

Producción sostenible de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) con agua de reúso de un sistema Biofloc

Sustainable production of bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*) with reused water from a Biofloc system

Islas-Ojeda Efraín^{1ID}, García-Munguía Alberto^{1ID}, Chávez-González Leticia^{1ID},
López-Gutiérrez Mario^{1ID}, Hernández-Valdivia Emmanuel^{1ID}, García-Munguía
Carlos^{2ID*}

¹Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Av. Universidad 940, col. Ciudad Universitaria, CP 20131, Aguascalientes, Aguascalientes. México. ²Departamento de Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Guanajuato. Carretera Irapuato-Silao km 9, CP 36500 Irapuato, Guanajuato, México. eislas69@gmail.com, almagamu@hotmail.com, Ichavezglz@hotmail.com, malopez@correo.uaa.mx, ehdzv@yahoo.com.mx, cagamu@hotmail.com

RESUMEN

En México, la producción de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) se realiza en apenas 35 unidades de producción animal, siendo necesario realizar mejoras en su comercialización para aumentar la demanda. Frente a estos retos, surgen opciones tecnológicas innovadoras como Biofloc, que mejoran la eficiencia de la producción en pro de la sostenibilidad ambiental, económica y social. Siendo así que este estudio midió el efecto de la utilización de agua de reúso de un sistema de Biofloc de cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en la producción intensiva de rana toro (*Lithobates catesbeianus*). Con un material biológico de 4,000 organismos (*Lithobates catesbeianus*), se evaluaron los tratamientos: T1 (agua potable), T2 (30% de agua de reúso Biofloc), T3(60% de agua de reúso Biofloc) y T4 (90% de agua de reúso Biofloc); se midieron las variables Ganancia de Peso (GP), Tasa Específica de Crecimiento (TEC), Porcentaje de Supervivencia (%S), Tasa de Supervivencia (TS) y Conversión Alimenticia (CA). Los resultados fueron analizados en SPSS Statistic versión 27.0.0 con un ANOVA y prueba de esfericidad de Mauchly. Observando que es factible la producción intensiva de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) con agua de reúso de un sistema Biofloc del cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*).

Palabras claves: producción, sostenibilidad, Biofloc, *Lithobates catesbeianus*.

ABSTRACT

In Mexico, bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) production is carried out in only 35 animal production units, and improvements in its commercialization are necessary to increase demand. Faced with these challenges, innovative technological options such as Biofloc are emerging, which improve production efficiency in favor of environmental, economic and social sustainability. Thus, this study measured the effect of using reused water from a Biofloc system for tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture in the intensive production of bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*). With a biological material of 4,000 organisms (*Lithobates catesbeianus*), treatments were evaluated: T1 (drinking water), T2 (30% Biofloc reuse water), T3(60% Biofloc reuse water) and T4 (90% Biofloc reuse water); the variables Weight Gain (WG), Specific Growth Rate (SGR), Survival Percentage (%S), Survival Rate (SR) and Feed Conversion (FC) were measured. The results were analyzed in SPSS Statistic version 27.0.0 with an ANOVA and Mauchly's test of sphericity. The results showed that intensive production of bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*) with reused water from a Biofloc system of tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture is feasible.

Keywords: production, sustainability, Biofloc, *Lithobates catesbeianus*.

INTRODUCCIÓN

La producción pesquera mundial ha aumentado de forma constante en las últimas cinco décadas y el suministro de peces comestibles se ha incrementado a una tasa media anual del 3.2%, superando así la tasa de crecimiento de la población mundial del 1.6%. El consumo per cápita a nivel internacional aumentó de un promedio de 9.9 kg en 1960 a 19.2 kg en el año 2012 (FAO, 2018). Específicamente en México, durante la última década el consumo de especies acuícolas y pesqueras ha ido en aumento. En la actualidad las principales especies de acuicultura en el país son el camarón (150 mil 76 toneladas), mojarra tilapia (149 mil 54 toneladas), ostión (45 mil 148 toneladas), carpa (30 mil 300 toneladas) y trucha (siete mil toneladas) (CONAPESCA, 2018).

En cuanto a la producción y mercado de rana toro (*Lithobates catesbeianus*), las estadísticas son escasas. Aún así, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2018) reporta que en el año de 1980, se estimó que el 3% del mercado global de ranas (todas las especies) era abastecido por la acuicultura; mientras que la contribución para el año 2002 fue estimada en un 15% (tomando en cuenta la tasa calculada de crecimiento de la industria). Taiwán, Brasil y México como los principales países productores de ranas vivas (captura y acuicultura). Algunas estadísticas documentadas colocan a los Estados Unidos de América como el mayor consumidor de ranas, seguido por Francia y Canadá; con tres nichos principales de mercado: ancas de rana, ranas vivas y ranas para necesidades educativas y científicas (FAO, 2009).

En México, la producción de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) es liderada por el Estado de México, seguido de Sinaloa, Nayarit y Jalisco con 35 unidades de producción animal, con un promedio de 60 hectáreas de superficie utilizada (INAPESCA, 2018). Los principales sistemas de producción acuícola utilizados en el país son extensivos (cultivo en embalses con mínima intervención humana después de la siembra y con bajos rendimientos), semi-intensivos (cultivo en estanques, corrales y cuerpos de agua) e intensivos (cultivo en sistemas controlados, estanques, jaulas, canales de corriente rápida o sistemas de recirculación y reacondicionamiento del agua) (INAPESCA, 2018).

Si bien, la demanda de ranas vivas para alimento ha aumentado, se espera que la realización de investigaciones sobre nutrición, patología y reproducción den lugar a mejoras importantes que impulsen su producción. Así como un aumento en los precios del mercado, pues en la medida que se restringe el comercio y captura de ranas silvestres, aumenta su cultivo; no obstante, deben realizarse mejoras en la comercialización, pues la carne de rana y sus cualidades están lejos de ser extensamente conocidas (FAO, 2009).

Frente a estos retos, surgen opciones tecnológicas innovadoras que mejoran la eficiencia de la producción, en pro de la sostenibilidad ambiental, económica y social. Pues si bien sabemos que el agua dulce es un requisito fundamental para la acuicultura, es necesario reconocer que las reservas son finitas en las regiones áridas y el agua escasea, generando una competencia entre los sectores productivos por la distribución de los recursos hídricos (Neto & Ostrensky, 2015). Por lo que el uso de recursos hídricos no convencionales en la acuicultura se identifica como un mecanismo potencial para mejorar el rendimiento de la producción de alimentos y al mismo tiempo preservar los recursos de agua dulce no renovables y renovables (Corner *et al.*, 2020).

Como respuesta a esta problemática, surge la tecnología Biofloc como una alternativa de reúso de agua a niveles industriales, con una repercusión positiva en el medio ambiente (Mancipe *et al.*, 2019), pues su aplicación puede llevarse a cabo en sistemas productivos integrados (Bossier & Ekasari, 2017). En la producción de especies alternas acuícola, la implementación de un sistema Biofloc significa una reducción de más del 50% de la huella hídrica implicada en la producción; además de crear un efecto positivo en la sanidad animal (Bossier & Ekasari, 2017).

La implementación de dicha tecnología en el área acuícola está basada en la creación de un microbioma que reutiliza los desechos orgánicos de los peces y el alimento no utilizado; creando flóculos de agregados bacterianos suficientemente grandes para ser detectados por los peces y alimentarse ellos; estos agregados de microbiota suelen contener porcentajes de proteína de hasta el 27.5% y 7.5% de lípidos (Ekasari *et al.*, 2014). Siendo así que estos niveles de proteína y energía pueden incluso compararse con la calidad del alimento comercial para peces de producción.

Considerando que los microorganismos son parte esencial de los ecosistemas acuíferos, su rol en el reciclado de los nutrientes es esencial en la cadena trófica de los sistemas. Por décadas han sido utilizados como prebióticos e inmunoestimulantes, para el control de enfermedades, así como mejoradores de la calidad de agua de los estanques de producción acuícola (Martínez *et al.*, 2017). Los sistemas basados en microbios representan una de las estrategias más viables para lograr una acuicultura sostenible, pues estos sistemas se basan en la promoción de la proliferación microbiana; esperando que estos utilicen, reciclen y transformen el exceso de nutrientes de las heces, los organismos muertos, alimentos no consumidos y diversos metabolitos en biomasa; además de desplazar organismos patógenos en los sistemas de producción (Martínez *et al.*, 2015; Huerta *et al.*, 2019).

Además de tener en cuenta que la aplicación de un sistema Biofloc en la producción acuícola logra un proceso de nitrificación, esto sucede a través de la fuente de carbohidratos que se adiciona a los estanques, ya que permite que las bacterias y microorganismos conviertan los desechos orgánicos de las heces y el alimento

desperdiciado; disminuyendo la cantidad de amonio, mejorando la calidad del agua y permitiendo que ésta prácticamente sea eterna en los estanques (Wei *et al.*, 2016).

Por lo que el objetivo de este estudio fue medir el efecto de la utilización de agua de reúso de un sistema de Biofloc de cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en la producción intensiva de rana toro (*Lithobates catesbeianus*), como una alternativa de uso para las zonas áridas y semiáridas de México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Zona de estudio: el estudio se realizó en el Centro de Reproducción, Investigación y Transferencia Tecnológica en Rana Toro el “El Chaveño” en convenio con la Universidad Autónoma de Aguascalientes; ubicado en Jesús María, Aguascalientes, México; con una temperatura media anual de 17°C, precipitación media anual de 531 mm y localizado a 1,880 m.s.n.m. (INEGI, 2021).

Material biológico: se utilizaron un total de 4,000 ranas toro (*Lithobates catesbeiana*), con un peso inicial promedio de 49.8 gramos/organismo, distribuidas en 40 corrales con un sistema semi inundado de volumen efectivo de 400 L.

Diseño experimental: el experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar de 4 tratamientos de 10 repeticiones, obteniendo un total de 40 unidades experimentales. Cada unidad experimental estuvo conformada por 100 ranas toro (*Lithobates catesbeiana*).

Tratamientos evaluados: los tratamientos evaluados fueron los siguientes; T1: sistema de cultivo con recambio semanal de agua potable del 100% y limpieza de fondo. T2: sistema de cultivo con 30% de agua de reúso de un sistema de Biofloc de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y 70% de agua potable, sin recambio de agua y con adición de azúcar no refinada como fuente de carbono en relación C:N de 15:1. T3: sistema de cultivo con 60% de agua de reúso de un sistema de Biofloc de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y 40 % de agua potable, sin recambio de agua y con adición de azúcar no refinada como fuente de carbono en relación C: N de 15:1. T4: sistema de cultivo con 90% de agua de reúso de un sistema de Biofloc de tilapia (*Oreochromis niloticus*) y 10% de agua potable, sin recambio de agua y con adición de azúcar no refinada como fuente de carbono en relación C:N de 15:1.

Sistema de producción: el sistema de producción utilizado en el estudio fue de tipo semi inundado con superficies uniformes de confinamiento de 8 m², la capacidad inundable de cada estanque fue de 0.4 m³, con un área seca de 0.4 m² con alimentación en el área seca del piso. Con lámparas de luz distribuidas en la unidad de producción acuícola para mantener un fotoperiodo de 14 hrs de luz (10 hrs de oscuridad), con una temperatura entre 28 - 42 °C en un ciclo de 24 hrs y una temperatura del agua constante entre 26-28

°C. La humedad ambiente se mantiene a 95-98% utilizando aspersores de agua. El tiempo de estudio fue de 15 semanas, en el periodo de agosto – noviembre 2020.

Dietas y alimentación: se utilizó una dieta isoproteica e isocalórica (Rincón *et al.*, 2012), basada en alimento comercial para trucha (*Salmo trutta*) y bagre (*Ictalurus punctatus*) marca Nutripec Purina® con 40% proteína cruda y 9% de grasa para la etapa de desarrollo. La cantidad de ración se suministró una vez al día (SENASICA, 2016) y se calculó sobre la base de la biomasa a una tasa de alimentación del 6% mantenida durante el periodo experimental y se ajustó a los 20 días de iniciado el experimento a 3% de la biomasa. Para la determinación de la ganancia de peso se registró el peso del total de las ranas, estos registros se hicieron al inicio del experimento y de manera semanal con una balanza digital de sensibilidad de 0.1g (303D, DESEGO, México).

Parámetros zootécnicos evaluados: las variables evaluadas fueron: Ganancia de Peso (GP) con la fórmula $GP = PF - PI$, donde PF es Peso Final y PI es Peso Inicial. Se calculó la Tasa Específica de Crecimiento (TEC) con la fórmula $TCE (\%) = \frac{\ln(Pf) - \ln(Pi)}{t} \times 100$; donde: Pf y Pi son el Peso Final y Peso Inicial, t es el tiempo¹ y Ln es el logaritmo natural de los pesos. El porcentaje de Supervivencia (%S) al final del periodo se calculó con la fórmula $\%S = \frac{No \text{ final de organismos}}{No \text{ inicial de organismos}} \times 100$. Tasa de Supervivencia (TS) y Conversión Alimenticia (CA) obtenidas de la relación entre el alimento consumido y la biomasa al final del periodo experimental (Gutiérrez *et al.*, 2016).

Calidad del agua: durante el estudio la calidad del agua se mantuvo dentro de los parámetros establecidos para la rana toro (*Lithobates catesbeiana*) en producción intensiva (SENASICA, 2016). Los parámetros fisicoquímicos evaluados semanalmente fueron: temperatura (T °C), conductividad (µs), pH y amonio (mg/l); siendo tomados con multi sonda (556 MPS, YSI, EUA). Mientras que la dureza (mg/l CaCO₃) y alcalinidad (mg/l CaCO₃) fueron tomadas con un kit de pruebas (FF-1A, HACH, Alemania), según lo descrito por Plazas & Paz, (2019).

Flóculos bacterianos: para el establecimiento de los flóculos bacterianos en el cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*), se inoculó con lixiviado de cama de lombriz roja Californiana (*Eisenia foetida*); para lo cual se utilizó 3 L de lixiviado por cada 10m³ de agua en los tanques 1L/10m³ de bacterias nitrificantes para peces de la marca PondPerfect 4in. Para el establecimiento del Biofloc se empleó azúcar no refinada a razón de 0.02 g/L para garantizar una fuente de C y 5 mg/L de cloruro de amonio (NH₄Cl) como fuente de N; además de 2 g/L de sal marina y 50 g/L de bicarbonato de sodio (NaHCO₃) para garantizar una fuente inicial de alcalinidad para las bacterias según la metodología de Luo *et al.*, (2014). El azúcar no refinada se continuó adicionando cada dos días de acuerdo al volumen del Biofloc medido en los conos Imhoff.

Análisis estadístico: se utilizó el programa IBM SPSS Statistic versión 27.0.0. En cada experiencia la hipótesis de “la reutilización de agua Biofloc afecta los parámetros

productivos de rana toro (*Lithobates catesbeiana*); se valoró por medio de un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95% (Ducoing, 2019), aplicando una prueba de esfericidad de Mauchly, (1940). Cuando esta hipótesis nula se rechazó, se utilizó una prueba de ajuste Greenhouse-Geisser o Huynh-Feldt (Bardera, 2019). Al encontrar efectos globales significativos se realizaron pruebas de efectos simples seguidas de pruebas post hoc. Los análisis post hoc se realizaron mediante la prueba de Tukey para analizar diferencias entre los tratamientos con diferente porcentaje de agua reutilizada de un sistema Biofloc y agua potable, utilizando las comparaciones por pares de Bonferroni para comprobar las diferencias entre los comportamientos analizados (Bardera, 2019).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La media de los parámetros promedios de calidad del agua registrados durante la realización del estudio fue: temperatura 20°C, conductividad 0.4µs, pH 7.2, amonio 1.19 mg/l, dureza 46 mg/l CaCO₃ y alcalinidad 40 mg/l CaCO₃.

En cuanto a las variables de estudio, los resultados muestran diferencia estadística de medias entre tratamientos; sin embargo, la prueba de esfericidad de Mauchly es rechazada al no presentar significancia. Debido a la violación de la esfericidad, se aplicaron las correcciones de Greenhouse-Geisser o Huynh-Feldt; la cual muestra significancia entre los tratamientos en las variables peso de la biomasa, peso promedio y conversión alimenticia. A su vez, en la prueba de pos hoc, la diferencia entre tratamientos bajo la prueba de Bonferroni se muestran diferencias significativas para el uso de Biofloc 30, 60, y 90% en las variables peso de la biomasa, consumo de alimento y conversión alimenticia respectivamente.

El comportamiento de la Ganancia de Peso (GP) (tabla 1) mostró ser mejor estadísticamente en los tratamientos a base de aguas residuales de un sistema Biofloc; sin embargo, esto puede estar relacionado con una mayor mortalidad observada en el T1 (agua potable). La estimación del peso promedio de medias marginales no muestra diferencias significativas, lo cual sugiere que el peso promedio de la rana toro (*Lithobates catesbeiana*) no se altera con el uso de los distintos porcentajes de Biofloc en el agua, pues se estima que las velocidades de crecimiento y ganancia de peso son similares en los tratamientos.

El efecto en el consumo de alimento (tabla 2) es mayor de forma significativa en los tratamientos con Biofloc, comparado con los organismos que recibieron solo agua potable; estos resultados se correlacionan con los obtenidos sobre conversión alimenticia (tabla 3), donde se observa un mejor efecto en los tratamientos a base de aguas residuales de Biofloc. Las estimaciones de medias marginales para el consumo de alimento muestran diferencias significativas en los T3 (60% Biofloc) y T4 (90% Biofloc), mostrando relación con la mayor ganancia de peso observada.

Tabla 1. Efecto de los diferentes tratamientos sobre la Ganancia de Peso (GP)

Variable		Diferencias entre Medias (I-J)	Error Estándar	Intervalo de confianza 95%		
				Límite Inferior	Límite superior	
Ganancia de Peso	T1 (agua potable)	30% Biofloc	-2.2900*	.08809	-2.5965	-1.9836
		60% Biofloc	-2.6011*	.08809	-2.9076	-2.2947
		90% Biofloc	-2.3919*	.08809	-2.6984	-2.0855
	T2 (30% Biofloc)	Agua potable	2.2900*	.08809	1.9836	2.5965
		60% Biofloc	-.3111*	.08809	-.6176	-.0047
		90% Biofloc	-.1019	.08809	-.4084	.2046
	T3 (60% Biofloc)	Agua potable	2.6011*	.08809	2.2947	2.9076
		30% Biofloc	.3111*	.08809	.0047	.6176
		90% Biofloc	.2092	.08809	-.0973	.5157
	T4 (90% Biofloc)	Agua potable	2.3919*	.08809	2.0855	2.6984
		30% Biofloc	.1019	.08809	-.2046	.4084
		60% Biofloc	-.2092	.08809	-.5157	.0973

De acuerdo a las medias observadas, Error Cuadrático medio (Error) = .002.

* Las diferencias entre medias muestran un nivel de significancia de 0.05

Tabla 2. Efecto de los tratamientos sobre el consumo de alimento

Variable		Diferencias entre Medias (I-J)	Error Estándar	Intervalo de confianza 95%		
				Límite Inferior	Límite superior	
Consumo alimento	T1 (agua potable)	30% Biofloc	-524.6222*	44.71786	-680.1903	-369.0542
		60% Biofloc	-642.3333*	44.71786	-797.9014	-486.7653
		90% Biofloc	-627.7778*	44.71786	-783.3458	-472.2097
	T2 (30% Biofloc)	Agua potable	524.6222*	44.71786	369.0542	680.1903
		60% Biofloc	-117.7111	44.71786	-273.2792	37.8569
		90% Biofloc	-103.1556	44.71786	-258.7236	52.4125
	T3 (60% Biofloc)	Agua potable	642.3333*	44.71786	486.7653	797.9014
		30% Biofloc	117.7111	44.71786	-37.8569	273.2792
		90% Biofloc	14.5556	44.71786	-141.0125	170.1236
	T4 (90% Biofloc)	Agua potable	627.7778*	44.71786	472.2097	783.3458
		30% Biofloc	103.1556	44.71786	-52.4125	258.7236
		60% Biofloc	-14.5556	44.71786	-170.1236	141.0125

De acuerdo a las medias observadas, Error Cuadrático medio (Error) = .002.

* Las diferencias entre medias muestran un nivel de significancia de 0.05

En cuanto a la conversión alimenticia, se observa (tabla 3 y figura 1) que los organismos del T1 (agua potable) muestran menor conversión alimenticia que los del T4 (90% Biofloc) durante las primeras semanas del estudio; sin embargo, después de la semana ocho las conversiones se igualan, terminando sin diferencias significativas para la semana quince del estudio. Siendo de importancia el resaltar que a partir de la semana 4 el consumo de

alimento empieza a ser mayor en los T2 (30% Biofloc), T3 (60% Biofloc) y T4 (90% Biofloc); esto es efecto de la menor mortalidad y el mayor número de individuos sobrevivientes y mejor asimilación de nutrientes.

Tabla 3. Efecto de los tratamientos sobre la conversión alimenticia

Variable	Diferencias entre Medias (I-J)	Error Estándar	Intervalo de confianza 95%			
			Límite Inferior	Límite superior		
Conversión alimenticia	T1 (agua potable)	30% Biofloc	.2369*	.03918	.1006	.3732
		60% Biofloc	.2462*	.03918	.1099	.3825
		90% Biofloc	.2208*	.03918	.0845	.3571
	T2 (30% Biofloc)	Agua potable	-.2369*	.03918	-.3732	-.1006
		60% Biofloc	.0093	.03918	-.1270	.1456
		90% Biofloc	-.0161	.03918	-.1524	.1202
	T3 (60% Biofloc)	Agua potable	-.2462*	.03918	-.3825	-.1099
		30% Biofloc	-.0093	.03918	-.1456	.1270
		90% Biofloc	-.0253	.03918	-.1616	.1110
	T4 (90% Biofloc)	Agua potable	-.2208*	.03918	-.3571	-.0845
		30% Biofloc	.0161	.03918	-.1202	.1524
		60% Biofloc	.0253	.03918	-.1110	.1616

De acuerdo a las medias observadas, Error Cuadrático medio (Error) = .002.

* Las diferencias entre medias muestran un nivel de significancia de 0.05

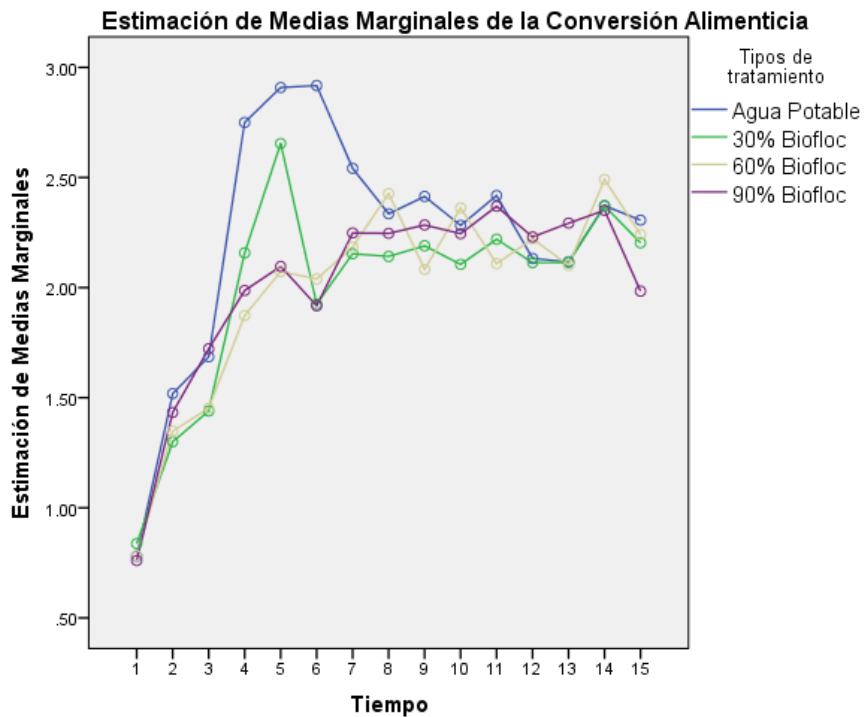


Figura 1. Comportamiento de la conversión alimenticia por tratamiento

Diversos estudios han demostrado una dieta más eficiente y asimilación de nutrientes en sistemas donde se utiliza Biofloc (fig. 1). [Da Silva et al. \(2013\)](#), encuentran que la aplicación de la tecnología Biofloc en el cultivo intensivo de camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) mejora de forma considerable la eficiencia mejorada de utilización de N y P hasta un 70% y 66%, respectivamente, en relación con los sistemas de cultivo intensivo convencionales con intercambio regular de agua. Autores como [Mercante et al., \(2014\)](#) han descrito que niveles altos de fósforo y nitrógeno en el agua de los estanques de producción intensiva de rana toro (*Lithobates catesbeiana*) disminuyen los parámetros de calidad de agua e interfieren con la productividad; estos mismos efectos se han encontrado en el uso de Biofloc en cultivos de tilapia (*Oreochromis niloticus*) ([Schveitzer et al., 2013](#); [Widanarni et al., 2012](#)).

Mientras que en la tabla 4 se observa diferencia significativa entre medias en la tasa específica de crecimiento en el T2 (30% Biofloc) con respecto al T1 (agua potable); de la misma manera se observa este efecto en el T3 (60% Biofloc). Con respecto al efecto de los tratamientos sobre la tasa de sobrevivencia (Tabla 5) se observan la diferencia entre medias de las variables T1 (agua potable), comparado con los organismos de los demás tratamientos.

Tabla 4. Efecto de los tratamientos sobre la tasa específica de crecimiento

Variable		Diferencias entre medias (I-J)	Error Estándar	Intervalo de confianza 95%		
				Límite Inferior	Límite superior	
Tasa específica de crecimiento por tratamiento	T1 (agua potable)	30% Biofloc	-.1850*	.02100	-.2581	-.1120
		60% Biofloc	-.2048*	.02100	-.2778	-.1318
		90% Biofloc	-.1940*	.02100	-.2670	-.1210
	T2 (30% Biofloc)	Agua Potable	.1850*	.02100	.1120	.2581
		60% Biofloc	-.0198	.02100	-.0928	.0533
		90% Biofloc	-.0090	.02100	-.0820	.0641
	T3 (60% Biofloc)	Agua Potable	.2048*	.02100	.1318	.2778
		30% Biofloc	.0198	.02100	-.0533	.0928
		90% Biofloc	.0108	.02100	-.0622	.0838
	T4 (90% Biofloc)	Agua Potable	.1940*	.02100	.1210	.2670
		30% Biofloc	.0090	.02100	-.0641	.0820
			60% Biofloc	-.0108	.02100	-.0838

De acuerdo a las medias observadas, Error Cuadrático medio (Error) = .002.

* Las diferencias entre medias muestran un nivel de significancia de 0.05

La tasa específica de crecimiento de los organismos de los T2 (30% Biofloc), T3 (60% Biofloc) y T4 (90% Biofloc) es mayor que en los organismos que recibieron agua potable; lo cual sugiere que la diversidad microbiana en el agua tiene un efecto benéfico en el crecimiento y desarrollo de esta especie en condiciones de producción intensiva; este efecto coincide con los resultados observados en la tasa de supervivencia de este

estudio. Estos resultados sugieren que es factible la utilización del agua que proviene de la explotación intensiva de tilapia (*Oreochromis niloticus*) para el reúso en la producción intensiva de rana toro (*Lithobates catesbeianus*), pues la calidad microbiana existente en el medio beneficia las interacciones con los microorganismos patógenos, disminuyendo la mortalidad en las ranas que reciben el agua de reúso en diferentes proporciones como sucede en otras especies acuícolas (Vinatea *et al.*, 2018).

Tabla 5. Efecto de los tratamientos sobre la tasa de sobrevivencia

Variable		Diferencias entre medias (I-J)	Error Estándar	Intervalo de confianza 95%		
				Límite Inferior	Límite superior	
Tasa de sobrevivencia	T1 (agua potable)	30% Biofloc	-11.3333	3.80058	-24.5551	1.8884
		60% Biofloc	-13.6667*	3.80058	-26.8884	-.4449
		90% Biofloc	-12.0000	3.80058	-25.2218	1.2218
	T2 (30% Biofloc)	Agua potable	11.3333	3.80058	-1.8884	24.5551
		60% Biofloc	-2.3333	3.80058	-15.5551	10.8884
		90% Biofloc	-.6667	3.80058	-13.8884	12.5551
	T3 (60% Biofloc)	Agua potable	13.6667*	3.80058	.4449	26.8884
		30% Biofloc	2.3333	3.80058	-10.8884	15.5551
		90% Biofloc	1.6667	3.80058	-11.5551	14.8884
	T4 (90% Biofloc)	Agua potable	12.0000	3.80058	-1.2218	25.2218
		30% Biofloc	.6667	3.80058	-12.5551	13.8884
		60% Biofloc	-1.6667	3.80058	-14.8884	11.5551

De acuerdo a las medias observadas, Error Cuadrático medio (Error) = .002.

* Las diferencias entre medias muestran un nivel de significancia de 0.05

Observándose que la sobrevivencia fue similar entre los tratamientos evaluados, destacando que en el T3 (60% de Biofloc) los organismos mostraron mejor tasa de sobrevivencia. Los resultados sugieren que la gran diversidad de organismos presentes en el agua reutilizada de un sistema Biofloc, ejercen una competencia con los microorganismos patógenos potenciales que atacan a las ranas; este efecto ha sido observado en los cultivos acuícolas que utilizan un sistema de Biofloc (Martinez *et al.*, 2016; Ekasari *et al.*, 2014). Sugiriendo que este efecto crea una competencia de los potenciales organismos patógenos, reduciendo su proliferación en los tanques experimentales, así como en el tracto digestivo de los peces (Manduca *et al.*, 2021).

Estudios publicados demuestran que la microbiota autóctona de la piel y el tracto gastrointestinal podría verse afectada por muchos factores, como interacciones microbianas, flujos de agua, crianza, técnicas y desinfección; que podrían alterar el equilibrio de los ecosistemas microbianos. Estos aspectos, junto con el estrés producido por el hacinamiento, puede superar las barreras inmunes, provocando que los microorganismos microbianos ataquen, provocando brotes de enfermedades infecciosas (Mauel *et al.*, 2002); al ofrecer a las ranas toro (*Lithobates catesbeiana*) un medio

microbiano rico en microorganismos benéficos y mejora el desempeño en los sistemas intensivos de producción. Se ha demostrado que diferentes cepas de bacterias lácticas Gram (+) así como otras Gram (-) aisladas a partir de cultivos de peces, se han utilizado para el control de bacterias que causan enfermedades en las ranas, tales como *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus epidermidis* (Pasteris *et al.*, 2009).

Por otra parte, Mayorga *et al.*, (2015), encontraron que el Biofloc fue la principal fuente alimenticia consumida de manera preferente por la tilapia (*Oreochromis niloticus*) versus alimento balanceado. Por lo anterior, es importante destacar que en México, dada la disponibilidad de alimento (Engorda Extruido, al 20 y 25% de proteína cruda el Pedregaly los Belenes), pueden ser utilizados en cultivo de Biofloc para minimizar el impacto del costo de la alimentación y aprovechar la preferencia de las tilapias (*Oreochromis niloticus*), por los bioflóculos; y de esta manera disminuir los costos de producción siendo preponderantes.

Existe una realidad científica que indica el alto contenido nutricional de los bioflóculos (Ekasari y Maryam, 2012), aspecto que parece no aplicarse en México, ya que en su mayoría utilizan alimento balanceado con altos niveles de proteína 45/32/25 respectivamente. Cuando se podría eliminar el alimento al 32% y utilizar al 25% para favorecer al consumo de los flóculos microbianos que son preferidos por las tilapias. Por último, Martínez *et al.*, (2017), argumentan que la evidencia global apoya la hipótesis de que el uso de microorganismos como fuente directa de alimento en acuicultura, revolucionará la industria, cerrando la brecha hacia la sustentabilidad.

CONCLUSIÓN

Es factible la producción intensiva de rana toro (*Lithobates catesbeianus*) con agua de reúso de un sistema Biofloc del cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*); pues las variables evaluadas, ganancia de peso, tasa específica de crecimiento y supervivencia; así como la conversión alimenticia en rana toro (*Lithobates catesbeianus*), arrojaron una diferencia estadística positiva en relación a la producción acuícola con recambio de agua potable; siendo una opción para el uso eficiente del recurso hídrico en las zonas áridas y semi áridas de México.

LITERATURA CITADA

BARDERA G, Owen MA, Pountney D, Alexander ME, Sloman KA. 2019. The effect of short-term feed-deprivation and moult status on feeding behaviour of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*. 511:1-10. ISSN:0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734222>

BOSSIER P, Ekasari J. 2017. Biofloc technology application in aquaculture to support sustainable development goals. *Microbial Biotechnology*. 10(5):1012–1016. ISSN: 1989-8436. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12836>

CONAPESCA (Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca). 2018. *Produce acuacultura mexicana más de 400 mil toneladas de pescados y mariscos*. Pp.5. <https://www.gob.mx/conapesca/prensa/produce-acuacultura-mexicana-mas-de-400-mil-toneladas-de-pescados-y-mariscos-172466>

CORNER R, Fersoy H, Crespi V. 2020. *Integrated agri-aquaculture in desert and arid lands-Learning from case studies from Algeria, Egypt and Oman*. Cairo. Editorial FAO. Pp.158. ISBN: 978-92-5-132405-9.

DA SILVA KR, Wasielesky W, Abreu PC. 2013. Nitrogen and Phosphorus Dynamics in the Biofloc Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 44(1):30-41. ISSN:1749-7345. <https://doi.org/10.1111/jwas.12009>

DUCOING WM. 2019. *Estadística para veterinarios y zootecnistas*. Ciudad de México, México. Editorial Newton. Pp. 548. ISBN: 978-607-969-193-6.

EKASARI J, Hanif AM, Surawidjaja EH, Nuryati S, De Schryver P, Bossier P. 2014. Immune response and disease resistance of shrimp fed Biofloc grown on different carbon sources. *Fish & Shellfish Immunology*. 41(2):332–339. ISSN:1050-4648. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.09.004>

EKASARI J, Maryam S. 2012. Evaluation of Biofloc technology application on water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis sp.* cultured at different stocking densities. *HAYATI Journal of Biosciences*. 19(2):73-80. ISSN: 1978-3019. <https://doi.org/10.4308/hjb.19.2.73>

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2009. *Rana catesbeiana*. Pp.14. http://www.fao.org/fishery/docs/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es_americanbullfrog.htm

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2018. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018*. Roma, Italia. Pp. 250. ISBN 978-92-5-130688-8.

GUTIÉRREZ RL, Ruales D, Montoya CC, Inés O, Betancur GE. 2016. Efecto de la inclusión en la dieta de probióticos microencapsulados sobre algunos parámetros zootécnicos en alevinos de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *Revista de Salud Animal*. 38(2):112-119. ISSN: 2224-4700. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-570X2016000200007&script=sci_abstract&tlng=es

HUERTA RJ, Martínez PM, Miranda BA, Nieves SM, Rivas VM, Martínez CL. 2019. Addition of commercial probiotic in a Biofloc shrimp farm of *Litopenaeus vannamei* during the nursery phase: Effect on bacterial diversity using massive sequencing 16S rRNA. *Aquaculture*. 502(15):391–399. ISSN:0044-8486.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.055>

INAPESCA (Instituto Nacional de Pesca). 2018. *Acuicultura comercial, Rana toro*. México. Pp. 9. <https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/acuicultura-rana-toro>

INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2021. *Climatología*. <https://www.inegi.org.mx/temas/climatologia/>

LUO G., Gao Q, Wang C, Liu W, Sun D, Li L, Tan H. 2014. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system. *Aquaculture*. 422:1-7. ISSN:0044-8486.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.023>

MANCIPE LE, Velez JI, García KA, Hernández LC. 2019. Los sistemas Biofloc: una estrategia eficiente en la producción acuícola. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 14(1):70-99. ISSN:1900-9607. <https://doi.org/10.21615/cesmvz.14.1.6>

MANDUCA LG, Silva MA, da Alvarenga ÉR, de Alves GF, de O FN, Teixeira E, Fernandes AF, Silva MA, Turra EM. 2021. Effects of different stocking densities on Nile tilapia performance and profitability of a Biofloc system with a minimum water exchange. *Aquaculture*. 530(15):1-12. ISSN:0044-8486.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735814>

MARTÍNEZ CL, Emerenciano M, Miranda BA, Martínez PM. 2015. Microbial-based systems for aquaculture of fish and shrimp: An updated review. *Aquaculture*. 7(2):131-148. ISSN:0044-8486. <https://doi.org/10.1111/raq.12058>

MARTÍNEZ CL, Martínez PM, Emerenciano MG, Miranda BA, Gollas GT. 2016. From microbes to fish the next revolution in food production. *Biotechnol*. 37(3):287-295. ISSN: 1549-7801. <https://doi.org/10.3109/07388551.2016.1144043>

MARTÍNEZ CL, Martínez PM, Emerenciano MG, Miranda BA, Gollas GT. 2017. From microbes to fish the next revolution in food production. *Critical Reviews in Biotechnology*. 37(3):287-295. ISSN: 0738-8551. <https://doi.org/10.3109/07388551.2016.1144043>

MAUCHLY JW. 1940. Significance test for sphericity of a normal n-variate distribution. *The Annals of Mathematical Statistics*. 11(2):204-209. ISSN: 0003-4851. <https://www.jstor.org/stable/2235878>

MAUEL MJ, Miller DL, Frazier KS, Hines ME. 2002. Bacterial pathogens isolated from cultured bullfrogs (*Rana castesbeiana*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 14(5):431–433. ISSN: 1943-4936. <https://doi.org/10.1177/104063870201400515>

MAYORGA EI, Hurtado SC, Morales JP. 2015. Determinación del Índice de Importancia Relativa en *Oreochromis ssp* cultivadas con Biofloc y alimento balanceado. *La Técnica: Revista de las Agrociencias*. (14):62-71. ISSN: 2477-8982. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6087623>

MERCANTE CT, Vaz SA, Moraes M, de A B, Pereira JS, Lombardi JV. 2014. Sistema de criação de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*): Qualidade da água e mudanças ambientais. *Acta Limnologica Brasiliensia*. 26(1):9-17. ISSN:2179-975X. <https://doi.org/10.1590/S2179-975X2014000100003>

NETO RM, Ostrensky A. 2015. Nutrient load estimation in the waste of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) reared in cages in tropical climate conditions. *Aquaculture*. 46(6):1309-1322. ISSN: 0044-8486. <https://doi.org/10.1111/are.12280>

PASTERIS S, Roig BG, Otero M, Bühler M, Nader MM. 2009. Beneficial properties of lactic acid bacteria isolated from a *Rana catesbeiana* hatchery. *Aquaculture*. 40(14):1605-1615. ISSN: 0044-8486. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02261.x>

PLAZAS PL, Paz RN. 2019. Diseño e implementación de un sistema de monitoreo de parámetros de calidad de agua en cultivo de tilapia en una granja piscícola del departamento del Cauca. *Publicaciones e Investigación*. 13(2):11-22. ISSN: 2539-4088. <https://doi.org/10.22490/25394088.3255>

QUERO CAR. 2013. *Gramíneas introducidas: Importancia e impacto en ecosistemas ganaderos*. Texcoco, México: Editorial Biblioteca Básica de Agricultura. Pp. 345. ISBN: 978 -607-715-106-7

RINCÓN DD, Velásquez HA, Dávila MJ, Semprun AM, Morales ED, Hernández JL. 2012. Niveles de sustitución de harina de pescado por harina de *Arthrospira* (=Spirulina) máxima, en dietas experimentales para alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 25(3):430-437. ISSN: 0120-0690. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=295024923011>

SCHVEITZER R, Arantes R, Costódio PF, do Espírito SC, Arana LV, Seiffert WQ, Andreatta ER. 2013. Effect of different Biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. *Aquacultural Engineering*. 56:59–70. ISSN:0144-8609. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2013.04.006>

SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2016. *Manual de buenas prácticas de producción acuícola de rana toro*. <https://www.gob.mx/senasica/documentos/buenas-practicas-de-produccion-acuicola-de-rana-de-toro>

VINATEA L, Malpartida J, Carbó R, Andree KB, Gisbert E, Estévez A. 2018. A comparison of recirculation aquaculture systems versus Biofloc technology culture system for on-growing of fry of Tinca tinca (*Cyprinidae*) and fry of grey Mugil cephalus (*Mugilidae*). *Aquaculture*. 482(1):155–161. ISSN:0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.041>

WEI YF, Liao SA, Wang A. 2016. The effect of different carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of Bioflocs. *Aquaculture*. 465(1):88-93. ISSN:0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.040>

WIDANARNI EJ, Maryam SI. 2012. Evaluation of Biofloc Technology Application on Water Quality and Production Performance of Red Tilapia *Oreochromis sp.* Cultured at Different Stocking Densities. *HAYATI Journal of Biosciences*. 19(2):73-80. ISSN:1978-3019. <https://doi.org/10.4308/hjb.19.2.73>