementación a nivel piloto de cultivos multitrofos sin recambio de agua.

AGRADECIMIENTOS

El primer autor agradece la beca otorgada por el Programa de Mejoramiento de Profesorado (PROMEP). Este estudio fue financiado por SEP-PROMEP como parte del proyecto: Biorremediación de efluentes acuícolas mediante el uso de especies endémicas de moluscos filtradores, tapetes de diatomeas bentónicas y vegetales (CESUES-EXB-001). Además del proyecto CONACyT: Proyecto multiinstitucional e interdisciplinario para el estudio de biomateriales innovadores formados con polisacáridos de alto valor agregado (Clave 00000000193949).

REFERENCIAS

Abreu, M.H., R. Pereira, C. Yarish, A.H. Buschmann & I. Sousa-Pinto. 2011. IMTA with *Gracilaria vermiculophylla*: productivity and nutrient removal performance of the seaweed in a land-based pilot scale system. *Aquaculture*, 312: 77-87.

- Anaya-Rosas, R. & L.F. Bückle-Ramírez. 2012. Cultivo de *Litopenaeus vannamei*, Boone (1931), en un sistema con agua de mar recirculada, como alternativa a los cultivos semi-intensivos tradicionales. *Biocencia*, 14:16-24.
- Björn, L.O. 2008. *Photobiology*. Springer, Sweden, 552 pp.
- Broch, O.J. & D. Slagstad. 2012. Modelling seasonal growth and composition of the kelp *Saccharina latissima*. *J. Appl. Phycol.*, 24: 759-776.
- Burford, M.A. & K. Lorenzen. 2004. Modeling nitrogen dynamics in intensive shrimp ponds: the role of sediment remineralization. *Aquaculture*, 229: 129-145.
- Buschmann, A.H., D.A. Varela, M.C. Hernández-González & P. Huovinen. 2007. Opportunities and challenges for the development of an integrated seaweed-based aquaculture activity in Chile: determining the physiological capabilities of *Macrocystis* and *Gracilaria* as biofilters. *J. Appl. Phycol.*, 20: 121-127.
- Casillas-Hernández, R., F. Magallón-Barajas, C.G. Portillo & F. Páez-Osuna. 2006. Nutrient mass balance in semi-intensive shrimp ponds from Sonora, México using two feeding strategies: trays and mechanical dispersal. *Aquaculture*, 258: 289-298.
- Clifford, H.C. 1994. Semi-intensive sensation. A case study in marine shrimp pond management. *World Aquacult. Magazine*, 25(3): 6-12.
- Clifford, H.C. 1997. Manual de operación para el manejo de super shrimp en estanques. Super Shrimp SA de CV. División de Servicios Técnicos, 105 pp.
- Cruz-Suárez, L.E., A. León, A. Peña-Rodríguez, G. Rodríguez-Peña, B. Moll & D. Ricque-Marie. 2010. Shrimp/*Ulva* co-culture: a sustainable alternative to diminish the need of artificial feed and improve shrimp quality. *Aquaculture*, 301: 64-68.
- De Boer, J.A. 1981. Nutrientes. In: C.S. Lobban & M.J. Wynne (eds.). *The biology of seaweeds*. University of California, Los Angeles, pp. 356-392.
- Frías-Espicueta, M.G. & F. Páez-Osuna. 2001. Toxicidad de los compuestos de nitrógeno en camarones. In: F. Páez-Osuna (ed.). *Camaricultura y medio ambiente*. Universidad Nacional Autónoma de México, México DF, pp. 224-242.
- Guillard, R.R. & J.H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.*, 8: 229-239.
- Gómez-Gil, B.L., J.F. Tron-Mayen, V. Turnbull, A. Inglis & L. Guerra-Flores. 1998. Species of *Vibrio* spp. isolated from hepatopancreas, hemolymph and digestive tract of a population of healthy juvenile *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 163: 1-9.
- Hach. 2008. *Procedures manual*, DR2800. Hach Co., Germany, 814 pp.
- Hargreaves, J.A. 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture*, 166: 181-212.
- Hernández, I., J.F. Martínez-Aragón, A. Tovar, J.L. Pérez-Lloréns & J.J. Vergara. 2002. Biofiltering efficiency in removal of dissolved nutrients by three species of estuarine macroalgae cultivated with sea bass (*Dicentrarchus labrax*) waste waters 2. Ammonium. *J. Appl. Phycol.*, 14: 375-384.
- Ibarra-Gámez, J.C., L. Galavíz-Silva & Z.J. Molina-Garza. 2006. Distribution of necrotizing hepatopancreatitis bacterium (NHPB) in cultured white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, from Mexico. *Cienc. Mar.*, 33: 1-9.
- Jones, A.B., W.C. Dennison & N.P. Preston. 2001. Integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: a laboratory scale study. *Aquaculture*, 193: 155-178.
- Khoi, L.V. & R. Fotedar. 2011. Integration of western king prawn (*Penaeus latisulcatu* Kishinouye, 1896) and green seaweed *Ulva lactuca* (Linnaeus, 1753) in a closed recirculating aquaculture system. *Aquaculture*, 323: 201-209.
- Krom, M.D., S. Ellner, J. van Rijn & A. Neori. 1995. Nitrogen cycling in a "non polluting" integrated mariculture system. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 118: 25-36.
- Lezama-Cervantes, C., J. Paniagua-Michel & J. Zamora-Castro. 2010. Biorremediación de los efluentes de cultivo del camarón *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) utilizando tapetes microbianos en un sistema de recirculación. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 38:129-142.
- Lizárraga-Armenta, J.A. 2012. Transferencia de nitrógeno del alimento peletizado a los tejidos de camarón (*Litopenaeus vannamei*), mejillón (*Mytella guyanensis*) y macroalga (*Gracilaria vermiculophylla*) en un cultivo multitrófico con recirculación del agua. Tesis de MC en Ciencias Tecnológicas de Cultivos Acuícolas. Universidad del Estado de Sonora, Navojoa, 50 pp.
- Lobban, C.S. & P.J. Harrison. 1997. *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press, Cambridge, 366 pp.
- Lüning, K. 2005. Endogenous rhythms and day length effects in macroalgal development. In: R.A. Andersen (ed.). *Algal culturing techniques*. Elsevier Academic Press, San Diego, pp. 347-364.
- Mai, H., R. Fotedar & J. Fewtrell. 2010. Evaluation of *Sargassum* sp. as a nutrient-sink in an integrated

- seaweed-prawn (ISP) culture system. *Aquaculture*, 310: 91-98.
- Mao, Y., H. Yang, Y. Zhou, N. Ye & J. Fang. 2009. Potential of the seaweed *Gracilaria lemaneiformis* for integrated multi-trophic aquaculture with scallop *Clamys farreri* in North China. *J. Appl. Phycol.*, 20: 1021-1031.
- Marinho-Soriano, E., R.A. Panucci, M.A.A. Carneiro & D.C. Pereira. 2009. Evaluation of *Gracilaria caudate* J. Agardh for bioremediation of nutrients from shrimp farming wastewater. *Biores. Technol.*, 100: 6192-6198.
- Martínez-Córdova, L.R. 1999. Cultivo de camarones peneidos. AGT Editor, México DF, 283 pp.
- Martínez-Córdova, L.R., M. Martínez-Porchas & E. Cortés-Jacinto. 2009. Camaronicultura mexicana y mundial: ¿actividad sustentable o industria contaminante? *Rev. Int. Contam. Ambient.* 25: 181-196.
- Martínez-Córdova, L.R., J.A. López-Elías, G. Leyva-Miranda, L. Armenta-Ayón & M. Martínez-Porchas. 2010. Bioremediation and reuse of shrimp aquaculture effluents to farm whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*: a first approach. *Aquacult. Res.*, pp. 1-9.
- Martínez-Porchas, M., L.R. Martínez-Córdova, M.A. Porchas-Cornejo & J.A. López-Elías. 2010. Shrimp polyculture: a potentially profitable, sustainable, but uncommon aquacultural practice. *Rev. Aquacult.*, 2: 73-85.
- Mata, L., A. Schuenhoff & R. Santos. 2010. A direct comparison of the performance of seaweed biofilters, *Asparagopsis armata* and *Ulva rigida*. *J. Appl. Phycol.*, 22: 639-644.
- Miranda-Baeza A. & L.R. Ramos-Brito. 2009. Efluentes camaronícolas: impactos y remediación. In: L.R. Martínez-Córdova (ed.). *Camaronicultura sustentable. Manejo y evaluación*. Trillas. México DF, pp. 126-144.
- Neori, A., M.D. Krom, S.P. Ellner, C.E. Boyd, D. Popper, R. Rabinovitch, P.J. Davison, O. Dvir, D. Zuber, M. Ucko, D. Angel & H. Gordin. 1996. Seaweed biofilters regulators of eater quality in integrated fish-seaweed culture units. *Aquaculture*, 141:183-199.
- Niño-Ortíz, K.G. 2011. Crecimiento del mejillón (*Mytella guyanensis*) y la macroalga (*Gracilaria vermiculophylla*) en efluentes de un cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en sistema de recirculación del agua. Licenciado en Biología en Producción Acuícola, Universidad de la Sierra, Moctezuma, 31 pp.
- Paredes-Escalona, E. 1999. *Gracilaria pacifica* Abbot (Rodophyta) como biofiltro en un cultivo semi-intensivo con dos especies de camarón *Penaeus stylirostris* y *Penaeus vannamei*. Tesis de Licenciatura en Oceanología, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, 42 pp.
- Phooprong, S., H. Ogawa & K. Hayashizaki. 2008. Photosynthetic and respiratory responses of *Gracilaria vermiculophylla* (Ohmi) Papenfuss collected from Kumamoto, Shizuoka and Iwate, Tokio. *J. Appl. Phycol.*, 20: 743-750.
- Ramos, R., L. Vinatea, J. Santos & R. Da Costa. 2010. Tratamiento de efluentes del cultivo de *Litopenaeus vannamei* mediante procesos de sedimentación, filtración y absorción. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 38: 188-200.
- Re, A.D., F. Díaz, E. Sierra & S. Gómez-Jiménez. 2004. Consumo de oxígeno, excreción de amonio y capacidad osmorreguladora de *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) expuesto a diferentes combinaciones de temperatura y salinidad. *Cienc. Mar.*, 30(3): 443-453.
- Rodríguez-Valencia, J.A., D. Crespo & M. López-Camacho. 2010. La camaronicultura y la sustentabilidad del Golfo de California, 13 pp. <http://www.wwf.org.mx>. Reviewed: 15 March 2013.
- Rodrigueza, M.R.C. & M.N.E. Montaño. 2007. Bioremediation potential of three carrageenophytes cultivated in tanks with seawater from fish farms. *J. Appl. Phycol.*, 19: 755-762.
- Sánchez-Romero, A., A. Miranda-Baeza, J.A. López-Elías, L.R. Martínez-Córdova, A. Tejada-Mansir, E. Márquez-Ríos & M.E. Rivas-Vega. 2012. Effect of light regime on the N-ammonium removal by the red algae *Gracilaria vermiculophylla*. *Curr. Res. J. Biol. Sci.*, 4: 613-618.
- Shpigel, M. & A. Neori. 1996. The integrated culture of seaweed, abalone, and clams in modular intensive land-based systems: I. Proportions of size and projected revenues. *Aquacult. Eng.*, 15: 313-326.
- Skriptsova, A.V. & N.V. Miroshnikova. 2011. Laboratory experiment to determine the potential of two macro algae from the Russian Far-East as biofilters for integrated multi-trophic aquaculture (IMTA). *Biores. Technol.*, 102: 3149-3154.
- Timmons, M.B., J.M. Ebeling, F.W. Wheaton, S.T. Summerfelt & B.J. Vinci. 2002. Recirculating aquaculture systems. Cayuga Aqua Ventures, Ithaca, 769 pp.
- Troell, M., C. Halling, A. Neori, T. Chopin, A.H. Buschmann, N. Kautsky & C. Yarish. 2003. Integrated mariculture: asking the right questions. *Aquaculture*, 226: 69-90.
- Tsutsui, I., P. Kanjanaworakul, P. Srisapoome, D. Aue-umneoy & K. Amano. 2010. Growth of giant tiger prawn, *Penaeus monodon* Fabricius, under co-culture with discarded filamentous seaweed, *Chaetomorpha*

- ligustica* (Kützing), at an aquarium-scale. *Aquacult. Int.*, 18: 545-553.
- Wang, Y., B. Zhou & X. Tang. 2009. Effects of two species of macroalgae -*Ulva pertusa* and *Gracilaria lemaneiformis*- on growth of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *J. Appl. Phycol.*, 21: 375-385.
- Whetstone, J.M., G.D. Treece, C.L. Browdy & A.D. Stokes. 2002. Opportunities and constraints in marine shrimp farming. Southern Regional Aquaculture Center, SRAC Publication N°2600, Washington D.C., 8 pp.
- Xu, Y., J. Fang & W. Wei. 2008. Application of *Gracilaria lichenoides* (Rhodophyta) for alleviating excess nutrients in aquaculture. *J. Appl. Phycol.*, 20: 199-203.
- Yong-Chin, L. & C. Jiann-Chu. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 259: 109-119.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, 663 pp.

Received: 14 March 2013; 1 October 2013

