

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS



TESIS

**FUENTE DE PROTEINA ALTERNATIVA A LA HARINA DE PESCADO EN LA
DIETA DEL CAMARÓN BLANCO DEL PACÍFICO *Litopenaeus vannamei***

PRESENTA

GUSTAVO ALAIN GUEVARA PÉREZ

DIRECTOR DE TESIS

DR. MIGUEL ARTURO CABANILLAS GÁMEZ

MEXICALI, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

DICIEMBRE 2025

**FUENTE DE PROTEINA ALTERNATIVA A LA HARINA DE PESCADO EN LA
DIETA DEL CAMARÓN BLANCO DEL PACÍFICO *Litopenaeus vannamei*.**

Tesis realizada por L. B. Gustavo Alain Guevara Pérez como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias Veterinarias. Aprobado por el comité particular indicado:

Dr. Miguel Arturo Cabanillas Gámez
Director de Tesis

Dr. André Luis Braga de Souza
Co-Director de Tesis

Mario Alberto Galaviz Espinoza
Sinodal

Gerardo Enrique Medina Basulto
Sinodal

Sawako Oshima
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), a través del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias (IICV) por haberme brindado los recursos, el apoyo académico y las instalaciones necesarias para realizar esta investigación y poder concluir mis estudios de Maestría en Ciencias Veterinarias.

Al CONAHCYT por apoyarme al brindarme una beca para poder realizar mis estudios de maestría.

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Miguel Cabanillas, mi director de tesis, por su invaluable orientación, paciencia y constante apoyo durante el desarrollo de este trabajo. Sus enseñanzas, consejos y dedicación fueron fundamentales para lograr la culminación de esta investigación.

Al Dr. André Braga, mi Co-director de tesis, por su tiempo, aportes técnicos y valiosas observaciones que enriquecieron notablemente el contenido y la calidad de esta tesis.

A los miembros de mi comité y sinodales, Dr. Gerardo Medina Basulto, Dr. Fernando Figueroa y Dr. Mario Galaviz, agradezco profundamente el tiempo dedicado a la revisión del trabajo, así como sus sugerencias y comentarios que contribuyeron significativamente a su mejora.

Asimismo, extendo mi gratitud a los laboratorios de Organismos Acuáticos, Biología Molecular, Nutrición y Calidad Físico-Química de productos de origen

animal por el espacio, el equipo y las facilidades proporcionadas durante el desarrollo experimental.

También agradezco el apoyo de la Facultad de Ciencias Marinas de la misma institución, especialmente a los laboratorios de Nutrición, Acuicultura y la Unidad de Biotecnología en Piscicultura, donde se llevó a cabo parte del procesamiento y análisis de las muestras.

A mis guías y técnicos de laboratorio, el Dr. Ernesto Larios, Samantha del Laboratorio de Nutrición, y la Dra. Sawako Oshima, les agradezco sinceramente por su disposición, orientación técnica y amistad. Su acompañamiento fue esencial en las etapas prácticas de esta investigación.

De igual manera quisiera agradecer a la Fábrica de Cerveza Fauna de Mexicali y a su personal por donar al bagazo de cebada necesario para poder realizar la presente investigación, su ayuda fue muy necesaria y se le agradece bastante.

De manera muy especial, quiero agradecer a Mariana, quien no solo fue mi compañera, sino también mi pareja, amiga y un gran apoyo en cada etapa de este camino. Gracias por brindarme tu participación, ayuda y acompañamiento en el proyecto, animarme en los momentos difíciles y estar a mi lado en todo momento. Sin tu paciencia, comprensión y cariño, este logro no habría sido igual.

A mis compañeros y amigos Oscar, Cuéllar, Omar, y a todos aquellos que de paso compartieron conmigo momentos de trabajo, aprendizaje y apoyo, mi más profundo agradecimiento por su colaboración y compañía durante este proceso.

A todos, gracias.

DEDICATORIA

A mis padres Miguel y Ana Liz, mi hermano Eduardo, por su apoyo incondicional, amor y confianza en cada paso que he dado. A Mariana por acompañarme con paciencia y cariño. A Hilda y a todos mis maestros que me inspiraron a seguir en este camino. A mis amigos y compañeros, que formaron parte de este camino con su apoyo, amistad y colaboración. Y a todas las personas que, directa o indirectamente, contribuyeron a que este sueño se hiciera realidad.

FUENTE DE PROTEINA ALTERNATIVA A LA HARINA DE PESCADO EN LA DIETA DEL CAMARÓN BLANCO DEL PACÍFICO *Litopenaeus vannamei*.

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la sustitución parcial y total de la harina de pescado por bagazo de cebada en dietas para el camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) cultivado en sistema biofloc. Se formularon dietas experimentales con diferentes niveles de inclusión de bagazo de cebada, las cuales fueron suministradas durante un periodo de cultivo controlado. Se evaluaron parámetros productivos como peso final, ganancia de peso, conversión alimenticia, tasa de crecimiento específica y supervivencia. Además, se analizó la composición proximal del camarón y del biofloc, la calidad de su carne y microbiota intestinal.

Los resultados mostraron que niveles moderados de sustitución de la harina de pescado no afectaron significativamente el crecimiento ni la supervivencia, manteniendo un desempeño productivo comparable al del tratamiento control. Asimismo, se observaron modificaciones en la composición microbiana del intestino, reflejando un posible efecto funcional del bagazo de cebada como fuente alternativa de proteína vegetal. En cuanto a la calidad de la carne y composición proximal, los valores se mantuvieron dentro de los rangos óptimos para la especie.

Estos resultados indican que el bagazo de cebada puede ser utilizado como sustituto parcial de la harina de pescado en dietas para *L. vannamei* cultivado en sistema biofloc, representando una alternativa sostenible y rentable para la formulación de piensos para la acuicultura.

Palabras clave: *Litopenaeus vannamei*, biofloc, bagazo de cebada, harina de pescado, nutrición acuícola, sostenibilidad.

ALTERNATIVE PROTEIN SOURCE TO FISHMEAL IN THE DIET OF THE PACIFIC WHITE SHRIMP *Litopenaeus vannamei*.

The present study aimed to evaluate the effect of partial and total replacement of fishmeal with barley bagasse in diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared in biofloc systems. Experimental diets were formulated with different inclusion levels of barley bagasse and supplied during a controlled culture period. Productive parameters such as final weight, weight gain, feed conversion ratio, specific growth rate, and survival were evaluated. In addition, shrimp proximate composition, meat quality, intestinal microbiota and the microbial community structure of the biofloc system were analyzed.

The results showed that moderate levels of fishmeal substitution did not significantly affect growth or survival, maintaining productive performance comparable to the control treatment. Furthermore, changes in gut microbial composition were observed, reflecting a possible functional effect of barley bagasse as an alternative source of plant protein. Meat quality and proximate composition remained within optimal ranges for the species.

These findings indicate that barley bagasse can be used as a partial substitute for fishmeal in *L. vannamei* diets under biofloc culture conditions, representing a sustainable and cost-effective alternative for aquaculture feed formulation.

Keys words: *Litopenaeus vannamei*, biofloc, barley bagasse, fishmeal, aquaculture nutrition, sustainability.

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	2
LISTA DE FIGURAS	3
INTRODUCCIÓN	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
JUSTIFICACION.....	12
HIPOTESIS.....	15
OBJETIVOS.....	16
Objetivo general	16
Objetivos específicos.....	16
MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
Localización del área de estudio.....	17
Metodología	18
Desarrollo productivo.....	24
Características fisicoquímicas de la carne.....	25
Análisis químico.....	26
Análisis de microbiota intestinal.....	27
Análisis estadístico	28
RESULTADOS.....	30
Composición del bagazo de cebada.....	30
Parámetros de crecimiento.....	34
Características fisicoquímicas de la carne.....	36
Composición proximal	38
Microbiota intestinal.....	40
DISCUSIÓN	47
CONCLUSIÓN	60
LITERATURA CITADA	62
ANEXOS.....	1

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1	Valores nutricionales del bagazo de cebada en húmedo.....	9
Cuadro 2	Ingredientes (por 100g kg ⁻¹) de dietas experimentales con diferentes niveles de inclusión de bagazo de cebada como reemplazo de la harina de pescado.....	22
Cuadro 3	Composición proximal del bagazo de cebada, procesada y sin procesar (porción de 100 gr).....	31
Cuadro 4	Composición proximal de dietas experimentales suministradas a juveniles de <i>L. vannamei</i> con diferentes niveles de inclusión de bagazo de cebada como reemplazo parcial y total de la harina de pescado.....	32
Cuadro 5	Respuesta de crecimiento de juveniles de <i>L. vannamei</i> cultivado en un sistema de biofloc alimentados con diferentes niveles de inclusión de bagazo de cebada como reemplazo parcial y total de la harina de pescado.....	35
Cuadro 6	Respuesta de parámetros evaluados de calidad de la carne del camarón blanco alimentados con diferentes niveles de inclusión de bagazo de cebada como reemplazo parcial y total de la harina de pescado.....	37
Cuadro 7	Composición proximal del camarón blanco del Pacífico <i>L. vannamei</i> cultivado en el sistema de biofloc y alimentado con diferentes niveles de inclusión de bagazo de cebada como reemplazo parcial y total de la harina de pescado.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Metodología utilizada en el programa QIIME 2 para la interpretación de las secuencias de DNA.....	29
Figura 2	Filos con mayor abundancia de la microbiota intestinal de <i>L. vannamei</i>	41
Figura 3	Familias con mayor abundancia de la microbiota intestinal de <i>L. vannamei</i>	42
Figura 4	Riqueza promedio de Unidades Taxonómicas Operacionales (OTU's) de la comunidad microbiana presente en los intestinos del camarón blanco <i>L. vannamei</i>	45
Figura 5	Índice de diversidad de Shannon-Weaver (H) de la comunidad microbiana presente en los intestinos del camarón blanco <i>L. vannamei</i>	46

INTRODUCCIÓN

La acuicultura moderna se ha consolidado como una de las principales fuentes de producción de proteína animal a nivel mundial, contribuyendo significativamente a la seguridad alimentaria global. El cultivo de peces y mariscos constituye el sector alimentario de mayor crecimiento en las últimas décadas, destacando el camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) como una de las especies más relevantes para la acuicultura global (Holsen y Hasan, 2012; FAO, 2024). En México, *L. vannamei* ocupa el tercer lugar en volumen de producción pesquera con 182,025 toneladas registradas en 2021 y el primer lugar en valor económico, con ingresos de 23.7 millones de dólares, lo que representa un incremento del 13% respecto a 2020 (SAGARPA, 2021). Los principales estados productores son Sinaloa, Sonora y Nayarit (SADER, 2019).

El desarrollo de sistemas intensivos ha generado problemáticas como brotes de enfermedades, contaminación ambiental y baja productividad (Thitamadee et al., 2016). Debido a esto, los sistemas de biofloc se presentan como una alternativa sustentable al mejorar la bioseguridad, reducir el impacto ambiental y optimizar el aprovechamiento de los recursos hídricos mediante la manipulación de la relación carbono-nitrógeno, idealmente 15:1 (Castro-Nieto et al., 2012; Xu y Pan, 2012; Hellyjúnior Brandão et al., 2017). Esta tecnología ha demostrado incrementar la tasa de crecimiento, la supervivencia y la eficiencia alimenticia en *L. vannamei* (Ekasari et al., 2014; Cardona et al., 2015).

Por otra parte, la acuicultura continúa dependiendo de la harina de pescado (HP) como fuente proteica principal, aunque se prevé una reducción progresiva de su uso (Tacón y Metián, 2008). Dicho lo anterior, el bagazo de cebada, subproducto de la industria cervecera rico en proteínas y fibra, representa una alternativa viable y sostenible para la formulación de alimentos balanceados acuícolas (Kendall, 1994; Aliyu y Bala, 2011).

Por lo tanto, el presente estudio busca evaluar el potencial del bagazo de cebada como fuente proteica alternativa a la HP en sistemas biofloc para el cultivo de *L. vannamei*, con el objetivo de disminuir el uso de la HP como principal ingrediente proteico, para lograr el desarrollo de una acuicultura más sustentable y eficiente.

REVISIÓN DE LITERATURA

El crecimiento constante de la acuicultura en los últimos años debido a la demanda de organismos para consumo humano ha ocasionado un aumento en el uso de la HP (Duarte et al., 2009; Li et al., 2023). La HP es el principal ingrediente utilizado para la elaboración de dietas para el camarón blanco del Pacífico gracias a su alto contenido de proteínas, su composición bien equilibrada de ácidos grasos y aminoácidos, su buena palatabilidad y alta digestibilidad (Shao et al., 2019; Glencross et al., 2020).

Sin embargo, el incremento de la demanda seguido de la disminución de volumen de captura de peces pelágicos y forrajeros ha ocasionado un aumento en los precios de la HP (FAO, 2022). Por lo que, en la actualidad existe la gran necesidad de investigar el uso de fuentes proteicas alternativas a la HP, que cumplan con los requerimientos nutricionales, presenten alta digestibilidad, que sean de fácil acceso, precio competitivo y no contaminen el medio ambiente (Gatlin et al., 2007).

Actualmente se ha informado que algunos ingredientes o concentrados proteicos de origen vegetal pueden sustituir total o parcialmente a la HP en las dietas para el camarón blanco del Pacífico (Estévez et al., 2021). Dentro de estos estudios se ha mencionado que algunas de las ventajas de utilizar estos ingredientes incluyen; suministro más constante, precios más accesibles, menor contaminación e impacto ambiental o inclusive la reutilización de subproductos de desecho, en comparación con la HP (Nunes et al., 2022). En este contexto,

las proteínas de origen vegetal podrían ser alternativas a la HP para la industria de la acuicultura (Chakraborty et al., 2019).

En un estudio realizado por Bauer et al. (2012), mediante una prueba de alimentación de 28 días, investigaron los efectos del reemplazo parcial y total de la HP en el consumo de alimento y el crecimiento de *L. vannamei* (2.48 ± 0.29 g). Se comparó una dieta comercial (control) con cuatro dietas experimentales que contenían harina de flóculos microbianos y concentrado de proteína de soja en niveles de reemplazo de la HP en un 25, 50, 75 y 100%. La ganancia de peso, el peso final, la tasa de conversión alimenticia, la tasa de crecimiento específico y la supervivencia no fueron significativamente diferentes entre los tratamientos.

En otro estudio realizado por Shao et al. (2019), evaluaron la microbiota intestinal del camarón blanco *L. vannamei* después de utilizar dietas con cinco niveles de reemplazo de HP por harina de soja fermentada (D1:C, D2:10%, D3:20%, D4:30% y D5:40%). Los camarones alimentados con la D3:20% tuvieron un rendimiento de crecimiento significativamente mejor. La tasa de supervivencia varió del 71.3% al 86% en los cinco grupos, siendo mayor con la D3:20% respecto a la de los grupos D4:30% y D5:40% ($P < 0.05$). De manera similar, la ganancia de peso fue mayor con la D3:20% respecto a los otros grupos. Los autores concluyeron que la sustitución del 20% de HP por harina de soja fermentada podría mejorar el rendimiento del crecimiento, sin afectar la microbiota intestinal de los camarones.

Li et al. (2023), evaluaron el efecto del reemplazo de la HP por concentrado de proteína de semilla de algodón (CPS) sobre el crecimiento y la calidad de la

carne de *L. vannamei*, con un peso corporal inicial de 1.20 ± 0.05 g cultivado en agua de baja salinidad (0.5-1.0) por un periodo de 56 días. Los tratamientos con los niveles de reemplazo fueron el CPC0 con el 0% de reemplazo, CPC20 con el 20%, CPC40 con el 40%, CPC60 con el 60%, CPC80 con el 80% y CPC100 con el 100% de la HP con la inclusión de 0 g/kg, 130.2 g/kg, 260.4 g/kg, 390.7 g/kg, 521 g/kg y 651.3 g/kg, respectivamente. Los resultados mostraron que el rendimiento del crecimiento no se vio afectado significativamente por el reemplazo del 20% o 40% de HP ($P>0.05$). En comparación con el control, la ganancia de peso disminuyó en 15.1%, 21.7% y 33.8%, mientras que la tasa de conversión alimenticia aumentó en 0.15%, 0.18% y 0.23% en los grupos (CPC60%), (CPC80%) y (CPC100%).

Estos estudios mostrados confirman que es posible el reemplazo parcial y total de la HP mediante la utilización de ingredientes vegetales. Otra materia prima alternativa de origen vegetal es el subproducto de las cervecerías, denominado “bagazo de cebada” (BC). El cual es de gran interés para su aplicación en diferentes áreas debido a su bajo costo, alta disponibilidad durante todo el año y su alto contenido de proteínas (Estévez et al., 2021).

Diversos estudios mencionan que, la proteína bruta cruda del BC se encuentra en un rango típico de 15-25% (He et al., 2006; Mussatto y Roberto, 2006; Xirus y Christakopoulos, 2012). En el cuadro 1 se muestran los valores nutricionales del BC en húmedo, registrados por la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA, 2023).

Cuadro 1. Valores nutricionales del BC en húmedo.

Composición química (%ms)						
Humedad	Cenizas	Proteína	FND	FAD	EE	(%EE)
74.2	3.90	26.30	8.92	2.70	7.93	45
Ácidos grasos						
	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
% Alimento	0.50	0.80	0.05	0.43	1.99	0.20
Macrominerales (%MS)						
Ca	P	Na	Cl	Mg	K	S
0.28	0.50	0.01	0.14	0.15	0.08	0.33

FND: Fibra neutro detergente, FAD: Fibra ácido detergente, EE: Extracto etéreo, FB: Fibra bruta, C_{14:0}: mirístico, C_{16:0}: palmítico, C_{16:1}: palmitoleico, C_{18:0}: esteárico, C_{18:1}: oleico, C_{18:2}: linoleico, C_{18:3}: gamma linoleico, Ca: calcio, P: fósforo, Na: sodio, Cl: cloro, Mg: magnesio, K: potasio, S: azufre.

Fuente: FEDNA, 2023.

Diversos estudios han confirmado que el BC puede ser utilizado como fuente de proteína vegetal para animales de ganadería, tales como caprinos (Ferrari et al., 2016; Calcaterra 2019), ovinos (Rivas-Jacobo et al., 2017; Ferrari et al., 2019) y porcinos (Fajardo, 2022) debido a los altos contenidos de fibra y proteína junto con el bajo costo de este subproducto concluyendo que el bagazo es un alimento de alto valor nutricional, ya que no afecta a ningún factor del rendimiento productivo, posibilitando una mayor degradabilidad ruminal (en el caso de rumiantes), además de tener una muy buena aceptación de parte de los organismos a los que se les suministra en las dietas.

En peces, Kaur y Saxena (2003) utilizaron BC en las dietas de diferentes especies de carpas; *Labeo rohita*, *Cirrhinus cirrhosus* y *Cirrhinus mrigala* (de la india), en cuatro niveles diferentes (10%, 20%, 30% y 40%) reemplazando el salvado de arroz en las dietas bajo un sistema de cultivo semiintensivo y analizaron su efecto en el crecimiento. El aumento de peso corporal fue mayor en *C. cirrhinus* y *L. rohita* alimentados con una dieta que contenía un 30% de BC en el alimento, mientras que en *C. mrigala* el crecimiento disminuyó con la adición del BC.

Muzinic et al. (2004) evaluaron el efecto del reemplazo parcial y total de HP con una combinación de harina de soya y BC con levadura en dietas para cangrejos de río juveniles, con un peso inicial de 0.2 ± 0.05 g. Se formularon tres dietas prácticas (con 40% de proteína cada una) que contenían un 25%, 10% y 0% de HP, un 35%, 46.8% y 79.8% de harina de soya y 0%, 30% y 5% de bagazo. Después de 8 semanas, los juveniles alimentados con las tres dietas

experimentales no tuvieron diferencias significativas ($P>0,05$) en el peso final, porcentaje de peso ganado (3,85%) y la supervivencia (83%) cuando se compararon con la dieta control.

En otro estudio realizado por He et al. (2020), recuperaron un subproducto rico en proteínas, con 46% de proteínas y menos del 1% de fibra a partir del BC e investigaron el efecto del reemplazo de la HP en la dieta con el subproducto sobre el crecimiento, la eficiencia de utilización del alimento y la composición nutricional del camarón blanco del Pacífico *L. vannamei*. Se comparó la dieta control (con 35% de HP) con 4 dietas experimentales con reemplazo del 10, 30, 50 y 70% de la HP (D1, D2, D3 y D4, respectivamente) en camarones con peso promedio de 1.1 g, todas las dietas fueron isoproteicas (44%), isolipídicas (10%) e isocalóricas (20 KJ/g). Los autores reportaron que hasta el 50% de reemplazo de la HP no afectó negativamente la supervivencia, el rendimiento del crecimiento, la eficiencia de utilización del alimento o el contenido de proteína y el perfil de aminoácidos del camarón.

En conjunto, la evidencia disponible muestra que el reemplazo parcial de la harina de pescado por ingredientes vegetales —incluido el bagazo de cebada— es técnicamente viable y puede mantener el desempeño productivo en crustáceos y otras especies acuícolas. La creciente disponibilidad de este subproducto, su costo reducido y su composición nutricional respaldan la necesidad de evaluar su incorporación en dietas para *L. vannamei* bajo condiciones de cultivo específicas. Este contexto justifica la realización del presente estudio.

JUSTIFICACIÓN

La harina de pescado (HP) ha sido históricamente la principal fuente proteica en la formulación de dietas para el camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), con niveles de inclusión del orden de 25 a 50% (Yun et al., 2017). Aunque su producción se ha mantenido relativamente constante desde los inicios de la acuicultura (IFFO, 2012), la creciente demanda global de productos acuícolas ha impulsado un aumento significativo en su precio, reduciendo la rentabilidad del sector (Yang et al., 2021). Esta situación ha motivado la búsqueda de ingredientes alternativos que permitan disminuir la dependencia de la HP sin comprometer el rendimiento productivo de los organismos cultivados.

El bagazo de cebada (BC), subproducto generado durante el proceso cervecero, se ha propuesto como una fuente proteica alternativa debido a su contenido de proteína, fibra y fracciones residuales de levaduras (Mussatto et al., 2020). La producción mundial de cerveza genera aproximadamente 38×10^6 toneladas de BC al año, volumen que representa un desafío ambiental por su alta carga orgánica y la limitada capacidad de disposición (Mussatto et al., 2014). Una estrategia viable para mitigar esta problemática consiste en su aprovechamiento dentro de la alimentación animal (Muzinic et al., 2004).

Hasta ahora, la incorporación del BC en dietas ha sido evaluada principalmente en especies terrestres. Sin embargo, existen pocos estudios sobre su uso en la nutrición de organismos acuáticos, particularmente en crustáceos. Por ello, es necesario investigar los efectos de la sustitución parcial

y total de la HP por BC en la alimentación del camarón blanco, con el fin de valorar su potencial como fuente proteica alternativa en sistemas acuícolas.

En *L. vannamei*, se ha demostrado que la sustitución parcial de la harina de pescado por ingredientes vegetales o subproductos agroindustriales no afecta de manera significativa el crecimiento, la conversión alimenticia ni la supervivencia, siempre que las dietas mantengan un adecuado balance de aminoácidos y energía digestible (Martínez-Córdova et al., 2017; Xu et al., 2021). Además, el BC contiene compuestos bioactivos como β -glucanos y polifenoles, asociados con efectos positivos en la respuesta inmune y antioxidante de los organismos acuáticos (Aliyu & Bala, 2011).

La evaluación del BC como reemplazo parcial o total de la HP en dietas para *L. vannamei* es de particular relevancia, pues no solo reduciría la dependencia de un insumo limitado y costoso, sino que también permitiría valorizar un residuo agroindustrial de alta disponibilidad. Esto contribuiría a fortalecer la sostenibilidad ambiental y económica de la acuicultura, promoviendo el aprovechamiento integral de los recursos y reduciendo la contaminación derivada del exceso de residuos orgánicos (FAO, 2020; Mussatto et al., 2020).

De manera complementaria, la tecnología de biofloc representa una alternativa sustentable para la producción intensiva de camarón blanco del Pacífico, ya que permite mantener la calidad del agua mediante la asimilación microbiana de compuestos nitrogenados, lo que reduce la acumulación de amonio y nitrito y disminuye la necesidad de recambio de agua (Raza et al., 2024; Emerenciano et al., 2021). Además, el biofloc constituye una fuente

suplementaria de nutrientes, aportando proteína microbiana, lípidos, aminoácidos y ácidos grasos esenciales que los camarones aprovechan continuamente (Emerenciano et al., 2021; Wasielesky et al., 2006).

En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo evaluar el uso del bagazo de cebada como fuente proteica alternativa a la harina de pescado en dietas para el camarón blanco del Pacífico cultivado en sistemas biofloc, con el propósito de contribuir al desarrollo de una acuicultura más eficiente, sostenible y circular.

HIPÓTESIS

Hi: La sustitución parcial y total de la harina de pescado por bagazo de cebada en la dieta de *Litopenaeus vannamei* influirá positivamente en los parámetros productivos, la composición proximal, la calidad de carne y microbiota intestinal de los organismos cultivados en sistema biofloc.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de la sustitución parcial y total de la harina de pescado por bagazo de cebada en dietas para el camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) cultivado en sistemas biofloc.

Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de distintos niveles de inclusión de bagazo de cebada como sustituto de la harina de pescado en la dieta sobre el desempeño productivo (peso final, ganancia de peso, peso promedio, tasa de crecimiento específica, índice de crecimiento diario, conversión alimenticia, tasa de eficiencia proteica y supervivencia) del camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) cultivado en sistema biofloc.
2. Evaluar el efecto de los niveles de inclusión de bagazo de cebada en la dieta sobre la calidad de la carne del camarón blanco, considerando la capacidad de retención de agua, el rendimiento de carne y el pH, en organismos cultivados en biofloc.
3. Determinar el efecto de los niveles de inclusión de bagazo de cebada en la dieta sobre la composición proximal (proteína, lípidos, humedad y cenizas) del camarón blanco cultivado en biofloc.
4. Evaluar el efecto de los niveles de inclusión de bagazo de cebada en la dieta sobre la diversidad de microbiota intestinal del camarón blanco del Pacífico cultivado en sistema biofloc.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área de estudio

El presente estudio se realizó en los laboratorios de Organismos Acuáticos, Biología Molecular y Calidad Físico Química de Productos de Origen animal del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias. En el Laboratorio de Acuicultura, Nutrición y Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California.

Duración del estudio

La maduración del biofloc comprendió 36 días, seguida de 4 días de aclimatación de los organismos, 45 días de bioensayo y 120 días de análisis, sumando un total de 205 días de labor experimental.

Origen de la información

En el bioensayo se emplearon 360 camarones con un peso inicial de 0.58 ± 0.01 g ($\pm$ desviación estándar).

Para determinar los análisis de calidad de la carne, composición proximal y diversidad de microbiota intestinal se utilizaron 8 organismos por tanque, equivalentes a 24 por tratamiento y 96 en total.

Se formularon cuatro dietas experimentales: una dieta control con HP como principal fuente proteica y tres con diferentes niveles de inclusión de BC hidrolizado (7.5%, 15% y 22.5%) hasta obtener un reemplazo parcial y total de la HP. Cada tratamiento (incluyendo el control) se realizó por triplicado.

Variables evaluadas

Se evaluó el desempeño productivo de los camarones, considerando el peso corporal final (gr), ganancia de peso (gr), porcentaje de ganancia de peso (%), peso corporal promedio (gr), tasa de crecimiento específica, índice de crecimiento diario, factor de conversión alimenticia (gr), ratio de eficiencia proteica, supervivencia (%), peso ganado por día (gr) y consumo de alimento. Se identificaron las principales especies de bacterias presentes en su microbiota intestinal, se realizó un análisis para determinar la calidad de la carne donde se determinó el pH, la capacidad de retención de agua y rendimiento de carne, así mismo, se determinó la composición proximal de una muestra de organismos por cada tratamiento.

Metodología

Las unidades experimentales fueron lavadas y desinfectadas previamente a la maduración del sistema biofloc, se lavaron con agua clorada para desinfectarlas completamente. Después de la desinfección se enjuagaron con abundante agua para eliminar los residuos de cloro, posteriormente se agregó agua de mar y se dio inicio al protocolo de maduración del biofloc.

Se utilizó el protocolo propuesto por Moura et al. (2021). Se manipuló la relación C:N para inducir el desarrollo y la estabilización de las comunidades bacterianas involucradas en el proceso de nitrificación. La fertilización se llevó a cabo en cada uno de los 12 tanques de 110 litros, sin animales, con el objetivo

de evitar la mortalidad, debido a la mayor toxicidad del amoníaco ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) y el nitrito ($\text{NO}_2^- -\text{N}$).

Como fuente de nitrógeno, se añadió la cantidad de 0.12 mg L^{-1} de cloruro de amonio (NH_4Cl) dos veces por semana de acuerdo con la adaptación de la metodología descrita por Gaona et al. (2014). Como fuente de carbono, se añadió diariamente melaza líquida de caña de azúcar (37.3 % de carbono) para mantener una relación C:N inicial de 15:1 (Avnimelech, 1999; Ebeling et al., 2006).

Los tanques se mantuvieron bajo constante aireación mediante un Soplador regenerativo S41 Sweetwater 1HP, USA., a través de tuberías de PVC de 1" dentro de los tanques mangueras de vinilo de 1" transparente y mangueras porosas circulares colocadas en el fondo del tanque para la difusión de oxígeno. Cada tanque se mantuvo a una temperatura de 30°C (valor promedio) con calentadores AQUARUM GLASS HEATER, SGH-380, China.

Una vez por semana, se añadió agua de mar filtrada para compensar las pérdidas debidas a la evaporación. Se añadió hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) para alcanzar una alcalinidad objetiva de $150 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ (Furtado et al., 2014). Este protocolo tardó 36 días aproximadamente para alcanzar la madurez del sistema, una vez que no se detectaron niveles de nitrógeno amoniacal total ($\text{NO}_2^- -\text{N}$) en ninguno de los tanques. Una vez estable el sistema de biofloc, se procedió a dar inicio al bioensayo de alimentación.

Las larvas fueron donadas por el laboratorio comercial Productos Pesqueros del Evora S. A de C. V. ubicado en el municipio de los Mochis, Sinaloa. Se contó con un total de 5,000 larvas PL15, las cuales se sembraron inicialmente en tanques de 200 L con agua de mar, se mantuvieron con aireación continua, se alimentaron con una dieta comercial hasta que alcanzaron la talla de 0.50 g, en ese momento se realizó la biometría inicial para seleccionar los organismos que formarían parte del bioensayo.

El BC fue donado por la fábrica de cerveza artesanal Fauna Brewery S. A. de C. V., ubicada en la ciudad de Mexicali, Baja California, México.

Posteriormente, el BC se hidrolizó de acuerdo con la metodología descrita por He et al. (2019) para reducir los niveles de fibra y concentrar los niveles de proteína, la cual consto del siguiente método:

1. Se tomó y se pesó una muestra de 500 g de bagazo en un recipiente y se añadió 250 ml de agua destilada para enriquecer a la humedad.
2. Después de una hora de reposo, se trituró el bagazo con ayuda de un molcajete, con el objetivo de separar los restos de epicarpio del mesocarpio.
3. Una vez triturado, se vació en un recipiente y se le añadió la cantidad de 1 litro de agua destilada.
4. Se incubó a una temperatura de 60°C por un periodo de 3 horas.
5. Pasado el tiempo, se retiró de la incubadora y se dejó enfriar a temperatura ambiente por una hora.

6. Se mezcló el contenido y se filtró el producto por diferentes tamices de tamaños de 2 mm, 1.3 mm, 800 μ y 500 μ , iniciando del mayor al menor.
7. En el último tamiz (500 μ), se tomó el producto que no se filtró, siendo ese el resultado, una harina húmeda compacta.
8. El producto obtenido se expandió en una charola y se resguardó en un horno por un periodo de 24 horas a 60°C para eliminar restos de humedad.
9. Después del periodo, se resguardó en un lugar completamente seco, donde no haya humedad, hasta su respectivo uso.

Al tener el producto final del procedimiento, se realizó un análisis de composición proximal de la harina hidrolizada y no hidrolizada, para determinar el porcentaje de proteína, lípidos, humedad, cenizas y extracto libre de nitrógeno. Todo esto para comparar la efectividad del procesamiento y para iniciar a formular las dietas experimentales.

Se elaboraron un total de cuatro dietas isoproteicas (37%); tres experimentales y una dieta control. La composición de las dietas se muestra en El Cuadro 2, la dieta control se basó en dietas comerciales, utilizadas para alimentar al camarón en granjas acuícolas. A la dieta 1, se le agrego el 7% del BC procesado, disminuyendo el mismo porcentaje de HP (reemplazo). En la dieta 2, la adición fue del 15% de bagazo y reemplazo del mismo porcentaje de HP, mientras que en la dieta 3, el BC procesada se adicionó en un 22.5%, poco más de la proporción inicial de la HP en la dieta comercial, reemplazándola completamente.

Cuadro 2. Ingredientes (por 100 100 g kg⁻¹) de dietas experimentales con diferentes niveles de inclusión de BC como reemplazo de la harina de pescado.

Ingredientes	Tratamiento			
	T 0%	T 7.5%	T 15%	T 2.5%
Bagazo de cebada procesada	0	7.5	15	22.5
Harina de soya	25	25	20	17.5
Harina de ave	5	5	10	10
Harina de pescado	20	12.5	5	0
Sebo de res	3.88	3.40	3.40	3.40
Harina blanca de trigo	12	12	12	12
Gluten de maíz	4	4	4	4
Stay C	0.20	0.20	0.20	0.20
Vitaminas y minerales	2.5	2.5	2.5	2.5
Colesterol	0.50	0.50	0.50	0.50
DHA Natur	3	3	3	3
Benzoato de sodio	0.10	0.10	0.10	0.10
Grenetina	6.90	6.90	6.90	6.90
Fosfolípidos	1.0	1.0	1.0	1.0
Maicena cruda	0.78	4.55	4.55	4.55
Maicena	15.13	11.84	11.84	11.84
BHT	0.01	0.01	0.01	0.01
Total (gr)	100	100	100	100
Stay C: vitamina C, DHA Natur: ácidos grasos Omega-3, BHT: Butilhidroxitolueno.				

Los tratamientos fueron asignados aleatoriamente a las unidades experimentales, de acuerdo con un Diseño Completamente al Azar (DCA).

La temperatura, el oxígeno disuelto, el pH y la salinidad se midieron dos veces al día (8:00 y 18:00 horas). Para la medición de la temperatura y el oxígeno disuelto se utilizó un oxímetro (YIS PRO 20i), para el pH se utilizó el medidor Uni pH Testa TP2011, TRANS INSTRUMENTS, Singapur y para la salinidad el conductímetro YSI 30-FT, USA.

La determinación de la concentración de amonio, nitritos y nitratos se realizó dos veces por semana mediante el kit comercial API SALTWATER MASTER 550-Test Kit. Los análisis se realizaron siguiendo las instrucciones del proveedor del kit.

El nivel de sólidos sedimentables se realizó dos veces por semana de acuerdo con la metodología de Avnimelech y Kochba (2009). Se tomaron muestras de biofloc de cada uno de los tanques en conos Imhoff de 1,000 mL, las muestras se dejaron reposar durante 20 minutos para permitir que los sólidos se sedimenten y posteriormente se tomó la lectura de los mL/L de sólidos sedimentables.

Cada semana se realizó una biometría para evaluar el crecimiento y ajustar la ración de alimento de acuerdo con Huang et al. (2021). Para ello, se colectó el número total de organismos por tanque y se pesaron en la balanza modelo OHAUS Corporation VP114CN, Pine Brook, USA., enseguida se

anotaron los datos se ajustó la ración de alimento diario al 10% de su biomasa total (gr) y se

dividieron en las 3 raciones suministradas al día, empleando la siguiente formula:

- $Ración\ (gr) = biomasa\ total\ (gr) \times porcentaje\ (\%) \text{ de biomasa} / raciones\ por\ día.$

Nota: el ajuste se realizó en cada tanque individual después de cada biometría.

Los organismos se cosecharon al término del bioensayo de alimentación (45 días), obteniendo un peso promedio de 3.29 ± 0.54 gramos.

Desarrollo productivo

Los parámetros del desarrollo productivo se analizaron siguiendo las fórmulas de la metodología de Cai et al. (2022), de la siguiente manera:

- $Peso\ corporal\ final\ (gr) = biomasa\ total\ final / número\ total\ de\ organismos.$
- $Ganancia\ en\ peso = peso\ final\ (g) - peso\ inicial\ (g).$
- $Porcentaje\ de\ ganancia\ de\ peso\ (\%) = [(peso\ final\ (g) - peso\ inicial\ (gr)) / peso\ inicial\ (g) \times 100.$
- $Peso\ corporal\ promedio\ (gr) = (peso\ final + peso\ inicial) / 2.$
- Tasa de crecimiento específica =

Donde:

$$TCE(\%/día) = \frac{\ln(W_f) - \ln(W_i)}{t} \times 100$$

- W_f = peso final (g).
- W_i = peso inicial (g).
- t = número de días del experimento.
- $\ln$ = logaritmo natural.

- $Índice\ de\ crecimiento\ diario\ (gr) = ((peso\ final\ 1/3) - (peso\ inicial\ 1/3) / días) \times 100.$

- Factor de conversión Alimenticia (FCA) = *consumo de alimento (materia seca, g) / [peso final (g) – peso inicial (g)]*.
- Tasa de eficiencia proteica = *(peso final – peso inicial) / proteína consumida*.
- Supervivencia (%) = $100 \times (\text{número final de organismos} / \text{número inicial de organismos})$.
- Peso ganado por día (g) = *(peso corporal final – peso corporal inicial) / duración del bioensayo (en días)*.
- Alimento consumido (g por organismo) = *ingesta total de alimento (g) / número final de camarones*.

Características fisicoquímicas de la carne

pH: Para la determinación del pH se insertó el electrodo directamente en el músculo del camarón crudo (Zeng et al., 2005), mediante un potenciómetro de punción digital (HANNA Instruments Inc., modelo HI 99163).

Capacidad de retención de agua (CRA): La CRA se determinó según Montero et al. (1996) colocando muestras de 2 ± 0.1 g dentro de tubos Falcon de 50 mL, las cuales se centrifugaron a 13,000 rpm x 2 minutos a temperatura ambiente (28 °C) en la centrifuga (International Equipment Company Modelo B-22M). Para el cálculo de la capacidad de retención de agua se utilizó la siguiente fórmula: $\%CRA = [(P_i - P_c) / P_i] \times 100$

Dónde:

P_i = peso inicial de la muestra.

P_c = peso de la muestra centrifugada.

Rendimiento de carne: Se utilizó el método más común de descabezar al camarón manualmente, el cual es presionar con el pulgar exactamente en la división del cefalotórax y el abdomen (Dai et al., 2023).

Para el rendimiento de carne, se utilizó la fórmula propuesta por Cai et al. (2022), la cual fue la siguiente:

$$RC (\%) = \text{Peso abdominal (g)} / \text{peso corporal final (g)} \times 100.$$

Análisis químico

Los análisis químicos del BC, dietas experimentales y muestras de organismos, se realizaron por triplicado siguiendo la metodología de AOAC (1990). Se tomaron las muestras y se secaron a 65°C hasta alcanzar su peso constante (3 horas aproximadamente), posteriormente se molieron y homogenizaron.

La determinación de proteínas crudas se realizó mediante cuantificación del nitrógeno por el método Kjeldahl, utilizando aproximadamente 0.5 g de muestra previamente seca y homogeneizada. Las muestras fueron digeridas con ácido sulfúrico concentrado en presencia de un catalizador (sulfato de cobre y sulfato de potasio) hasta obtener una solución clara. Posteriormente, el nitrógeno liberado se destiló en medio alcalino (NaOH 40%) y se recogió en ácido bórico (4%), para finalmente ser valorado con ácido clorhídrico 0.1 N. El contenido de proteína se calculó multiplicando el valor de nitrógeno por el factor 6.25, según el método oficial de la AOAC (1990).

Los lípidos totales se determinaron por el método de extracción con solventes de diclorometano:metanol (2:1 v/v) descrito por Folch, Lees y Sloane Stanley (1965) y modificado para matrices acuícolas. Para ello, se emplearon aproximadamente 2 g de muestra seca, que se sometieron a agitación con la mezcla de solventes. La fase orgánica resultante fue separada, evaporada en rotaevaporador a 40 °C y el residuo graso se cuantificó gravimétricamente.

El contenido de humedad se obtuvo mediante el secado de aproximadamente 3 g de muestra fresca en estufa de aire forzado a 105 °C hasta peso constante, según el método oficial de la AOAC (1990). El contenido de cenizas se determinó calcinando aproximadamente 2 g de muestra seca en una mufla a 550 °C durante 6 h, también de acuerdo con la AOAC (1990).

Finalmente, el extracto libre de nitrógeno (ELN) se estimó por diferencia, empleando la fórmula: $ELN = 100\% - (\%proteína + \%lípidos + \%humedad + \%cenizas)$ (Jobling, 2001).

Análisis de diversidad de microbiota intestinal.

Para el análisis de diversidad de microbiota intestinal, se tomaron los organismos al final del bioensayo (n=24), se congelaron inmediatamente utilizando hielo seco y se almacenaron a -80°C en un ultracongelador (ThermoScientific Revco UxF, USA) hasta su respectivo uso. Seguidamente se tomaron las muestras de intestinos (por triplicado), extrayéndolas directamente del camarón ligeramente descongelado. Se realizaron extracciones de DNA, donde la integridad se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%. La concentración y pureza del DNA se determinó mediante un NanoDrop 2000

(ThermoScientific) (Anexo 2), se tomaron muestras que fueron secuenciadas en el laboratorio de Genómica Microbiana del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C., de Mazatlán, Sinaloa.

Una vez obtenidas las secuencias, se utilizó el programa QIIME 2 Core 2022.2. Para el análisis de los amplicones e identificación de los microorganismos.

La Figura 1 muestra los pasos que se utilizaron para poder visualizar las gráficas del resultado del análisis de secuencias por medio del programa.

Análisis estadístico

Todos los parámetros evaluados, incluyendo variables de crecimiento, rendimiento productivo, calidad de carne y composición proximal, fueron analizados mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA). Previo a la aplicación del ANOVA, se verificó la normalidad de los residuos mediante la prueba de Shapiro-Wilk ($p > 0.05$) y la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene ($p > 0.05$). La independencia de las observaciones se garantizó mediante el diseño experimental completamente al azar implementado.

En caso de diferencias significativas entre tratamientos, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($P < 0.05$). Para la caracterización de la microbiota intestinal se calcularon índices de diversidad (Shannon, Simpson y Chao1) y se analizaron diferencias en la composición de especies mediante PERMANOVA y análisis multivariados (PCA o NMDS). Todos los análisis estadísticos fueron realizados con un nivel de significancia del 5% ($P = 0.05$).

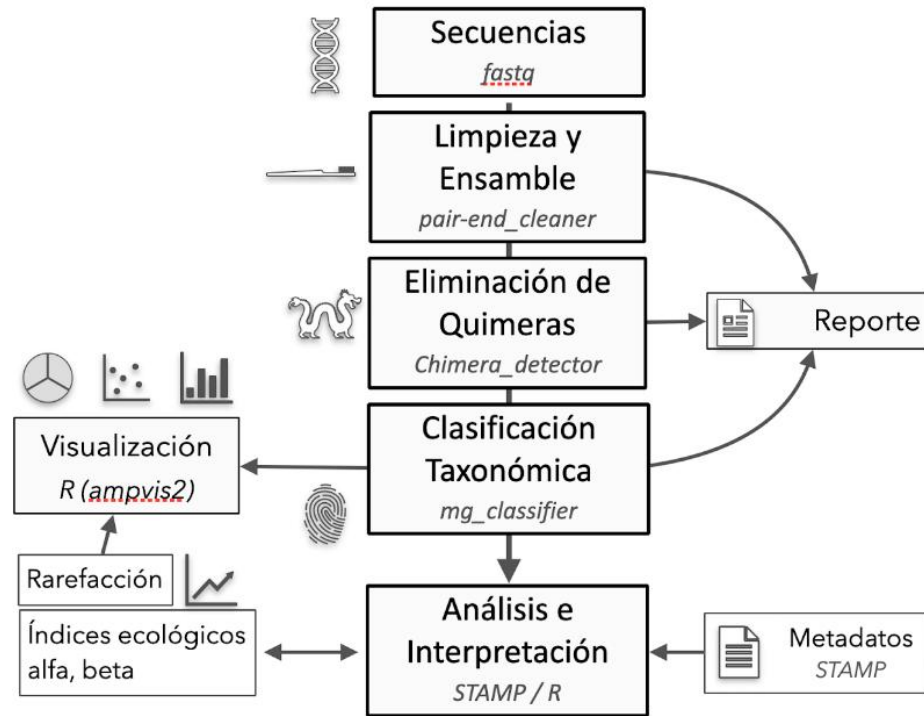


Figura 1. Metodología utilizada en el programa QIIME 2 para la interpretación de las secuencias de DNA.

RESULTADOS

Composición del bagazo de cebada

El Cuadro 3 muestra la composición proximal del BC utilizada en este estudio, antes y después del proceso de separación de la parte proteica y la fibra, lo que representó un porcentaje de aumento del 267.66% de proteína bruta debido al procesamiento. Los niveles de lípidos aumentaron un 29.46%, la humedad disminuyó en un 10.66% y las cenizas aumentaron en un 17.6%. El extracto libre de nitrógeno bajó sus porcentajes, de 64.02% a 29.79%, representando un porcentaje de disminución del 230.3%.

Mientras que el Cuadro 4 muestra la composición proximal de dietas experimentales suministradas a juveniles de *L. vannamei* con diferentes niveles de inclusión de bagazo de cebada como reemplazo parcial y total de la harina de pescado.

Cuadro 3. Composición proximal del bagazo hidrolizado y no hidrolizado (porción de 100 g).

Muestra	Proteína	Lípidos	Humedad	Cenizas	ELN
<i>Hidrolizado</i>	19.98	8.18	4.22	3.60	64.02
<i>No Hidrolizado</i>	53.48	10.59	3.77	4.37	27.79

ELN: extracto libre de nitrógeno.
 Valor medio $\pm$ desviación estándar

Cuadro 4. Composición proximal de dietas experimentales suministradas a juveniles de *P. vannamei* con diferentes niveles de inclusión de bagazo de cebada como reemplazo parcial y total de la harina de pescado.

	Tratamiento			
	T 0%	T7.5%	T15%	T22.5%
Proteína	36.61	37.57	38.71	34.66
Lípidos	1.65	1.45	1.45	1.34
Humedad	4.92	6.08	5.48	7.76
Cenizas	48.46	44.89	46.58	45.20

Se muestra en Cuadro el valor medio $\pm$ desviación estándar.

La concentración de oxígeno disuelto durante el bioensayo fue de 7.3 ± 0.18 mg/L, valores dentro del rango óptimo, ya que se consideran rangos normales concentraciones desde 3.2 a 7.5 mg/L (Martínez y Herrera, 2009). La temperatura promedio fue de 27.6 ± 1.09 . La más baja (22°C) se registró en el día 34, mientras que la más alta (31°C) en el día 13. Aun así, el promedio se siguió encontrando dentro del rango óptimo para camarón ($27\text{-}31^{\circ}\text{C}$) (Torres, 1991). El pH se mantuvo en 7.56 ± 0.48 , abarcando el rango óptimo de 7.5 a 8.5 (Martínez y Herrera, 2012). En cuanto a la salinidad, Martínez y Herrera (2009) señalan que los camarones pueden sobrevivir en un rango muy amplio, desde 1 hasta 50 ppt. Sin embargo, estos valores corresponden a tolerancia de supervivencia y no necesariamente representan condiciones óptimas de crecimiento. Estudios más recientes indican que el camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) presenta un mejor desempeño productivo en un rango de 20-25 ppt, con crecimiento favorable alrededor de 30 ppt (Frontiers, 2019). En el presente experimento se utilizó la salinidad natural del agua de mar, la cual fue de 35.95 ± 0.76 ppt, con la finalidad de emular condiciones marinas reales que favorecen la estabilidad microbiana del biofloc, reducir el estrés osmótico en los organismos y asegurar un mejor control de la calidad del agua. La alcalinidad registrada fue de 128.8 mg L, situándose dentro del rango óptimo para el camarón blanco recomendado por Roy et al. (2010) (de 75 a 150 mg L).

Parámetros de crecimiento

El Cuadro 5 muestra la respuesta de crecimiento de juveniles de *L. vannamei* cultivados en un sistema de biofloc. Se observa que el análisis de varianza de una vía no mostró diferencias significativas en el peso final, ganancia de peso, porcentaje de peso ganado, peso promedio, tasa de crecimiento específico, índice de crecimiento diario, factor de conversión alimenticia y tasa de eficiencia proteica de *L. vannamei* entre los diferentes tratamientos ($p > 0.05$). Estos resultados sugieren que la sustitución parcial o total de harina de pescado por BC hidrolizado en las dietas no afectó de manera negativa el desempeño productivo del camarón en términos de crecimiento y aprovechamiento del alimento. Sin embargo, se observaron diferencias significativas en la supervivencia ($p < 0.05$). La supervivencia de los organismos alimentados con T3 (22.5 % bagazo sin harina de pescado) fue significativamente mayor ($95.45 \pm 0.0a$) que la observada en TC ($68.18 \pm 4.54b$), T1 ($63.63 \pm 16.39bc$) y T2 ($57.57 \pm 2.62c$). Este resultado indica que un mayor nivel de inclusión de BC hidrolizado podría tener un efecto positivo sobre la supervivencia de *L. vannamei* en sistemas biofloc, sin comprometer otras variables de crecimiento

Cuadro 5. Respuesta de crecimiento de juveniles de *L. vannamei* cultivados en un sistema de biofloc alimentados con diferentes niveles de inclusión de BC como reemplazo parcial y total de la harina de pescado.

Parámetro productivo	Tratamiento				P=
	T 0%	T 7.5%	T 15%	T 22.5%	
PF ¹	3.83 ± 0.15	3.08 ± 0.55	3.43 ± 0.60	3.10 ± 0.346	0.197
PG ²	3.25 ± 0.15	2.50 ± 0.52	2.85 ± 0.59	2.52 ± 0.34	0.199
%PG ³	561.26 ± 32.55	438.62 ± 90.27	497.4 ± 99.45	438.80 ± 51.82	0.211
PP ⁴	3.84 ± 1.37	2.99 ± 1.16	3.41 ± 0.91	3.10 ± 0.68	0.155
TCE ⁵	3.85 ± 0.10	3.42 ± 0.33	3.63 ± 0.34	3.43 ± 0.20	0.226
ICD ⁶	1.49 ± 0.05	1.27 ± 0.16	1.37 ± 0.17	1.28 ± 0.10	0.213
FCA ⁷	0.96 ± 0.05	0.83 ± 0.03	0.90 ± 0.07	0.85 ± 0.08	0.116
TEP ⁸	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.08 ± 0.02	0.07 ± 0.03	0.936
Supervivencia	68.18 ± 4.54 ^b	63.63 ± 16.39 ^b	57.57 ± 2.62 ^c	95.45 ± 0 ^a	0.014

Se muestra en Cuadro el valor medio ± desviación estándar.

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($P=0.05$).

Abreviaciones: ¹PF: peso final, ²PG: peso ganado, ³%PG: porcentaje de peso ganado, ⁴PP: peso promedio, ⁵TCE: tasa de crecimiento específica, ⁶ICD: índice de crecimiento diario, ⁷FCA: factor de conversión alimenticia, ⁸TEP: tasa de eficiencia proteica.

Características fisicoquímicas de la carne.

El Cuadro 6 muestra los parámetros de las características fisicoquímicas de la carne del camarón *L. vannamei* en relación con los diferentes niveles de inclusión de BC como reemplazo de la harina de pescado en la dieta. No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en ninguno de los parámetros seleccionados entre los tratamientos.

Cuadro 6. Respuesta de parámetros evaluados de las características fisicoquímicas de la carne (valor medio $\pm$ desviación estándar) del camarón blanco del pacífico.

Tratamiento	pH	CRA ¹	Rendimiento de carne
T 0%	6.7 $\pm$ 0.11	88.3 $\pm$ 2.2	60.9 $\pm$ 2.0
T 7.5%	6.78 $\pm$ 0.09	84.4 $\pm$ 3.3	58.8 $\pm$ 2.6
T 15%	6.75 $\pm$ 0.11	86.7 $\pm$ 3.0	59 $\pm$ 3.4
T 22.5%	6.83 $\pm$ 0.07	86.7 $\pm$ 2.0	57.8 $\pm$ 2.3
¹ CRA: capacidad de retención de agua.			

Composición proximal

El Cuadro 7 muestra la composición proximal de cuerpo entero de *L. vannamei* alimentados durante siete semanas con distintos niveles de inclusión de BC en las dietas como reemplazo parcial y total de la harina de pescado. No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre cada uno de los tratamientos a excepción de la proteína, donde el T2-15% fue significativamente diferente a los demás tratamientos.

Cuadro 7. Composición proximal del camarón blanco del pacífico *L. vannamei*.

	Tratamiento			
	T 0%	T 7.5%	T 15%	T 22.5%
Proteína	72.60 ± 1.22	73.33 ± 0.56	66.96 ± 5.34	71.93 ± 0.91
Lípidos	3.87 ± 0.09	3.74 ± 0.22	4.12 ± 0.15	3.56 ± 0.25
Humedad	6.67 ± 0.27	6.72 ± 1.02	6.81 ± 0.10	6.35 ± 0.62
Cenizas	10.56 ± 0.15	11.53 ± 0.50	10.66 ± 0.44	11.60 ± 0.35
Se muestra en Cuadro el valor medio ± desviación estándar.				

Diversidad de Microbiota Intestinal

Tras la extracción de DNA de las muestras de intestinos de camarón, se detectaron un total de 252,802 OTUs (Operational Taxonomic Units). De los cuales, 108,929 son de los filos con mayor presencia en los tratamientos. Los filos *Proteobacteria* (79.49%), *Actinobacteria* (10.63%), *Bacteroidete* (4.50%) se identificaron en mayor cantidad en las OTU del tratamiento control y un 5.38% fueron secuencias no clasificadas (Figura 2).

Por otro lado, las familias *Moraxellaceae* (25.91%), *Rhizobiales* (13.24%), *Geminicoccus* (12.67%) y *Rhodobacteraceae* (11.90%) presentaron mayor proporción en la microbiota intestinal del camarón y un 12.36% fueron secuencias no clasificadas a este nivel taxonómico (familia). La porción de la microbiota accesoria (con abundancias <10%) fue representada por las familias *Rhodobiaceae* (7.24%), *Acidimicrobiaceae* (6.48%), *Flavobacteriaceae* (5.04%), *Cytophagales* (3.88%), *Demequinaceae* (1.18%) y *Flammeovirgaceae* (0.09%) (Figura 3).

En el T7.5%, se identificaron los filos: *Proteobacteria* (47.91%), *Bacteroidete* (36.67%) y *Actinobacteria* (12.13%) con mayores cantidades y, un 3.29% fue no clasificados (Figura 2). A nivel de familia, *Flavobacteriaceae* (39.05%) y *Rhodobacteraceae* (35.47%) fueron los OTUs dominantes. Mientras que un 9.62% fueron no clasificadas. Las familias que se presentaron en menor abundancia relativa (<10%) en el T7.5% fueron: *Demequinaceae* (4.73%), *Geminicoccus* (3.92%), *Acidimicrobiaceae* (2.85%), *Cytophagales* (2.16%),

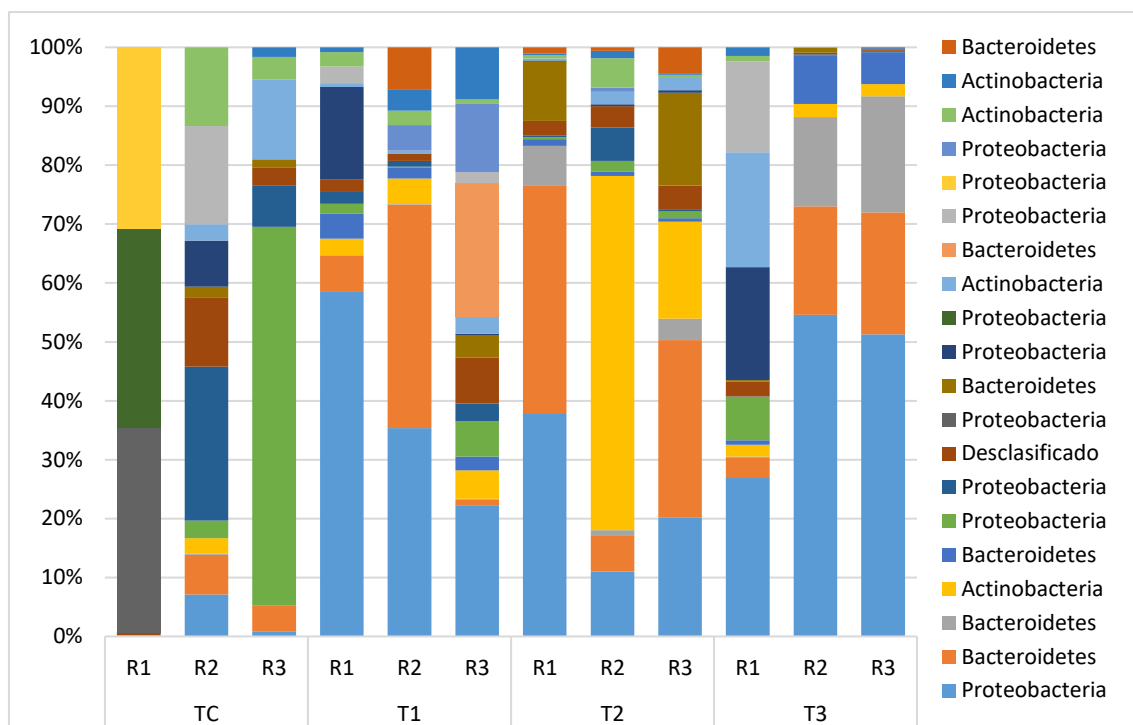


Figura 2. Filos con mayor abundancia de microbiota intestinal de *L. vannamei* alimentados con diferentes niveles de inclusión de bagazo de cebada como reemplazo parcial y total de la harina de pescado.

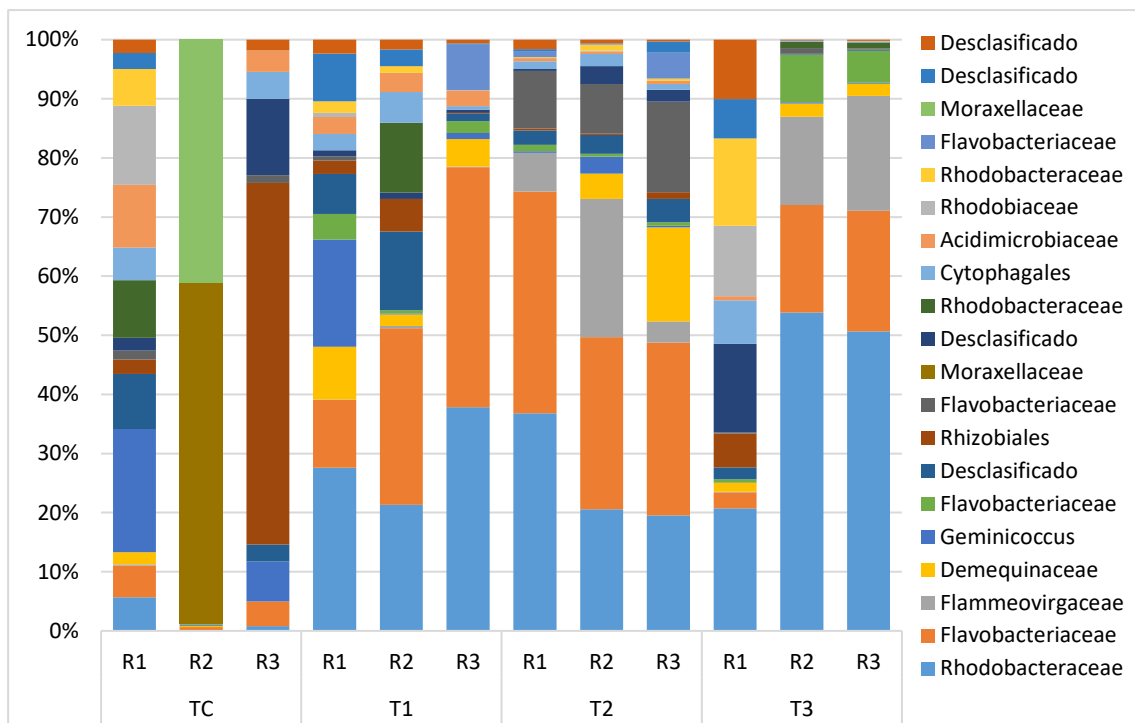


Figura 3. Familias con mayor abundancia de microbiota intestinal de *L. vannamei* alimentados con diferentes niveles de inclusión de bagazo de cebada como reemplazo parcial y total de la harina de pescado.

Rhizobiales (1.89%), *Flammeovirgaceae* (0.17%) y *Rhodobiaceae* (0.15%) (Figura 3).

En el T15%, el filo *Bacteroidete* (44.94%) mostró mayor abundancia, seguido de los filos *Proteobacteria* (con un 27.36%) y *Actinobacteria* (con un 24.27%). Un 3.43% fueron de filos no clasificados (Figura 2). A nivel de familia, *Flavobacteriaceae* (39.82%) y *Rhodobacteraceae* (29.92%) fueron los que mostraron mayor abundancia, seguido del filo, *Flammeovirgaceae* (con un 10.32%), *Demequinaceae* (con un 8.60%) y *Cytophagales* (1.51%) (Figura 3).

En el T22.5% el filo *Proteobacteria* fue el más abundante (55.22), seguido del filo *Bacteroidete* (39.19%). El filo *Actinobacteria* solamente se identificó en un 5.04% y un 0.54% fueron no clasificadas (Figura 2). Las bacterias de la familia *Rhodobacteraceae* tuvieron mayor abundancia, con un 50.65%, seguido de las familias *Flavobacteriaceae* (22.49%) y *Flammeovirgaceae* (14.60%). Las familias con una abundancia $\leq 10\%$ son *Demequinaceae* (2.03%), *Rhodobiaceae* (1.90%), *Cytophagales* (1.31%) y *Rhizobiales* (0.95%). Así como solo un 5.77% fueron no clasificadas (Figura 3).

El filo *Proteobacteria* (abundancia relativa promedio, 60.87%) fue el dominante en la mayoría de los tratamientos (T0% con 79.49%, T7.5% con 47.91% y T22.5% con 55.20%), a excepción del T15%, donde *Bacteroidete* tuvo la mayor abundancia (44.94%) dejando atrás al filo de *Proteobacteria* (27.36%).

Bacteroidete fue el segundo filo con mayor presencia en los tratamientos (abundancia relativa promedio 31.32%), seguido está *Actinobacteria* (abundancia promedio de 13.02%) y hay un 3.16% de filos no clasificados.

El T0% mostró menores valores y, por ende, menor riqueza de OTU's, mientras que el T7.5% es el que mostró una mayor riqueza, comparado con los demás tratamientos. Seguido se encuentra el T22.5% y el T15% (Figura 4).

La Figura. 5 muestra el índice de H, en el cual se detectó que el T7.5% mostró una mayor diversidad de especies bacterianas, mientras que el T0% mostró lo contrario, una menor diversidad.

Con lo anterior visto, el T0% mostró una menor riqueza y diversidad específica ($H > 3$), el T22.5% mostró una buena riqueza y una alta dispersión de datos, mientras que el T7.5%, seguido del T15% tuvieron valores mayores, tanto de riqueza como de biodiversidad, uniformidad y a su vez, menor dispersión de datos.

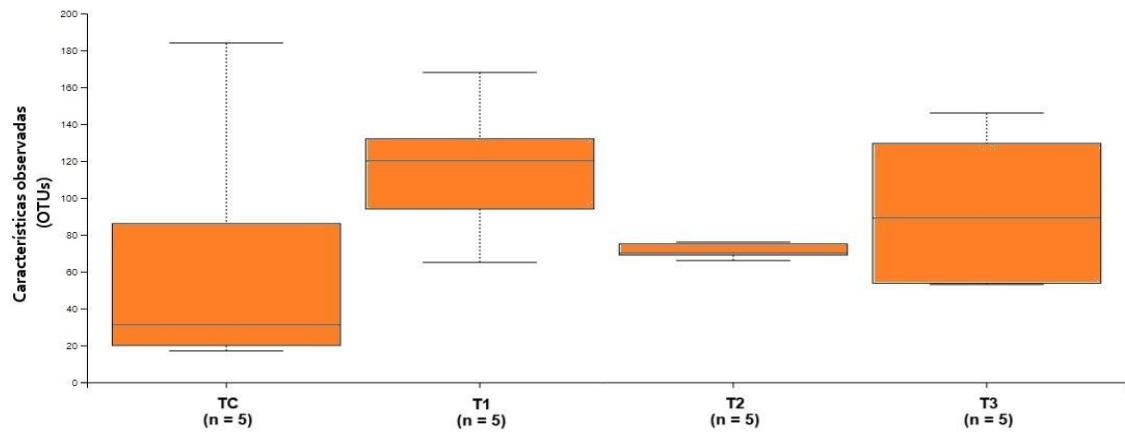


Figura 4. Riqueza promedio de Unidades Taxonómicas Operacionales (OTU's) de la comunidad microbiana presente en los intestinos del camarón blanco *L. vannamei*.

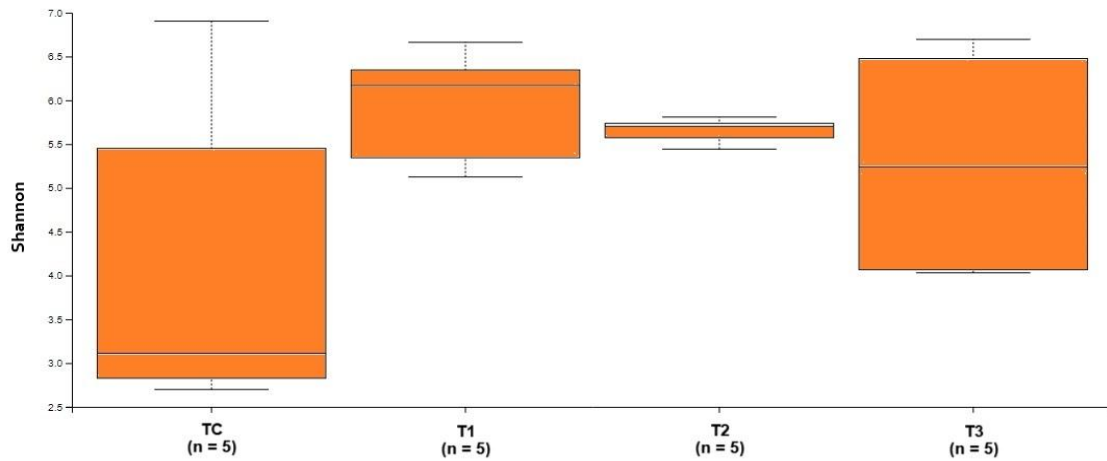


Figura 5. Índice de diversidad de Shannon-Weaver (H) de la comunidad microbiana presente en los intestinos del camarón blanco *L. vannamei*.

DISCUSIÓN

Al analizar la composición proximal del BC, se obtuvieron valores de 20% de proteína y 8% de lípidos, dentro de los rangos reportados por Zhang et al. (2021) (15–25% y 8–12%, respectivamente). Tras el procesamiento, los niveles aumentaron a 53.48% de proteína y 10% de lípidos. Se realizó además la separación de la fracción fibrosa, ya que no es digerible por los camarones y su exceso puede incrementar la producción de heces y afectar la eficiencia alimenticia y la calidad del agua (Naylor et al., 2009).

He et al. (2019) evaluaron métodos de separación fibra-proteína con hidróxido de sodio, bisulfito de sodio y la enzima alcalasa, encontrando que esta última fue la más eficiente (43.7% de proteína bruta). En este estudio se empleó únicamente agua destilada, seguida de incubación en húmedo y tamizado, obteniéndose un contenido proteico superior al reportado por esos autores. Esto demuestra que el proceso puede realizarse sin productos químicos, con mejores resultados y menor costo.

Según Mussatto et al. (2014), el bagazo de cerveza contiene entre 50% y 70% de fibra; sin embargo, tras el procesamiento se redujo a 27%, lo que sugiere una disminución significativa de su efecto negativo en camarones. Gatlin et al. (2007) señalan que ingredientes vegetales como la soya o la canola contienen antinutrientes que interfieren con la absorción de nutrientes, mientras que el BC presenta niveles insignificantes de estos compuestos (FEDNA, 2024). Por ello, su inclusión en la dieta no debería afectar los parámetros de crecimiento, posicionándolo como un sustituto viable de la HP.

Aunque el BC procesado presentó alto contenido proteico (53.48%), aún fue 17.7% menor que la HP (65%), lo que dificulta cubrir todos los requerimientos nutricionales sin combinar ingredientes. En este experimento se utilizó también harina de soya para equilibrar el contenido proteico. Estudios recientes recomiendan su uso como sustituto parcial de HP entre 5 y 25% (Xie et al., 2016), rango adoptado en este trabajo.

He et al. (2020) probaron un concentrado proteico de BC en dietas para juveniles de *L. vannamei* cultivados en agua de mar (35 ppt), complementado con harina de krill, ingrediente rico en proteínas y aminoácidos (Robaina, 1998), logrando resultados comparables a los obtenidos con HP. No obstante, el alto costo del krill limita su uso extensivo. En este estudio se optó por la harina de soya como fuente proteica secundaria, por ser más económica, lo que permitió formular una dieta sin HP basada exclusivamente en ingredientes vegetales.

El peso final y la supervivencia son los principales parámetros para evaluar el éxito de un cultivo acuícola (Palma-Cruz, 2015). En este estudio, los camarones alimentados con dietas experimentales elaboradas con BC no mostraron diferencias significativas en crecimiento respecto a los alimentados con la dieta control a base de HP. Los resultados evidencian una reducción importante en los costos de alimentación, ya que la dieta D22.5% utilizó como fuente principal de proteína subproductos cerveceros. Además, esta dieta presentó la mayor supervivencia (97%), frente al 72% registrado con la dieta D0%, una diferencia del 25%.

Diversos estudios han demostrado que la inclusión de subproductos cerveceros, como el BC, puede mejorar el rendimiento y la supervivencia en camarones. Freeman (1992) evaluó el uso de bagazo de caña de azúcar como fuente proteica en *L. vannamei*, obteniendo resultados positivos en sistemas semi-intensivos. De igual forma, Karlsen y Skov (2022) señalaron que el BC es una fuente potencial de proteína para la acuicultura, aunque requiere procesamiento previo para optimizar su valor nutricional. La mejora en la supervivencia observada en este trabajo podría atribuirse a la alta calidad proteica del BC hidrolizado, que aporta los nutrientes necesarios para el crecimiento y la salud de los organismos.

El reemplazo parcial o total de HP por ingredientes vegetales ha sido ampliamente evaluado en peces y camarones (Tidwell et al., 1993; Zhao et al., 2010; Bauer et al., 2012; Moreno-Arias et al., 2018). Lim y Dominy (1990) reportaron que hasta un 40% de proteína marina puede sustituirse por harina de soya sin afectar el crecimiento, aunque niveles mayores reducen la productividad. Suarez et al. (2009) y Sookying y Davis (2011) observaron resultados similares al emplear soya y canola como reemplazo parcial de HP en *L. vannamei*. En este experimento, la sustitución parcial y total de HP por BC hidrolizado no afectó los parámetros productivos, y la dieta con mayor inclusión de bagazo (22.5%) obtuvo la mayor supervivencia (97%). Estos resultados respaldan el potencial del BC como alternativa proteica, aunque se requiere mayor investigación comparativa bajo condiciones controladas.

Las tasas de crecimiento y supervivencia observadas con la sustitución total de HP son consistentes con lo reportado por Bauer et al. (2012), quienes reemplazaron la HP por concentrado proteico de soya y harina de flóculos microbianos sin efectos adversos, así como con Amaya et al. (2007), quienes también sustituyeron HP por harina de soya sin impacto negativo. Estos estudios refuerzan la viabilidad de emplear harinas vegetales o concentrados proteicos como sustitutos de la HP.

El crecimiento y la supervivencia de *L. vannamei* dependen de factores como la calidad del agua, el manejo higiénico y la calidad de los ingredientes (He et al., 2019). En este estudio, las dietas se formularon para mantener niveles óptimos de proteína y lípidos, además de controlarse los parámetros de calidad del agua y el manejo del alimento conforme a Avnimelech (2012), Emerenciano et al. (2017) y Crab et al. (2012). Por ello, la supervivencia observada puede atribuirse principalmente a las dietas experimentales y no a deficiencias en el manejo.

La sustitución progresiva de HP por BC hidrolizado coincidió con un aumento moderado de otras fuentes proteicas, como la harina de ave, lo que introduce un posible efecto confusor (Galkanda-Arachchige et al., 2019; Chaklader et al., 2020). Estas harinas poseen alta digestibilidad y un perfil aminoacídico favorable, por lo que su incremento pudo compensar la reducción de HP y mantener el crecimiento. Así, los resultados no se deben exclusivamente al BC, sino también al aporte complementario de la harina de ave.

El sistema biofloc introduce además un efecto compensador: los carbohidratos del BC favorecen la producción de biomasa microbiana utilizable como fuente de proteína, aminoácidos y otros nutrientes (Avnimelech, 2012; Crab et al., 2012; Emerenciano et al., 2017). En estos sistemas, una fracción considerable del requerimiento proteico puede ser cubierta por el biofloc, lo que explica por qué toleran mejor la reducción de HP que los sistemas convencionales (Kuhn et al., 2010; Emerenciano et al., 2017).

Otro aspecto relevante es el perfil lipídico. La HP es una fuente natural de DHA, y su eliminación requiere suplementación para evitar deficiencias funcionales. En este estudio se añadió DHA Natur (3%) en todas las dietas, lo que probablemente compensó la ausencia de HP y mantuvo niveles adecuados de ácidos grasos poliinsaturados (Emerenciano et al., 2017; Chaklader et al., 2020).

En conjunto, la interpretación más prudente es que la ausencia de efectos negativos al reemplazar HP por BC se debe a la interacción de tres factores: (i) el aporte complementario de harina de ave, (ii) la contribución proteica del biofloc, y (iii) la suplementación con DHA. Para precisar la contribución individual de cada uno, se recomienda realizar experimentos de sustitución controlada que varíen independientemente las proporciones de bagazo y harina de ave, a fin de asignar causalidad con mayor rigor (Avnimelech, 2012; Chaklader et al., 2020; Emerenciano et al., 2017).

Por otro lado, el pH es un parámetro clave en la calidad del producto para consumo humano (Hui et al., 2004). En este estudio no se observaron diferencias significativas ($p>0.05$) en el pH de la carne entre tratamientos después de dos meses de congelamiento, con una media general de 6.77, valor alejado del umbral crítico de 7.7 (Fatma-Hassan, 2011). López-Tarín (2015) reportó valores de pH de 6.08 y 6.04 en camarones frescos cultivados en agua de mar y de baja salinidad, respectivamente, incrementándose hasta 6.77 y 6.69 tras seis meses de congelación, lo que indica que el almacenamiento prolongado eleva el pH. De forma similar, Moawad et al. (2013) observaron un aumento de 6.6 a 7.5 bajo condiciones de congelamiento. Dicho incremento se asocia con la acumulación de compuestos alcalinos (trimetilamina, bases volátiles totales, aminas y amoníaco) producidos por enzimas endógenas y bacterias que mantienen actividad durante el almacenamiento en frío (Zeng et al., 2005; López-Tarín, 2015).

La capacidad de retención de agua (CRA) del músculo es otro indicador esencial de calidad, pues influye en la textura y jugosidad. En el camarón, alrededor del 75% del músculo es agua y el 85% de esta se asocia a las proteínas miofibrilares (Ramírez, 2010), por lo que una baja CRA implica pérdidas industriales significativas (Olsson, 2003). En este trabajo no hubo diferencias significativas ($p>0.05$) entre tratamientos, lo que sugiere que la sustitución de harina de pescado (HP) por bagazo de cebada (BC) no afectó la funcionalidad de las proteínas musculares, dependiente de la integridad miofibrilar y la interacción proteína-agua (Herrera et al., 2016; Xiao et al., 2020).

Diversos estudios indican que la CRA puede verse afectada por deficiencias de aminoácidos esenciales, lípidos o antioxidantes, generando estrés oxidativo y degradación proteica (Hu et al., 2013; Chen et al., 2021). En este caso, las dietas fueron isonitrogenadas e isolipídicas, con ajustes en las fuentes proteicas (harina de soya y de ave) que evitaron carencias nutricionales, lo que explica la estabilidad observada.

El rendimiento de carne fue de $59.1 \pm 1.3\%$, dentro del rango reportado por Jory (2012) (56–63%), sin diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos, pese a la sustitución progresiva de HP por BC hidrolizado. Esto sugiere que bajo cultivo en sistema biofloc y con dietas balanceadas, la inclusión de BC no compromete la proporción de tejido comestible, parámetro de alto valor productivo y económico (Santos et al., 2020).

El rendimiento de carne en crustáceos depende de la calidad proteica y del equilibrio energético de la dieta (Hu et al., 2013; Xu et al., 2019). Los resultados muestran que la sustitución de HP no alteró este rendimiento, evidenciando el potencial del BC como ingrediente alternativo viable. Aunque el bagazo crudo presenta alta fibra y baja digestibilidad (Mussatto et al., 2006), su hidrólisis mejora la disponibilidad de proteínas y carbohidratos, aumentando su valor nutritivo (Xiros & Christakopoulos, 2012). El hecho de que no se afectara el rendimiento confirma que el BC procesado puede incorporarse en dietas balanceadas sin comprometer la producción.

Además, la inclusión de otras fuentes proteicas (harina de soya y de ave) garantizó un aporte adecuado de aminoácidos esenciales (Amaya et al., 2007;

Zhou et al., 2016). Así, el BC hidrolizado se posiciona como un sustituto sustentable de la harina de pescado, reduciendo costos sin afectar la calidad del producto. El sistema biofloc pudo contribuir a la uniformidad de los resultados, al aportar nutrientes adicionales y mejorar la eficiencia alimenticia y la salud digestiva (Crab et al., 2012; Xu & Pan, 2014). En conjunto, el uso de dietas con BC hidrolizado y el cultivo en biofloc permitieron mantener un rendimiento estable y una calidad adecuada del camarón blanco.

La inclusión progresiva de BC hidrolizado en sustitución de la HP no generó diferencias significativas ($p > 0.05$) en la composición proximal (proteínas, lípidos, humedad y cenizas) de los camarones cultivados en sistema biofloc. Esto indica que, independientemente del nivel de reemplazo (7.5%, 15% o 22.5%), la composición corporal se mantuvo dentro de los rangos normales para *L. vannamei*, evidenciando que el BC puede emplearse como ingrediente alternativo sin comprometer el valor nutricional del producto final.

La proteína corporal, principal componente de la carne, se mantuvo estable entre 66.96% y 73.33% en base seca. Este resultado es relevante, ya que la proteína muscular determina la calidad y el valor comercial del camarón (Hu et al., 2013; Gong et al., 2018). La estabilidad observada sugiere que el proceso hidrolítico aplicado al BC mejoró la disponibilidad de nutrientes, evitando deficiencias proteicas durante el crecimiento. Estudios previos señalan que los subproductos industriales sometidos a hidrólisis enzimática presentan mayor digestibilidad y disponibilidad de aminoácidos (Mussatto et al., 2006; Xiros &

Christakopoulos, 2012), lo que explica la ausencia de efectos negativos en este parámetro.

El contenido de lípidos (3.56–4.12%) también se mantuvo dentro de los rangos esperados (Santos et al., 2020), indicando que el bajo aporte lipídico del BC no afectó la acumulación de grasa muscular. En sistemas biofloc, los organismos obtienen lípidos y ácidos grasos del consumo de flóculos microbianos, lo que probablemente contribuyó a la homogeneidad entre tratamientos (Xu & Pan, 2014; Crab et al., 2012).

En cuanto a la humedad (6.35–6.81%), no se observaron diferencias significativas. La estabilidad en este parámetro es fundamental, pues influye en la textura, jugosidad y capacidad de retención de agua (López-Tarín, 2015). La ausencia de variación indica que la integridad estructural del músculo no se vio afectada, lo cual favorece la calidad del producto final.

El contenido de cenizas (10.56–11.60%) se mantuvo similar entre tratamientos, reflejando una adecuada estabilidad mineral. Esto es relevante porque la sustitución de ingredientes marinos puede reducir el aporte de minerales esenciales como calcio, fósforo y magnesio (Tacon & Metian, 2015). En este caso, la combinación del BC hidrolizado con otras fuentes proteicas permitió cubrir los requerimientos minerales del camarón.

En conjunto, la estabilidad de la composición proximal en todos los tratamientos confirma el potencial del BC como ingrediente alternativo viable para *L. vannamei*. Además de mantener la calidad nutricional del producto, su uso

representa una estrategia sustentable al reducir la dependencia de la harina de pescado (Samocha et al., 2017) y aprovechar subproductos agroindustriales, contribuyendo así a la economía circular en la acuicultura (Xiros & Christakopoulos, 2012).

En concordancia con estos beneficios, los resultados del presente estudio muestran que la inclusión de BC como reemplazo parcial y total de la HP en las dietas de *L. vannamei* cultivado en biofloc influyó en la estructura de la diversidad de microbiota intestinal, manteniendo una composición diversa entre tratamientos. La mayor diversidad se observó en el T15% (2.955×10^7 OTUs) y la menor en el T7.5%, destacando la dominancia de los filos *Proteobacteria*, *Bacteroidete* y *Actinobacteria*. La presencia de *Proteobacteria* como filo dominante se asocia con funciones digestivas, absorción de nutrientes y protección frente a patógenos (Xiong et al., 2017). Este grupo incluye familias como *Moraxellaceae* y *Rhodobacteraceae* (Figura 3), relacionadas con el metabolismo del nitrógeno y la producción de metabolitos benéficos (García-López et al., 2019). De manera similar, *Proteobacteria* participa en el ciclado de nitrógeno y la mineralización de compuestos orgánicos (Kersters et al., 2006).

La abundancia de *Bacteroidetes* coincide con su papel en la degradación de polisacáridos y fibras vegetales (Salyers et al., 1977). Así, la inclusión de BC —rico en celulosa, hemicelulosa y β -glucanos— podría favorecer su proliferación (Mussatto et al., 2014), promoviendo la fermentación de fibras y la producción de ácidos grasos volátiles (Mussatto et al., 2006), que benefician la salud intestinal.

Este filo también suele encontrarse en los flóculos del sistema biofloc, al formar parte del bacterioplancton heterotrófico (Fernandez-Gómez et al., 2013).

Aunque en menor proporción, *Actinobacteria* también estuvo presente en los tratamientos. Este grupo destaca por su capacidad para producir metabolitos antimicrobianos (Barka et al., 2016) y su asociación con camarones sanos (Xiong et al., 2015). Los filos mencionados son predominantes en la microbiota de diversas especies de camarones (Wang et al., 2019) y han sido reportados en *L. vannamei* cultivado en biofloc (Deng et al., 2019), lo cual coincide con los resultados obtenidos.

Se observó que algunas familias bacterianas estaban ausentes en ciertos tratamientos y presentes en otros, lo que sugiere un posible reemplazo funcional entre grupos microbianos. Garibay-Valdez et al. (2019) reportaron perfiles funcionales similares en la diversidad de microbiota intestinal del camarón blanco pese a cambios taxonómicos inducidos por diferentes dietas, fenómeno que podría haberse repetido aquí. No obstante, futuras investigaciones con secuenciación metagenómica serían necesarias para confirmar las funciones microbianas.

Deng et al. (2019) también señalaron que la densidad poblacional influye en la diversidad microbiana, tanto del biofloc como del intestino, de modo que una mayor densidad podría explicar parte de la variabilidad observada entre tratamientos en función de la supervivencia final. Asimismo, la composición de la dieta puede modular la diversidad de microbiota intestinal (Kumar et al., 2023). Por ejemplo, Zhang et al. (2014) reportaron incrementos en *Rhodobacteraceae* y

reducciones en *Aeromonadaceae* y *Enterobacteriaceae* con dietas lipídicas, mientras que Qiao et al. (2017) observaron que dietas altas en carbohidratos favorecieron a *Rhodobacteraceae*, *Lachnospiraceae* y *Desulfovibrio*.

Dado que la colonización microbiana depende de las condiciones fisicoquímicas intestinales, como el pH y la disponibilidad de nutrientes (Engel & Moran, 2013), cualquier desequilibrio podría provocar proliferación de patógenos oportunistas (Nakanishi et al., 2003). Sin embargo, en este estudio no se detectaron alteraciones ni sobrepoblaciones patogénicas que afectaran a los organismos.

El sistema biofloc desempeñó un papel clave en la estructura microbiana intestinal, ya que los camarones consumen constantemente flóculos microbianos que incluyen bacterias, algas y protozoarios (Crab et al., 2012), lo que favorece la presencia de familias como *Flavobacteriaceae* y *Rhodobacteraceae* (Deng et al., 2020).

Proponemos que el incremento de *Flavobacteriaceae* observado se discuta como una posible respuesta prebiótica al bagazo de cebada —mediada por β -glucanos/fibras— que interactúa con el aporte microbiano del biofloc, y que esta interpretación se presente con la debida cautela por tratarse de una inferencia basada en patrones taxonómicos y literatura previa. Estudios recientes en *L. vannamei* (Shen et al., 2023; Qiao et al., 2024) y otros peces (Yu et al., 2025; Hasan and Abdulhadi, 2023), confirman que la suplementación con β -glucanos puede modular la diversidad de microbiota intestinal y mejorar

parámetros de salud, lo cual hace razonable esta interpretación dentro de las limitaciones de nuestro diseño.

En conjunto, los resultados sugieren que la sustitución de HP por BC no alteró negativamente a la diversidad de microbiota intestinal, sino que mantuvo un perfil bacteriano diverso y funcionalmente estable. Este hallazgo es relevante, ya que los ingredientes vegetales pueden modificar la diversidad de microbiota y afectar el desempeño de los organismos (Ringo et al., 2016). En este caso, la fibra y compuestos fermentables del BC, junto con el aporte nutricional del biofloc, sostuvieron una diversidad benéfica sin comprometer la salud intestinal del camarón.

CONCLUSIÓN

El presente estudio demostró que el BC hidrolizado puede ser empleado como una fuente proteica alternativa viable en la formulación de dietas para juveniles de *L. vannamei* cultivados bajo sistema biofloc, sin afectar negativamente los parámetros productivos, hematológicos ni la composición proximal de los organismos. La inclusión del BC hasta niveles de 22.5% permitió mantener el crecimiento, la conversión alimenticia y la supervivencia sin diferencias significativas respecto al grupo control alimentado con HP, lo que evidencia su viabilidad nutricional y funcional como sustituto parcial o total de la HP.

El proceso de hidrólisis aplicado al bagazo permitió incrementar su contenido proteico hasta 53.48% y reducir la fracción fibrosa, mejorando la biodisponibilidad de nutrientes. Este tratamiento sencillo y libre de reactivos químicos resultó eficaz para transformar un subproducto agroindustrial en un ingrediente con alto valor nutricional y potencial de uso en la acuicultura. La composición proximal del camarón (proteína, lípidos, humedad y cenizas) se mantuvo estable en todos los tratamientos, confirmando que las dietas fueron nutricionalmente equilibradas y capaces de satisfacer los requerimientos fisiológicos de los organismos.

Asimismo, la estructura de microbiota intestinal se mantuvo diversa y funcionalmente estable, dominada por los filos *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* y *Actinobacteria*, asociados con procesos digestivos, metabólicos y de defensa frente a patógenos. El reemplazo de la HP por BC hidrolizado no alteró

negativamente esta composición, indicando una adecuada adaptación intestinal a las dietas experimentales. El sistema biofloc desempeñó un papel determinante al favorecer la estabilidad microbiana, proporcionando una fuente adicional de microorganismos y metabolitos que contribuyeron al equilibrio intestinal, a la salud general y a la eficiencia alimenticia de los camarones.

En conjunto, los resultados confirman que el BC hidrolizado utilizada como principal fuente de proteína, seguido de la harina de ave y DHA, bajo un sistema biofloc, puede reemplazar parcial o totalmente la HP en la dieta de *L. vannamei* sin comprometer el rendimiento productivo, la calidad del producto ni la salud intestinal de los organismos. Se recomienda para estudios futuros evaluar de forma independiente la contribución del BC, la harina de ave, el biofloc y la suplementación con DHA, a fin de determinar con precisión su impacto individual sobre los parámetros de crecimiento, supervivencia y microbiota.

LITERATURA CITADA

- Aliyu, S. and Bala, M. 2011. Brewer's spent grain: A review of its potentials and applications. *African Journal of Biotechnology*, 10(3), 324–331.
- Amaya, E., Davis, D. A., and Rouse, D. B. 2007. Alternative diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 262(2-4), 419–425.
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis* (15th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Volumen II. Edited by Kenneth Herlich. 1995: 777-778.
- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis of AOAC International* (18th ed.). AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
- Avnimelech, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176: 227–235.
- Avnimelech, Y., and M. Kochba. 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using ^{15}N tracing. *Aquaculture* 287 (2009) 163–168.
- Avnimelech, Y. 2012. *Biofloc Technology: A Practical Guide Book* (2nd ed.). Baton Rouge: The World Aquaculture Society.
- Avnimelech, Y. 2015 – Biofloc Technology, A Practical Guide Book. Third Edition. p 28.
- Aquafeeds. 2024. Consideraciones para ingredientes alternativos en alimentos acuicolas. Disponible en: <https://www.globalseafood.org/>. Accessed Oct. 02, 2024.

- Azim, M. and Little, D. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition and growth and welfare of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283: 29-35.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., and Clément, C. 2016. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1-43.
- Bauer, W., C. Prentice-Hernandez, M. Borges, Tesser, W. Wasielesky, Jr. W. and L. H. S. Poersch. 2012. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *P. vannamei*. *Aquaculture* 342–343:112–116.
- Bianchi MAG, Bianchi AJM (1982) Statistical sampling of bacterial strains and its use in bacterial diversity measurement. *Microb Ecol* 8(1):61–69.
- Bioaquafloc. 2023. ¿Qué es Biofloc? Disponible en: <https://www.bioaquafloc.com/que-es-biofloc/>. Accessed May. 07, 2023.
- Cai, Y., H. Huang, W. Yao, H. Yang, M. Xue, X. Li and X. Leng. 2022. Effects of fish meal replacement by three protein sources on physical pellet quality and growth performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Reports* 25 (2022) 101210.
- Calcaterra F. 2021. Utilización del bagazo de la industria artesanal de cerveza en alimentación caprina. Evaluación de parámetros ruminales y digestibilidad del tracto total. Tesis de Ingeniería. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de la Plata. Argentina.

- Cardona, E., D. Saulnier, B. Lorgeoux, L. Chim. and Y. Gueguen. 2015. Rearing effect of biofloc on antioxidant and antimicrobial transcriptional response in *Litopenaeus stylirostris* shrimp facing an experimental sub-lethal hydrogen peroxide stress. *Fish & Shellfish Immunology* 45: 933-939.
- Carrillo, F. O. and R. González. 2000. Control de la digestión en camarones. Grupo de Biotecnología Marina, Departamento de Bioquímica y Centro de Investigaciones Marinas, Universidad de la Habana, Cuba. p 138-148.
- Chaklader, M. R. 2020. Total replacement of fishmeal with poultry by-product meal supplemented with methionine in aquafeeds: effects on growth and health. *Scientific Reports / or PLoS/PMC article*.
- Chakraborty, P., Mallik, A., Sarang, N. and Lingam, S. S. 2019. A review on alternative plant protein sources available for future sustainable aqua feed production. *International Journal of Chemical Studies*, 7(3), 1399–1404.
- Chen, K., Li, E., Xu, C., Wang, X., Lin, H., Qin, J. G. and Chen, L. 2021. Dietary protein requirement of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in low salinity culture systems. *Aquaculture*, 535, 736370.
- Cornejo-Granados, F., Lopez-Zavala, A. A., Gallardo-Becerra, L., Mendoza-Vargas, A., Sánchez, F., Vichido, R. and Ochoa, Leyva, A. 2017. Microbiome of Pacific whiteleg shrimp reveals differential bacterial community composition between wild, aquacultured and AHPND/EMS outbreak conditions. *Scientific Reports*, 7, 11783.

- Crab, R., T. Defoirdt, P. Bossier and W. Verstraete. 2012. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture* 356–357: 351–356.
- Das R. S. and Banerjee E. R. 2016. Nutraceutical-prophylactic and Therapeutic Role of Functional Food in Health. *J Nutr Food Sci* 6: 527.
- Deng, Y., Mai, K., Ai, Q., Zhang, W., Tan, B., Xu, W., and Liufu, Z. 2020. Characterization of the intestinal microbiota in biofloc-reared *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 518, 734783.
- De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N. and Verstraete, W. 2008. The basics of bioflocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture*. 277, 125-137.
- Duarte. C. M., M. Holmer, Y. Olsen, D. Soto, N. Marbá, J. Guiu, K. Black and I. Karakassis, 2009. Will the oceans help feed humanity? *BioScience* 59:467-976.
- Ebeling, J. M., M. B. Timmons, and J. J. Bisogni. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic control of ammonia-nitrogen in aquaculture production systems. *Aquaculture* 257, 346–358.
- Ekasari, J., M. H. Azhar, E. H. Surawidjaja, S. Nuryati, P. D. Schryver and P. Bossier. 2014. Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. *Fish & Shellfish Immunology* 41; 332-339.
- Emerenciano, M., Gaxiola, G., and Cuzon, G. 2017. Biofloc technology (BFT): A review for aquaculture application and animal food industry. In G. Ray & A. P. Kumar (Eds.), *Biotechnology and Animal Husbandry* (pp. 301–328).

- Emerenciano, M. G. C., Gaxiola, G., and Cuzon, G. 2021. Biofloc technology (BFT): A review for aquaculture application and animal food production. *Frontiers in Marine Science*, 8, 1–17.
- Emerenciano, M. G. C., A. N. Rombenso, F. d. N. Vieira, M. A. Martins, G. J. Coman, H. H. Truong, T. H. Noble and C. J. Simon. 2022. Intensification of Penaeid Shrimp Culture: An Applied Review of Advances in Production Systems, Nutrition and Breeding. *Animals*, 12, 236.
- Engel, P. and N. A. Moran. 2014. The gut microbioma of insects – diversity in structure and function. *FEMS (Fed. Eur. Microbiol. Soc.) Microbiol. Rev.* 37 (2013) 699–735.
- Estévez, A., L. Padrell, B. Inarra, M. Orive, and D. San Martin. 2021. Brewery by-products (yeast and spent grain) as protein sources in gilthead seabream (*Sparus aurata*) feeds. *Aquaculture* 543; 736921.
- Fajardo, V. B. 2022. Incorporación de subproductos orujo de aceituna y bagazo de cerveza en el pienso de cerdos de cebo: Efecto sobre la ingestión, rendimiento productivo y emisiones de gases. Tesis de Ingeniería. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y el Medio Natural. Valencia, España.
- FAO. 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome: FAO.
- FAO. 2018. The state of world fisheries and aquaculture - Meeting the sustainable development goals. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO, Rome.

FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome.

FAO. 2022. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura, 2022. Disponible en [Utilización y elaboración de la producción pesquera y acuícola \(fao.org\)](https://www.fao.org/publications/default.asp?lang=es&_id=5d94121d&_sk=5d94121d). Accessed sep. 13, 2023.

FEDNA. 2023. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Bagazo de Cerveza en Húmedo. Disponible en [Bagazo de cerveza húmedo | FEDNA \(fundacionfedna.org\)](https://www.fundacionfedna.org/). Accessed May. 02, 2023.

FEDNA. 2023. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Harina de pescado, 70/9/13. Disponible en [Harina de pescado, 70/9/13 | FEDNA \(fundacionfedna.org\)](https://www.fundacionfedna.org/). Accessed May. 03, 2023.

Ferrari, J. L., S. Villagra, S. Claps and P. Tottonel. 2016. Reutilización de bagazo de cebada cervecera por secado y pelletización como suplemento forrajero. ResearchGate, N°67; 43-46.

Ferrari, J. L., S. Villagra, V. Caballero, S. Deluchi and L. Orden. 2019. Utilización de bagazo de cebada y pellets reformulados con maíz. ResearchGate, N°72; 32-35.

Folch J., M. Lees and G. H. Stanley. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 1957; (226):497-509.

Folch, J., Lees, M., and Sloane Stanley, G. H. 1965. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497–509.

- Freeman, D. W. 1992. Use of bagasse as a feed input to semi-intensive shrimp culture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 23(1), 23–28.
- Furtado, P.S., C.A.P. Gaona, L.H.S. Poersch and Jr. W. Wasielesky. 2014. Application of different doses of calcium hydroxide in the farming shrimp *Litopenaeus vannamei* with the biofloc technology (BFT). *Aquac. Int.* 22, 1009–1023.
- García-López, R., Cornejo-Granados, F., Lopez-Zavala, A. A., Sánchez, F., and Ochoa-Leyva, A. 2019. Metagenomic insights into the gut microbiota of farmed shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed different diets. *Microbial Ecology*, 77(3), 796–809.
- Gaona, C.A.P., D. Krummenauer, A. Freitas, M.H.C. Miranda, L.H.S. Poersch, and Jr. W. Wasielesk. 2014. Ammonia addition enhances microbial flocs in nursery phase for Pacific white shrimp. *Glob. Aquac. Advocate* 66–68.
- Gatlin D. M. III, and Hardy R. W. 2002. *Aquaculture and the Environment in the United States*, ed Tomasso JR (U.S. Aquaculture Society, Baton Rouge, LA), pp 155–165.
- Gatlin, D. M., F. T. Barrows, P. Marrón, K. Dabrowski, T. G. Gaylord, R. W. Hardy, E. Herman, G. Hu, A. Krogdahl, R. Nelson, K. Overturf, M. Rust, W. Sealey, D. Skönberg, E. J. Souza, D. Stone, R. Wilson and E. Wurtele. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquac. Res.* 38, 551–579.
- Giatsis, C., Sipkema, D., Smidt, H., Heilig, H., Benvenuti, G., Verreth, J., and Verdegem, M. 2015. The impact of rearing environment on the development of gut microbiota in tilapia larvae. *Sci. Rep.* 5, 18206.

- Glencross, B. D., D. Huyben and J. W. Schrama. 2020. The Application of Single-Cell Ingredients in Aquaculture Feeds-A Review. *Fishes*, 5, 22.
- Gonçalves, A. A., M. G. C. Emerenciano, F. d. A. Silva and J. d. R. Soares. 2019. The inclusion of fish silage in *Litopenaeus vannamei* diets and rearing systems (biofloc and clear-water) could affect the shrimp quality during subsequent storage on ice? *Aquaculture* 507: 493-499.
- Gong, Y., Huang, G., Wang, H., and Wang, J. 2018. Relationship between body composition and edible meat yield in shrimp. *Aquaculture Research*, 49(6), 2221–2229.
- Han, F., J. Qian, Y. Qu, Z. Li, H. Chen, C. Xu, H. Zhang, J. G. Qin, L. Chen and E. Li. 2022. Partial replacement of soybean meal with fermented cottonseed meal in a low fishmeal diet improves the growth, digestion and intestinal microbiota of juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports* 27: 101339.
- He, Y., D. D. Kuhn, J. A. Ogejo, S. F. O’Keefe, C. Fernández, B. D. Wiersema, Q. Jin, D. Yu and H. Huang. 2019. Wet fractionation process to produce high protein and high fiber products from brewer’s spent grain. *Food and Bioproducts Processing*, 117: 266–274.
- He, Y., O. A. Galagarza, H. Wang, Z. W. Taylor, C. S. Fergurson, J. A. Ogejo, S. F. O’Keefe, C. F. Fraguas, D. Yu, N. E. Poe, B. D. Wiersema, D. D. Kuhn and H. Huang. 2020. Protein-rich product recovered from brewer's spent grain can partially replace fishmeal in diets of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*.

- Hossein, K. M., A. Mohammadi and M. G. C. Emerenciano. 2022. Microorganisms in biofloc aquaculture system. *Aquaculture Reports*, 26: 101300.
- Hossein, K. M., M. T. Mozanzadeh, M. Sharifinia and M. G. C. Emerenciano. 2023. Biofloc: A sustainable dietary supplement, nutritional value and functional properties. *Aquaculture*, 562: 738757.
- Hu, Y., Tan, B., Mai, K., Ai, Q., and Zhang, W. 2013. Dietary protein levels and growth performance of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 19(6), 701–708.
- Hu, X., Yang, H. L., Yan, Y. Y., Zhang, C. X., Ye, J. D., Lu, K. L., and Sun, Y. Z. 2019. Effects of fructooligosaccharide on growth, immunity and intestinal microbiota of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed diets with fish meal partially replaced by soybean meal. *Aquaculture Nutrition*, 25(1), 194–204.
- Huang, L., Guo, H., Chen, C., Huang, H., Chen, W., Bao, F., Liu, W., Wang, S. and Zhang, D. 2020. The bacteria from large-sized bioflocs are more associated with the shrimp gut microbiota in culture system. *Aquaculture* 523 (2020) 755159.
- Huang, H.-H., T. Luo, Y.-J. Lei, W.-Q. Kuang, W.-Z. Zou and P.-H. Yang. 2021. Water quality, shrimp growth performance and bacterial community in a reusing-water biofloc system for nursery of *Penaeus vananmei* rearing under a low salinity condition. *Aquaculture Reports*, 21: 100894.
- Huang, H.-H., C.-Y. Li, Y. Song, Y.-J. Lei and P.-H. Yang. 2022. Growth performance of shrimp and water quality in a freshwater biofloc system with a salinity of 5.0‰: Effects on inputs, costs and wastes discharge during grow-out culture of *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultural Engineering*, 98: 102265.

- IFFO. 2006. Fishmeal industry overview. International Fishmeal and Fish Oil Organization. www.iffo.org.
- IFFO. 2020. The marine ingredients organisation. The status of forage fish. Disponible en [The status of forage fish | IFFO - The Marine Ingredients Organisation](#).
- INAPESCA. 2013. Instituto Nacional de Pesca, Acuicultura del Camarón Blanco del Pacífico. Disponible en <https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/acuicultura-camaron-blanco-del-pacifico>. Accessed Abr. 25, 2023.
- INAPESCA. 2016. Instituto Nacional de Pesca, ¿Qué es el Sistema Bio-Floc?, disponible en: <https://www.gob.mx/inapesca/articulos/que-es-el-sistema-bio-floc>. Accessed Abr. 25, 2023.
- INAPESCA. 2018. Instituto Nacional de pesca, Acuicultura del Camarón Blanco del Pacífico. Disponible en [Acuicultura Camarón blanco del Pacífico | Instituto Nacional de Pesca | Gobierno | gob.mx \(www.gob.mx\)](#). Accessed May. 1, 2023.
- Jabaloyas, I. A. 2022. Efecto de la inclusión de bagazo de cerveza en dietas de cerdos sobre las emisiones de metano del purín. Tesis de Ingeniería. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.
- Jobling, M. 2001. *Nutrient partitioning and the influence of feed composition on body composition*. In D. Houlihan, T. Boujard, & M. Jobling (Eds.), *Food intake in fish* (pp. 354–375). Blackwell Science.
- Karlsen, O., and Skov, M. 2022. Potentials and limitations of utilising brewer's spent grain as a protein source in aquaculture feeds. *Aquaculture Research*.

- Kasan, N. A., N. A. Ghazali, M. Ikhwanuddin and Z. Ibrahim. 2017. Isolation of potential bacteria as inoculum for biofloc formation in Pacific whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* culture ponds. Pak. J. Biol. Sci., 20: 306-313.
- Kaur, U. I. and P. K. Saxena. 2003. Incorporation of brewery waste in supplementary feed and its impact on growth in some carps. Bioresource Technology 91: 01–104.
- Kendal, N.T. 1994. Barley and malt. in: Hardwick, W.A. (Ed.), Handbook of Brewing. Marcel Dekker, New York, pp. 109–120.
- Kuhn, D. D., Lawrence, A. L., Boardman, G. D., Patnaik, S., Marsh, L., and Flick, G. J. 2010. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 303, 28–33.
- Kumar, V., Abbas, S., and Ahmad, I. 2020. Biofloc-based enhanced survival and growth of *Litopenaeus vannamei* with improved immunity against *Vibrio* infection. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1–13.
- Levy, M., Blacher, E., and Elinav, E. 2017. Microbiome, metabolites and host immunity. *Curr. Opin. Microbiol.* 35, 8–15.
- Lewis, M. J., and Young, T.W., 1995. Barley. Brewing. Chapman & Hall, London, pp. 36–47.
- Li, X., X. Zhang, W. Yao and X. Leng, 2023. Dietary effects of cottonseed protein concentrate substituting fishmeal on the growth and flesh quality of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Reports* 29: 101482.

- Liao, Z., Y. Gong, W. Zhao, X. He, D. Wei and J. Niu. 2022. Comparison effect of *Rhodobacter sphaeroides* protein replace fishmeal on growth performance, intestinal morphology, hepatic antioxidant capacity and immune gene expression of *Litopenaeus vannamei* under low salt stress. *Aquaculture*, 547: 737488.
- Lim, C. and Dominy, W. 1990. Evaluation of soybean meal as a replacement for marine animal protein in diets for shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* 87, 53–63.
- Lopez-Tarin. F. B. 2015. Atributos de calidad del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado en agua de baja salinidad y en agua marina, durante el almacenamiento congelado. Tesis de Doctorado. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Baja California. Mexicali, Baja California. México.
- Lovell, T. 1993. Fish nutrition in aquaculture. Dept. of Fisheries and Allied Aquaculture, pp 115-222.
- Lunelli, B. S. A., T. Calvete and L. Amaral, F. 2022. Potential applications of brewery spent grain: Critical an overview. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 10; 106951.
- L.PERNIA, 2023. El bagazo o cebadilla de cerveza en rumiantes. Disponible en <https://lpernia.com/blog/el-bagazo-o-cebadilla-de-cerveza-en-rumiantes>. Accessed Nov. 5, 2023.
- Macleod, AM. 1979. La fisiología del malteado, en: Pollock, JRA (Ed.), *Brewing Science*, vol. 1. Academic Press, Nueva York, págs. 145–232.
- Mariscal-Lagarda, M. M., F. Páez-osuna, J. L. Esquer-Méndez, I. Guerrero-Monroy, Alonso-Romo, d. V., K. Y. Brito-Solano, D. N. López-Pérez and R. Alonso-

- Rodríguez, R. 2013. Water quality in an integrated culture of White shrimp (*Litopenaeus vannamei*)-tomato (*lycopersicon esculentum*) using low salinity groundwater in Sonora, México. *Expl Agric*. 50: 306–319.
- Martínez-Córdova, L. R., Emerenciano, M., Miranda-Baeza, A., and Martínez-Porchas, M. 2017. Microbial-based systems for aquaculture of fish and shrimp: An updated review. *Reviews in Aquaculture*, 9(2), 205–222.
- Mohammad, H. K., M. T. Mozanzadeh, M. Sharifinia and M. G. C. Emerenciano. 2023. Biofloc: A sustainable dietary supplement, nutritional value and functional properties. *Aquaculture* 562: 738757.
- Montero P, G. M. Gómez and J. Borderías. 1996. Influencia de la subespecie, estacionalidad y procedimientos de estabilización en la aptitud gelificante del músculo de sardina (*Sardina pilchardus*) congelado. *Food Sci Technol Int* 1996; (2): 111-122.
- Mussatto, S. I. and C. R. Ines. 2006. Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. *J Chem Technol Biotechnol* 81:268–274.
- Mussatto, S. I., G. Dragone and I. C. Roberto. 2006. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science* 43 (2006) 1–14.
- Mussatto, S. I. 2014. Brewer's spent grain: a valuable feedstock for industrial applications. *J Sci Food Agric*. 94: 1264–1275.
- Mussatto, S. I., Dragone, G., and Roberto, I. C. 2020. Brewer's spent grain: Generation, characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science*, 51(1), 1–9.

- Muzinic, L. A., K. R. Thompson, A. Morris, C. D. Webster, D. B. Rouse and L. Manomaitis. 2004. Partial and total replacement of fish meal with soybean meal and brewer's grains with yeast in practical diets for Australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture* 230 (2004) 359 – 376.
- Nakanishi, S., K. Takaoka, T. Kuwahara, and Y. Ohnishi. 2003. Effects of high amylose maize starch and *Clostridium butyricum* on microbiota and formation metabolism in colonic of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in the rat colon, *Microbiol. Immunol. Microbiol. Immunol.*, 47(12), 951–958.
- Naylor, R. L., R. W. Hardy, D. P. Bureau, A. Chiu, M. Elliott, A. P. Farrell, I. Forster, D. M. Gatlin, R. J. Goldberg, K. Hua and P. D. Nichols. 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources. vol. 106: 15103–15110.
- Nunes, A. J. P., L. L. Dalen, G. Leonardi and L. Burri. 2022. Developing sustainable, cost-effective and high-performance shrimp feed formulations containing low fish meal levels. *Aquaculture Reports* 27 (2022) 101422.
- Olsen, R. L. and Hasan, M. R. 2012. A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends in Food Science & Technology* 27:120-128.
- Paripatananont, T., Boonyaratpalin, M., Pengseng, P. and Chotipuntu, P. 2001. Substitution of soy protein concentrate for fishmeal in diets of tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research* 32, 369–374.

- Ray, A. J. and J. M. Lotz. 2017. Comparing salinities of 10, 20, and 30‰ in intensive, commercial-scale biofloc shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production systems. *Aquaculture* 476: 29-36.
- Ray, G. W., Yang, Q., Tan, B., Dong, X., Chi, S., Liu, H., and Zhang, S. 2021. Effects of replacing fishmeal with dietary wheat gluten meal (WGM) on growth, serum biochemical indices, and antioxidative functions, gut microbiota, histology and disease resistance for juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Animal Feed Science and Technology* 281: 115090.
- Raza, B., Ashraf, M., and Tariq, M. 2024. Microbes and their effect on growth performance of *Litopenaeus vannamei* in biofloc technology systems: A review. *Microorganisms*, 12(2), 233–247.
- Reinold, MR. 1997. Manual práctico de cervejaria, primera ed. Adén Editora e Comunicac,ões Ltda, São Paulo. 214 págs.
- Ringø, E., Zhou, Z., Vecino, J. L. G., Wadsworth, S., Romero, J., Krogdahl, Å., and Merrifield, D. L. 2016. Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. *Aquaculture Nutrition*, 22(2), 219–282.
- Robertson, J. A., K. J. A. I´Anson, J. Treimo, C. B. Faulds, T. F. Brocklehurst, V. G. H. Eijnsink and K. W. Waldron. 2010. Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. *LWT - Food Science and Technology* 43:890–896.
- Rooks, M.G., and Garrett, W.S. 2016. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 16, 341.

- Rungrassamee, W., Klanchui, A., Maibunkaew, S., Chaiyapechara, S., Jiravanichpaisal, P., and Karoonuthaisiri, N. 2014. Characterization of intestinal bacteria in wild and domesticated adult black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *PLoS ONE*, 9(3), e91853.
- Santos, V. H. G., Nunes, A. J. P., and Sabry-Neto, H. 2020. Effect of dietary protein and lipid levels on growth performance and body composition of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 26(1), 107–117.
- Salze, G., Mclean, E., Battle, P.R., Schwarz, M.H., and Craig, S.R. 2010. Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture* 298, 294–299.
- Salys, A. A., Vercellotti, J. R., West, S. E., & Wilkins, T. D. 1977. Fermentation of mucins and plant polysaccharides by anaerobic bacteria from the human colon. *Applied and Environmental Microbiology*, 34(5), 529–533.
- Santos, V. H. G., Nunes, A. J. P., and Sabry-Neto, H. 2020. Effect of dietary protein and lipid levels on growth performance and body composition of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 26(1), 107–117.
- Samocha, T. M., A. L. Lawrence, C. A. Collins, F. L. Castille, W. A. Bray, C. J. Davies, P. G. Lee and G. F. Wood. 2004. Production of the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in high-density greenhouse-enclosed raceways using Low salinity groundwater. *J. of app. Aquacult.* 15:3-4, 1-19.

- Samocha, T. M., Prangnell, D. I., Hanson, T., and Treece, G. D. 2017. Development of environmentally friendly diets for white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *North American Journal of Aquaculture*, 79(1), 42–54.
- Schneider, O., V. Sereti, E. H. Eding, and J. A. J Verreth. 2005. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 32: 379–401.
- Shao, J., B. Wang, M. Liu, K. Jiang, L. Wang and M. Wang. 2019. Replacement of fishmeal by fermented soybean meal could enhance the growth performance but not significantly influence the intestinal microbiota of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 504: 354-360.
- Sookying, D. and Davis, D.A., 2011. Use of soy protein concentrate in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared under field conditions. *Aquaculture International*.
- Srinivasan S., L. Y. Xiong, P. S. Blanchard and H. J. Tidwell. 1997. Physicochemical changes in prawns (*Machrobrachium rosenbergii*) subjected to multiple freezethaw cycles. *J Food Sci*; 62(1): 123-127.
- Statista, 2021. Ranking de los países líderes en producción de cerveza en el mundo en 2021(en millones de hectolitros). Disponible en [Cerveza: líderes producción mundial en 2021 | Statista](#). Acces abr. 24, 2023.
- Statista, 2023. Beer production worldwide from 1998 to 2021 (in billion hectoliters). Disponible en [Worldwide beer production 2021 | Statista](#). Accessed may. 1, 2023.

- Suárez, J.A., Gaxiola, G., Mendoza, R., Cadavid, S., Garcia, G., Alanis, G., Suárez, A., Faillace, J., and Cuzon, G. 2009. Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aqua culture* 289, 118–123.
- Tacon A. G. J., M. R. Hasan and R. P. Subasinghe. 2006. Use of fisheries resources as feed inputs to aquaculture development: Trends and policy implications. Food and Agriculture Organization, Rome. FAO Fisheries Circular 1018.
- Tacon, A. G. J., and Metian, M. 2015. Feed matters: Satisfying the feed demand of aquaculture. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 23(1), 1–10.
- Thitamadee, S., Prachumwat, A., Srisala, J., Jaroenlak, P., Salachan, P.V., Sritunyalucksana, K., Flegel, T. W., and Itsathitphaisarn, O. 2016. Review of current disease threats for cultivated penaeid shrimp in Asia. *Aquaculture* 452, 69-87.
- Tidwell, J.H., Webster, C.D., Yancey, D.H. and D'abramo, L.R. 1993. Partial and total replacement of fish meal with soybean meal and distillers' by-products in diets for pond culture of the freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Aquaculture* 118, 119–130.
- Townsley, P. M. 1979. Preparación de productos comerciales a partir de residuos de granos y turbios de cervecería. *MBAA Technical Quarterly* 16, 130–134.
- Valencia-Castañeda, G., Frías-Espéricueta, M. G., R. C. Vanegas-Pérez, J. A. Pérez-Ramírez, M. C. Chávez-Sanches, and F. Paes-Osuna. 2018. Acute Toxicity

- of Ammonia, Nitrite and Nitrate to Shrimp *Litopenaeus vannamei* Postlarvae in Low-Salinity Water. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.
- Venturini, F. W.G., and Cereda, M.P. 2001. Cerveja. in: Almeida Lima, U., Aquarone, E., Borzani, W., Schimidell, W. (Eds.), *Biotecnologia Industrial Biotecnologia na Produç,ão de Alimentos Biotecnologia na Produç,ão de Alimentos*. Edgar Blücher, São Paulo, pp. 91–144.
- Wade M. N., M. Anderson, J. M. Sellar, K. R. Tume, P. N. Preston and B. D. Glencross. 2011. Mechanisms of colour adaptation in the prawn *Penaeus monodon*. J Exp Biol 2011; (215): 343-350.
- Wasielesky, W., Atwood, H., Stokes, A., and Browdy, C. L. 2006. Effect of natural production in a zero-exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 258(1–4), 396–403.
- Xiong, J., Zhu, J., Wang, W., Ren, L., You, Z., and Hu, C. 2017. Integrating gut microbiota immaturity and disease-discriminatory taxa to diagnose the occurrence of shrimp disease. *Microbial Biotechnology*, 10(4), 1123–1134.
- Xiros, C. and P. Christakopoulos. 2012. Biotechnological Potential of Brewers Spent Grain and its Recent Applications. *Waste Biomass Valor* 3: 213–232.
- Xu, W.-J. and L.-Q. Pan. 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. *Aquaculture* 356-357:147-152.

- Xu, W. J., and Pan, L. Q. 2014. Dietary protein levels and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in biofloc-based culture. *Aquaculture Research*, 45(4), 694–703.
- Xu, C., Li, E., and Chen, L. 2019. Effects of dietary amino acid balance on shrimp performance and flesh quality. *Aquaculture*, 502, 307–314.
- Xu, Y., Xu, W., Liu, Y., Zhang, C., and Zhou, H. 2021. Replacement of fishmeal by plant protein sources in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Effects on growth performance and health status. *Aquaculture Nutrition*, 27(2), 323–334.
- Yang, P., C. He, Y. Qin, W. Wang, K. Mai, Q. Qin, Z. Wei and F. Song. 2021. Evaluation of composite mixture of protein sources in replacing fishmeal for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Based on the changing pattern of growth performance, nutrient metabolism and health status. *Aquaculture Reports* 21: 100914.
- Yun, H., Shahkar, E., Hamidoghli, A., Lee, S., Won, S., and Bai, S. C. 2017. Evaluation of dietary soybean meal as fish meal replacer for juvenile whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc system. *International Aquatic Research*, 9(1), 11–24.
- Zeng Q, K. Thorarinsdottir and G. Olafsdottir. 2005. Quality changes of shrimp (*Pandalus borealis*) stored under different cooling conditions. *Sensory and Nutritive Qualities of Food* 2005; (70):459-466.

- Zeng, S., Huang, Z., Hou, D., Liu, J., Weng, S., He, J., and Wang, L. 2017. Composition, diversity and function of intestinal microbiota in healthy and diseased shrimp. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1234.
- Zhang, M., Y. Sun, K. Chen, N. Yu, Z. Zhou, L. Chen, Z. Du, and E. Li. 2014. Characterization of the intestinal microbiota in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed diets with different lipid sources, *Aquaculture* 434.
- Zhang, X., J. Sun, Z. Han, F. Chen, A. Lv, X. Hu, X. Sun, H. Qi, and Y. Guo. 2021. *Vibrio parahaemolyticus* alters the community composition and function of intestinal microbiota in Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 544 (2021) 737061.
- Zhao, H., Jiang, R., Xue, M., Xie, S., Wu, X. and Guo, L. 2010. Fish meal can be completely replaced by soy protein concentrate by increasing feeding frequency in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* GIFT strain) less than 2 g. *Aquaculture Nutrition* 16, 648–653.
- Zhou, Q. C., Chi, S. Y., Yang, Q. H., and Liu, C. W. 2016. Effects of replacing fishmeal with poultry by-product meal on growth, body composition, and digestive enzyme activity of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 464, 717–724.

ANEXOS

Anexo 1

Composición proximal

Para los análisis proximales del bagazo de cebada, dietas experimentales, sólidos sedimentados del biofloc y organismos completos, se utilizaron los protocolos del manual de prácticas de laboratorio de nutrición acuícola de la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California. Del cual, se utilizaron los siguientes materiales, instrumentos y reactivos:

Materiales

Cápsulas de porcelana.	Espátula.	Tubos de ensayo con tapón de 15 ml.
Pinzas para capsula.	Cuchillo.	
Pipetas Pasteur.	Frascos de 25 ml.	Matraces volumétricos de 25 ml.
Piceta.	Agitador magnético.	Pipeta volumétrica 5 ml.
Vasos de pp. de 100 ml.	Vaso de pp. 600 ml.	Mortero de porcelana.
Pipeta graduada 10 ml.	Matraces.	Microkjeldhal 30 ml.
Papel filtro 4 (PR: 25 µL).	Termómetro.	Matraces Erlenmeyer 125 ml
Guantes de plástico.	Vaso pp. 10 ml.	

Instrumental:

Desecador.	Mufla.	Campana de extracción.
Molino.	Thermoblock.	Digestor microKjendhal.
Soporte universal.	Estufa.	Plancha de calentamiento.
Pinzas de tres dedos.	Balanza analítica.	

Reactivos:

H₂SO₄. CuSO₄. HCL 0.02N. H₃BO₃ 3%. Indicador Tashiro.
K₂SO₄. NaOH 32%. H₂O CH₂Cl₂. CH₃OH. KCl 1.7%.

Proteínas totales.

La medición de proteínas se realizó por medio de la cuantificación de nitrógeno según el método Kjeldhal. Este método consistió en tres etapas:

1. Digestión; en un matraz micro Kjeldhal se agregó 0.05 gr. de la muestra, 0.05 gr de CuSO₄, 1.5 gr. de K₂SO₄ y 3 ml de H₂SO₄. El matraz se colocó en un microdigestor hasta obtener una digestión total, la cual presentó un color verde-azul cristalino (este paso se realizó en una campana de extracción). Posteriormente el digerido se aforó a 25 ml con agua destilada. El resultado es una solución de sulfato de amonio (NH₃)₂SO₄.
2. Destilación; del digerido se tomaron 5 ml y se colocaron en el destilador Kjeldahl, posteriormente se agregó 10 ml de NaOH al 40%, la muestra se alcaliniza y el nitrógeno se desprende en forma de amoníaco; éste es capturado por el ácido bórico (en un vaso de precipitado se colocaron 15 ml de H₃BO₃), como indicador de la presencia de Nitrógeno capturado se usó Tashiro (Indicador es de color morado). Se llevó a un volumen total de 40 ml donde posteriormente se tituló con HCl.
3. Titulación; el paso final del procedimiento consistió en titular la solución anterior (anión borato) empleando HCl 0.1N (la valoración de HCl puede variar dependiendo como fue preparado el reactivo).

Los miliequivalentes de ácido consumidos corresponden a los equivalentes de amoníaco destilados

El contenido del nitrógeno se calculó de la siguiente forma:

$$\% \text{Nitrógeno} = \frac{(\text{ml problema} - \text{ml blanco}) \times N \times 0.014}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

Donde:

N: normalidad del ácido en valoración. 0.014= miliequivalentes del nitrógeno.

V: Volumen del ácido consumido.

El contenido de proteínas se determinó usando el factor proteínico (6.25) o bien, pudiendo revisarse El Cuadro de factores de alimentos.

$$\% \text{ Proteínas} = \% \text{ Nitrógeno} \times 6.25 \times 5.$$

Nota: el valor de 5 es considerado cuando se toman 5 mL de los 25 del digerido total.

Lípidos totales.

Los lípidos totales se determinaron por extracción con diclorometano: metanol (mezcla 2:1) según el método modificado de Folch et al. (1965). Se agregó en un tubo de ensayo de 15 ml; 50 mg de la muestra, 0.2 ml de agua destilada, 6 ml de la mezcla diclorometano: metanol, se agitó vigorosamente por 3 min y se dejó en extracción por 2 horas. Posteriormente se filtraron las muestras con papel Whatmann No. 4. Se adicionó 1.5 ml de KCl 1.7% al filtrado y se dejó reposar por 3 horas. Pasado el tiempo de incubación se retiró la fase de superior con una pipeta Pasteur y de la fase inferior se tomaron 2 ml y se colocaron en un vial de 4 ml previamente pesado y fueron evaporados en un Thermoblock a una temperatura de 60°C dentro de la campana de extracción. Una vez evaporado el solvente se procedió a pesar el vial y se registró el valor obtenido.

El contenido de lípidos totales se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Lípidos} = (\text{Peso extracto lipídico} / \text{peso de muestra}) \times 100$$

Humedad.

Humedad (%): Se pesaron 100 mg de muestra dentro de crisoles de porcelana previamente pesados. Éstos fueron colocados en una estufa por 6 horas a 100°C. Una vez pasado el tiempo y los crisoles a temperatura ambiente se pesaron para obtener el porcentaje de humedad

$\% \text{ Humedad} = 100 - ((\text{Peso del residuo} / \text{peso de muestra}) \times 100).$

Cenizas (%):

Se pesaron 100 mg de muestra (tejido o dietas) dentro de crisoles de porcelana previamente pesados. Éstos fueron puestos en una mufla por 6 horas a 550°C

Una vez pasado el tiempo y los crisoles a temperatura ambiente se pesaron para obtener el porcentaje de cenizas.

$\% \text{ Cenizas} = (\text{Peso del residuo} / \text{peso de muestra}) \times 100$

Extracto libre de nitrógeno (ELN):

El ELN se calculó restando del 100% los constituyentes de los sólidos totales que fueron determinados de cada una de las muestras.

$\text{ELN} = 100 - (\% \text{ P} + \% \text{ L} + \% \text{ Cen} + \% \text{ Hum}).$

Anexo 2

Previamente a la extracción, se prepararon los siguientes reactivos:

Buffer CTAB

Reactivos:

- Tris base 1M pH 8 (121.14 – 1M).
- EDTA 0.5 pH 8 (372.24 – 1M).
- Cloruro de sodio 5M (58.44 – 1M).
- CTAB.

Se realizaron los siguientes procedimientos, de acuerdo a la metodología:

1. Pesar 1.21 g de Tris y re suspender en 10 ml de agua, ajustar pH con HCl concentrado.
2. Pesar 3.72 g de EDTA y re suspender en 20 ml de agua, ajustar pH con perlas de NaOH.
3. Pesar 2.92 g de NaCl y re suspender en 10 ml de agua.
4. Mezclar los reactivos en el siguiente orden:
 - 5.6 ml de NaCl.
 - 2 ml de Tris.
 - 0.8 ml de EDTA.
5. Calentar en agitador magnético a 65°C y agregar 0.4 g de CTAB.
6. Aforar a 20 ml.
7. Ajustar pH a 8 con NaOH 3M.
8. Esterilizar 20 min.

Cloruro de litio 5 M (LiCl)

1. Pesar 5.30 g de cloruro de litio (42.39 – 1 M).
2. Agregar 25 ml de agua estéril y mezclar.

Extracción de DNA a través del método de CTAB en combinación con disrupción mecánica con pistilo.

Reactivos:

- CTAB.
- Proteinasa K.
- Lisozima.
- Cloruro de litio 5 M.
- Cloroformo isoamílico.

1. Lisis celular y digestión.

1. Pesar 50 mg (0.050 g) de intestino y colocar en tubo nuevo.
2. Congelar la biomasa colectada a -80°C por 20 min.
3. Re suspender el pellet en 300 μL de buffer CTAB.
4. Descongelar a 55°C por 10 minutos.
5. Macerar tejido con ayuda de un pistilo estéril.
6. Agregar 10 μL de proteinasa K (20 mg/ml).
7. Incubar 2 horas a 55°C , agitar cada 10 min con vortex (en tiempo de incubación depende de que tan rápido se termine de lisar el tejido).
8. Agregar 10 μL de lisozima (20 mg/ml) (5 MI).
9. Incubar 10 min a 37°C .
10. Incubar por 30 min a 55°C .

2. Extracción de ADN

1. Agregar 300 μL de Cloruro de litio 5M (LiCl) y agitar a temperatura ambiente por 1 min.
2. Agregar 600 μL de cloroformo: isoamílico.
3. Incubar a temperatura ambiente 30 min, mezclado cada 10 min. (Mezclar por inmersión).
4. Centrifugar a 13,000 rpm por 15 min.
5. Extraer interfase y colocarla en un tubo nuevo previamente etiquetado.

3. Precipitación y lavado de DNA.

1. Para precipitar el DNA de la interfase, adiciona 150 μ L de etanol absoluto.
2. Mezclar por inmersión e incubar a temperatura ambiente durante 3 min.
3. Centrifugar a 2,000 x g por 5 min a 4°C para obtener el pellet de DNA y remover el sobrenadante.
4. Lavar el pellet de ADN utilizando 1 ml de citrato de sodio en etanol al 10% en una solución 0.1 M. Dejar reposar durante 20 min, mezclando ocasionalmente por inversión.
5. Centrifugar a 2,000 x g durante 5 min a 4°C.
6. Retirar cuidadosamente el sobrenadante por precipitación y retirar completamente trazas de solución de lavado con una micropipeta.
7. Repetir el lavado del paso 20 y 21 una sola vez si el pellet es pequeño.
NOTA: Si el pellet de ADN es grande deberá realizarse una segunda limpieza repitiendo del paso 19 al 22.
8. Resuspender el pellet de ADN en 1 ml de etanol al 70% e incubar durante 10-20 min a temperatura ambiente. Mezclar gentil y ocasionalmente por inversión.
9. Centrifugar a 2,000 x g durante 5 min a 4°C.
10. Descartar el sobrenadante por inversión y retirar cualquier traza de etanol con micropipeta.
11. Secar el pellet de ADN durante 5-10 min a temperatura ambiente.
12. Disolver el pellet seco en 50 μ L de agua libre de nucleasas estéril y pipetear repetidamente hasta disolver el pellet.
13. Centrifugar a 12,000 x g durante 10 min a 4°C para remover cualquier material insoluble y transferir el sobrenadante a un tubo nuevo debidamente etiquetado.
14. Cuantificar la muestra en Nanodrop y realizar una electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.